

Aus der Klinik für Innere Medizin mit Schwerpunkt Pneumologie

Direktor: Prof. Dr. med. Claus Franz Vogelmeier

des Fachbereichs Medizin der Philipps-Universität Marburg
in Zusammenarbeit mit dem Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH,
Standort Marburg

**Pilotstudie zum Stellenwert der Ionenmobilitätsspektrometrie in der
Untersuchung der Ausatemluft von Patienten mit Obstruktivem
Schlafapnoesyndrom im Vergleich mit gesunden Kontrollen**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Humanmedizin

dem Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Hannes Benjamin Fischer

aus Reutlingen

Marburg, 2019

Angenommen vom Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg
am: 23.05.2019

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs.

Dekan: Prof. Dr. Helmut Schäfer

Referent: Prof. Dr. Andreas Rembert Koczulla

1. Korreferent: PD Dr. Dr. Hans Günther Wahl

Das schönste Glück des denkenden Menschen ist, das Erforschliche erforscht zu haben und das Unerforschliche ruhig zu verehren.

Johann Wolfgang von Goethe

It is said that the eyes are the windows to the soul.
Perhaps, then, breath is the window to the body.

Jonathan Beauchamp

Abkürzungsverzeichnis

AASM	American Academy of Sleep Medicine
AHI	Apnoe-Hypopnoe-Index
AI	Apnoe-Index
amb.	ambulant
ANN	Artificial Neural Network
APPI	Atmospheric Pressure Photo Ionization
APAP	Automatic Positive Airway Pressure
ATS	American Thoracic Society
AUC	Area Under The Curve (Fläche unter der Kurve)
BiPAP	Biphasic Positive Airway Pressure
BMI	Body-Mass-Index
bpm	beats per minute (Schläge pro Minute)
C-Flex	CPAP mit Flextechnologie
CI	Confidence interval (Konfidenzintervall)
cm	Zentimeter
CO	Kohlenstoffmonoxid
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
COPD	Chronic Obstructive Pulmonary Disease
CPAP	Continuous Positive Airway Pressure
CRF	Case Report Form
CRP	C-reaktives Protein
CVV	Cross Validation Value
CVA	Cross Validation Accuracy
DGSM	Deutsche Gesellschaft für Schlafforschung und Schlafmedizin

DISE	Drug-Induced Sleep Endoscopy
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EB	Exhaled Breath (Atemwegsexhalat)
EBC	Exhaled Breath Condensate (Atemwegskondensat)
EEG	Elektroenzephalogramm
EKG	Elektrokardiogramm
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
EMD	Empirical Mode Decomposition
EMG	Elektromyogramm
engl.	englisch
E-Nose	Electronic Nose (Elektronische Nase)
EOG	Elektrookulogramm
ERS	European Respiratory Society
ESS	Epworth Sleepiness Scale (Epworth-Schläfrigkeitsskala)
FAIMS	Field Asymmetric Ion Mobility Spectrometry
FDA	Fisher's Discriminant Analysis
FeNO	Fraktioniertes exhalierendes Stickstoffmonoxid
FEV1	Forciertes expiratorisches Volumen innerhalb einer Sekunde (Einsekundenkapazität)
GC	Gaschromatographie
GC-MS	Gaschromatographie mit Massenspektrometrie-Kopplung
h	hour
HC	Healthy Controls (Gesunde Kontrollprobanden)
HI	Hypopnoe-Index
hPa	Hektopascal
ICSD-3	International Classification of Sleep Disorders – third edition
IgA	Immunglobulin A

IL	Interleukin
IM-MS	Ionenmobilitätsspektrometrie mit Massenspektrometrie-Kopplung
IMS	Ionenmobilitätsspektrometrie
IQR	Interquartile Range (Interquartilsabstand)
K	Kelvin
kg	Kilogramm
KRK	Kolorektales Karzinom
KRPSG	Kardiorespiratorische Polysomnographie
LC	Liquid Chromatography (Flüssigchromatographie)
LOO-CV	Leave-One-Out Cross Validation (Leave-One-Out-Kreuzvalidierung)
m	Meter
M.	Musculus
MBq	Megabecquerel
MCC	Multi Capillary Column (Multikapillarsäule)
MCC-IMS	Kopplung von Multikapillarsäule und Ionenmobilitätsspektrometrie
MIMA	MS-IMS-Mapper (Software)
min	Minute
MISE	Medikamenteninduzierte Schlafendoskopie
ml	Milliliter
ms	Millisekunde
MS	Massenspektrometrie
MSLT	Multipler Schlaflatenztest
NF- κ B	Nuclear Factor kappa B (Transkriptionsfaktor)
NO	Stickstoffmonoxid
NPV	Negative Predictive Value (Negativ prädiktiver Wert)

OCST	Out-Of-Center-Sleep-Testing
o.g.	oben genannt
OSA	Obstruktive Schlafapnoe
OSAS	Obstruktives Schlafapnoesyndrom
PAT	Periphere Arterielle Tonometrie
PCA	Principal Component Analysis (Hauptkomponentenanalyse)
PCR	Polymerase Chain Reaction (Polymerase-Kettenreaktion)
ppb _v	parts per billion (Volumenanteil pro Milliarde)
ppm _v	parts per million (Volumenanteil pro Million)
ppt _v	parts per trillion (Volumenanteil pro Billion)
PPV	Positive Predictive Value (Positiv prädiktiver Wert)
PSG	Polysomnographie
PTR-MS	Protonen-Transfer-Reaktions-Massenspektrometrie
PTR-ToF-MS	Proton Transfer Reaction 'Time-of-Flight' Mass Spectrometry
PTT	Pulstransitzeit
PW	Pharyngeal Washings (Rachenspülwasser)
PWA	Pulswellenanalyse
RERA	Respiratory Effort Related Arousals
RDI	Respiratory Disturbance Index
ROC	Receiver Operating Characteristic
rpm	revolutions per minute (Umdrehungen pro Minute)
RT	Retention Time (Retentionszeit)
s	Sekunde
SBAS	Schlafbezogene Atmungsstörung(en)
SD	Standard Deviation (Standardabweichung)
SPME	Solid Phase Micro Extraction (Festphasenmikroextraktion)

SPME-GC-MS	Verfahrenskombination aus Festphasenmikroextraktion mit Gaschromatographie und Massenspektrometrie
SpO ₂	Periphere Sauerstoffsättigung
STARD	Standards for Reporting Diagnostic Accuracy Studies
TNF- α	Tumornekrosefaktor-alpha
TST	Total Sleep Time
UV	Ultraviolettstrahlung
v.a.	vor allem
VC	Vitalkapazität
VOC(s)	Volatile Organic Compound(s) (Flüchtige organische Substanz(en))
Vs	Voltsekunde
vs.	versus
WA	Wavelet Analysis
ZSA	Zentrales Schlafapnoesyndrom

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	12
1.1	Historischer Hintergrund.....	12
1.2	Schlafbezogene Atmungsstörungen.....	13
1.2.1	Definition wichtiger diagnostischer Kenngrößen bei SBAS.....	14
1.3	Obstruktives Schlafapnoesyndrom.....	15
1.3.1	Diagnostische Kriterien.....	15
1.3.2	Epidemiologie.....	16
1.3.3	Pathogenese / Pathophysiologie.....	18
1.3.4	Prädisponierende Faktoren.....	19
1.3.5	Diagnostik.....	21
1.3.6	Therapie.....	23
1.4	Elektronische Nasen.....	25
1.4.1	Allgemein.....	25
1.4.2	Gaschromatographie mit Massenspektrometrie (GC-MS).....	27
1.4.3	Cyranose® 320.....	27
1.4.4	Ionenmobilitätsspektrometrie (IMS).....	29
1.5	Atemwegskondensat (EBC).....	33
1.6	Rachenspülwasser.....	34
1.7	Fragestellung.....	34
2	Methodik.....	36
2.1	Untersuchungspopulation.....	36
2.2	Methoden.....	39
2.2.1	Studienablauf.....	39

2.2.2	Ambulante Polygraphie.....	39
2.2.3	Polysomnographie (PSG)	40
2.2.4	Epworth Sleepiness Scale (ESS).....	40
2.2.5	Spirometrie	41
2.2.6	Blutentnahme.....	41
2.2.7	Rachenspülwasser	42
2.2.8	Atemwegskondensat (EBC).....	42
2.2.9	Cyranose® 320.....	43
2.2.10	MCC-Ionenmobilitätsspektrometrie	44
2.2.11	Headspace	46
2.2.12	Allgemeine Auswertung.....	47
2.2.13	Auswertung von MCC-IMS-Daten	47
2.2.14	Statistische Auswertung	49
2.2.15	Zuordnung von IMS-Analyten zu einzelnen Substanzen	51
2.2.16	Darstellung der Ergebnisse	51
3	Ergebnisse.....	52
3.1	Baseline-Charakteristika	52
3.2	Polysomnographie.....	53
3.3	Spirometrie.....	53
3.4	Labor.....	54
3.5	Cyranose® 320	55
3.5.1	Kreuzvalidierung	55
3.6	MCC-Ionenmobilitätsspektrometrie	60
3.6.1	Kreuzvalidierung	60

3.6.2	Identifikation spezifischer Substanzen	65
4	Diskussion	67
4.1	VOC-Analyse von Atemwegsexhalat (EB)	68
4.1.1	Analyse von Atemwegsexhalat mittels Cyranose® 320.....	68
4.1.2	Analyse von Atemwegsexhalat mittels MCC-IMS	69
4.2	VOC-Analyse von Headspace (EBC, PW, Serum).....	72
4.2.1	Analyse von Headspace mittels Cyranose® 320.....	72
4.2.2	Analyse von Headspace mittels MCC-IMS	74
4.3	Zuordnung spezifischer Substanzen zu einzelnen Peaks	78
4.4	Einflussgrößen und Störfaktoren bei der Detektion von VOCs.....	84
4.5	Diskussion der Laborchemie	89
4.6	Diskussion der Studienpopulation	91
4.6.1	Epworth Sleepiness Scale (ESS).....	92
4.7	Stärken und Limitationen der Studie	93
4.8	Vorschläge für zukünftige Studien.....	95
5	Zusammenfassung	97
5.1	Summary.....	99
6	Literaturverzeichnis	101
7	Tabellenverzeichnis.....	121
8	Abbildungsverzeichnis.....	122
9	Anhang.....	123

1 Einleitung

1.1 Historischer Hintergrund

Das Erkennen von Krankheiten mit Hilfe unseres Geruchssinns spielt seit jeher eine große Rolle in der Medizin. Bereits in der Antike beschäftigten sich Hippocrates und andere griechische Ärzte mit der Analyse unserer Atemluft [199]. Man vermutete, dass sich im Körperinneren abspielende Prozesse auf die Ausatemluft auswirken und durch deren Analyse das Diagnostizieren von Krankheiten möglich sein könnte. Als prominente Beispiele für die klinische Analyse der Ausatemluft von Patienten können der „obstartige“ Azetongeruch im hyperglykämischen Koma, ein harnähnlicher Foetor uraemicus bei Urämie oder der süßlich, fötide Foetor hepaticus im Rahmen eines Leberversagens genannt werden [117]. Auch die Geruchsprobe von Urin und Faeces leistete vor dem Zeitalter der modernen Medizin einen Beitrag zu differenzialdiagnostischen Überlegungen der Ärzteschaft [254].

Den Grundstein zur modernen Analyse volatiler organischer Verbindungen (engl.: Volatile Organic Compounds, VOCs) wurde 1971 gelegt, als Pauling et al. bei der gaschromatographischen Untersuchung von Atemwegsexhalat und verflüchtigtem Urin jeweils über 200 verschiedene Substanzen in separaten Proben nachweisen konnten [190]. In den 80er-Jahren gelang es, einzelnen Krankheitsbildern bestimmte flüchtige Metaboliten zuzuordnen [170]. So konnten beispielsweise Gordon et al. 1985 verschiedene Alkane in der Ausatemluft von Patienten mit Lungenkrebs nachweisen [103].

Philips et al. gelang es 1999 anhand einer Kombination identifizierter Alkane und Benzene mit hoher Sensitivität und Spezifität zwischen Lungenkrebspatienten und gesunden Kontrollprobanden zu unterscheiden [200].

Aufgrund technischer Verbesserungen und vereinfachter Durchführbarkeit von Messungen an Patienten stieg das medizinwissenschaftliche Interesse an der Analyse von VOCs in den vergangenen Jahren kontinuierlich an [21, 50].

1.2 Schlafbezogene Atmungsstörungen

Schlafbezogene Atmungsstörungen (SBAS) werden neben Insomnien, Parasomnien, zentralen hypersomnischen Störungen, zirkadianen Schlaf-Wach-Rhythmusstörungen, schlafbezogenen Bewegungsstörungen und anderen Schlafstörungen den schlafmedizinischen Erkrankungen zugeordnet [244]. Die Symptomatik schlafbezogener Atmungsstörungen ist vielseitig und führt bei einer Vielzahl betroffener Patienten zu einer erheblichen Beeinträchtigung ihrer Lebensqualität. Angesichts der Häufigkeit schlafbezogener Atmungsstörungen, deren zeit- und kostenintensiver Diagnostik und Therapie sowie deren Assoziation zu kardiovaskulären und weitere Organsysteme betreffenden Erkrankungen sind SBAS von hoher klinischer, gesellschaftlicher und volkswirtschaftlicher Relevanz [196] (S.1054 ff.).

Auch wenn die Übergänge in der Praxis fließend sind, ist eine klare Abgrenzung der einzelnen Erscheinungsformen schlafbezogener Atmungsstörungen für deren Verständnis von großer Wichtigkeit. Gemäß der 2014 veröffentlichten International Classification of Sleep Disorders (ICSD-3) durch die American Academy of Sleep Medicine (AASM) werden im Wesentlichen folgende Formen schlafbezogener Atmungsstörungen unterschieden [9, 225, 245]: Obstruktive Schlafapnoe (OSA) des Erwachsenen oder des Kindes, Zentrale Schlafapnoesyndrome (ZSA), schlafbezogene Hypoventilationsstörungen, Atmungsstörungen aufgrund schlafbezogener Hypoxämie sowie isolierte Symptome und Normvarianten.

Unter den schlafbezogenen Atmungsstörungen tritt die Obstruktive Schlafapnoe mit einer Häufigkeit von rund 90% auf. Schlafbezogene Atmungsstörungen ohne Obstruktion nehmen dementsprechend einen Anteil von ca. 10% ein [197].

An dieser Stelle soll darauf hingewiesen werden, dass in der Literatur oftmals allgemein von 'Obstruktiver Schlafapnoe' (OSA) [196] gesprochen wird. Dieser Terminus schließt alle Formen Obstruktiver Schlafapnoe ein und repräsentiert das Krankheitsbild im Allgemeinen. Spricht man von einem Obstruktiven Schlafapnoesyndrom (OSAS), betont man damit, dass zusätzlich Symptome beim Patienten vorhanden sind. In einer Vielzahl der Fälle werden die Termini OSA und OSAS jedoch synonym verwendet. In der vorliegenden Arbeit beziehen sich diese Begrifflichkeiten immer auf Patienten im Erwachsenenalter.

1.2.1 Definition wichtiger diagnostischer Kenngrößen bei SBAS

Maßgeblich für die Diagnosestellung der Obstruktiven Schlafapnoe ist die Definition von Apnoen, Hypopnoen, des Apnoe-Hypopnoe-Index (AHI) sowie von Arousals, Respiratory Effort Related Arousals (RERAs) und des Respiratory Disturbance Index (RDI). Hierbei sollen die Maßgaben zur Erfassung respiratorischer Ereignisse der American Academy of Sleep Medicine (AASM) von 2017 als Orientierung dienen [28].

Eine Apnoe ist definiert als Abfall des im Schlaf registrierten Atemflusses um $\geq 90\%$ für eine Dauer ≥ 10 Sekunden. Bei einer Hypopnoe handelt es sich per definitionem um eine Verringerung des Atemflusses von $\geq 30\%$ für eine Dauer von ≥ 10 Sekunden, zusammen auftretend mit einem Abfall der peripheren Sauerstoffsättigung (SpO_2) $\geq 3\%$ oder in Kombination mit einem Arousal. Ein Arousal (z. Dt. 'Erregung') tritt als Zeichen einer sympathikonervösen Weckreaktion auf und wird im Schlafzustand als abrupt auftretende, mindestens drei Sekunden andauernde Frequenzänderung bzw. Frequenzbeschleunigung im Elektroenzephalogramm (EEG) registriert, welcher eine Phase eines mindestens 10 Sekunden andauernden Schlafs vorangehen muss. Ein Respiratory Effort Related Arousal (RERA) wird dann als solches erfasst, wenn eine Sequenz von Atemzügen für ≥ 10 Sekunden durch eine gesteigerte Atemanstrengung oder durch eine Abflachung der Atemzüge gekennzeichnet ist und in der Folge zu einem Arousal führt. Eine RERA-Sequenz darf hierbei nicht die Kriterien einer Hypopnoe oder Apnoe erfüllen [28, 246].

Der Apnoe-Hypopnoe-Index (AHI) dient als Maß für den Schweregrad einer schlafbezogenen Atmungsstörung. Hierbei wird die Anzahl aller registrierten Apnoen und Hypopnoen pro Stunde Schlafzeit addiert. Als physiologisch wird ein Apnoe-Hypopnoe-Index von $< 5/h$ angesehen. Beim Respiratory Disturbance Index (RDI) werden Apnoen, Hypopnoen sowie RERAs addiert und pro Stunde Schlafzeit als Index angegeben [196] (S. 1058 f.).

1.3 Obstruktives Schlafapnoesyndrom

1.3.1 Diagnostische Kriterien

Entsprechend der S3-Leitlinie 'Nicht erholsamer Schlaf/Schlafstörungen' der Deutschen Gesellschaft für Schlafforschung und Schlafmedizin (DGSM) erfolgt die Schweregradeinteilung des Obstruktiven Schlafapnoesyndroms anhand des AHI in eine leichtgradige (5-14/h), mittelgradige (15-29/h) und schwere ($\geq 30/h$) Schlafapnoe [27]. Die Diagnose OSAS darf nach ICSD-3-Kriterien [225] gestellt werden bei einem via Polysomnographie (PSG) oder per Out-Of-Center-Sleep-Testing (OCST, ambulante Polygraphie) ermittelten $RDI \geq 5/h$ in Kombination mit einer zusätzlich vom Patienten beklagten subjektiven klinischen Symptomatik (z.B. exzessive Tagesschläfrigkeit, nicht-erholsamer Schlaf, beim Erwachen nach Luft ringen (Keuchen oder Würgen), verminderte Leistungsfähigkeit, Insomnie, fremdanamnestisch berichtetes notorisches Schnarchen und/oder Atemaussetzer im Schlaf [110, 225]). Gleichwohl ist eine Obstruktive Schlafapnoe selbst bei schlafmedizinisch asymptomatischen Patienten zu diagnostizieren, wenn zusätzlich zu einem $RDI \geq 5/h$ in PSG oder OCST mindestens eine der relevanten Komorbiditäten des OSAS (z.B. Arterielle Hypertonie, Koronare Herzerkrankung, Apoplex, Vorhofflimmern, Diabetes mellitus Typ-2, kognitive Dysfunktionen oder Depression) vorliegt. Ebenfalls ist die Diagnose der Obstruktiven Schlafapnoe gemäß ICSD-3 zu stellen, wenn bei einem Patienten unabhängig von subjektiver Symptomatik oder objektiv erfasster Komorbidität ein mittels PSG oder OCST ermittelter Respiratory Disturbance Index (RDI) $\geq 15/h$ festgestellt wurde [110, 225, 244, 245].

1.3.2 Epidemiologie

Angaben über die Häufigkeit Obstruktiver Schlafapnoe (OSA) bzw. des Obstruktiven Schlafapnoesyndroms (OSAS) weisen in der Literatur große Varianzen auf. In diesem Zusammenhang ist zu berücksichtigen, ob die jeweiligen Prävalenzangaben ausschließlich auf dem registrierten Apnoe-Hypopnoe-Index (AHI) basieren oder zusätzlich Symptome eines OSAS erfasst wurden. Weit verbreitet sind bis heute Häufigkeitsangaben dreier in den 80er- und 90er-Jahren in den USA durchgeführten großen Kohortenstudien zur Prävalenz schlafbezogener Atmungsstörungen: die Wisconsin-Sleep-Studie [282], die Sleep-Heart-Health-Studie [206] sowie die Penn-State-Studie [35]. Zusammengefasst wird die Prävalenz schlafbezogener Atmungsstörungen in diesen drei Studien auf 6,5-9% bei Frauen und auf 17-31% unter Männern geschätzt, wobei eine 'schlafbezogene Atmungsstörung' hierbei durch einen während einer Polysomnographie (PSG) aufgezeichneten $AHI > 5/h$ definiert wurde [35, 282]. Die Wisconsin-Sleep-Kohortenstudie gibt die OSAS-Prävalenz von Patienten im Alter von 30-60 Jahren, die sowohl einen objektiv gemessenen $AHI > 5/h$ aufwiesen, als auch subjektiv über Hypersomnolenz klagten, auf 2% bei Frauen und 4% bei Männern an [282].

Ein systematischer Vergleich von elf epidemiologischen Studien im Zeitraum 1993 bis 2013 gibt die Prävalenz Obstruktiver Schlafapnoe (OSA), definiert durch einen $AHI > 5/h$, mit 9-37% unter Männern sowie mit 4-50% unter Frauen an. Zusätzlich erhöhte Tagesschläfrigkeit als Leitsymptom eines Obstruktiven Schlafapnoesyndroms (OSAS) war in dieser Zusammenschau bei 3-18% der Männer und 1-17% der Frauen festgestellt worden [95].

Um die Prävalenzangaben schlafbezogener Atmungsstörungen richtig interpretieren und einordnen zu können, müssen verschiedene Aspekte berücksichtigt werden. Zunächst ist entscheidend, ob sich die angegebenen Prävalenzen auf die Gesamtbevölkerung oder auf eine bestimmte Alters- oder Patientengruppe beziehen. Eine maßgebliche Rolle spielt ebenso die angewandte Definition von Diagnosekriterien für das OSAS sowie die Schweregradeinteilung der Krankheit. Weiterhin ist aufgrund des technischen

Fortschritts die Detektion schlafbezogener Atmungsstörungen mittels Polysomnographie (PSG) oder Out-Of-Center-Sleep-Testing (OCST) heutzutage mit viel höherer Sensitivität möglich [111, 225], als dies in der Vergangenheit [35, 282] der Fall war. Dies liegt unter anderem an einer miniaturisierten und fortschrittlicheren Aufzeichnung nächtlicher Atemmuster seit der Einführung nasaler Staudrucksensoren sowie an einer leistungsfähigeren pulsoxymetrischen Überwachung [111]. Ebenfalls mag ein gesteigertes Bewusstsein innerhalb der Bevölkerung in Bezug auf schlafbezogene Atmungsstörungen zu einer gestiegenen Anzahl erfasster Krankheitsfälle beigetragen haben.

Von 2009 bis 2013 wurde in Lausanne (Schweiz) eine groß angelegte Kohortenstudie zur Prävalenz schlafbezogener Atmungsstörungen in der Allgemeinbevölkerung (sog. 'HypnoLaus'-Studie) durchgeführt. Die Analyse erfolgte unter Einsatz ambulanter Polysomnographie-Diagnostik (OCST) bei 2121 Studienteilnehmern im Alter von 40 bis 85 Jahren mit einem durchschnittlichen Body-Mass-Index (BMI) von 25,6 kg/m² (SD ± 4,1). Unter Berücksichtigung der Richtlinien zur Erfassung respiratorischer Ereignisse der American Academy of Sleep Medicine (AASM) von 2012 [29] wurden alle polysomnographisch erfassten Daten (re-)evaluiert. Ein AHI ≥ 5/h wurde nach den Ergebnissen der HypnoLaus-Studie bei 60,8% der Frauen und 83,8% der Männer gemessen. Eine mindestens mittelgradige SBAS (AHI ≥ 15/h) wies Prävalenzen von 23,4% bei Frauen und von 49,7% bei Männern auf [111]. Unter Einbeziehung des Parameters 'erhöhte Tagesschläfrigkeit', objektiviert anhand eines Punktwerts in der Epworth Sleepiness Scale (ESS; z. Dt. Epworth-Schläfrigkeitsskala) von > 10 wurde die Prävalenz bei gleichzeitig registriertem AHI ≥ 5/h mit 5,9% bei Frauen und mit 12,5% bei Männern [110] angegeben. Nach Anwendung der aktuellen Diagnosekriterien der International Classification of Sleep Disorders (ICSD-3) von 2014 [225] auf die Daten der HypnoLaus-Kohorte ergeben sich für ein leichtgradiges OSAS Prävalenzen von 79,2% bei Männern und 54,3% bei Frauen. Ein mindestens mittelgradiges OSAS (AHI ≥ 15) war hierdurch bei 49,7% der Männer und 23,4% der Frauen festzustellen [110].

1.3.3 Pathogenese / Pathophysiologie

Pathogenetisch kommt es in Abhängigkeit der Schlaftiefe zu einem Erschlaffen der Muskulatur von Oro- und Nasopharynx, was zu einem Kollaps der oberen Atemwege und in der Folge zu einer teilweisen (Hypopnoe) bis nahezu vollständigen (Apnoe) Unterbindung des Luftflusses führt. In der Folge kann kein suffizienter Gasaustausch mehr stattfinden. Kompensatorisch wird über einen gesteigerten Atemantrieb mit erhöhter Atemanstrengung versucht, der Obstruktion entgegen zu wirken. Dennoch kommt es zu einer Abnahme der Sauerstoffsättigung des Blutes und zur Hyperkapnie, da anfallendes CO₂ nicht mehr abgeatmet werden kann. Infolge der pathologischen Veränderungen der Blutgase kommt es zu einer zentralnervösen Aktivierung (Arousal). Im Zuge dieser 'Aufweckreaktion', welche meist von einem Schnarchgeräusch begleitet wird, kommt es zur Retonisierung der pharyngealen Muskulatur und somit zur Überwindung des Atemwegshindernisses, zur Wiederherstellung der Ventilation und zu Reoxygenierung. Durch einen erhöhten Sympathikotonus kommt es postapnoeisch zu reaktiver Hyperventilation und Tachykardie [46, 169, 267].

Beim Obstruktiven Schlafapnoesyndrom kommt es zu einer zyklischen Wiederholung dieser pathophysiologischen Ereignisse während des Schlafs, wodurch die physiologische Schlafarchitektur des Patienten massiv fragmentiert wird [267]. Zudem geht das wiederholte Kollabieren der oberen Atemwege in Kombination mit nächtlicher Hypoxie mit einer sympathikonervösen Erregung, Atemwegsinflammation, oxidativem Stress und Endothelschädigung einher [155, 221, 222]. Darüber hinaus kommt es zu einer veränderten Genexpression und folglich zu systemischer Inflammation [24, 65, 176, 249].

Die komplexen pathophysiologischen Vorgänge beim Obstruktiven Schlafapnoesyndrom steigern das Risiko für kardiovaskuläre [24] und andere Organsysteme betreffende Komorbiditäten. Hierzu zählen unter anderem Arterielle Hypertonie [194], Koronare Herzkrankheit, Herzinsuffizienz [104], Apoplex [214, 275], Diabetes mellitus [138], Depression [192] sowie ein bis zu 7-fach erhöhtes Unfallrisiko durch Sekundenschlaf [246] (S. 318).

1.3.4 Prädisponierende Faktoren

Multifaktorielle Ursachen bedingen die Pathogenese Obstruktiver Schlafapnoe, respektive einen Kollaps der oberen Atemwege im Schlaf [129]. Physiologisch wird ein solcher Kollaps verhindert, da die auf den Pharynx einwirkenden Kräfte im Gleichgewicht zueinander stehen. Einem Kollaps förderlich sind hierbei ein negativer intraluminaler Druck bei Inspiration und ein positiver extraluminaler Druck durch umgebendes Weichteil- und Fettgewebe. Einem Kollaps entgegen wirken muskuläre Kontraktionen der Dilatatoren des Pharynx (v.a. M. genioglossus) sowie eine Zunahme des Lungenvolumens, woraufhin longitudinale Zugkräfte ein Offenhalten des Pharynx begünstigen [169].

Übergewicht gilt als Hauptrisikofaktor für die Entstehung eines OSAS, weswegen insbesondere adipöse Patienten von der Krankheit betroffen sind [113, 193, 211, 282]. Zusätzliches Körperfett lagert sich in das die oberen Atemwege umgebende Gewebe ein, was zu anatomischen Umbauprozessen im Bereich des Pharynx sowie zu gestörter neuromuskulärer Steuerung der Pharynxmuskulatur führt. Eine vermehrte Verteilung von Körperfett innerhalb der Hals-Rachen-Region scheint hierdurch entscheidenden Einfluss auf die Entwicklung einer Obstruktiven Schlafapnoe und die hiermit einhergehende Kollapsneigung der oberen Atemwege zu haben. Männliches Geschlecht gilt in diesem Zusammenhang als prädisponierend [189, 233, 268, 283]. Weiterhin weisen MRT und CT-Bildgebung darauf hin, dass sich Fett im Rahmen eines Obstruktiven Schlafapnoesyndroms auch innerhalb der Zunge einlagert, was durch eine Größenzunahme der Zunge zu einer Verlagerung des Os hyoideum nach inferior-posterior führt und vermutlich die Funktion suprahyoidaler und äußerer Zungenmuskulatur störend beeinflusst [57, 236].

Darüber hinaus führt Übergewicht zu einer Verringerung der funktionellen Residualkapazität der Lunge, vor allem in Rückenlage, was einen niedrigeren Sauerstoffvorrat und schlechteren Gasaustausch zur Folge hat [167]. Ein erniedrigtes Lungenvolumen scheint zudem in direktem Zusammenhang mit einem kleineren Atemwegsdurchmesser und einer höheren Tendenz zum Kollabieren der oberen Atemwege zu stehen [112]. Der M. genioglossus

scheint als äußerer Zungenmuskel in besonderem Maße an der Pathophysiologie des OSAS beteiligt zu sein. Adäquate Kontraktionen des M. genioglossus sind wesentlich, um die oberen Atemwege während des Schlafs offen zu halten. Bei Schlafapnoepatienten konnte eine gestörte Muskelaktivität des M. genioglossus [81, 177] und ebenfalls der Pharynxmuskulatur [124, 142] nachgewiesen werden, was in erhöhtem Maß zum Kollaps der oberen Atemwege beizutragen scheint.

Die kraniofasziale Anatomie betreffend können darüber hinaus Dysgnathien, Makroglossie, Tonsillenhypertrophie sowie eine Größenzunahme des weichen Gaumens oder der Uvula ursächlich zur Entstehung einer Obstruktiven Schlafapnoe beitragen [205].

Höheres Alter ist ebenso als Hauptrisikofaktor anzusehen [82]. So kommt es mit zunehmendem Lebensalter zu einer Abnahme des Anteils an Kollagen und der elastischen Rückstellkräfte des Atemapparats, was zu Destabilisierung und erhöhter Kollapsneigung der Atemwege führt. Darüber hinaus nimmt die Muskelaktivität der Dilatatoren der oberen Atemwege im Alter ab [86, 168].

Ferner spielt die Körperposition im Schlaf eine bedeutende Rolle, wobei sich respiratorische Ereignisse vor allem in Rückenlage manifestieren [212]. Eine Kollapsneigung der oberen Atemwege nimmt bei einem Positionswechsel von Rücken- zu Seitenlage signifikant ab [128].

Weiterhin wird genetischen Ursachen [205], der Menopause [281], Nikotinkonsum [129], Alkoholkonsum [120] und Flüssigkeitsretention bzw. nächtlicher Flüssigkeitsumverteilung [284] eine wichtige Rolle in der Pathogenese des OSAS zugeschrieben.

1.3.5 Diagnostik

Als Goldstandard-Methode in der Diagnostik der Obstruktiven Schlafapnoe gilt die Polysomnographie (PSG) [153, 245], obgleich eine Diagnosestellung bei eindeutigem polygraphisch (OCST) erfassten Befund (nach ICSD-3-Kriterien) mittlerweile zulässig ist [225, 244]. Nach wie vor bietet allerdings nur die Polysomnographie die Möglichkeit der zweifelsfreien Ausschluss- und Differenzialdiagnostik schlafbezogener Atmungsstörungen [245]. Durchgeführt werden kann die Polysomnographie in einem schlafmedizinischen Zentrum als kardiorespiratorische Polysomnographie (KRPSG) oder in der häuslichen Umgebung [111]. Die stationäre KRPSG garantiert hierbei eine schlafmedizinische Aufzeichnung unter standardisierten Bedingungen sowie eine bestmögliche Kontrolle äußerer Einfluss- und Störfaktoren wie zum Beispiel Licht oder Lärm.

Um schlafbezogene Atmungsstörungen via PSG zu detektieren, werden üblicherweise folgende Parameter aufgezeichnet: Atmungsbewegungen von Thorax und Abdomen, oronasaler Atemfluss, Atemgeräusche, Schnarchgeräusche, Sauerstoffsättigung, Ableitung eines Elektrokardiogramms (EKG), Pulsfrequenz, Körperposition im Schlaf, Beinbewegungen mittels Elektromyogramm (EMG)-Ableitungen am M. tibialis anterior beidseits sowie eine optische Video-Überwachung. Es erfolgt weiterhin die Ableitung eines Elektroenzephalogramms (EEG), Elektrookulogramms (EOG) und Elektromyogramms (EMG) über zwei submentale Ableitungen zur Erfassung der Schlafstadien und zur Erstellung eines Hypnogramms [153, 196]. Bei speziellen Fragestellungen ist die (invasive) Aufzeichnung weiterer Parameter wie beispielsweise des arteriellen Blutdrucks oder des Ösophagusdrucks möglich [196] (S. 88 ff.).

Die Diagnostik mittels ambulanter Polygraphie konzentriert sich in der Regel auf die Aufzeichnung folgender Messgrößen: Atmungsbewegungen, oronasaler Luftfluss, periphere Sauerstoffsättigung, Herzfrequenz, Schnarchen und Körperposition. Hiermit können Hypopnoen, Apnoen, Schnarchereignisse und Veränderungen der Herzfrequenz ermittelt werden.

Neue diagnostische Messverfahren, wie die periphere arterielle Tonometrie (PAT) und die Pulswellenanalyse (PWA) haben das Spektrum ambulanter Diagnostik in den letzten Jahren erweitert. Mit Hilfe von PAT lässt sich der periphere arterielle Gefäßtonus indirekt ermitteln, welcher in Assoziation zu Blutdruck, Blutvolumen und autonomem Nervensystem eine Aussage über die Aktivität des Sympathikus (in diesem Zusammenhang Arousals / RERAs) zulässt [245]. Mittels des in klinischen Studien eingesetzten WatchPAT® können über einen Fingerplethysmographen Änderungen des arteriellen Blutvolumens an der Fingerspitze registriert werden, welche in Verbindung mit pulsoxymetrisch aufgezeichneter Herzfrequenz, Sauerstoffsättigung, Körperlage und Mikrofonaufzeichnungen eine indirekte Berechnung von Hypopnoen, Apnoen, Arousals und Schlafstadien möglich machen [245, 276].

Durch Pulswellenanalyse (PWA) (SomnoCheck micro®) kann der vegetative Tonus des arteriellen Gefäßsystems indirekt erfasst werden. Ergänzend können über die Bestimmung der Pulstransitzeit (PTT) Rückschlüsse auf den arteriellen Blutdruck, autonome Arousals und den intrathorakalen Druck gezogen werden, wodurch eine Unterscheidung zwischen obstruktiven und zentralen respiratorischen Ereignissen möglich ist [245].

Signifikante EKG-Veränderungen bei OSAS-Patienten [227] machen die Analyse von Elektrokardiogrammen als weiteres nicht-invasives Diagnoseverfahren interessant. Hierbei kann die Analyse des EKG computergestützt erfolgen, z.B. durch Empirical Mode Decomposition (EMD) oder Wavelet Analysis (WA) [178].

Ein zur Verfügung stehendes invasives Diagnoseverfahren, mit dem Ausmaß und Lokalisation einer Atemwegsobstruktion augenscheinlich beurteilt werden können, ist die medikamenteninduzierte Schlafendoskopie (MISE; engl.: Drug-Induced Sleep Endoscopy, DISE). Hierbei gilt es allerdings, Abweichungen zum physiologischen Schlaf und eine enge Indikationsstellung zu berücksichtigen [68, 245].

In der klinischen Praxis wird ein Screening schlafbezogener Atmungsstörungen häufig mittels standardisierter Fragebögen und Punktesysteme durchgeführt, z.B. anhand der Epworth Sleepiness Scale

(ESS) [125], dem STOP-Bang-Score [58], dem Berlin Score [186] oder dem NoSAS-Score [173]. Während die ESS den Parameter 'Tagesschläfrigkeit' erfasst, erfolgt anhand des STOP-Bang-Score, Berlin Score und NoSAS-Score eine individuelle Risikoabschätzung in Bezug auf schlafbezogene Atmungsstörungen anhand einer Kombination mehrerer Parameter, wie beispielsweise Schnarchen, Tagesschläfrigkeit, Müdigkeit, Atemaussetzer, Hypertonie, BMI, Alter, Halsumfang oder Geschlecht [173].

1.3.6 Therapie

Konservative Therapiemaßnahmen im Sinne von Lebensstiländerungen mit dem Ziel der Gewichtsreduktion durch erhöhte körperliche Aktivität und Ernährungsumstellung sind jedem übergewichtigen OSAS-Patienten primär anzuraten [87, 182, 232].

Als Goldstandard in der Therapie des OSAS hat sich das Positivdruckverfahren Continuous Positive Airway Pressure (CPAP) etabliert [175, 251]. Hierbei wird ein Kollaps der oberen Atemwege durch pneumatische Schienung verhindert, indem dem Patienten über eine Maske nasal oder oronasal kontinuierlich positiver Druck (ca. 3-20 cm H₂O) in die Atemwege appliziert wird [196] (S.227 ff.). Die CPAP-Therapie ist als symptomatisch anzusehen und in aller Regel eine Dauertherapie.

Als alternative Positivdruckverfahren können BiPAP, automatisches CPAP (APAP) oder C-Flex in Betracht gezogen werden. BiPAP ist eine Zwei-Niveau-Positivdruckbeatmung mit kontinuierlich appliziertem niedrigen Mindestdruck und durch Atemanstrengung des Patienten getriggerten erforderlichen Inspirationsdruck. Alternativ kann mit Hilfe von C-Flex eine proportional zum Ausatemfluss angepasste expiratorische Druckabsenkung erfolgen [196] (S. 197 f.). Automatisches CPAP (APAP) registriert und reguliert bei jedem Atemzug mittels Sensortechnologie den zur Überwindung pharyngealer Atemwegobstruktion erforderlichen Mindestdruck [196] (S. 720 ff.).

Unter CPAP-Therapie bzw. Positivdrucktherapie zeigt sich in aller Regel eine deutliche Verbesserung der klinischen Symptome eines OSAS, vor allem eine

Abnahme von Müdigkeit bzw. Schläfrigkeit am Tage, da die physiologische Schlafstruktur während der Nacht weitestgehend wiederhergestellt werden kann. Zudem sind durch CPAP eine deutliche Abnahme nächtlicher respiratorischer Ereignisse, des Apnoe-Hypopnoe-Index (AHI), von Atemwegsentzündungen, oxidativem Stress und erhöhten Blutdruckwerten zu eruieren [175, 251]. Außerdem gibt es Hinweise darauf, dass das Risiko für Folge- und Begleiterkrankungen des OSAS durch eine Positivdrucktherapie deutlich gesenkt wird [196] (S. 723 ff.).

Ein anderer therapeutischer Ansatz konzentriert sich darauf, ein Schlafen in Rückenlage und somit obstruktive respiratorische Ereignisse zu verhindern. Mittels eines sogenannten 'Sleep Position Trainer' [258] wird der Patient über einen Lagesensor bei Einnehmen der Rückenlage durch Vibrationen dazu bewegt eine Änderung der Körperlage zu vollziehen [257].

Alternativ stehen verschiedene Vorrichtungen zur nicht-invasiven Therapie der obstruktiven Schlafapnoe zur Verfügung [216, 286]. Zum Einsatz kommen unter anderem Unterkieferprotrusionsschienen, Zungenhalte-Vorrichtungen oder Hub-Vorrichtungen für den weichen Gaumen [3]. Sämtliche Mund-Vorrichtungen sollen hierbei durch eine Volumenvergrößerung oder die Verhinderung des Kollabierens der oberen Atemwege Symptome der Obstruktiven Schlafapnoe reduzieren [229].

Zuletzt kann auch ein operatives Verfahren zur Abnahme respiratorischer Ereignisse führen. Hierbei stehen bei entsprechender Indikation verschiedene Operationsverfahren zur Auswahl: HNO-chirurgische Verfahren wie z.B. Tonsillektomie, Uvulopharyngopalatoplastik (UPPP), Laser-assistierte Uvulopalatoplastik (LAUP), Radiofrequenztherapie (RFT) des Weichgaumens und Zungengrunds, Eingriffe an der lateralen Pharynxwand, Zungengrundresektion und Weichgaumenimplantate [100, 243] sowie kieferchirurgische, gesichtschirurgische [196] (S. 615 f.) oder bariatrische Eingriffe [272].

1.4 Elektronische Nasen

1.4.1 Allgemein

Unter dem Terminus 'elektronische Nasen' (engl.: E-Noses) werden in der Literatur verschiedene technische Systeme subsumiert, denen das Erkennen flüchtiger organischer Substanzen (VOCs) gemein ist [49, 144]. Häufig werden hierzu die Verfahren der Massenspektrometrie mit Gaschromatographie

(GC-MS), der Ionenmobilitätsspektrometrie (IMS) und der chemischen Mustererkennung (exemplarisch Cyranose® 320) genutzt, auf die in den Folgeabschnitten näher eingegangen wird. VOCs werden als heterogene chemische Stoffgruppe zusammengefasst. Es handelt sich dabei um in Atmosphäre und Umwelt ubiquitär vorkommende, anthropogen oder biogen entstehende kohlenstoffhaltige Verbindungen, die bei atmosphärischem Druck einen maximalen Siedepunkt von 260°C aufweisen [148, 263]. Die Detektion flüchtiger organischer Substanzen wird bereits in einer Vielzahl ökologischer [115, 285], industrieller [164] und wissenschaftlicher [280] Einsatz,- und Forschungsgebiete genutzt. So wird die Ionenmobilitätsspektrometrie beispielsweise in der Lebensmittelindustrie [135], in der Forensik [133] sowie zur Detektion von Sprengstoff und Drogen [16] eingesetzt. Gleichfalls werden medizinwissenschaftliche Fragestellungen mit Hilfe elektronischer Nasen erforscht [140, 179]. Innerhalb des menschlichen Körpers werden flüchtige organische Stoffe im Zuge nahezu jedes metabolischen Prozesses gebildet, weshalb VOCs das Potenzial besitzen, als Biomarker genutzt werden zu können [256]. Die Gesamtheit aller vom menschlichen Körper emittierten VOCs (unter anderem ausgehend von Atemwegsexhalat, Speichel, Blut, Muttermilch, Hautsekreten, Urin oder Faeces) wird als sogenanntes 'Volatilom' bezeichnet [8, 64]. Anhand der Analyse von in anthropogenen Proben enthaltenen VOCs besteht die Möglichkeit, Rückschlüsse auf metabolische und/oder pathologische Stoffwechselprozesse zu ziehen.

Von besonderem Interesse ist die Analyse von Atemwegsexhalat mit Hilfe elektronischer Nasen [18, 30, 107]. In diesem Zusammenhang sei erwähnt, dass sich der Hauptanteil unserer Atemluft aus den anorganischen Gasen Stickstoff, Sauerstoff, Kohlendioxid, Wasserdampf und Edelgasen zusammensetzt. Organische Verbindungen kommen in vergleichsweise niedrigen Konzentrationen, aber in großer Vielfalt in der Atemluft vor [25, 179]. Im Wesentlichen wird zwischen drei verschiedenen Gruppen von Biomarkern unterschieden, welche sich in humanem Atemwegsexhalat (engl.: Exhaled Breath, EB) nachweisen lassen [34]. Erstens: Monoxide (z.B. Stickstoffmonoxid (NO) oder Kohlenstoffmonoxid (CO)), deren Bestimmung bereits im klinischen Alltag angewendet wird [34]. Als Beispiel ist die Bestimmung von fraktioniertem exhalierendem Stickstoffmonoxid (FeNO) bei Patienten mit Asthma bronchiale zu nennen, welche ein Bestandteil der Diagnostik und Verlaufskontrolle der Krankheit ist [23, 136]. Zweitens: In flüssiger Phase gelöste Moleküle, welche direkt im Atemwegskondensat (engl.: Exhaled Breath Condensate, EBC) nachgewiesen werden können. Drittens: Flüchtige organische Substanzen (VOCs), welche indirekt mittels chemischer Mustererkennung und direkt über spektrometrische Verfahren detektiert werden können [34]. Die Gesamtheit aller via Ausatemluft emittierten VOCs wird auch als 'Exhalom' bezeichnet [239].

Darüber hinaus ist die VOC-Analyse einer Vielzahl weiterer gasförmiger Proben, beispielsweise ausgehend vom gasförmigen Überstand (Headspace) von Urin [14, 15] oder Faeces [41, 67, 204] mittels elektronischer Nasen von medizinwissenschaftlichem Interesse. Ferner werden VOCs, beispielsweise ausgehend von Bakterien, Viren und Pilzen, unter mikrobiologischen und/oder klinischen Fragestellungen durch elektronische Nasen erforscht [2, 63, 151, 187]

1.4.2 Gaschromatographie mit Massenspektrometrie (GC-MS)

Mit der Massenspektrometrie ist es möglich, geladene Ionen im Vakuum zu messen. Zu analysierende Substanzen werden verflüchtigt und beispielsweise mit radioaktiver Strahlung ionisiert. Durch ein elektrisches Feld werden die ionisierten Teilchen beschleunigt. Eine Auftrennung der Ionen erfolgt anhand des Verhältnisses von Masse zu Ladung. Hierbei kann eine Differenzierung der Ionen anhand der Parameter Massenauflösung und Massengenauigkeit erfolgen [144]. Oftmals wird eine Vortrennung durch Gaschromatographie mit der Massenspektrometrie kombiniert (GC-MS) [76]. Für die Analyse von VOCs gilt die GC-MS als Goldstandardmethode [89].

1.4.3 Cyranose® 320

Mit Hilfe der elektronischen Nase Cyranose® 320 war es bisher bereits gelungen, Atemwegsexhalat von Schlafapnoepatienten signifikant gegenüber Atemwegsproben gesunder Probanden zu unterscheiden [76, 105], ebenso gelang die signifikante Unterscheidung von OSAS-Patienten gegenüber Patienten mit OSAS und gleichzeitigem Vorliegen einer chronisch-obstruktiven Lungenerkrankung (COPD) [78].

Weiterhin ist in der Literatur die Unterscheidung von Atemwegsprofilen mittels Cyranose® 320 im Rahmen von Asthma bronchiale [80, 90], Sarkoidose [75], malignem Mesotheliom [55], amyotropher Lateralsklerose [77] oder rheumatischen Erkrankungen [48] beschrieben. Eine signifikante Gruppentrennung zwischen Patienten und gesunden Kontrollprobanden konnte darüber hinaus durch die mittels Cyranose® 320 durchgeführte Headspace-Analyse von Atemwegskondensat bei COPD [109] sowie von Stuhlproben von Patienten mit kolorektalem Karzinom (KRK) [67] oder mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen [66] demonstriert werden.

Innerhalb der Cyranose® 320 befinden sich 32 Dünnschicht-Kohlenstoff-Polymer-Chemiresistoren. Sie sind auf einem Nanoverbund-struktur-‘NoseChip‘ angeordnet, der auf konstanter Temperatur gehalten wird. Die einzelnen Polymere unterscheiden sich in ihrer Zusammensetzung und reagieren demnach unterschiedlich auf ein jeweiliges Gasgemisch, wobei sie

chemische in elektrische Signale umwandeln [109, 158]. Die in einem Gasgemisch wie der Ausatemluft vorhandenen flüchtigen organischen Verbindungen, (VOCs) treten über ihre molekularen Charakteristika wie Masse, Ladung, Polarität oder chemische Bindungseigenschaften in Interaktion mit den Sensoren der Cyranose® 320. Sobald die Exhalat-Probe, die im Gerät verbaute Polymer-Matrix passiert, führt dies zu einer Änderung des Gleichstromwiderstands eines jeden Sensors. Die gemessenen Widerstandsänderungen werden nach einem speziellen Algorithmus für Muster-Analyse verarbeitet, wodurch in Echtzeit ein für jeden Patienten individuelles VOC-Muster (sog. 'Smellprint' oder 'Breathprint') seiner Ausatemluft erstellt wird [89, 144, 158].

Die Widerstandsänderungen der Sensoren (dR) lassen sich in der Formel

$$dR = \frac{(R_s - R)}{R} \quad (1)$$

ausdrücken, wobei R_s die Sensorantwort auf die Exhalat-Probe wiedergibt und R das Signal gegenüber der gereinigten Referenzluft. Die untere Nachweisgrenze der Cyranose® 320 für VOCs liegt bei circa 0.1 ppm (parts per million) [33, 74].

Anhand der erstellten 'Breathprints' lässt sich eine quantitative Aussage über das vom Studienteilnehmer abgeatmete Exhalat bzw. den darin enthaltenen VOCs treffen. Dieses Muster kann mit den Mustern anderer Studienteilnehmer verglichen werden. Einzelne VOCs können mit der Cyranose® 320 nicht explizit detektiert bzw. identifiziert werden, weshalb eine qualitative Prüfung nicht möglich ist [109, 250].

Um die in VOC-Mustern der Cyranose enthaltenen Informationen analysieren zu können, werden statistische Algorithmen zur Musteranalyse (sog. 'Pattern Recognition Algorithms') angewandt [215]. Hierzu werden unter anderem die Hauptkomponentenanalyse (PCA) [75] oder künstliche neuronale Netzwerke (ANN) [183] genutzt [144]. Ebenfalls können Analyse und Klassifikation der durch die Cyranose® 320 erfassten Rohdaten durch das Erstellen von 'Tree Models' erfolgen [207].

1.4.4 Ionenmobilitätsspektrometrie (IMS)

Bezüglich der Analyse von Atemwegsexhalat mittels Ionenmobilitätsspektrometrie (IMS) sind in der Literatur signifikante Unterscheidungen gesunder Probanden gegenüber Patienten mit COPD [4, 30, 31, 266], Lungenkrebs [107, 265], chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen [11], hepatischer Enzephalopathie [13], Alzheimer-Krankheit oder Morbus Parkinson postuliert [18].

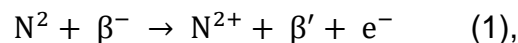
Darüber hinaus sind signifikante Gruppentrennungen mittels Ionenmobilitätsspektrometrischer Analyse von Urin-Headspace im Rahmen von chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen [15], kolorektalem Karzinom [14] und Fettlebererkrankungen [12] beschrieben.

Das Prinzip der Ionenmobilitätsspektrometrie [21, 53, 84, 85, 237] wurde 1970 erstmalig von Cohen und Karasek [59] beschrieben. Zu medizinwissenschaftlichen Forschungszwecken wird die Methode als nichtinvasives Messverfahren zur Analyse von anthropogenen flüchtigen organischen Substanzen (VOCs) genutzt. Ionen eines Gasgemischs können mit der Ionenmobilitätsspektrometrie bei Umgebungsdruck und Raumtemperatur anhand ihrer Mobilitätseigenschaften innerhalb weniger Minuten und bereits ab einer sehr niedrigen Nachweisgrenze (ng- bis pg-, ppm_v - ppt_v-Bereich) [22] detektiert werden. Innerhalb eines Ionenmobilitätsspektrometers wird ein sogenannter Ionisationsraum, in welchem Ionisierungsprozesse stattfinden, von einem Kompartiment unterschieden, in dem Ionen entlang eines elektrischen Feldes wandern und welches im Folgenden als Driftraum bezeichnet wird. Die beiden Kompartimente werden durch ein Schaltgitter getrennt, welches sich periodisch öffnet, sodass Ionen in den Driftraum gelangen können. Der Driftraum ist durch ein Aperturgitter von einer als Detektor fungierenden Faraday-Platte getrennt, an der beim Auftreffen von Ionen Signale erzeugt werden.

In den Ionisationsraum wird Trägergas eingespeist, dessen darin enthaltene Moleküle mit Hilfe einer Ionisationsquelle ionisiert werden. Zur Ionisation werden unter anderem radioaktive Strahlungsquellen (z.B. β -emittierendes

Nickel-63 [85], β -emittierendes Tritium (^3H) [157], α -emittierendes Americium-241) [198], UV-Strahlungsquellen [156, 238] oder Atmospheric Pressure Photo Ionization (APPI) [154] verwendet.

In dem für die Studie genutzten Ionenmobilitätsspektrometer diente eine 550 MBq radioaktive 63-Nickel-Strahlungsquelle unter Emittieren von β -Teilchen zur Ionisierung der im hier verwendeten Trägergas (AlphagazTM-1, Air Liquide Deutschland GmbH, Düsseldorf) vorhandenen Stickstoffmoleküle, was sich in folgender Formel ausdrückt:



wobei β' einem β -Teilchen mit verringerter Energie entspricht [191, 237]. Die Trägergasmoleküle werden somit direkt von β -Teilchen ionisiert [21].

Die ionisierten Stickstoffmoleküle reagieren nun mit den im Trägergas vorhandenen Wassermolekülen, was im Wesentlichen zur Bildung von $(\text{H}_2\text{O})\text{NO}^+$ (Stickstoffmonoxidionen), $(\text{H}_2\text{O})\text{NH}_4^+$ (Ammoniakionen) und $(\text{H}_2\text{O})\text{H}^+$ (Wasserstoffionen) führt [134, 237]. Letztere stellen den Hauptbestandteil der ionisierten Moleküle innerhalb eines IMS-Spektrums dar, was sich als sogenannter Reaktionsionenpeak darstellt (Abbildung 1).

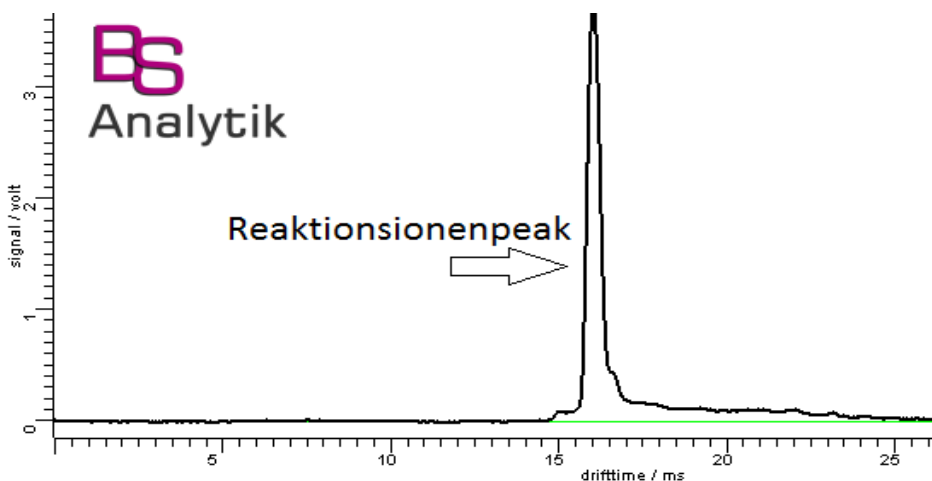


Abbildung 1: Reaktionsionenpeak dargestellt in Software VoCan 2.4 (B&S Analytik GmbH, Dortmund). X-Achse: Driftzeit (ms), Y-Achse Signalintensität (1/Volt). Abbildung mit freundlicher Genehmigung der B&S Analytik GmbH, Dortmund.

Gebildete Wasserstoffionen $(\text{H}_2\text{O})\text{H}^+$ (positive Ladungsträger) und e^- (negative Ladungsträger) werden als Reaktionsionen bezeichnet, da sie die Moleküle eines über ein Probeneinlasssystem in den Ionisationsraum gelangenden Analyten mittels Protonentransfer ionisieren [237]. So kann es sich bei Analyten beispielsweise um Atemwegsexhalat oder um Headspace-Proben handeln. Die Analytmoleküle (A), zumeist organische Verbindungen mit funktionellen Gruppen, besitzen in der Regel eine höhere Protonenaffinität als beispielsweise Wasserstoff-Reaktionsionen, was zur Bildung von Analytionen (AH^+) u.a. durch Protonentransfer führt [237]. Exemplarische Darstellung einer Protonentransfer-Reaktion am Beispiel von Wasserstoff-Reaktionsionen:



Die Analytionen gelangen nach Passieren des Schaltgitters in den Driftraum, in welchem sie sich innerhalb eines homogenen elektrischen Feldes entlang der Feldlinien in Richtung Detektor-Elektrode bewegen. Die Homogenität des hier vorherrschenden elektrischen Feldes wird über eine Kette von elektrischen Widerständen gewährleistet, die über Metallringe miteinander verbunden sind [241]. Im Driftraum strömt den Ionen ein sogenanntes Driftgas entgegen, was die Ionen, abhängig von Struktur und Masse, mit Driftgasmolekülen kollidieren lässt. Die Ladung der Moleküle im Driftgas ist hierbei neutral. So gelingt es, Ionen gleicher Ladung, aber mit unterschiedlicher Masse oder Struktur, zu trennen. Je nach Anzahl der Zusammenstöße mit den Driftgasmolekülen, erreichen die jeweiligen Ionen eine unterschiedliche mittlere Geschwindigkeit und benötigen demnach unterschiedlich lange, um die definierte Driftstrecke vom Schaltgitter bis zur Faraday-Platte (im vorliegenden Fall 12 cm) zurückzulegen. Hierdurch können Ionen identischer Ladung, aber differierender Masse und Struktur anhand ihrer Mobilitätseigenschaften unterschieden werden [237]. Für jedes Analytion lässt sich eine charakteristische Driftzeit in Millisekunden messen. Die Driftzeit gilt als Maß für die Mobilität eines Ions im vorliegenden Gas [53].

Bevor die Ionen am Detektor (Faraday-Platte) auftreffen, passieren sie ein Aperturgitter, welches der kapazitiven Entkopplung der Faraday-Platte von

den sich annähernden Ladungsträgern dient [261]. Beim Auftreffen der Ionen auf den Detektor wird ein Signal erzeugt, welches durch einen Strom-Spannungswandler verstärkt wird [237]. Die hierbei erzeugte Signalintensität eines jeden Analyten kann in Kombination mit dessen Mobilitätseigenschaften als 'Peak' per Software visualisiert und analysiert werden [38-40].

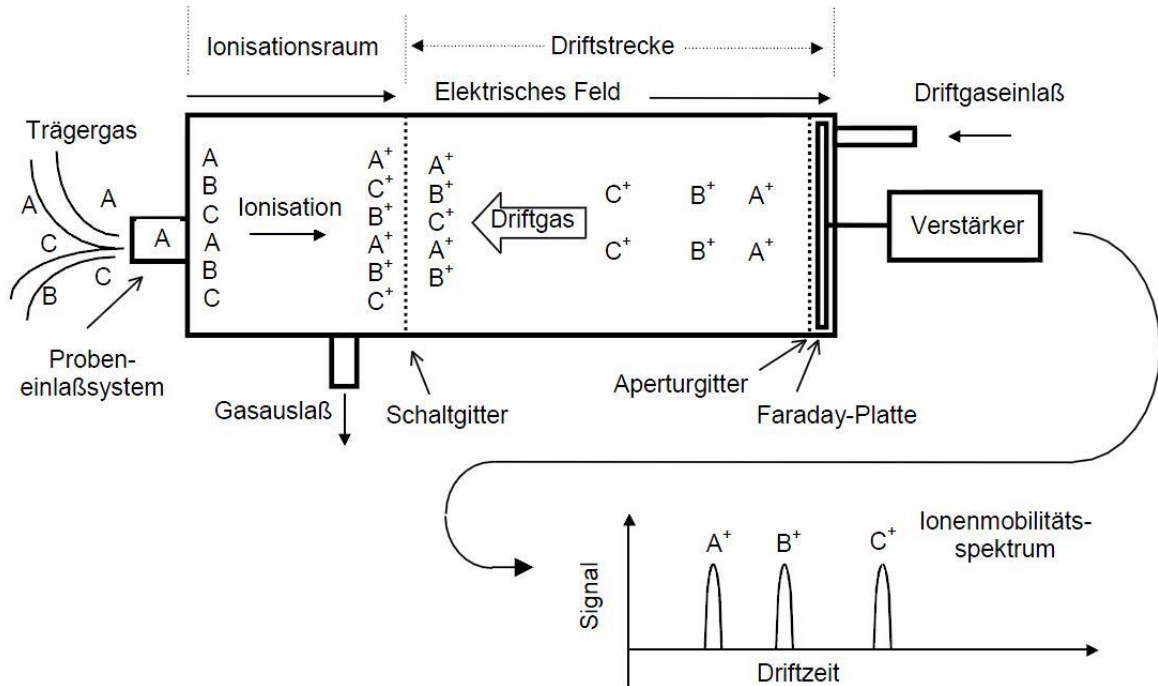


Abbildung 2: Ionenmobilitätsspektrometer in schematischer Darstellung [237].
Abbildung mit freundlicher Genehmigung von Prof. Dr. rer. nat. Stefanie Sielemann, Hamm.

Die Ionenmobilitätsspektrometrie wird häufig mit weiteren Trennverfahren kombiniert, da viele Analyten innerhalb komplexer Gasgemische eine annähernd gleiche oder identische Ionenmobilität aufweisen [62]. So erfüllt die Ionenmobilitätsspektrometrie in Kombination mit nachgeschalteter Massenspektrometrie (IM-MS) die Funktion eines Vorfilters [132]. Eine Vortrennung der Analyten kann stattdessen über eine dem Ionenmobilitätsspektrometer vorgeschaltete Gaschromatographie (GC) [4], Flüssigchromatographie (Liquid Chromatography, LC) [271] oder per Multikapillarsäule (MCC, engl.: Multi Capillary Column) [31, 145, 237] erfolgen.

Eine Multikapillarsäule (MCC) ermöglicht eine effiziente

gaschromatographische Vortrennung der Analyten innerhalb von Sekunden und dient so der Vermeidung von Peak-Überlagerungen und unerwünschten Ionisationsreaktionen. Die Zeit, die die einzelnen Analyten benötigen, um die MCC zu durchwandern, wird als Retentionszeit (RT) in Sekunden registriert und dient ebenfalls zur Charakterisierung und Identifikation flüchtiger Substanzen. [20, 38-40, 53]. Darüber hinaus reduziert die Multikapillarsäule störende Einflüsse von Feuchtigkeit bei Proben, die eine hohe relative Feuchte aufweisen, wie beispielsweise Ausatemluft [21, 230].

VOCs lassen sich mittels MCC-Ionenmobilitätsspektrometrie sowohl quantitativ erfassen als auch qualitativ bestimmen [49, 144]. Die Identifikation einzelner Analyten durch Zuordnung zu konkreten chemischen Substanzen ist durch Abgleich mit Referenzdatenbanken möglich [144]. Hierbei kann durch Abgleich der Datensätze von MCC-IMS und GC-MS mit Hilfe entsprechender Softwareprogramme eine automatische Identifikation von IMS-Analyten erfolgen, wodurch die Präzision der VOC-Analyse von IMS-Chromatogrammen entscheidend erweitert wird [174].

Neben der in der vorliegenden Studie verwendeten MCC-IMS, gibt es eine Reihe weiterer Untertypen von Ionenmobilitätsspektrometern [62, 132], beispielsweise Drift Time Ion Mobility Spectrometer (DTIMS), Travelling-Wave-IMS (TWIMS), Field Asymmetric Ion Mobility Spectrometer (FAIMS), Trapped IMS (TIMS), Open Loop IMS (OLIMS), Differential Mobility Analysers (DMA), Transversal Modulation IMS (TMIMS) oder Overtone Mobility Spectrometers (OMS). Ebenfalls kommen tragbare IMS-Systeme zum Einsatz, zum Beispiel in der Point-of-Care-Diagnostik vaginaler Infektionen [36, 240].

1.5 Atemwegskondensat (EBC)

Das Sammeln von Atemwegskondensat (engl.: Exhaled Breath Condensate, EBC) stellt eine einfach durchzuführende, nicht-invasive und kostengünstige Methode dar, um biologisches Sekret aus den Atemwegen zu gewinnen. Atemwegskondensat repräsentiert die flüssige Phase unserer Ausatemluft [184]. In seiner Zusammensetzung ähnelt EBC teilweise dem das

Atemwegsepithel auskleidenden Flüssigkeitsfilm (engl.: Airway Lining Fluid) [42, 143]. Die Analyse von flüssigem EBC betreffend, ist in der Literatur der Nachweis non-volatiler Substanzen beschrieben, die mit einer Inflammation der Atemwege in Verbindung stehen, beispielsweise Interleukine, Prostaglandine oder Leukotriene bei Patienten mit COPD [224] oder Asthma [185, 235]. Auch die Inflamationsprozesse im Rahmen des Obstruktiven Schlafapnoesyndroms sind aktueller Forschungsgegenstand bei der Analyse von Atemwegskondensat [6, 52, 161]. Einen relativ neuen Forschungsansatz stellt die VOC-Analyse von gasförmigem EBC-Headspace dar [109].

1.6 Rachenspülwasser

Um biologisches Material aus den oberen Atemwegen zu gewinnen, ist das Sammeln von Rachenspülwasser (engl.: Pharyngeal Washings, PW) ein unkompliziertes und nicht-invasives Verfahren. In der Literatur wird die Analyse von Rachenspülwasser aufgrund unterschiedlicher Fragestellungen und anhand verschiedener Methoden beschrieben. Zu nennen sind exemplarisch der Nachweis von Pathogenen mittels Bakterienkultur bei fieberhaftem respiratorischen Infekt [160], der Nachweis von Bakterien-DNA mittels PCR bei Pneumonie [147], der Nachweis bakterieller Oberflächenstrukturen mittels Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) [279] sowie der Nachweis von Immunglobulin A (IgA) bei Patienten mit Diabetes [83] und IgA-Nephropathie [252, 274] mittels Laser-Nephelometrie und radialer Immundiffusion. Auch zum Nachweis epithelialer antibakterieller Peptide bei COPD-Patienten wurde Rachenspülwasser bereits analysiert. Hierbei konnte innerhalb des Rachenspülwassers mittels ELISA eine signifikant niedrige Konzentration protektiver Defensine in Assoziation zu Nikotinabusus nachgewiesen werden, was in der Entstehung ambulant erworbener Pneumonien bedeutsam zu sein scheint [114].

1.7 Fragestellung

Die Diagnostik schlafbezogener Atmungsstörungen ist nach wie vor

kostspielig, arbeitsintensiv und zeitaufwändig. Moderne Neuerungen im Rahmen der ambulanten Diagnostik erlauben eine ökonomischere Diagnosestellung, jedoch bleibt die Differenzialdiagnostik schlafbezogener Atmungsstörungen der (stationären) kardiorespiratorischen Polysomnographie (KRPSG) vorbehalten. Die Analyse flüchtiger organischer Substanzen (VOCs) mit Hilfe elektronischer Nasen stellt einen innovativen, vielversprechenden und nicht-invasiven Forschungsansatz für die medizinische Diagnostik dar. Mit Hilfe chemischer Mustererkennung bzw. Massenspektrometrie war es Greulich et al. (2013) und Dragonieri et al. (2015) gelungen, Atemwegsprofile von Patienten mit Obstruktiver Schlafapnoe gegenüber gesunden Probanden mit Hilfe elektronischer Nasen zu unterscheiden [76, 105].

In der vorliegenden Arbeit wurde erstmals der Stellenwert der Ionenmobilitätsspektrometrie in der Untersuchung der Ausatemluft (EB) von Patienten mit Obstruktivem Schlafapnoesyndrom im Vergleich mit gesunden Kontrollen eruiert. Darüber hinaus erfolgte die VOC-Analyse des gasförmigen Überstands (Headspace) von Atemwegskondensat (EBC), Rachenspülwasser (PW) und zentrifugiertem Serum. Folgende Fragestellungen standen im Fokus:

- 1) Ist eine Gruppentrennung zwischen OSAS-Patienten und Kontrollprobanden (in der vorliegenden Studienpopulation) anhand der VOC-Analyse von Atemwegsexhalat mittels Ionenmobilitätsspektrometrie und Cyranose® 320 möglich?
- 2) Gelingt diese auch aus den Headspace-Messungen über Atemwegskondensat, Rachenspülwasser und Serum durch die Ionenmobilitätsspektrometrie und Cyranose® 320?
- 3) Lassen sich die via IMS detektierten flüchtigen organischen Substanzen mit Hilfe von Datenbanken identifizieren?
- 4) Lassen sich anhand laborchemischer Parameter im Serum Unterschiede zwischen OSAS-Gruppe und Kontrollgruppe nachweisen?

2 Methodik

2.1 Untersuchungspopulation

In einer prospektiven, diagnostischen Querschnittstudie wurden zwei Gruppen miteinander verglichen, zum einen Patienten mit Obstruktivem Schlafapnoesyndrom (OSAS), zum anderen gesunde Kontrollprobanden (Healthy Controls, HC). Patienten mit OSAS wurden über das interdisziplinäre schlafmedizinische Zentrum am Universitätsklinikum Marburg rekrutiert. Im Vorfeld der Rekrutierung erfolgte eine Durchsicht der Patientenakten einschließlich ambulant erhobener Polygraphiebefunde. Eingeschlossen wurden Patienten im Alter von 45 bis 65 Jahren, einem Body-Mass-Index (BMI) von 25 bis 35 kg/m², einem ambulant erhobenen Apnoe-Hypopnoe-Index (AHI) von > 15/h und einem Fragebogen-Punktwert der Epworth Sleepiness Scale (ESS) von > 12. Nicht an der Studie teilnehmen durften Patienten bei aktivem Nikotinkonsum (weniger als ein Jahr zurückliegend), mit Erkrankungen der oberen und unteren Atemwege, bei Atemwegsinfekt (vorausgehend vier Wochen vor Studienteilnahme) und bei entzogener Zustimmung.

Alle Patienten wurden während ihres stationären Aufenthalts im Schlaflabor des Universitätsklinikums Marburg über die Studie informiert, aufgeklärt und rekrutiert. Im Rahmen dieses stationären Aufenthalts wurde, unabhängig von der Studie, bei jedem Patienten eine Polysomnographie (PSG) durchgeführt. Diese diente der weiteren Abklärung einer erhöhten Tagesschläfrigkeit, der auffälligen ambulant erhobenen Apnoe-Hypopnoe-Indices sowie zur Verifizierung und Diagnosestellung einer schlafbezogenen Atmungsstörung (SBAS). Eine ausführliche Anamnese sowie körperliche Untersuchung wurden am Aufnahmetag vom diensthabenden Stationsarzt des Schlaflabors durchgeführt.

Gesunde Probanden wurden im Kreise von Mitarbeitern des Universitätsklinikums Marburg rekrutiert sowie über Aushänge und Flyer. Eingeschlossen wurden Probanden im Alter von 45 bis 65 Jahren, einem

Body-Mass-Index von 25 bis 35, einem ambulant erhobenen Apnoe-Hypopnoe-Index (AHI) von $< 5/h$ und einem Fragebogen-Punktwert der Epworth Sleepiness Scale (ESS) von < 10 . Für gesunde Probanden wurden dieselben Ausschlusskriterien angewandt wie für Patienten mit OSAS. Sämtliche Probanden waren bereit, sich einer ambulanten Polygraphie zu unterziehen. Für die darüber hinaus stattfindenden Messungen fand eine einmalige Visite der Studienteilnehmer im Alpha-1-Antitrypsin-Zentrum des Universitätsklinikums Marburg statt, deren zeitlicher Aufwand ca. 75 bis 90 Minuten betrug.

Die Rekrutierung der Studienpopulation erfolgte im Zeitraum von Juni 2013 bis März 2015. Initial wurden 21 Patienten sowie 25 Probanden gescreent. Aufgrund der genannten Ein- und Ausschlusskriterien erfolgte der Ausschluss von jeweils 6 Patienten und 10 Probanden, sodass pro Gruppe jeweils 15 Studienteilnehmer beider Geschlechter eingeschlossen wurden (*siehe Abbildung 3*). Da aufgrund des weitgehenden Fehlens von Vordaten keine formale Fallzahlberechnung möglich war, orientierte sich die Fallzahl dieser Pilotstudie an der Durchführbarkeit des Projektes.

Die Teilnahme an der Studie samt Probenahme erfolgte nach vorheriger ärztlicher Aufklärung und schriftlich dokumentiertem Einverständnis der Studienteilnehmer (*siehe auch Anhang 1: 'Einwilligungserklärung'*). Alle personenbezogenen Daten wurden anonymisiert und in den Forschungseinrichtungen der Klinik für Innere Medizin mit Schwerpunkt Pneumologie am Universitätsklinikum Marburg aufbewahrt.

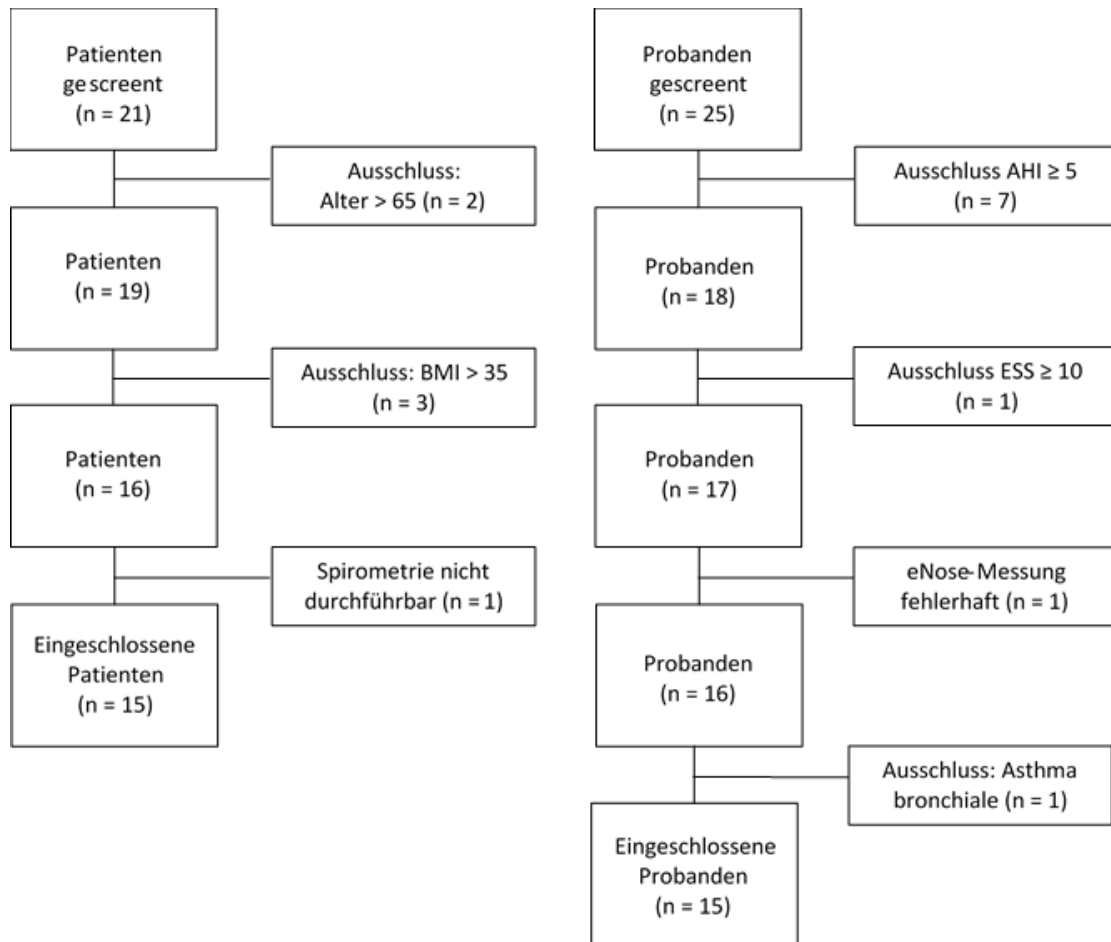


Abbildung 3: Rekrutierung der Studienpopulation: Trial Flow.

2.2 Methoden

2.2.1 Studienablauf

Sämtliche Studienteilnehmer wurden anamnestiziert sowie körperlich und mittels Polygraphie untersucht. Mit einer Ausnahme erhielten alle Patienten während ihres stationären Aufenthalts zusätzlich eine polysomnographische diagnostische Untersuchung. Bei einem Patienten wurde unmittelbar eine Therapieeinleitung durchgeführt. Für die Studie wurden im Rahmen einer einmaligen Visite Atemtests mittels Ionenmobilitätsspektrometrie (BioScout-IMS, B&S Analytik GmbH, Dortmund) und Cyranose® 320 (Sensigent, Baldwin Park, Kalifornien, USA) durchgeführt. Außerdem erfolgte eine Spirometrie (MasterScreen® Body, CareFusion Germany GmbH, Höchberg, Deutschland), eine Blutentnahme, das Sammeln von Rachenspülwasser (PW) sowie die Gewinnung von Atemwegskondensat (EBC; Ecoscreen Turbo©, CareFusion Germany GmbH, Höchberg; MEDIVAC, Parma, Italien). Vor sämtlichen an der Visite durchgeführten Tests und Messungen waren die Teilnehmer über einen Zeitraum von mindestens zwei Stunden nüchtern geblieben, was sowohl den Verzicht auf Essen und Trinken, als auch den Verzicht auf Kaugummis, Bonbons oder Ähnliches voraussetze.

2.2.2 Ambulante Polygraphie

Im Rahmen der schlafmedizinischen Routinediagnostik bekam jeder Patient ein ambulantes Polygraphie-Gerät (SomnoCheck® / SomnoCheck® effort, Weinmann Geräte für Medizin GmbH + Co. KG, Hamburg bzw. Embletta® Gold, Embla systems Kantana, Ontario, Kanada) ausgehändigt, welches für eine Nacht in der häuslichen Umgebung angelegt wurde. Jeder gesunde Proband erhielt zum sicheren Ausschluss eines Obstruktiven Schlafapnoesyndroms (OSAS) ebenfalls für eine Nacht eine Diagnostik via Somno-Check® (Weinmann Geräte für Medizin GmbH + Co. KG, Hamburg). Hierbei werden Atemfluss und Schnarchereignisse mittels Nasenbrille in Kombination mit einem Staudrucksensor aufgezeichnet. Die Messung von Pulsfrequenz und Sauerstoffsättigung (SpO₂) erfolgt via Pulsoxymeter am

Zeigefinger. Ein Lagesensor ermittelt die Lage des Studienteilnehmers im Schlaf [91].

Klassifizierung und Quantifizierung der Atmungsereignisse erfolgten, unabhängig vom eingesetzten ambulanten Polygraphie-Gerät, visuell durch geschulte medizin-technische Assistenten des schlafmedizinischen Zentrums des Universitätsklinikums Marburg.

2.2.3 Polysomnographie (PSG)

Sämtliche Polysomnographien wurden im schlafmedizinischen Zentrum des Universitätsklinikums Marburg mit den in der klinischen Routine verwendeten Systemen Embla® N7000 (Embla® Systems, TNI® Medical AG, Würzburg) und Alice® 5 (Philipps Respiroics®, Herrsching) durchgeführt. Die Auswertung aller PSG-Aufzeichnungen erfolgte standardisiert durch erfahrene medizin-technische Assistenten. Hierbei wurden Atemfluss, Arousals und Schlafstadien sowie Atmungsstörungen und Beinbewegungen visuell klassifiziert und quantifiziert. Mittlere Herzfrequenz und periphere Sauerstoffsättigung wurden automatisch aufgezeichnet und ausgewertet.

2.2.4 Epworth Sleepiness Scale (ESS)

Die Epworth-Schläfrigkeitsskala (engl.: Epworth Sleepiness Scale, ESS) ist ein als Fragebogen konzipiertes Instrument, mit dem das Symptom Tagesschläfrigkeit subjektiv gemessen, quantifiziert und somit zwischen einzelnen Patienten oder zwischen Patientengruppen verglichen werden kann. Vorgestellt wurde die Skala 1991 vom Australier Murray W. Johns [125]. Die in Marburg für die Studie eingesetzte deutsche Übersetzung des Fragebogens (Version 2.0 / 09.06.2008; *siehe auch Anhang 2: 'Epworth-Schläfrigkeitsskala'*) entspricht weitgehend der von der Deutschen Gesellschaft für Schlafforschung und Schlafmedizin (DGSM) online bereitgestellten Version (19.07.2007) [72]. In Bezug auf schlafbezogene Atmungsstörungen (SBAS) findet die Skala sowohl Anwendung als Screening-Instrument zur Erfassung einer Hypersomnie / Müdigkeit am Tage, als auch zur Beurteilung der Tagesschläfrigkeit im Verlauf einer Therapie.

Der Fragebogen besteht aus acht Items, die Situationen aus dem Alltagsleben beschreiben, in welchen ein unabsichtliches Einnicken typisch ist. Jeder beschriebenen Situation ist gemein, dass sie mit einer gleichförmigen Tätigkeit oder einer limitierten körperlichen Anstrengung einhergeht. Der Patient beurteilt die Wahrscheinlichkeit, in der jeweiligen Alltagssituation einzunicken bzw. einzuschlafen, anhand eines Punktwerts von 0 (würde niemals einnicken) bis 3 (hohe Wahrscheinlichkeit einzunicken) [196] (S. 378 f.). Die angegebenen Zahlenwerte der acht Items werden als Summe addiert. Es kann ein Gesamtscore von 0-24 Punkten erzielt werden. In der hier durchgeführten Studie wurden Patienten mit OSAS ab einem ESS-Punktwert von > 12 eingeschlossen, gesunde Probanden bei einem Punktwert von < 10 . Alle Teilnehmer füllten ihren ESS-Fragebogen selbstständig aus.

2.2.5 Spirometrie

Um ergänzend zur Anamnese eine restriktive oder obstruktive Atemwegserkrankung auszuschließen, wurde mit jedem Studienteilnehmer eine Spirometrie (MasterScreen® Body, CareFusion Germany GmbH, Höchberg, Deutschland) gemäß ERS/ATS-Standard durchgeführt [180]. Die folgenden Werte wurden in den CRF (Case Report Form) übernommen: Vitalkapazität (VC), Einsekundenkapazität (FEV1) und Tiffeneau-Index (Quotient aus FEV1 und VC).

2.2.6 Blutentnahme

Die Blutentnahme erfolgte mittels peripherer Venenpunktion mit Safety-Multifly©-Kanülen (Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland). Jedes Labor umfasste neben einem kleinen Blutbild die Bestimmung von Elektrolyten, Blutglukose, Kreatinin, C-reaktivem Protein (CRP) sowie den Zytokinen Interleukin-6 (IL-6), Interleukin-8 (IL-8) und Tumornekrosefaktor- α (TNF- α). Zusätzlich wurden zwei Serum-Monovetten (S-Monovette® 4,9ml, Serum/Gel 90x13mm, Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland) abgenommen, deren Serumüberstand nach

10-minütiger Zentrifugation bei 3200 rpm (Varifuge® 3.2 RS, Heraeus Sepatech Holding GmbH, Hanau, Deutschland) in 1,5ml-Mikroreaktionsgefäße (Typ 3810X Eppendorf Tubes®, Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland) abpipettiert (Pipette Gilson Pipetman®; Pipettenspitzen Pipetman® Tips Diamond, Gilson Inc, Middleton, Wisconsin, USA), mit Parafilm®-Verschlussfolie (Pechiney Plastic Packaging, Chicago, USA) abgedichtet und bei -80°C eingefroren und gelagert wurde.

2.2.7 Rachenspülwasser

Nach Ausspülen des Mundraums mit handelsüblichem Mineralwasser (Förstina Sprudel Premium Glasflasche, Ehrhardt & Sohn GmbH & Co, Eichenzell-Lütter) erhielt jeder Studienteilnehmer 25ml Leitungswasser, die er für 10 Sekunden tief im Rachen gurgelte. Das hierbei gesammelte Rachenspülwasser (engl.: Pharyngeal Washings, PW) wurde auf zwei 15-ml-Röhrchen (konischer Boden, Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen) aufgeteilt, mit Parafilm® (Pechiney Plastic Packaging, Chicago, USA) verschlossen, bei -80°C eingefroren und bis zur weiteren Analyse gelagert.

2.2.8 Atemwegskondensat (EBC)

Ebenfalls nach Ausspülen des Mundraums erfolgte das Sammeln von Atemwegskondensat (engl.: Exhaled Breath Condensate, EBC) mittels EcoScreen Turbo© (CareFusion Germany GmbH, Höchberg; Verbrauchsmaterial DECCS 04 ST, REV. 01, Medivac, Parma, Italien), indem die Patienten bzw. Probanden für 15 Minuten in Ruhe mit mittlerem Atemzugvolumen in das Mundstück des Geräts ein- und ausatmeten. Hierbei war eine Nasenklammer zu tragen. Das Kondensat der warmen Ausatemluft wurde in einem mit dem Mundstück durch ein Sammelrohr verbundenen, auf -4°C gekühlten 50-ml-Röhrchen aufgefangen. Jeder Teilnehmer wurde explizit darauf hingewiesen, die Probe an Atemwegskondensat nicht mit Speichel zu verunreinigen. Zum Schlucken oder Abwischen von Speichel durfte kurzzeitig vom Mundstück abgesetzt werden. Nach Pipettieren (Pipette Gilson Pipetman®; Pipettenspitzen Pipetman® Tips Diamond, Gilson Inc,

Middleton, Wisconsin, USA) in 1,5-ml-Mikroreaktionsgefäße (Typ 3810X Eppendorf Tubes®, Eppendorf AG, Hamburg) erfolgte die Lagerung des EBC bei -80°C. Abgedichtet wurden die Mikroreaktionsgefäße bis zur weiteren Analyse mit Parafilm® (Pechiney Plastic Packaging, Chicago, USA).

2.2.9 Cyranose® 320

Bei jedem Studienteilnehmer wurde eine Exhalat-Analyse mithilfe der elektronischen Nase Cyranose® 320 (Sensigent, Baldwin Park, Kalifornien, USA) durchgeführt. Während des durchgeführten Atemmanövers war eine Nasenklammer aufzusetzen. Eine Messreihe bestand aus drei Durchgängen. Zunächst inhalierten Patienten und Probanden über ein Mundstück medizinisch gereinigte Luft (Aer medicinalis Linde; Linde Gas Therapeutics GmbH, Unterschleißheim), welche zudem vor der Exhalat-Analyse für eine 60-sekündige Referenzmessung genutzt wurde. Nach der Inhalation wurde durch dasselbe Mundstück für 10 Sekunden mit einer Atemflussstärke von 100-200ml·s⁻¹ ausgeatmet [105]. Die Mundstücke wurden nach jeder Messreihe für 30 Minuten in gigasept® (Schülke & Mayr GmbH, Norderstedt) eingelegt, anschließend mit destilliertem Wasser gespült und luftgetrocknet. Um während des Ausatemvorgangs eine konstante Atemflussstärke zu gewährleisten, diente den Studienteilnehmern eine bei Exhalation ansteigende, gefärbte Wassersäule als optische Kontrolle. Die hierbei exhalierete Atemluft wurde in einem an das Mundstück anschließenden 10-Liter-Rubin-Kosmetik-Entsorgungsbeutel (Dirk Rossmann GmbH, Burgwedel) aufgefangen. Daraufhin folgte das Ansaugen des Beutelinhalts über eine 2-Zoll dicke Nadel aus Edelstahl ('Snout') der Cyranose® 320 zur Analyse des Atemwegsexhalats innerhalb der elektronischen Nase. Nach jeder Exhalat-Messung erfolgte eine 60-sekündige Spülmessung mit gereinigter Luft von einem vom Probenahme-System getrennten Spülsystem, um alle Sensoren der elektronischen Nase in ihren Ausgangszustand zurückzusetzen.

Parameter	Einstellung	Pump Speed
Baseline Purge	60s	Medium
Sample Draw	60s	Medium
Sample Draw 2	-	-
Snout Removal	3s	
1st Sample Gas Purge	0s	High
1st Air Intake	10s	High
2nd Sample Gas Purge	50s	High
Digital Filtering	On	
Substrate Heater	On / 42°C	
Training Repeat Count	1	
Identifying Repeat Count	1	
Sensors	32	
Algorithm	Calonical	
Proprocessing	Mean Centering	
Normalization	None	
Identification Quality medium	Medium	

Tabelle 1: Geräteeinstellungen der verwendeten Cyranose® 320

2.2.10 MCC-Ionenmobilitätsspektrometrie

Vor Beginn der Probenahme atmeten alle Studienteilnehmer in Ruhe für 10 Minuten Raumluft ein und aus. Zur Analyse von Atemwegsexhalat atmeten Patienten und Probanden in Ruhe direkt in das Mundstück (SpiroScout®-Spirette® Polyethylen, VE50. Ganshorn Medizin Electronic GmbH, Niederlauer) eines SpiroScout®-Spirometers (Ganshorn Medizin Electronic GmbH, Niederlauer), welches dem MCC-Ionenmobilitätsspektrometer (BioScout-IMS, B&S Analytik GmbH, Dortmund) vorgeschaltet war. Die Verbindung von SpiroScout® zu MCC-IMS wird hierbei über einen Teflon®-Schlauch (1/4", Bohlender GmbH, Lauda) hergestellt, welchen die jeweilige Probe mit Hilfe von Trägergas durchwandert.

Während der Durchführung des Atemmanövers war von den

Studienteilnehmern eine Nasenklammer zu tragen. Ein Atemflusssensor gewährleistete während des Atemmanövers die Probenahme eines definierten endtidalen expiratorischen Atemvolumens von 10 ml. Mittels eines in das SpiroScout®-Spirometer integrierten CO₂-Sensors konnte vom Studienteilnehmer ausgestoßene Expirationsluft registriert werden. Mit Hilfe der Software VoCan (Version 2.4, B&S Analytik GmbH, Dortmund) wurde ein definiertes Totraumvolumen von 500ml definiert und vor Probenahme verworfen.

Die verwendete Multikapillarsäule (MCC; Typ OV-5, Multichrom Ltd, Novosibirsk, Russland) besteht aus 1000 parallel angeordneten Kapillaren, die jeweils einen Innendurchmesser von 40 µm sowie eine Filmdicke von 200 nm aufweisen. Der Gesamtdurchmesser der Säule beträgt 3 mm. Die Temperatur der MCC beträgt konstant 40°C.

Parameter	Wert
Ionisationsquelle	63Ni 550 MBq
Elektrische Feldstärke	320 V/cm
Länge der Driftstrecke	120 mm
Durchmesser des Driftraums	15 mm
Länge des Ionisationsraums	15 mm
Öffnungszeit des Schaltgitters	300 µs
Impulsdauer des Schaltgitters	100 ms
Driftgas / Trägergas	Synthetische Luft (20.5% O ₂ (4.5), 79,5% N ₂ (5.0.)), puritiy 99,9% Air Liquide
Driftgas Flow	99 ml/min
Trägergas Flow	149 ml/min
Druck	101 kPa (Umgebungsdruck)
Multikapillarsäule (MCC)	OV-5, polar
Temperatur der MCC	40°C
Probenvolumen	10 ml

Tabelle 2: Geräteeigenschaften der verwendeten MCC-Ionenmobilitätsspektrometrie

2.2.11 Headspace

Mit den bei der Studie gesammelten Proben von Rachenspülwasser (PW), Atemwegskondensat (EBC) und zentrifugiertem Serumüberstand wurden sogenannte 'Headspace'-Messungen durchgeführt. Eine definierte Menge (600µl bzw. 500µl, s.u.) an Probenflüssigkeit wurde hierzu innerhalb einer mit einem 2-Ventil-Deckel abgedichteten 100ml Glasflasche (Schott DURAN Group GmbH, Mainz) im 37°C-Wasserbad erwärmt, bis es zum Verdampfen der Probe kam. Der gasförmige Überstand der Probe wurde nun mittels MCC-Ionenmobilitätsspektrometrie und nach abermaligem Verdampfen mittels Cyranose® 320 aufgenommen und analysiert.

Die Proben wurden nach der Entnahme aus einem -80°C kalten Kühlschrank bei Raumtemperatur aufgetaut. Es erfolgte das Pipettieren (s.o.) der jeweiligen Probe in eine 100-ml-Glasflasche, die zuvor im Wasserbad auf 37°C vorgewärmt wurde. Über den 2-Ventil-Deckel konnte über einen Plastikschauch eine Verbindung zum Trägergas (Alphagaz™-1, Air Liquide Deutschland GmbH, Düsseldorf) hergestellt werden, welches vor dem Aufdampfen der Probe dazu genutzt wurde, Raumluft aus der 100-ml-Glasflasche zu verdrängen. Dieser Vorgang wurde 30 Sekunden mit einem Druck von 0,6 bar durchgeführt, wobei das zweite Ventil nicht verschlossen war. Anschließend wurde das zweite Ventil mit einem Teflonschlauch abgedichtet, welcher die Verbindung zum Ionenmobilitätsspektrometer herstellte. Nach einer festgelegten Verdampfungszeit von 5 Minuten bzw. 2 Minuten (s.u.) wurde der gasförmige Überstand der jeweiligen Probe durch eine 20-sekündige Probenahme in das Ionenmobilitätsspektrometer eingezogen. Während der Probenahme durch das Ionenmobilitätsspektrometer wurde Trägergas mit einem Druck von 0,6 bar in die Glasflasche geleitet, um einen Unterdruck im System zu verhindern. Nach wiederholtem Aufdampfen der jeweiligen Probenflüssigkeit erfolgte eine 60-sekündige Probenahme des gasförmigen Überstands mittels Cyranose® 320 über die hierfür vorgesehene 2-Zoll-'Snout'-Nadel. Es wurde pro Probenmaterial eine einzelne Messung via IMS und Cyranose® 320 durchgeführt.

Zunächst erfolgte die Analyse von EBC mit einer definierten Probenmenge von 600µl pro Headspace-Messung und einer Verdampfungszeit von jeweils 5 Minuten für Cyranose® 320 und MCC-IMS. Zur Analyse von Rachenspülwasser und Serumüberstand wurden jeweils 500µl Probenmaterial in eine Glasflasche pipettiert, wobei die Verdampfungszeit für eine IMS-Messung 2 Minuten, für eine Cyranose®-Messung 5 Minuten betrug.

2.2.12 Allgemeine Auswertung

Sämtliche im Rahmen der klinischen Visite erhobenen Daten wurden in tabellarischer Form mithilfe der Software Microsoft® Excel (Microsoft Corporation, Redmond (Washington), USA) festgehalten.

Zur statistischen Auswertung und Beschreibung der Baseline-Charakteristika von OSAS,- und Kontrollgruppe (*siehe 3.1*) sowie zur Beschreibung der Werte von Polysomnographie (*siehe 3.2*), Spirometrie (*siehe 3.3*) und Laboruntersuchungen (*siehe 3.4*) wurden die Softwareprogramme Microsoft® Excel (Microsoft Corporation, Redmond (Washington), USA) sowie GraphPad Prism® Version 6.01 (GraphPad Software Inc., La Jolla, Kalifornien, USA) verwendet. Die hierbei erhobenen Variablen wurden zum Vergleich der zwei unabhängigen Stichproben mittels nichtparametrischem Mann-Whitney-U-Test auf Signifikanz überprüft. Für alle Tests wurde das Signifikanzniveau anhand eines p-Werts von ≤ 0.05 festgelegt. Für die entsprechenden Variablen wurde jeweils der Median mit zugehörigem Interquartilsabstand (IQR) berechnet. Der IQR entspricht der Differenz zwischen dem 75%-Quantil und dem 25%-Quantil.

2.2.13 Auswertung von MCC-IMS-Daten

Die Auswertung der durch die Ionenmobilitätsspektrometrie erhobenen Daten erfolgte in Zusammenarbeit mit dem Fachbereich für Angewandte Chemie der Hochschule Reutlingen (Forschungszentrum für Prozessanalytik und Metabolomik).

Visualisiert und analysiert wurden die in der hier durchgeführten Studie

erstellten IMS-Spektren und deren Peaks über die Software VisualNow (Version 3.4, B&S Analytik GmbH, Dortmund). Jeder von einem Analyten erzeugte Peak bzw. dessen Position im Spektrum kann durch dessen MCC-Retentionszeit (in s), dessen Driftzeit (in ms) und dessen Signalintensität (in Volt, V) charakterisiert werden. Um eine Vergleichbarkeit von Peaks innerhalb desselben Spektrums anhand von Driftzeiten zu ermöglichen, müssen potenzielle Einflussfaktoren normiert werden. Die Berechnung der sogenannten reduzierten Ionenmobilität K_0 (cm^2/Vs) normiert die Driftzeit anhand der Parameter elektrische Feldstärke, Länge der Driftstrecke, Druck und Temperatur (Standardbedingungen Druck = 1013,2 hPa und Temperatur = 273,2 K). Die inverse reduzierte Ionenmobilität $1/K_0$ (Vs/cm^2) ist hierfür proportional zur Driftzeit und ebenfalls normiert für die genannten Parameter [40, 130, 259]. Visualisiert werden kann ein IMS-Spektrum als zweidimensionales Chromatogramm, wobei die inverse reduzierte Ionenmobilität $1/K_0$ in Vs/cm^2 auf der X-Achse, sowie die Retentionszeit (RT) in Sekunden auf der Y-Achse aufgetragen wird. Zusätzlich wird die Signalintensität eines Peaks in $1/\text{Volt}$ angegeben, welche die erzeugte Spannung am Detektor (Faraday-Platte) wiedergibt und die Konzentration der flüchtigen Substanz repräsentiert. Signalintensitäten der Peaks werden auf einer farbkodierten Heatmap von weiß (0 = keine Intensität), blau (niedrige Intensität), rot (mittlere Intensität) bis gelb (1 = maximale Intensität) dargestellt. Ebenfalls ist die Darstellung eines IMS-Spektrums als dreidimensionales IMS-Chromatogramm möglich, wobei die Signalintensität eines Peaks auf der Z-Achse aufgetragen wird [40].

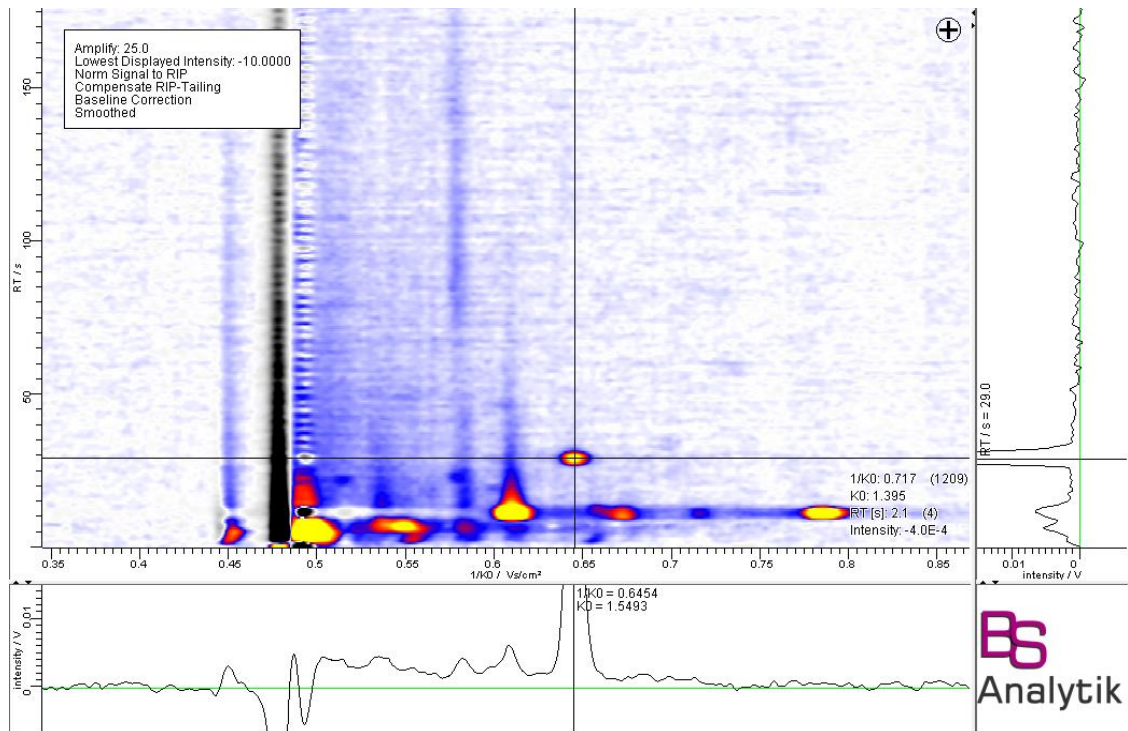


Abbildung 4: IMS-Chromatogramm des Patienten F38 dargestellt in Software VisualNow, Version 3.4 (B&S Analytik GmbH, Dortmund). Es wurden 91 VOC-Peaks bei OSAS-Patienten und gesunden Kontrollprobanden mittels MCC-IMS detektiert. Abbildung mit freundlicher Genehmigung der B&S Analytik GmbH, Dortmund.

Die Detektion der Peaks erfolgte zunächst händisch mit Hilfe der Software VisualNow (Version 3.4, B&S Analytik GmbH, Dortmund). Um die Korrektheit der IMS-Daten zu gewährleisten, fanden in regelmäßigen Abständen Wartungen des verwendeten Ionenmobilitätsspektrometers sowie Referenzmessungen mit Hilfe eines Referenzgemischs statt. Das hierbei erstellte Alignment diente dem Abgleich der erhobenen IMS-Datensätze.

2.2.14 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der erhobenen Daten erfolgte in Zusammenarbeit mit der Abteilung für psychologische Methodenlehre und Statistik der Justus-Liebig-Universität Gießen.

Als Grundlage der Auswertungen dienten die registrierten Widerstandsänderungen über den Sensoren der Cyranose® 320 sowie die registrierten Signalintensitäten der erfassten IMS-Peaks. Die hieraus

erhobenen Rohdaten wurden mit Hilfe der Software Microsoft® Excel (Microsoft Corporation, Redmond (Washington), USA) gebündelt. Bezüglich der Analyse von Atemwegsexhalat mittels Cyranose® 320 wurde hierbei das arithmetische Mittel dreier Atemwegsmessungen bestimmt. Messwerte von Atemwegsexhalat mittels IMS sowie sämtliche Headspace-Messungen wurden bei einmaligen Messvorgängen registriert.

Zur statistischen Auswertung wurde die Programmiersprache 'R' (Version 3.3.1, R Core Team 2016) verwendet [207]. Es erfolgte eine separate Analyse der von IMS und Cyranose® 320 erfassten Daten, ferner wurden die Daten der einzelnen biologischen Materialien EB, EBC, PW und Serum getrennt voneinander analysiert. Unter Zuhilfenahme des Software-Pakets 'rpart' wurden für jede der hieraus resultierenden 8 Messreihen 'Tree Models' mittels 'Recursive Partitioning' erstellt, um die Gruppenzugehörigkeit der Studienteilnehmer vorhersagen zu können [47]. Hierbei konnten Variablen inklusive zugehöriger Cut-Off-Werte identifiziert werden, welche in Bezug auf die jeweilige Messreihe bestmöglich zwischen den beiden Studiengruppen (OSAS vs. HC) trennen können. Nach der Erfassung einer diesbezüglichen Trennvariable erfolgte die abermalige Teilung des Datensatzes sowie die Anwendung des o.g. Algorithmus auf die jeweils resultierende Subgruppe. Zur Erstellung weiterer IMS-Modelle wurden jeweils alle vorherigen Peaks aus dem Datensatz entfernt.

Auf Basis der hieraus bestimmten Sets an Trennvariablen bzw. erstellten 'Tree Models' erfolgte zur Beurteilung interner Validität eine Leave-One-Out-Kreuzvalidierung der Daten (LOO-CV) [137] in 30 Kreuzvalidierungsschritten. Hierbei wird die Gruppenzugehörigkeit eines einzelnen (aus dem jeweiligen Modell ausgeschlossenen) Studienteilnehmers anhand eines entsprechenden (alle übrigen Studienteilnehmer einschließenden) Modells vorhergesagt. Die resultierenden Kreuzvalidierungswerte (engl.: Cross Validation Value, CVV \triangleq Cross Validation Accuracy, CVA) werden in Prozent angegeben.

Ferner erfolgte für kreuzvalidierte Modelle die Berechnung diagnostischer Genauigkeiten (Sensitivität, Spezifität, PPV, NPV) sowie von p-Werten, bestimmt durch einen Chi-Quadrat-Test mit Kontinuitätskorrektur. Weiterhin

erfolgte eine Receiver-Operating-Characteristic-Analyse (ROC-Analyse) mit zugehöriger Erstellung von ROC-Kurven und Flächenberechnung (engl.: Area Under The Curve, AUC). Angegebene AUC-Werte entsprechen hierbei Kreuzvalidierungswerten in % (CVV / CVA).

2.2.15 Zuordnung von IMS-Analyten zu einzelnen Substanzen

Eine Zuordnung der einzelnen IMS-VOC-Peaks zu chemischen Substanzen erfolgte durch Abgleich der aufgezeichneten IMS-Spektren mit der Referenzdatenbank '130607_Benz_121 = IMSDB2016' (B&S Analytik, Dortmund). Um einen Abgleich der durch Ionenmobilitätsspektrometrie erfassten Peaks bzw. deren Koordinaten im MCC-IMS-Chromatogramm mit den in der Datenbank hinterlegten mittels GC-MS identifizierten (Rein-)Substanzen zu ermöglichen, wurde die Software MIMA (MS-IMS-Mapper, Version 1.0, Max-Planck-Institut für Informatik, Saarbrücken) verwendet [174].

2.2.16 Darstellung der Ergebnisse

Die Diskriminierungsfähigkeit der jeweiligen Messreihen EB, EBC, PW und Serum wird in Bezug auf kreuzvalidierte Daten von Cyranose® 320 und MCC-IMS grafisch als Receiver-Operating-Characteristic-Kurve (ROC-Kurve) dargestellt.

3 Ergebnisse

3.1 Baseline-Charakteristika

	OSAS (n = 15)	HC (n = 15)	p-Wert
Geschlecht [m / w]	12 / 3	5 / 10	0.025 [*]
Alter [Jahren]	55,0 ± 5,0	51,0 ± 8,5	0.2981 [§]
Größe [cm]	176,0 ± 5,5	171,0 ± 7,0	0.2614 [§]
Gewicht [kg]	94,0 ± 18,5	74,0 ± 5,5	0.0014 [§]
BMI [kg/m²]	30.42 ± 3,87	25,62 ± 0.58	< 0.0001 [§]
AI amb. [n/h]	14,0 ± 21,95	0.0 ± 0.0	< 0.0001 [§]
HI amb. [n/h]	12,0 ± 8,0	1,0 ± 1,0	< 0.0001 [§]
AHI amb. [n/h]	26,0 ± 22,5	1,0 ± 1,0	< 0.0001 [§]
ESS [Punktwert]	15,0 ± 2,5	5,0 ± 3,5	< 0.0001 [§]
RR (syst.) [mmHg]	140.0 ± 17,0	140.0 ± 19,5	0.6022 [§]
RR (diast.) [mmHg]	83,0 ± 9,5	80.0 ± 8,0	0.4291 [§]
HF [bpm]	73,0 ± 8,0	68,0 ± 6,5	0.0324 [§]

Tabelle 3: Baseline-Charakteristika der gesamten Studienpopulation, OSAS = Patientengruppe, HC = Healthy Controls (gesunde Probanden)

* Fisher's exact test; § Mann-Whitney-U-Test

Darstellung der Daten als Median ± IQR (Interquartilsabstand = 75%-Quantil-25%-Quantil); AI: Apnoe-Index;

HI: Hypopnoe-Index; AHI: Apnoe-Hypopnoe-Index; BMI: Body-Mass-Index; ESS: Epworth Sleepiness Scale;

RR: Aterielle Blutdruckwerte nach Riva-Rocci; HF: Herzfrequenz

Die Geschlechterverteilung war im Vergleich von OSAS- und Kontrollgruppe (HC) signifikant unterschiedlich. Während in der Patientengruppe männliche Teilnehmer mit einem Anteil von 80% vertreten waren, hatten Frauen unter den Teilnehmern der Kontrollgruppe einen Anteil von 66,6%. Hinsichtlich Alter, Körpergröße und Blutdruckwerten zeigten die statistischen Auswertungen keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Studiengruppen. Die Parameter AHI, ESS, Körpergewicht und Body-Mass-Index unterschieden sich statistisch signifikant. Ebenfalls konnte ein statistisch signifikanter Unterschied in puncto Herzfrequenz ermittelt werden, wobei OSAS-Patienten eine im Mittel höhere Herzfrequenz aufwiesen.

3.2 Polysomnographie

Polysomnographische Werte wurden bei Patienten mit Obstruktivem Schlafapnoesyndrom im Rahmen einer diagnostischen Nacht erfasst (siehe Tabelle 4). Erwartungsgemäß zeigten sich hohe Werte für AHI und RDI, die bei 14 von 15 Patienten zur Einleitung einer Therapie nach erfolgter diagnostischer Nacht führten.

Parameter	OSAS (n = 15)
AI (TST) [n/h]	5,6 ± 13,25
HI (TST) [n/h]	6,1 ± 15,85
AHI (TST) [n/h]	23,6 ± 28,2
RDI (AHI + RERA, TST) [n/h]	26,7 ± 21,1
SaO2 Mittelwert [%]	92,9 ± 2,4
Dauer < 90% SaO2 [min]	26,1 ± 60,9
Dauer < 80% SaO2 [min]	0,0 ± 1,1
Dauer < 70% SaO2 [min]	0,0 ± 0,0

Tabelle 4: Polysomnographische Werte der Patientenkohorte (OSAS, n = 15)

Darstellung der Daten als Median ± IQR (Interquartilsabstand = 75%-Quantil-25%-Quantil); AI: Apnoe-Index; HI: Hypopnoe-Index; AHI: Apnoe-Hypopnoe-Index; RDI: Respiratory-Disturbance-Index; SaO2: Arterielle Sauerstoffsättigung; TST: Total Sleep Time; RERA: Respiratory Effort Related Arousal

3.3 Spirometrie

Anhand der bei der forcierten Spirometrie erhobenen Lungenfunktionsparameter ließen sich in keiner der beiden Studiengruppen Hinweise für eine obstruktive oder restriktive Lungenerkrankung feststellen (siehe Tabelle 5). Im Vergleich von OSAS,- und Kontrollgruppe ergaben sich hinsichtlich Einsekundenkapazität (FEV1) und Tiffeneau-Index keine statistisch signifikanten Unterschiede. Der prozentuale Anteil der inspiratorischen Vitalkapazität am Sollwert war im Vergleich beider Gruppen statistisch signifikant unterschiedlich. Im Vergleich der absoluten Werte für

die inspiratorische Vitalkapazität ließen sich jedoch keine relevanten Unterschiede feststellen.

	OSAS (n = 15)	HC (n = 15)	p-Wert
FEV1 (Ist) [l]	3,42 ± 0.4	3,18 ± 0.9	0.76 [§]
FEV1 (Ist/S) [%]	102,2 ± 15,2	114,5 ± 13,4	0.0745 [§]
Tiffeneau-Index [%]	75,91 ± 6,54	77,23 ± 9,43	0.3725 [§]
VC IN (Ist) [l]	4,73 ± 0.87	3,95 ± 1,80	0.7874 [§]
VC IN (Ist/S) [%]	106,8 ± 13,95	117,9 ± 15,0	0.0265 [§]

Tabelle 5: Spirometrie. OSAS = Patientengruppe, HC = Healthy Controls (gesunde Kontrollprobanden)

§ Mann-Whitney-U-Test

Darstellung der Daten als Median ± IQR (Interquartilsabstand = 75%-Quantil-25%-Quantil);

FEV1: Einsekundenkapazität; Tiffeneau-Index: FEV1 / VC IN; VC IN: Inspiratorische Vitalkapazität

3.4 Labor

Laborwert [Normwert]	OSAS (n = 15)	HC (n = 15)	p-Wert
CRP [< 5 mg/l]	2,5 ± 0.0	2,5 ± 0.0	0.3173 [§]
IL-6 [< 3,3 ng/l]	1,65 ± 0.0	1,65 ± 0.0	0.0730 [§]
IL-8 [< 15 ng/l]	7,5 ± 0.0	7,5 ± 0.0	1,0 [§]
TNF-α [< 8,1 ng/l]	4,05 ± 4,45	4,05 ± 4,45	0.941 [§]

Tabelle 6: Laborwerte. OSAS = Patientengruppe, HC = Healthy Controls (gesunde Kontrollprobanden)

§ Mann-Whitney-U-Test

Darstellung der Daten als Median ± IQR (Interquartilsabstand = 75%-Quantil-25%-Quantil);

CRP: C-Reaktives-Protein; IL-6: Interleukin-6; IL-8: Interleukin-8; TNF-α: Tumornekrosefaktor α

Die Erhebung der im Serum bestimmten Blutwerte CRP, IL-6, IL-8 und TNF-α zeigte für keinen der Parameter signifikante Unterschiede zwischen Patienten- und Kontrollgruppe. Registrierte Werte unterhalb des unteren Grenzwertes wurden mit 50% des unteren Grenzwertes angegeben.

3.5 Cyranose® 320

3.5.1 Kreuzvalidierung

Die Auswertungen der Cyranose® 320-Messreihen EB, EBC, PW und Serum beziehen sich auf den Vergleich zwischen Patienten mit Obstruktivem Schlafapnoesyndrom (OSAS) und gesunden Kontrollprobanden (HC). Zur Identifizierung von Trennvariablen erfolgte die Erstellung von Tree Models auf Basis der registrierten Widerstandsänderungen der Cyranose-Sensoren (siehe Kapitel 2.2.14). Geeignete Trennvariablen wurden anhand einer Leave-One-Out-Kreuzvalidierung (LOO-CV) überprüft. Diagnostische Genauigkeiten sind für das jeweilige Modell als Vier-Felder-Tafel dargestellt. Grafisch erfolgte jeweils eine Darstellung als ROC-Kurve, wobei angegebene Werte für die Fläche unter der Kurve (engl.: Area Under The Curve, AUC) hierbei Kreuzvalidierungswerten (engl.: Cross Validation Value, CVV) in Prozent (%) entsprechen.

Hinsichtlich der Analyse von Atemwegsexhalat (EB) (siehe Tabelle 7) kann unter Berücksichtigung des Cyranose® 320-Sensors S7 mit einer Signifikanz von $p < 0.001$ zwischen OSAS,- und Kontrollkohorte unterschieden werden. Hierbei kann eine Sensitivität von 80% sowie eine Spezifität von 100% ermittelt werden. Der positiv prädiktive Wert (PPV) beträgt hierfür 100%, der negativ prädiktive Wert (NPV) 83,3%. Die korrespondierende Fläche unter der ROC-Kurve (AUC) beträgt 0.90 (siehe Abbildung 7A), was einem CVV von 90% entspricht.

EB ($p < 0.001$)	OSAS (n = 15)	HC (n = 15)	PPV / NPV
Vorhersage OSAS	12 ^{TP}	0 ^{FP}	100%
Vorhersage HC	3 ^{FN}	15 ^{TN}	83,3%
Sens. / Spez.	80%	100%	

Tabelle 7: Vier-Felder-Tafel Cyranose® 320 EB (Atemwegsexhalat), Kreuzvalidierung.

OSAS: Patientengruppe; HC: Healthy Controls (gesunde Kontrollprobanden); TP: richtig positiv; FP: falsch positiv; TN: richtig negativ; FN: falsch negativ; Sens.: Sensitivität; Spez.: Spezifität, PPV: Positiver prädiktiver Wert; NPV: Negativer prädiktiver Wert

Die Klassifizierung nach Kreuzvalidierung weist bei der Analyse von Headspace-EBC (siehe Tabelle 8) eine Signifikanz von $p = 0.007$ für die Kombination der Sensoren S15 und S31 (siehe Abbildung 5) auf. Es kann hierfür eine Sensitivität von 60% sowie eine Spezifität von 93,3% ermittelt werden. Der PPV für dieses Modell beträgt 90%, der NPV 70%. Die korrespondierende Fläche unter der ROC-Kurve (AUC) beträgt 0.77 (siehe Abbildung 7B), was einem CVV von 77% entspricht.

EBC ($p = 0.007$)	OSAS (n = 15)	HC (n = 15)	PPV / NPV
Vorhersage OSAS	9 ^{TP}	1 ^{FP}	90%
Vorhersage HC	6 ^{FN}	14 ^{TN}	70%
Sens. / Spez.	60%	93,3%	

Tabelle 8: Vier-Felder-Tafel Cyranose® 320 EBC (Atemwegskondensat), Kreuzvalidierung.

OSAS: Patientengruppe; HC: Healthy Controls (gesunde Kontrollprobanden); TP: richtig positiv; FP: falsch positiv; TN: richtig negativ; FN: falsch negativ; Sens.: Sensitivität; Spez.: Spezifität, PPV: Positiver prädiktiver Wert; NPV: Negativer prädiktiver Wert

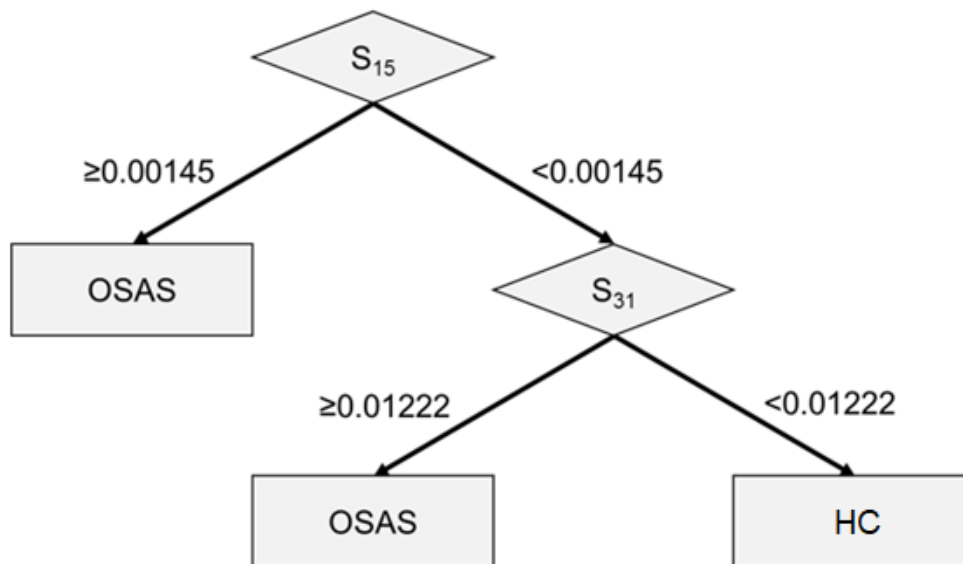


Abbildung 5: Decision-Tree-Model (Entscheidungsbaum) der VOC-Analyse von Atemwegskondensat-Headspace (EBC) mittels Cyranose® 320 zur Unterscheidung der Studiengruppen OSAS vs. HC ($p = 0.007$). Die Cyranose-Sensoren S15 und S31 repräsentieren die zwei Entscheidungsstufen des kreuzvalidierten Modells. Zahlenwerte geben die Cut-Off-Werte der Widerstandsänderungen über den Sensoren an. OSAS: Patientengruppe; HC: Healthy Controls (gesunde Kontrollprobanden)

Die Kombination der Sensoren S7 und S20 (siehe Abbildung 6) zeigt hinsichtlich einer Unterscheidung der Studiengruppen bei der Analyse von PW-Headspace (siehe Tabelle 9) eine Signifikanz von $p = 0.465$, eine Sensitivität von 60% sowie eine Spezifität von 60%. PPV sowie NPV betragen für dieses Modell 60%. Die korrespondierende Fläche unter der ROC-Kurve (AUC) beträgt 0.60 (siehe Abbildung 7C), was einem CVV von 60% entspricht.

PW ($p = 0.465$)	OSAS (n = 15)	HC (n = 15)	PPV / NPV
Vorhersage OSAS	9 ^{TP}	6 ^{FP}	60%
Vorhersage HC	6 ^{FN}	9 ^{TN}	60%
Sens. / Spez.	60%	60%	

Tabelle 9: Vier-Felder-Tafel Cyranose® 320 PW (Rachenspülwasser), Kreuzvalidierung.

OSAS: Patientengruppe; HC: Healthy Controls (gesunde Kontrollprobanden); TP: richtig positiv; FP: falsch positiv; TN: richtig negativ; FN: falsch negativ; Sens.: Sensitivität; Spez.: Spezifität, PPV: Positiver prädiktiver Wert; NPV: Negativer prädiktiver Wert

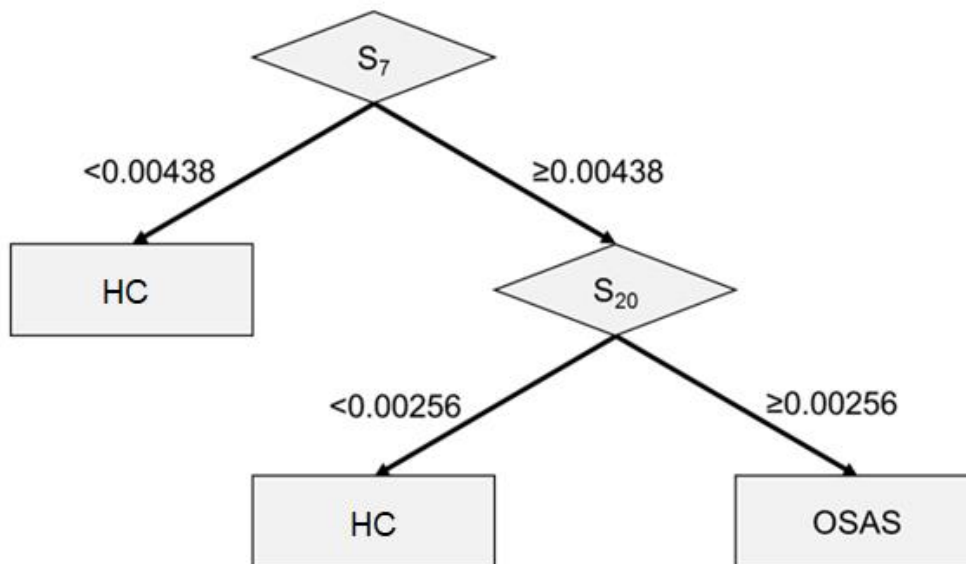


Abbildung 6: Decision-Tree-Model (Entscheidungsbaum) der VOC-Analyse von Rachenspülwasser-Headspace (PW) mittels Cyranose® 320 zur Unterscheidung der Studiengruppen OSAS vs. HC ($p = 0.465$). Die Cyranose-Sensoren S7 und S20 repräsentieren die zwei Entscheidungsstufen des kreuzvalidierten Modells. Zahlenwerte geben die Cut-Off-Werte der Widerstandsänderungen über den Sensoren an; OSAS: Patientengruppe; HC: Healthy Controls (gesunde Kontrollprobanden)

Anhand kreuzvalidierter Daten für Cyranose-Sensor S22 lassen sich OSAS,- und Kontrollgruppe bei der Analyse von Serum-Headspace (siehe Tabelle 10) mit einer Signifikanz von $p = 0.053$ unterscheiden. Hierbei wurde eine Sensitivität von 86,7% sowie eine Spezifität von 53,3% ermittelt. Der PPV beträgt für dieses Modell 65%, der NPV 80%. Die korrespondierende Fläche unter der ROC-Kurve (AUC) beträgt 0.70 (siehe Abbildung 7D), was einem CVV von 70% entspricht.

SERUM ($p = 0.053$)	OSAS (n = 15)	HC (n = 15)	PPV / NPV
Vorhersage OSAS	13 ^{TP}	7 ^{FP}	65%
Vorhersage HC	2 ^{FN}	8 ^{TN}	80%
Sens. / Spez.	86,7%	53,3%	

Tabelle 10: Vier-Felder-Tafel Cyranose® 320 Serum, Kreuzvalidierung.

OSAS: Patientengruppe; HC: Healthy Controls (gesunde Kontrollprobanden); TP: richtig positiv; FP: falsch positiv; TN: richtig negativ; FN: falsch negativ; Sens.: Sensitivität; Spez.: Spezifität, PPV: Positiver prädiktiver Wert; NPV: Negativer prädiktiver Wert

Bezüglich der Datenauswertung nach LOO-Kreuzvalidierung soll *Tabelle 11* eine zusammenfassende Gesamtübersicht über die mittels Cyranose® 320 untersuchten biologischen Materialien liefern.

	TP	FP	TN	FN	Sens.	Spez.	PPV	NPV	AUC	p-Wert
EB	12	0	15	3	80%	100%	100%	83,3%	0.90	< 0.001
EBC	9	1	14	6	60%	93,3%	90%	70%	0.77	0.007
PW	9	6	9	6	60%	60%	60%	60%	0.60	0.465
Serum	13	7	8	2	86,7%	53,3%	65%	80%	0.70	0.053

Tabelle 11: Gesamtübersicht über die mit Cyranose® 320 untersuchten biologischen Materialien mit zugehörigen statistischen Werten nach LOO-Kreuzvalidierung.

EB: Atemwegsexhalat; EBC: Atemwegskondensat; PW: Rachenspülwasser; TP: richtig positiv; FP: falsch positiv; TN: richtig negativ; FN: falsch negativ; Sens.: Sensitivität; Spez.: Spezifität, PPV: Positiver prädiktiver Wert; NPV: Negativer prädiktiver Wert, AUC: Area Under Curve

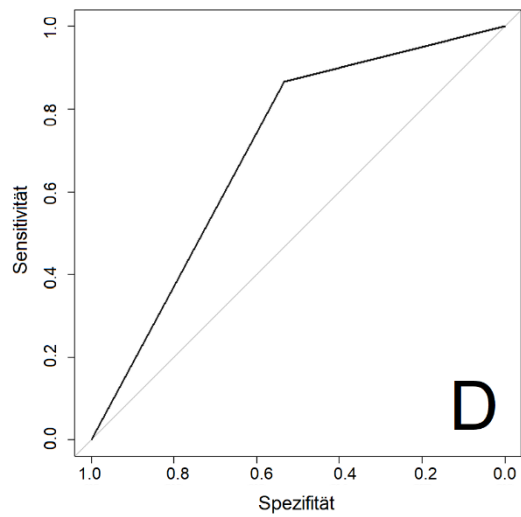
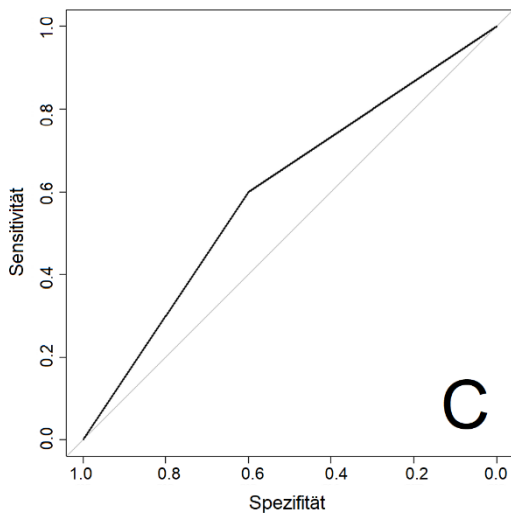
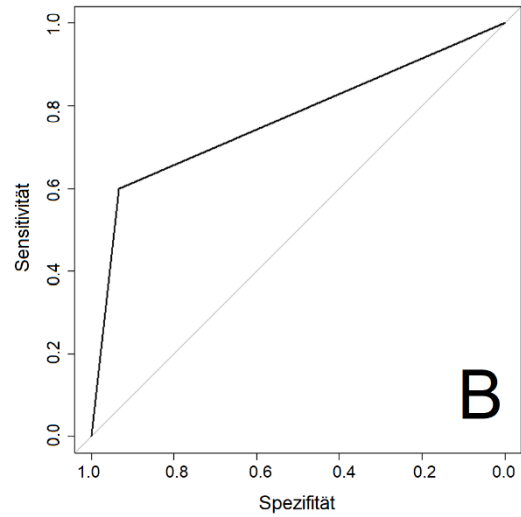
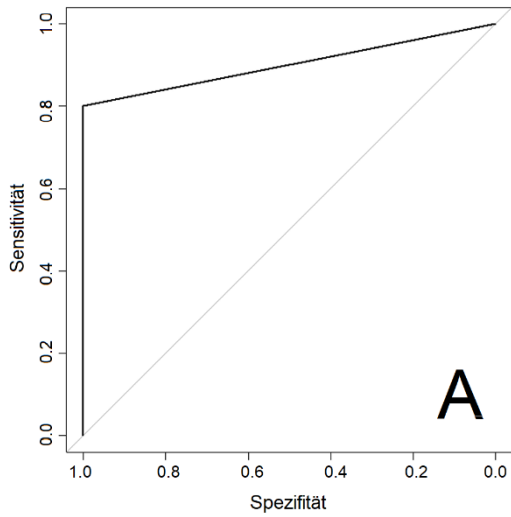


Abbildung 7: Darstellung der diagnostischen Genauigkeit der Cyranose® 320 in unterschiedlichen biologischen Materialien anhand von ROC-Kurven (Receiver-Operating-Characteristic-Kurven), Kreuzvalidierung.

A: Atemwegsexhalat (EB); B: Atemwegskondensat (EBC); C: Rachenspülwasser (PW); D: Serum

3.6 MCC-Ionenmobilitätsspektrometrie

Die Auswertung der durch die MCC-Ionenmobilitätsspektrometrie erfassten Daten erfolgte mittels Kreuzvalidierung (*siehe Kapitel 3.6.1*) sowie anhand der Identifikation spezifischer volatiler Substanzen (*siehe Kapitel 3.6.2*). Bei der Analyse von Atemwegsexhalat (EB) sowie bei der Headspace-Analyse von Atemwegskondensat (EBC), Rachenspülwasser (PW) und Serum wurden insgesamt 91 Peaks zwischen OSAS-Patienten und gesunden Kontrollprobanden (HC) verglichen. Hierbei sind VOC-Peaks mit fortlaufenden Buchstaben und Zahlen gekennzeichnet. Die dargelegten Ergebnisse beziehen sich für alle Messreihen und alle Arten der Datenauswertung auf den Vergleich von Patienten mit Obstruktivem Schlafapnoesyndrom (OSAS) und gesunden Kontrollprobanden (HC).

Bei Auswertung der IMS-Chromatogramme war bei den Exhalat-Messungen (EB) von drei Patienten und einem Probanden eine niedrige Trägergasqualität feststellbar gewesen. Hierdurch waren sichtbare Kontaminationen über den gesamten Messbereich aufgetreten, weshalb in der Messreihe EB besagte vier Studienteilnehmer ausgeschlossen wurden.

3.6.1 Kreuzvalidierung

Alle dargestellten Auswertungen der MCC-IMS-Messreihen EB, EBC, PW und Serum beziehen sich auf den Vergleich zwischen Patienten mit Obstruktivem Schlafapnoesyndrom (OSAS) und gesunden Kontrollprobanden (HC). Zur Identifizierung von Trennvariablen erfolgte die Erstellung von Tree Models auf Basis der registrierten Signalintensitäten der erfassten IMS-Peaks (*siehe Kapitel 2.2.14*). Geeignete Trennvariablen wurden anhand einer Leave-One-Out-Kreuzvalidierung (LOO-CV) überprüft. Für jedes Modell sind diagnostische Genauigkeiten in einer Vier-Felder-Tafel dargestellt. Grafisch erfolgte hierfür jeweils eine Darstellung als ROC-Kurve, wobei angegebene Werte für die Fläche unter der Kurve (AUC) Kreuzvalidierungswerten (CVV) in Prozent (%) entsprechen. Die angegebenen Cut-Off-Werte für einzelne Peaks beziehen sich auf gemessene Signalintensitäten [1/Volt].

Bezüglich der Analyse von Atemwegsexhalat (EB) (siehe Tabelle 12) kann anhand des VOC-Peaks C0 (Cut-Off ≥ 0.0382) mit einer Signifikanz von $p = 0.004$ zwischen OSAS,- und Kontrollgruppe unterschieden werden. Für dieses Modell können eine Sensitivität von 58,3% sowie eine Spezifität von 100% ermittelt werden. Der positiv prädiktive Wert (PPV) beträgt hierbei 100%, der negativ prädiktive Wert (NPV) 73,7%. Die korrespondierende Fläche unter der ROC-Kurve (AUC) beträgt 0.792 (siehe Abbildung 9A), was einem CVV von 79,2% entspricht.

EB ($p = 0.004$)	OSAS (n = 15)	HC (n = 15)	PPV / NPV
Vorhersage OSAS	7 ^{TP}	0 ^{FP}	100%
Vorhersage HC	5 ^{FN}	14 ^{TN}	73,7%
Sens. / Spez.	58,3%	100%	

Tabelle 12: Vier-Felder-Tafel MCC-IMS EB (Atemwegsexhalat), Kreuzvalidierung.

OSAS: Patientengruppe; HC: Healthy Controls (gesunde Kontrollprobanden); TP: richtig positiv; FP: falsch positiv; TN: richtig negativ; FN: falsch negativ; Sens.: Sensitivität; Spez.: Spezifität, PPV: Positiver prädiktiver Wert; NPV: Negativer prädiktiver Wert

Bei der Analyse von EBC-Headspace (siehe Tabelle 13) mittels MCC-IMS kann anhand einer Kombination kreuzvalidierter Werte von Peak S23 (Cut-Off ≥ 0.00105) und Peak A1 (Cut-Off ≥ 0.0021 ; siehe Abbildung 8) mit einem Signifikanzniveau von $> 99\%$ ($p < 0.001$) zwischen OSAS- und Kontrollkohorte unterschieden werden. In diesem Modell werden eine Sensitivität von 66,7% und Spezifität von 100%, sowie die Vorhersagewerte PPV = 100% und NPV = 75% erzielt. Die AUC unter der ROC-Kurve beträgt hierfür 0.833 (siehe Abbildung 9B), was einem CVV von 83,3% entspricht.

EBC ($p < 0.001$)	OSAS (n = 15)	HC (n = 15)	PPV / NPV
Vorhersage OSAS	10 ^{TP}	0 ^{FP}	100%
Vorhersage HC	5 ^{FN}	15 ^{TN}	75%
Sens. / Spez.	66,7%	100%	

Tabelle 13: Vier-Felder-Tafel MCC-IMS EBC (Atemwegskondensat), Kreuzvalidierung.

OSAS: Patientengruppe; HC: Healthy Controls (gesunde Kontrollprobanden); TP: richtig positiv; FP: falsch positiv; TN: richtig negativ; FN: falsch negativ; Sens.: Sensitivität; Spez.: Spezifität, PPV: Positiver prädiktiver Wert; NPV: Negativer prädiktiver Wert

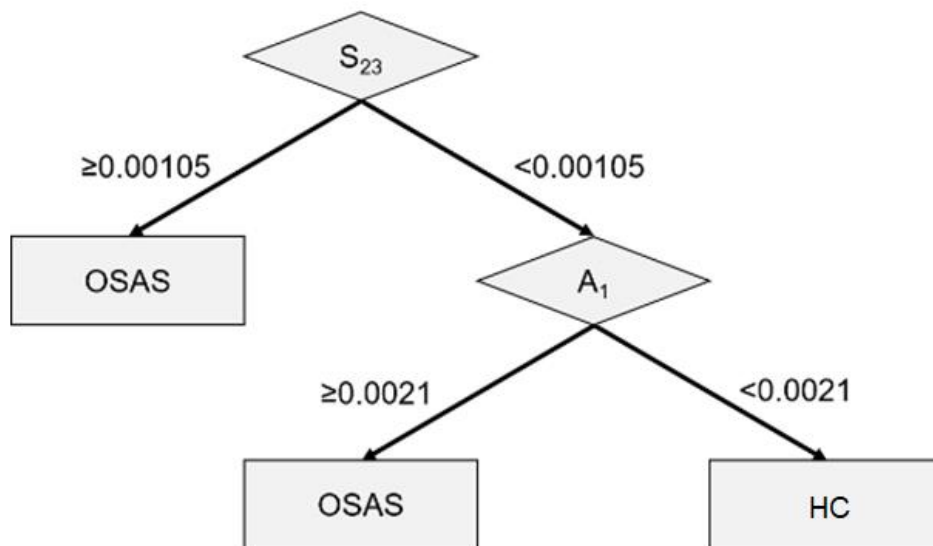


Abbildung 8: Decision-Tree-Model (Entscheidungsbaum) der VOC-Analyse von Atemwegskondensat-Headspace (EBC) mittels MCC-IMS zur Unterscheidung der Studiengruppen OSAS vs. HC ($p < 0.001$). Die IMS-Peaks S₂₃ und A₁ repräsentieren die zwei Entscheidungsstufen des kreuzvalidierten Modells. Zahlenwerte geben die Cut-Off-Werte der Signalintensitäten der Peaks an [1/Volt]; OSAS: Patientengruppe; HC: Healthy Controls (gesunde Kontrollprobanden)

Beim Vergleich der IMS-VOC-Peaks des PW-Headspace gesunder Probanden und OSAS-Patienten (siehe Tabelle 14) zeigt Peak P60 (Cut-Off ≥ 0.00505) eine Signifikanz von $p = 0.003$. Diagnostische Genauigkeiten für dieses Modell können mit einer Sensitivität von 80%, einer Spezifität von 80% sowie einem PPV von 80% und einem NPV von 80% angegeben werden. Die korrespondierende AUC unter der ROC-Kurve beträgt hierbei 0.800 (siehe Abbildung 9C), was einem CVV von 80% entspricht.

PW ($p = 0.003$)	OSAS (n = 15)	HC (n = 15)	PPV / NPV
Vorhersage OSAS	12 ^{TP}	3 ^{FP}	80%
Vorhersage HC	3 ^{FN}	12 ^{TN}	80%
Sens. / Spez.	80%	80%	

Tabelle 14: Vier-Felder-Tafel MCC-IMS PW (Rachenspülwasser), Kreuzvalidierung.

OSAS: Patientengruppe; HC: Healthy Controls (gesunde Kontrollprobanden); TP: richtig positiv; FP: falsch positiv; TN: richtig negativ; FN: falsch negativ; Sens.: Sensitivität; Spez.: Spezifität, PPV: Positiver prädiktiver Wert; NPV: Negativer prädiktiver Wert

Hinsichtlich der Analyse von Serum-Headspace (*siehe Tabelle 15*) kann unter Berücksichtigung des VOC-Peaks C0 (Cut-Off ≥ 0.072) mit einer Signifikanz von $p < 0.001$ zwischen OSAS,- und Kontrollgruppe unterschieden werden. Für dieses Modell können eine Sensitivität und Spezifität von 93,3% bzw. 100% sowie die Vorhersagewerte PPV und NPV von 100% bzw. 93,8% ermittelt werden. Die korrespondierende ROC-AUC beträgt 0.967 (*siehe Abbildung 9D*), was einem CVV von 96,7% entspricht.

SERUM ($p < 0.001$)	OSAS (n = 15)	HC (n = 15)	PPV / NPV
Vorhersage OSAS	14 ^{TP}	0 ^{FP}	100%
Vorhersage HC	1 ^{FN}	15 ^{TN}	93,8%
Sens. / Spez.	93,3%	100%	

Tabelle 15: Vier-Felder-Tafel MCC-IMS Serum, Kreuzvalidierung.

OSAS: Patientengruppe; HC: Healthy Controls (gesunde Kontrollprobanden); TP: richtig positiv; FP: falsch positiv; TN: richtig negativ; FN: falsch negativ; Sens.: Sensitivität; Spez.: Spezifität, PPV: Positiver prädiktiver Wert; NPV: Negativer prädiktiver Wert

Eine zusammenfassende Übersicht über die kreuzvalidierten IMS-Modelle der verschiedenen biologischen Materialien gibt *Tabelle 16*.

	TP	FP	TN	FN	Sens.	Spez.	PPV	NPV	AUC	p-Wert
EB	7	0	14	5	58,3%	100%	100%	73,7%	0.792	0.004
EBC	10	0	15	5	66,7%	100%	100%	75%	0.833	< 0.001
PW	12	3	12	3	80%	80%	80%	80%	0.800	0.003
Serum	14	0	15	1	93,3%	100%	100%	93,8%	0.967	< 0.001

Tabelle 16: Gesamtübersicht über die mittels MCC-IMS untersuchten biologischen Materialien mit zugehörigen statistischen Werten nach Kreuzvalidierung

EB: Atemwegsexhalat; EBC: Atemwegskondensat; PW: Rachenspülwasser; TP: richtig positiv; FP: falsch positiv; TN: richtig negativ; FN: falsch negativ; Sens.: Sensitivität; Spez.: Spezifität, PPV: Positiver prädiktiver Wert; NPV: Negativer prädiktiver Wert, AUC: Area Under Curve

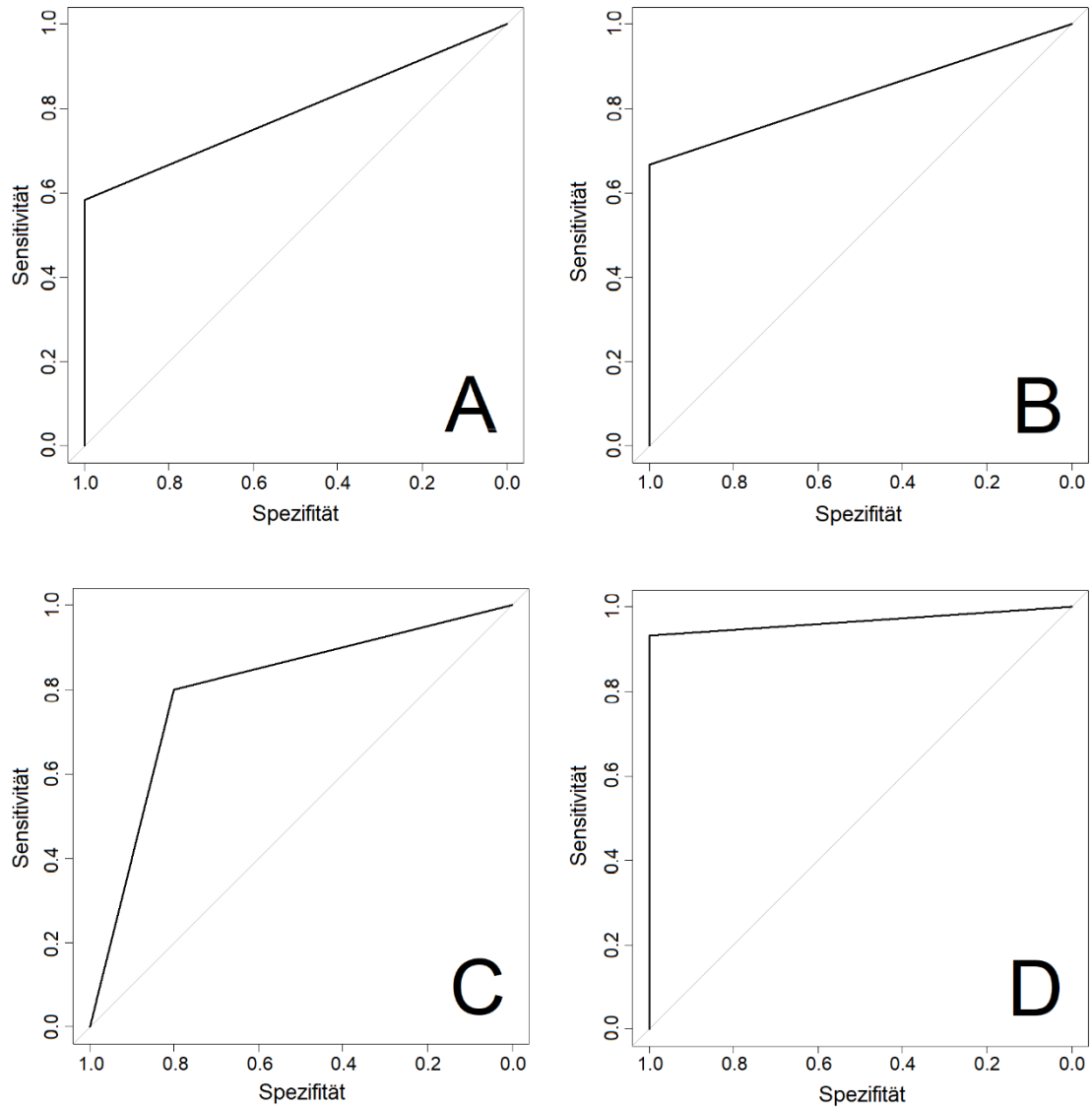


Abbildung 9: Darstellung der diagnostischen Genauigkeit der MCC-Ionenmobilitätsspektrometrie in unterschiedlichen biologischen Materialien anhand von ROC-Kurven (Receiver-Operating-Characteristic-Kurven), Kreuzvalidierung.

A: Atemwegsexhalat (EB); B: Atemwegskondensat (EBC); C: Rachenspülwasser (PW); D: Serum

3.6.2 Identifikation spezifischer Substanzen

In *Tabelle 17* sind für die untersuchten biologischen Materialien EB, EBC, PW und Serum jeweils 5 Peaks aufgelistet, denen nach Abgleich mit der GC-MS-Referenzdatenbank '130607_Benz_121 = IMSDB2016' (B&S Analytik GmbH, Dortmund) spezifische volatile organische Substanzen zugeordnet werden konnten. Die Auswahl der Peaks erfolgte durch Datenanalyse gemäß *Kapitel 2.2.14* 'Statistische Auswertung'.

Mit Modell-Nummer #1 gekennzeichnete Zeilen repräsentieren in *Tabelle 17* diejenigen Modelle, welche in *Kapitel 3.6.1* 'Kreuzvalidierung' dargelegt sind. Bei Aufstellung jedes weiteren Modells wurden all diejenigen Peaks bzw. Trennvariablen ausgeschlossen, welche im vorgehend aufgestellten Modell eine bestmögliche Gruppentrennung ermöglichten.

Zur Identifikation der pro Messreihe aufgeführten 5 Peaks konnten für EB und Serum jeweils 5 Modelle aufgestellt werden, für EBC und PW jeweils 3 Modelle. Sind in *Tabelle 17* zwei Peaks mit derselben Modell-Nummer gekennzeichnet, besteht dieses Modell aus zwei Entscheidungsstufen, wobei die obere der beiden Substanzen die erste Entscheidungsstufe sowie die darunter aufgeführte Substanz die zweite Entscheidungsstufe repräsentiert.

#Modell	Peak	Substanz	1/K0 [Vs/cm ²]	RT [s]	↑ / ↓
Atemwegsexhalat (EB)					
1	C0	2-Methylfuran [534-22-5]	0.447	4,0	↑
2	P53	Aceton [67-64-1]	0.662	2,6	↓
3	S15	2-(Methylthio)-ethanol [5271-38-5]	0.731	9,0	↑
4	P11	3-Methylbutanal [590-86-3] oder 3-Methylbutyraldehyd [590-86-3]	0.655	3,5	↓
5	P40	Hexanal [66-25-1]	0.737	7,0	↑
Atemwegskondensat (EBC)					
1	S23	2-Undecanon [112-12-9]	0.925	283,2	↑
1	A1	n-Decan [124-18-5]	0.740	58,9	↑
2	P53	Aceton [67-64-1]	0.662	2,6	↑
2	S12	2,2,4,6,6-Pentamethylheptan [13475-82-6]	0.830	27,4	↑
3	S6	(-)-Menthol M [1490-04-6]	0.929	96,6	↑
Rachenspülwasser (PW)					
1	P60	Toluol [108-88-3]	0.522	5,5	↑
2	P11	3-Methylbutanal [590-86-3] oder 3-Methylbutyraldehyd [590-86-3]	0.655	3,5	↑
2	S10	Decanal [112-31-2]	0.764	139,1	↑
3	P6	Hexanal [66-25-1]	0.551	7,0	↑
3	C0	2-Methylfuran [534-22-5]	0.447	4,0	↑
Serum					
1	C0	2-Methylfuran [534-22-5]	0.447	4,0	↑
2	P59	Butanon [78-93-3]	0.454	5,0	↑
3	S25	1-Pentanol [71-41-0]	0.647	6,0	↑
4	P0	n-Decan [124-18-5]	0.728	58,2	↑
5	P28	Toluol [108-88-3]	0.690	5,5	↑

Tabelle 17: Zuordnung spezifischer volatiler organischer Substanzen zu IMS-VOC-Peaks nach Abgleich mit der GC-MS-Datenbank '130607_Benz_121 = IMSDB2016' (B&S Analytik GmbH, Dortmund). Aufgeführt sind die jeweils 5 unterscheidungsstärksten Substanzen zur Trennung der Studiengruppen OSAS vs. HC; #Modell: Fortlaufende Nummern der Modelle; 1/K0: Inverse reduzierte Ionenmobilität; RT: Retentionszeit; ↑ / ↓: erhöhte / erniedrigte Peak-Signalintensität bei OSAS-Patienten im Vergleich zu HC.

4 Diskussion

In der gegenwärtigen Studie erfolgte die nicht-invasive Analyse flüchtiger organischer Substanzen (VOCs) von vier unterschiedlichen biologischen Materialien innerhalb eines Studienkollektivs: Atemwegsexhalat (EB) (*siehe Kapitel 4.1*) sowie der gasförmige Headspace (*siehe Kapitel 4.2*) von Atemwegskondensat (EBC), Rachenspülwasser (PW) und Serum von Patienten mit Obstruktivem Schlafapnoesyndrom (OSAS) wurden hierbei mittels MCC-Ionenmobilitätsspektrometrie und der elektronischen Nase Cyranose® 320 analysiert und mit den Messungen gesunder Kontrollprobanden (engl.: Healthy Controls, HC) verglichen. Es erfolgte darüber hinaus eine Zuordnung von chemischen Substanzen zu via MCC-IMS detektierten VOCs (*siehe Kapitel 4.3*). Ferner ist eine kritische Auseinandersetzung bezüglich der Einflussgrößen und Störfaktoren bei der Detektion von VOCs erfolgt (*siehe Kapitel 4.4*).

Weiterhin wurde eine laborchemische Analyse der Serumparameter CRP, IL-6, IL-8 und TNF- α im Vergleich von OSAS-Patienten und gesunden Probanden durchgeführt (*siehe Kapitel 4.5*). Zudem soll die vorliegende Studienpopulation (*siehe Kapitel 4.6*) diskutiert sowie auf den Fragebogen Epworth Sleepiness Scale (*siehe Kapitel 4.6.1*) eingegangen werden, da dieser während der Rekrutierung der Studienteilnehmer zum Einsatz gekommen war. Hervorgehoben werden sollen außerdem Stärken und Limitation (*siehe Kapitel 4.7*) der vorliegenden Studie sowie Vorschläge für zukünftige Studien (*siehe Kapitel 4.8*).

4.1 VOC-Analyse von Atemwegsexhalat (EB)

4.1.1 Analyse von Atemwegsexhalat mittels Cyranose® 320

In der gegenwärtigen Studie können Patienten mit Obstruktivem Schlafapnoesyndrom durch die Analyse von Atemwegsexhalat (EB) per Cyranose® 320 anhand kreuzvalidierter Daten signifikant ($p < 0.001$, Sensitivität 80%, Spezifität 100%, AUC 0.9, CVV 90%) von gesunden Kontrollprobanden unterschieden werden. Ein positives Testergebnis geht im angestellten Vergleich zwischen OSAS-Patienten und gesunden Probanden mit einem positiven Vorhersagewert (PPV) von 100% einher, bei negativem Testergebnis beträgt der negative Vorhersagewert (NPV) 83,3%.

Mit den Ergebnissen des vorliegenden EB-Vergleichs kann der bisherige Stellenwert der Cyranose® 320 in der Analyse von Atemwegsexhalat von Schlafapnoepatienten im Vergleich mit gesunden Kontrollen bekräftigt werden. So bestätigen die vorliegenden Erhebungen Daten einer Vorgängerstudie von Greulich et al. (2013), in der eine ähnlich hohe Trennschärfe (CVV) 79,5% AUC 0.85, CI95% 0.745 - 0.960 zwischen OSAS-Patienten und gesunden Kontrollprobanden durch die chemische Musteranalyse von VOC-Profilen mittels Cyranose® 320 demonstriert werden konnte [105]. Ebenfalls als confirmatorisch einzuordnen sind die vorliegenden Ergebnisse in Bezug auf die Studie von Dragonieri et al. (2015), in welcher Atemwegsprofile gesunder Probanden durch Analyse mittels Cyranose® 320 hochsignifikant gegenüber denen übergewichtiger Patienten mit OSA (CVA 97,4%) und ohne OSA (CVA 94,1%) unterschieden werden konnten [76].

Das Leistungsvermögen der Cyranose® 320, Atemwegsprofile von Patienten gegenüber gesunden Kontrollprobanden zu unterscheiden, konnte bereits in diversen klinischen Studien in Bezug auf verschiedene Krankheiten demonstriert werden. So konnten durch Analyse von Atemwegsexhalat Patienten mit Asthma bronchiale (CVV/CVA 92,5%-100%) [80, 90], Sarkoidose (CVA 83,3%) [75], malignem Mesotheliom (CVA 95%) [55], Rheumatoider Arthritis (CVA 71%), Psoriasisarthritis (CVA 69%) [48] oder Amyotropher Lateralsklerose (CVA 75%) [77] signifikant gegenüber gesunden

Probanden unterschieden werden.

Bei der Durchführung klinischer Studien ermöglicht die Cyranose® 320 bei Messungen von Atemwegsexhalat eine direkte Probenahme von Ausatemluft. Hierbei erfasst die elektronische Nase ein Spektrum an VOCs durch chemische Mustererkennung in seiner Gesamtheit. Es wird ein individuelles VOC-Muster (engl.: 'Smellprint' bzw. 'Breathprint') der analysierten gasförmigen Probe aufgezeichnet. Eine Identifizierung einzelner Biomarker innerhalb eines komplexen Stoffgemischs wie der Ausatemluft ist durch die Cyranose® 320 anhand von VOC-Mustern nicht möglich [89, 215, 269]. Dennoch lässt die Analyse von 'Breathprints' Rückschlüsse auf ein im Rahmen eines Krankheitsgeschehens verändertes VOC-Profil zu [105]. VOC-Profile anderer elektronischer Nasen können hierbei nicht mit denen der Cyranose® 320 verglichen werden [89].

Durch die im vorliegenden EB-Vergleich ermittelte hohe diagnostische Genauigkeit (AUC 0.9), erscheint es durchaus denkbar, die Analyse von Atemwegsexhalat mittels Cyranose® 320 zukünftig als Screening-Verfahren bei Patienten mit Verdacht auf Obstruktive Schlafapnoe einsetzen zu können. Hohe Genauigkeiten der Vorhersagewerte könnten betroffenen Patienten eine Diagnostik mittels ambulanter Polygraphie gegebenenfalls ersparen und als Entscheidungshilfe für eine konsekutive stationäre Polysomnographie dienen. Im Falle negativer Testergebnisse könnte die Diagnose OSAS mit relativ hoher Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen und in der Folge anderen Differenzialdiagnosen Beachtung geschenkt werden.

4.1.2 Analyse von Atemwegsexhalat mittels MCC-IMS

Die Studienergebnisse der vorliegenden Arbeit demonstrieren, dass Patienten mit Obstruktivem Schlafapnoesyndrom (OSAS) bei der Analyse von Atemwegsexhalat (EB) durch MCC-Ionenmobilitätsspektrometrie anhand kreuzvalidierter Daten ($p = 0.004$, Sensitivität 58,3%, Spezifität 100%, PPV 100%, NPV 73,7%, AUC 0.792, CVV 79,2%) signifikant von gesunden Kontrollprobanden unterschieden werden können und hierbei hohe diagnostische Genauigkeiten erzielt werden. Eine signifikante Unterscheidung

der Studienkohorten ist hierbei unter Berücksichtigung eines einzelnen detektierten Analyten (VOC-Peak C0) möglich. Es gilt zu berücksichtigen, dass im kreuzvalidierten EB-Modell vier Messungen ausgeschlossen wurden, bei denen es zu Messungenauigkeiten aufgrund niedriger Trägergasqualität gekommen war. Unseres Wissens nach wurde in der vorliegenden Studie erstmals der Stellenwert der MCC-Ionenmobilitätsspektrometrie in der Untersuchung von Atemwegsexhalat bei Patienten mit Obstruktivem Schlafapnoesyndrom im Vergleich mit gesunden Kontrollen untersucht.

Die vorliegenden Resultate bekräftigen die in der Literatur beschriebene Leistungsfähigkeit der Ionenmobilitätsspektrometrie, gesunde Probanden durch VOC-Analyse von Atemwegsexhalat mit hoher Trennschärfe von Patienten unterschiedlicher Erkrankungen wie Lungenkrebs [107, 265], COPD [4, 30, 31, 266], chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen [11] oder hepatischer Enzephalopathie [13] zu unterscheiden: Nach Datenauswertung durch LOO-CV konnten Westhoff et al. (2009) bei der Untersuchung von Atemwegsexhalat mittels MCC-IMS mit Hilfe einer Kombination von 23 VOC-Peaks mit einer Genauigkeit (\approx CVV) von 100% zwischen Patienten mit Lungenkarzinom und gesunden Kontrollen unterscheiden [265]. Besa et al. (2015) gelang die Trennung von COPD-Patienten gegenüber gesunden Kontrollen durch die EB-Analyse mittels MCC-IMS anhand sechs signifikanter Einzelpeaks nach Anwendung einer 50:50-Kreuzvalidierung mit einer Genauigkeit (\approx CVV) von 67%-71% [30]. Durch den Vergleich von Atemwegsprofilen mittels MCC-IMS konnten Handa et. al (2014) einzelne VOC-Peaks detektieren, die Patienten mit verschiedenen histologischen Typen des Lungenkarzinoms im Vergleich mit gesunden Kontrollen mit einer Sensitivität von 70%-97,4% und einer Spezifität von 50%-89,7% zuordnen konnten. In der selben Studie konnten Patienten mit Lungenkarzinom und gesunde Kontrollprobanden anhand eines 6-stufigen Entscheidungsbaums mit einer Sensitivität von 76%, einer Spezifität von 100% sowie den Vorhersagewerten PPV 100% und NPV 76,4% klassifiziert werden [107]. Signifikante Einzelpeaks konnten darüber hinaus bei Westhoff et al. (2010) und Bessa et al. (2011) beim EB-Vergleich von Patienten mit COPD gegenüber gesunden Probanden durch MCC-IMS identifiziert werden. Ferner

gelang es Arasaradnam et al. (2016) mittels Field-Asymmetric-Ionenmobilitätsspektrometrie (FAIMS) Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen (Sensitivität 74%, Spezifität 75%, AUC 0.82, $p = 6.2 \times 10^{-7}$) [11] sowie Patienten mit hepatischer Enzephalopathie (Sensitivität 88%, Spezifität 68%, AUC 0.84) [13] anhand ihrer Atemwegsprofile signifikant gegenüber gesunden Kontrollprobanden zu unterscheiden.

Sowohl die Ergebnisse der vorliegenden Studie, als auch die genannten Erhebungen in der Literatur demonstrieren zum einen die Leistungsfähigkeit der Ionenmobilitätsspektrometrie und zum anderen die praktische Einsatzmöglichkeit des Verfahrens in klinischen Studien bei der Analyse von Atemwegsprofilen. Hierbei bildet das Leistungsvermögen, VOCs bereits ab einer sehr geringen Nachweisgrenze (ng- bis pg-, ppm_v - ppt_v-Bereich) [22] detektieren zu können, die Grundlage für hohe diagnostische Genauigkeit. Eine niedrige Nachweisgrenze ist für die Analyse komplexer gasförmiger Proben wie Atemwegsexhalat essenziell, da viele VOCs in niedrigen Konzentrationen vorliegen.

Zur Analyse der Ausatemluft von OSAS-Patienten wurden darüber hinaus bereits verschiedene gaschromatographische bzw. massenspektrometrische Untersuchungen, unter anderem im Hinblick auf die Anwendung einer CPAP-Therapie, durchgeführt [10, 234]. Als Goldstandardverfahren zur Auftrennung komplexer Stoffgemische wie der Ausatemluft und zur Analyse von flüchtigen organischen Substanzen gilt bis heute die Kopplung von Gaschromatographie und Massenspektrometrie (GC-MS). Jedoch geht die GC-MS bis heute mit hohen Kosten, zeitaufwändiger Probenaufarbeitung, arbeitsintensiven Messverfahren und komplexer Datenauswertung einher, was einen Einsatz in der klinischen Routinediagnostik bisher verhinderte [89, 215, 269]. Im Vergleich hierzu steht mit der Ionenmobilitätsspektrometrie ein schnell verfügbares und kostengünstiges Verfahren zur Verfügung, welches die mobile Durchführbarkeit der nicht-invasiven VOC-Analyse von Atemwegsexhalat unter klinischen Bedingungen ermöglicht. Zusätzlich kann eine sichere und praktikable Handhabung für Personal und Patienten sowie eine schnelle Datenverarbeitung und Datenauswertung gewährleistet werden. Die Probenahme von Atemwegsexhalat erfolgte in der vorliegenden Studie

direkt über ein an die MCC-IMS gekoppeltes SpiroScout®-Spirometer, wobei im Gegensatz zur Untersuchung anderer biologischer Materialien kein potenziell infektiöser Abfall produziert wird [203].

4.2 VOC-Analyse von Headspace (EBC, PW, Serum)

In der vorliegenden Arbeit erfolgte die Analyse des gasförmigen Headspace über Atemwegskondensat (EBC), Rachenspülwasser (PW) und Serum von Patienten mit OSAS im Vergleich mit gesunden Kontrollen. Die hierbei mittels Cyranose® 320 (*siehe Kapitel 4.2.1*) und MCC-Ionenmobilitätsspektrometrie (*siehe Kapitel 4.2.2*) erhobenen Daten sollen im Folgenden diskutiert werden. Ferner wird die im Vorfeld der VOC-Analyse stattgefundenene Probengewinnung der biologischen Materialien Atemwegskondensat, Rachenspülwasser und Serum Gegenstand der Diskussion sein. Unseres Wissens nach ist die Headspace-Analyse der untersuchten biologischen Materialien mittels MCC-IMS und Cyranose® 320 im Vergleich von OSAS-Patienten zu gesunden Kontrollprobanden ein Novum.

4.2.1 Analyse von Headspace mittels Cyranose® 320

Die kreuzvalidierten Daten der mittels Cyranose® 320 durchgeführten Headspace-Messungen zeigen, dass sich die VOC-Muster, ausgehend vom Headspace der biologischen Materialien EBC, PW und Serum, im Vergleich der beiden rekrutierten Studiengruppen (OSAS vs. HC) je nach Messreihe signifikant ($p = 0.007 - 0.465$, Sensitivität 60%-86.7%, Spezifität 53,3%-93,3%, PPV 60%-90%, NPV 60%-80%, AUC 0.6-0.77, CVV 60-77%) unterscheiden. Hierbei ist die diagnostische Genauigkeit der Messreihen EBC und Serum gegenüber der von Rachenspülwasser überlegen. Jede der durchgeführten Headspace-Messreihen wurde äquivalent bezüglich Probenmenge und Verdampfungszeit analysiert. Hierbei gewährleistete eine definierte Zeit der Probenahme von 20 Sekunden pro Probe die Vergleichbarkeit der Headspace-Messungen.

Im Vergleich der einzelnen Messreihen lässt sich die höchste diagnostische

Genauigkeit bei der Analyse von EBC (Sensitivität 60%, Spezifität 93,3%, AUC 0.77) feststellen. Hierbei können, mit einer Ausnahme, alle Probanden als gesund klassifiziert werden. Die zugehörigen Vorhersagewerte für EBC (PPV 90%, NPV 70%) sichern eine Zuordnung zur Patientengruppe, insbesondere im Falle eines positiven Testergebnisses, mit hoher Wahrscheinlichkeit ab. Anhand der Headspace-Analyse von Serum (Sensitivität 86,7%, Spezifität 60%, AUC 0.70) ist ebenfalls eine respektable Gruppentrennung möglich. Hierbei können 13 von 15 Teilnehmern der OSAS-Gruppe korrekt klassifiziert werden. Die korrespondierenden Vorhersagewerte für Serum (PPV 65%, NPV 80%) machen eine Zuordnung zur OSAS-Gruppe im Falle eines negativen Testergebnisses unwahrscheinlich. Die diagnostische Genauigkeit bei der Headspace-Analyse von Rachenspülwasser (Sensitivität 60%, Spezifität 60%, AUC 0.60) im Vergleich von OSAS- zu Kontrollgruppe fällt im Vergleich der untersuchten biologischen Materialien niedriger aus. Korrespondierende Vorhersagewerte für Rachenspülwasser deuten mit einem PPV und NPV von 60% auf eine korrekte Gruppenzuordnung hin.

In einer Vorgängerstudie unserer Arbeitsgruppe konnten Hattesoehl et al. (2011) anhand der Analyse von EBC-Headspace mittels Cyranose® 320 signifikante Unterschiede in den VOC-Profilen von COPD-Patienten ohne (Sensitivität 100%, Spezifität 100%, $p < 0.0001$, CVV 80.5%) und mit Alpha-1-Antitrypsin-mangel (Sensitivität 100%, Spezifität 100%, $p < 0.0001$, CVV 59,5%) im Vergleich mit gesunden Kontrollen feststellen [109]. In der Literatur ist die Headspace-Analyse von weiteren biologischen Materialien mittels Cyranose® 320 beschrieben. De Meij et. al. (2014) analysierten mit Hilfe der Cyranose® 320 den Headspace über Stuhlproben von Patienten mit kolorektalem Karzinom und fortgeschrittenen Adenomen. Hierbei war anhand kreuzvalidierter Daten eine signifikante Trennung von gesunden Kontrollprobanden gegenüber Patienten mit kolorektalem Karzinom (Sensitivität 85%, Spezifität 87%, AUC 0.92, $p < 0.001$) bzw. Patienten mit Adenom (Sensitivität 62%, Spezifität 86%) möglich [67]. Ebenfalls konnten de Meij et al. (2014) pädiatrische Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen bei aktivem Krankheitsverlauf (Sensitivität 86%-100%,

Spezifität 67%-100%, AUC 0.85-1.00. $p < 0.001$) sowie in klinischer Remission (Sensitivität 94%, Spezifität 94%, AUC 0.94, $p < 0.001$) signifikant von gesunden Kontrollen anhand der Analyse von Faeces-Headspace durch die Cyranose® 320 unterscheiden [66].

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie sowie die genannten Erhebungen aus der Literatur demonstrieren die Leistungsfähigkeit der Cyranose® 320, bei der Analyse von Headspace-Proben verschiedener biologischer Materialien signifikante Unterschiede im Vergleich der VOC-Muster von gesunden Kontrollprobanden und Patienten unterschiedlicher Erkrankungen festzustellen. Um den klinischen Stellenwert der Headspace-Analyse von EBC, PW und Serum mittels Cyranose® 320 in der Diagnostik von Patienten mit OSAS evaluieren zu können, ist die Durchführung weiterer Studien vonnöten.

4.2.2 Analyse von Headspace mittels MCC-IMS

Die Ergebnisse der vorliegenden klinischen Studie (*siehe Kapitel 3.6*) zeigen, dass durch die mittels MCC-IMS durchgeführte VOC-Analyse des Headspace von Atemwegskondensat (EBC), Rachenspülwasser (PW) und Serum im vorliegenden Studienkollektiv hochsignifikant ($p = 0.003 - p < 0.001$, Sensitivität 66,7%-93,3%, Spezifität 80%-100%) zwischen OSAS-Patienten und gesunden Kontrollprobanden unterschieden werden kann. Unseres Wissens nach ist die Headspace-Analyse der biologischen Materialien EBC, PW und Serum mittels MCC-IMS ein Novum in der Untersuchung von OSAS-Patienten.

Kreuzvalidierte Daten zeigen für die durchgeführte Headspace-Untersuchung der biologischen Materialien EBC (Sensitivität 66,7%, Spezifität 100%, PPV 100%, NPV 75%, AUC 0.833, $p < 0.001$), PW (Sensitivität 80%, Spezifität 80%, PPV 80%, NPV 80%, AUC 0.800. $p = 0.003$) und Serum (Sensitivität 93,3%, Spezifität 100%, PPV 100%, NPV 93,8%, AUC 0.967, $p < 0.001$) mittels

MCC-IMS eine hohe diagnostische Genauigkeit und Trennschärfe. Hierbei ist die höchste diagnostische Genauigkeit bezüglich der Analyse von Serum-

Headspace (AUC 0.967) festzustellen. Die vorliegenden Ergebnisse demonstrieren weiterhin, dass es im vorhandenen Studienkollektiv möglich ist, OSAS-Patienten unter Berücksichtigung einzelner Analyten (Peak C0 in Serum sowie Peak P60 in Rachenspülwasser) hochsignifikant von gesunden Kontrollen zu unterscheiden. In Bezug auf Atemwegskondensat ist eine signifikante Gruppentrennung anhand des kombinierten Auftretens zweier Analyten (Peak S23 und Peak A1) möglich.

Bezüglich der Headspace-Analyse von VOCs mittels MCC-Ionenmobilitätsspektrometrie finden sich in der Literatur eine Reihe von Studien, die sich mit der Untersuchung von VOCs ausgehend von Bakterienstämmen oder Pilzen [131, 151, 195] beschäftigen. Eine im Rahmen klinischer Studien durchgeführte Ionenmobilitätsspektrometrische Untersuchung von Headspace über biologischen Materialien ist in der Literatur durch die Analyse mittels Field-Asymmetric-Ionenmobilitätsspektrometrie (FAIMS) in unterschiedlichen Studienpopulationen beschrieben. Arasaradnam und Kollegen untersuchten mittels FAIMS den Headspace über Urinproben von Kontrollprobanden im Vergleich zu Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (Fisher's Discriminant Analysis (FDA): $a > 75\%$ accuracy; $p < 0.001$) [15], kolorektalem Karzinom (FDA: Sensitivität 88%, Spezifität 60%) [14] und nicht-alkoholischen Fettlebererkrankungen (Kreuzvalidierung mit 10-facher Faltung: Sensitivität 58%, Spezifität 93%, AUC 0.73) [12]. In jeder der drei Studien dieser Arbeitsgruppe war eine respektable Trennung der jeweiligen Patienten- und Kontrollgruppe durch die Analyse von Urin-Headspace via FAIMS möglich. Weiterhin war es Bomers et al. (2015) mittels FAIMS gelungen, durch die Headspace-Analyse von Faeces anhand kreuzvalidierter Daten hochsignifikant zwischen Clostridium difficile-positiven und Clostridium difficile-negativen Stuhlproben zu unterscheiden (je nach Probenalter: Sensitivität 88,5%-92,3%, Spezifität 86%-90%, C-statistic 0.88-0.98) [41]. Die Ergebnisse der aufgelisteten Studien zeigen, dass es mittels Ionenmobilitätsspektrometrischer Verfahren möglich ist, Headspace-Proben biologischer Materialien zielorientiert zu analysieren und hierbei signifikante Unterschiede im Spektrum der aufgezeichneten VOCs zu detektieren. Dies

kann anhand der Ergebnisse der eigens durchgeführten Headspace-Analysen mittels MCC-IMS bestätigt werden.

Bei der Analyse von Headspace-Proben ist in aller Regel keine direkte Probenahme möglich, was die Gewinnung von Probenmaterial im Vorfeld einer VOC-Analyse erforderlich macht. Im Zuge dessen können die gesammelten biologischen Materialien konserviert werden. So können Probenahme und Probenanalyse zur VOC-Detektion durch Headspace-Tests sowohl zeitlich als auch örtlich voneinander getrennt werden. Dieser Aspekt könnte als Grundlage für eine praktikable und patientenorientierte Durchführung von VOC-Analysen im klinischen Alltag dienen. Vor der jeweiligen Headspace-Messung kann eine Aufarbeitung der Probe durch Überführung von organischen Substanzen in die Gasphase vonnöten sein [109]. Für die in der vorliegenden Studie durchgeführten Headspace-Messungen wurden innerhalb einer jeweiligen Headspace-Messreihe alle Proben mit identischer Probenmenge und Verdampfungszeit analysiert. Ein definiertes Probenvolumen von 10 ml gewährleistete in der vorliegenden Arbeit die Vergleichbarkeit aller durchgeführten Headspace-Messungen.

Ein potenzieller Störfaktor beim Sammeln von Atemwegskondensat ist die Verunreinigung der Probe durch Speichel während der Probenahme. Hierdurch kann es zu einer Kontamination mit Enzymen und Proteinen aus dem Oropharynx kommen [288]. Abhängig vom Gesamtvolumen der ausgeatmeten Luft sowie vom Volumen des gesammelten Atemwegskondensats kann es zu Konzentrationsschwankungen der im EBC enthaltenen Substanzen kommen [118]. Inwiefern sich unterschiedliche EBC- und Lungenvolumina auf die Detektion von VOCs auswirken, ist bisher ungeklärt. In Folgestudien könnten EBC- und Lungenvolumina als Zielgrößen unabhängig von der Dauer der Probenahme dienen.

Das Sammeln von Rachenspülwasser erfolgte nicht-invasiv. Greulich et al. (2013) konnten im Rachenspülwasser von OSAS-Patienten mittels ELISA signifikant erhöhte Konzentrationen des Proteaseinhibitors Alpha-1-Antitrypsin gegenüber gesunden Kontrollen nachweisen [105]. Hieraus erwächst die Hypothese, dass OSAS-Patienten im Rachenspülwasser eine

durch Inflammation veränderte Zusammensetzung von VOCs gegenüber gesunden Kontrollen aufweisen könnten. Unserer Kenntnis nach wurde bisher keine klinische Studie durchgeführt, in welcher eine Analyse von VOCs, ausgehend von Rachenspülwasser, erfolgte.

Die Gewinnung von Blutserum erfolgte invasiv durch Blutentnahme via Venenpunktion und anschließender Zentrifugation der Blutprobe. Hierbei wurden etablierte medizin- und labortechnische Standardverfahren angewendet. Durch die standardisierte Probenahme von Blutserum können Kontaminationen durch exogene VOCs weitestgehend ausgeschlossen werden. Die Idee, volatile Substanzen im Headspace von Blutproben zu untersuchen, reicht zurück bis in die Zeit des Dekadenwechsels zwischen den 1970er und 1980er-Jahren [210]. In der Literatur sind jedoch bisher nur wenige Studien beschrieben, die eine Analyse von Serum-VOCs im Vergleich einer Patientengruppe zu gesunden Kontrollen durchführten [64]. Zlatkis et al. war es bereits 1979 gelungen, Seren von Patienten mit Virusinfektion und gesunden Probanden anhand der Analyse volatiler Substanzen mittels Kapillar-Gaschromatographie mit einer Genauigkeit von 85,7% korrekt zu klassifizieren [287]. Neuere Studien von Deng et al. (2004) [71] und Xue et al. (2008) [273] untersuchten die VOCs im Serum-Headspace von Patienten mit Lungen- bzw. Leberkarzinom mittels einer Verfahrenskombination aus Festphasenmikroextraktion (engl.: Solid Phase Micro Extraction, SPME) mit Gaschromatographie und Massenspektrometrie (SPME-GC-MS). In beiden Studien konnten VOCs detektiert werden, die einen charakteristischen Zusammenhang zum jeweiligen Krankheitsbild erahnen lassen. Ferner konnten in der Veröffentlichung von Horvath et al. (2010) [116] Hunde durch Schnüffeln an Blutproben von Patienten mit Ovarialkarzinom einen signifikanten Unterschied gegenüber Kontrollproben feststellen. Dies deutet auf ein verändertes Serum-VOC-Profil bei Patienten mit Ovarialkarzinom hin [116]. Alonso et al. (2012) gelang es anhand der in Vollblut nachgewiesenen Substanz Benzol signifikant zwischen Rauchern und Nichtrauchern zu unterscheiden [5]. Eine Analyse der Serum-VOCs von Patienten mit OSAS im Vergleich mit gesunden Kontrollen wurde unseres Wissens nach erstmalig in der vorliegenden Studie durchgeführt.

Die Ergebnisse der vorliegend durchgeführten Headspace-Analyse demonstrieren, dass die Ionenmobilitätsspektrometrie, gekoppelt an eine Multikapillarsäule, in der Lage ist, innerhalb der VOC-Profile unterschiedlicher biologischer Materialien (EBC, PW, Serum) signifikante Unterschiede zwischen OSAS-Patienten und gesunden Kontrollprobanden zu erfassen.

Ferner zeigen die Resultate der Ionenmobilitätsspektrometrie im Vergleich mit den vorliegenden Ergebnissen der Cyranose® 320 (*siehe Kapitel 3.5.1*) höhere diagnostische Genauigkeiten in Bezug auf die durchgeführte Headspace-Analyse. Dieses Resultat bestätigt die bisher in der Literatur beschriebenen Vergleiche beider Methoden: Covington et. al (2012) analysierten den Headspace von Stuhlproben vor und nach Strahlentherapie des Beckens mittels FAIMS und einer elektronischen Nase, wobei die Gruppenzugehörigkeit der Studienteilnehmer mittels Ionenmobilitätsspektrometrie mit höherer diagnostischer Genauigkeit ermittelt werden konnte als mittels elektronischer Nase [61]. Auch in der o.g. Studie von Arasaradnam und Kollegen hinsichtlich der Untersuchung von Urin-Headspace im Vergleich zwischen Kontrollprobanden und Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen konnte mittels FAIMS eine höhere Genauigkeit gegenüber der zur Anwendung gekommenen elektronischen Nase erzielt werden [15].

Um die Ergebnisse der in der vorliegenden Arbeit durchgeführten Headspace-Analysen zu validieren, sind weitere klinische Studien durchzuführen.

4.3 Zuordnung spezifischer Substanzen zu einzelnen Peaks

Nach Abgleich der in der vorliegenden Studie erhobenen IMS-Daten mit der Referenzdatenbank '130607_Benz_121 = IMSDB2016' (B&S Analytik GmbH, Dortmund) konnten den relevanten Peaks jeder Messreihe spezifische volatile organische Substanzen zugeordnet werden (*siehe Tabelle 17*): In Atemwegsexhalat sind dies die Substanzen 2-Methylfuran, Aceton, 2-(Methylthio)-ethanol, 3-Methylbutanal / 3-Methylbutyraldehyd und Hexanal, in Atemwegskondensat die Substanzen 2-Undecanon, n-Decan, Aceton,

2,2,4,6,6-Pentamethylheptan und (-)-Menthol M, in Rachenspülwasser die Substanzen Toluol, 3-Methylbutanal / 3-Methylbutyraldehyd, Decanal, Hexanal und 2-Methylfuran sowie in Serum die Substanzen 2-Methylfuran, Butanon, 1-Pentanol, n-Decan und Toluol. An dieser Stelle sei erwähnt, dass sich die Mechanismen der Aerosolbildung in den unterschiedlichen Regionen des Respirationstraktes unterscheiden [88, 126]. Dieser Zusammenhang könnte eine plausible Erklärung für die in den verschiedenen biologischen Materialien identifizierten unterschiedlichen Substanzen liefern.

Eine Unterscheidung der Studiengruppen anhand chemischer Substanzen ist analog zu den in *Kapitel 3.6.1* dargelegten kreuzvalidierten Modellen möglich: In den biologischen Materialien Atemwegsexhalat und Serum kann anhand der Substanz 2-Methylfuran (jeweils zugeordnet zu Peak C0), hochsignifikant ($p = 0.004$ bzw. $p < 0.001$) zwischen OSAS-Patienten und gesunden Kontrollprobanden unterschieden werden. Bezüglich Rachenspülwasser ist eine hochsignifikante Gruppentrennung ($p = 0.003$) mittels der Substanz Toluol (zugeordnet zu Peak P60) möglich. In Atemwegskondensat kann anhand einer Kombination der Verbindungen 2-Undecanon (Peaks S23) und n-Decan (Peak A1) hochsignifikant ($p < 0.001$) zwischen OSAS-Patienten und gesunden Kontrollen unterschieden werden. Hierbei wird ersichtlich, dass eine signifikante Trennung der Studienkohorten in den biologischen Materialien Atemwegsexhalat, Serum und Rachenspülwasser anhand lediglich einer volatilen organischen Substanz durchgeführt werden kann.

In einer von Aoki et al. (2016) publizierten Studie konnten innerhalb einer japanischen Studienpopulation bereits spezifische volatile Verbindungen in der Ausatemluft von OSAS-Patienten mittels GC-MS nachgewiesen werden: Im Vergleich zwischen OSAS-Patienten ($n = 32$) und Kontrollprobanden ($n = 33$) war hierbei eine, in Abhängigkeit des AHI, signifikante Konzentrationserhöhung verschiedener Kohlenstoff-Verbindungen (u.a. Toluol, Ethylbenzol, p-Xylol, Phenylacetat, n-Hexan, n-Heptan, n-Octan, n-Nonan, n-Decan und Aceton) innerhalb der Patientengruppe feststellbar [10]. Ein direkter Vergleich der japanischen Forschungsergebnisse mit den in der vorliegenden Studie erhobenen Daten ist aufgrund von relevanten Unterschieden bezüglich der angewendeten Auswertungsverfahren, der

untersuchten biologischen Materialien, des genetischen Hintergrundes der Studienpopulationen sowie des Schweregrades der obstruktiven Schlafapnoe nur eingeschränkt möglich. Unter Berücksichtigung jener Faktoren sind dennoch die Substanzen Aceton, Toluol und n-Decan hervorzuheben, da sie sowohl bei Aoki et al. (2016) als auch in der vorliegenden Substanzzuordnung identifiziert werden konnten und in beiden Fällen einen relevanten Unterschied zwischen OSAS,- und Kontrollgruppe demonstrieren können.

Bezüglich der in Rachenspülwasser (Peak P60) und Serum (P28) zuordenbaren Substanz Toluol (engl.: Toluene) ist in der Literatur weiterhin ein Zusammenhang zwischen Rauchen und dem vermehrten Auftreten der Substanz in der Ausatemluft beschrieben [56, 171]. Ebenso ist eine Luftverschmutzung durch Toluol, ausgehend von Auspuffsystemen im Straßenverkehr [208] oder aufgrund des Verbrennens von Holzkohle [209], beschrieben.

Die Substanz Aceton (Propanon) kann anhand des zugehörigen Peaks P53 sowohl in Atemwegsexhalat als auch in Atemwegskondensat identifiziert werden. Aceton wird im menschlichen Körper bei kataboler Stoffwechsellage im Zuge einer gesteigerten Lipolyse neben weiteren Ketonkörpern zur Gewinnung von Energie genutzt [97]. Bei Patienten mit Herzinsuffizienz wird der Detektion des Biomarkers Aceton in Blut und Ausatemluft eine bedeutsame Rolle zugesprochen [163, 172, 278]. Pathophysiologisch geht man hierbei davon aus, dass aufgrund eines gestörten Energiehaushalts und einer verringerten Kapazität zur Oxidation von Fettsäuren auf Ketonkörper als effiziente Energiequelle zurückgegriffen wird [17, 122]. Ähnliche Prozesse könnten beispielsweise aufgrund repetitiver Hypoxämie auch im Rahmen eines Obstruktiven Schlafapnoesyndroms zu Bildung und Verbrauch von Ketonkörpern führen, zumal das OSAS ferner mit dem Krankheitsbild der Herzinsuffizienz assoziiert wird [104].

Bezüglich der Substanz n-Decan ist ferner ein vermehrtes Auftreten in der Ausatemluft nach Exposition gegenüber Siliziumdioxidstaub [121] und in Zusammenhang mit allergischem Asthma [51] beschrieben. Weiterhin wird

auch die von uns in EBC zu Peak S12 zugeordnete Verbindung 2,2,4,6,6-Pentamethylheptan mit allergischem Asthma in Verbindung gebracht [51]. Sowohl das Krankheitsgeschehen der Silikose als auch des Asthmas sind wie das Obstruktive Schlafapnoesyndrom mit vermehrtem oxidativem Stress assoziiert, was eine potenzielle Erklärung für die Übereinstimmungen sein könnte.

Die organische Verbindung 2-Methylfuran kann im vorliegenden Studienkollektiv in drei unterschiedlichen biologischen Materialien (EB, PW und Serum) detektiert werden. Somit steht das Auftreten von 2-Methylfuran in Korrelation zur alveolären Expirationsluft (Atemwegsexhalat), dem oberen Respirationstrakt (Rachenspülwasser) und dem systemischen Kreislauf (Serum). Das gleichzeitige Auftreten der selben volatilen organischen Substanz in verschiedenen biologischen Materialien könnte durch einen Diffusionsvorgang systemischer VOCs von Blut zu Alveolarraum erklärt werden. Ebenfalls wäre es denkbar, dass im Bereich der Atemwege emittierte Substanzen in den Lungenkreislauf gelangen und hieraufhin im systemischen Kreislauf bzw. im Serum nachweisbar wären. In diesem Zusammenhang legen die hiesigen Studienergebnisse die Vermutung nahe, dass 2-Methylfuran im Rahmen eines OSAS von besonderem Interesse sein könnte. Das Auftreten von 2-Methylfuran wird unter anderem mit der Hitzebehandlung von Lebensmitteln [54, 166], dem Rauchen von Zigaretten [223, 255] oder mit Schimmelpilzbefall [228] assoziiert und gilt als potenziell toxisch für Leber und Lunge [213]. Ein Einfluss von Lebensmitteln und/oder Nikotinkonsum kann in der vorliegenden Erhebung weitestgehend ausgeschlossen werden, da die Studienteilnehmer vor Probenahme mindestens zwei Stunden nüchtern geblieben waren und seit mindestens einem Jahr vor Studienteilnahme keinen aktiven Nikotinkonsum betrieben hatten. Dennoch führen die zugrundeliegenden Pathomechanismen des OSAS [46, 169, 267], ebenso wie das Rauchen von Zigaretten, zu Endothelschädigungen, was die Ähnlichkeiten der Studienergebnisse erklären könnte.

In den biologischen Materialien Atemwegsexhalat und Rachenspülwasser können die Substanzen 3-Methylbutanal bzw. 3-Methylbutyraldehyd anhand von Peak P11 zugeordnet werden. In einer Studie von Filipiak et al.

unterschied sich das Vorkommen von 3-Methylbutanal in den VOC-Profilen der Bakterienstämme *Staphylococcus aureus* und *Pseudomonas aeruginosa* [94]. Weiterhin sind große interindividuelle Unterschiede bezüglich des dermalen Emittierens von 3-Methylbutanal beschrieben [226]. Ein Bezug der beiden volatilen organischen Verbindungen zum Obstruktiven Schlafapnoesyndrom ist unseres Wissens nach bisher nicht beschrieben.

Die Substanz Hexanal konnte sowohl in Rachenspülwasser (Peak P6) als auch in Atemwegsexhalat (Peak P40) zugeordnet werden. In der Literatur ist die Detektion von Hexanal unter anderem in der Ausatemluft von Patienten mit Lungenkarzinom [71, 96, 220], COPD [123] und gastroösophagealen bösartigen Neubildungen [149] beschrieben. Ein Zusammenhang zwischen Hexanal und OSAS ist unseres Wissens nach bisher nicht bekannt.

Die Substanz Decanal lässt sich in Rachenspülwasser anhand des Peaks S0 detektieren. Decanal ist als Biomarker bisher unter anderem mit kolorektalem Karzinom [32], Beatmungspneumonie [99], gastroösophagealen Adenokarzinomen [149] sowie Ovarialkarzinomen [7] assoziiert. Ein Zusammenhang mit OSAS ist unserer Kenntnis nach bisher nicht beschrieben.

Für die in Serum identifizierte Substanz Butanon (Peak P59) ist in der Literatur eine Assoziation zu Lungenkrebs [220] und bezüglich des Vorkommens von *Pseudomonas aeruginosa* [44] beschrieben. Ferner ist ein verändertes VOC-Profil im Rahmen von Fettlebererkrankungen in Zusammenhang mit Butanon und der in der vorliegenden Analyse in Serum identifizierten Substanz 1-Pentanol (zugeordnet zu Peak S25) beschrieben [70].

Die darüber hinaus zugeordneten Substanzen 2-(Methylthio)-ethanol (Peak S15 in Atemwegsexhalat), 2-Undecanon (Peak A1 in Atemwegskondensat) sowie (-)-Menthol M (Peak S6 in EBC) wurden unserer Kenntnis nach mit bisher keiner Erkrankung, im Sinne eines charakteristischen Biomarkers, in Verbindung gebracht.

Die Zuordnung von VOCs zu konkreten Substanzen ist im Rahmen der VOC-Analyse durch MCC-Ionenmobilitätsspektrometrie möglich, da beispielsweise

im Gegensatz zur chemischen Mustererkennung der Cyranose® 320 einzelne Analyten eines Gasgemischs detektiert werden können. Folglich ist es mittels IMS möglich, einzelne oder in Kombination auftretende spezifische VOCs zu erfassen. Hierbei gilt es zu berücksichtigen, dass eine konkrete Zuordnung aufgezeichneter Peaks zu spezifischen chemischen Substanzen nicht ohne Weiteres erfolgen kann. Die Zuordnung einzelner Analyten zu konkreten Substanzen muss hierbei in Zusammenhang mit substanzspezifischen Referenzmessungen erfolgen, beispielsweise mittels GC-MS gemessener Reinsubstanzen. Durch Referenzmessungen gesammelte charakteristische Eigenschaften einer Substanz, wie beispielsweise deren Retentionszeit, werden in Referenzdatenbanken gesammelt.

Beim Abgleich von IMS-Daten mit einer Referenzdatenbank können einem via IMS detektierten Peak gegebenenfalls mehrere organische Verbindungen zugeordnet werden. Grund hierfür können Überlagerungen einzelner Peaks im aufgezeichneten IMS-Chromatogramm sein. Ferner werden unterschiedlichen Peaks gegebenenfalls dieselben organischen Substanzen zugeordnet. Dies liegt darin begründet, dass eine in der Datenbank hinterlegte Substanz übereinstimmende Eigenschaften zu den via IMS detektierten unterschiedlichen Peaks aufweisen kann. In jedem Fall ist die Identifizierung einer volatilen organischen Substanz mittels Ionenmobilitätsspektrometrie nur in Verbindung mit Referenzmessungen möglich [130, 174].

Um evaluieren zu können, ob die in der vorliegenden Studie zugeordneten volatilen organischen Substanzen typischerweise bzw. pathognomonisch im Rahmen eines Obstruktiven Schlafapnoesyndroms auftreten, sind weitere Forschungsprojekte anzuschließen. Hierbei könnte die weitere Identifikation einzelner oder in Kombination auftretender krankheitsspezifischer flüchtiger Substanzen einen entscheidenden Beitrag zum tieferen Verständnis der Pathophysiologie des OSAS leisten und zur Verbesserung der nicht-invasiven Diagnostik der Erkrankung beitragen.

4.4 Einflussgrößen und Störfaktoren bei der Detektion von VOCs

Die Aufzeichnung und Detektion von VOCs kann durch verschiedenliche Einfluss- und Störgrößen beeinflusst werden. Dies kann zu veränderten VOC-Mustern und Chromatogrammen führen. Bereits beim Vergleich von VOCs gesunder Probanden konnten große Varianzen festgestellt werden [201]. Das Ziel biochemischer und medizinwissenschaftlicher Aufzeichnung und Analyse volatiler Substanzen ist die Identifikation von VOCs bzw. VOC-Profilen, welche einer Krankheit spezifisch als endogene Biomarker oder 'Breathprints' zugeordnet werden können [25]. Um diesbezügliche VOC-Analysen adäquat interpretieren zu können, ist die Kenntnis wichtiger Einflussgrößen und Störfaktoren essenziell. Im folgenden Abschnitt sollen vor allem praktische Aspekte beleuchtet werden, die aus medizinischer Sicht bei der Aufzeichnung und Analyse von VOCs berücksichtigt werden sollten.

Bei der Detektion von VOCs stellt sich zunächst die Frage nach dem Ursprung der erfassten volatilen Substanzen. Abgesondert werden VOCs unter anderem über die menschliche Haut, Faeces, Urin oder die Ausatemluft, womit jedoch keine Aussage über den ursprünglichen Entstehungsort der volatilen Substanzen getroffen werden kann. Grundsätzlich sind in unserer Atemluft enthaltene endogene, im Körperinneren entstandene VOCs, von exogenen, der Umwelt entstammenden VOCs, zu unterscheiden. Exhalierete endogene VOCs können entweder lokal und somit direkt aus dem Bereich des oberen und unteren Respirationstraktes stammen oder VOCs systemischen Ursprungs sein, welche indirekt über den Blutkreislauf in die Alveoli der Lunge gelangen und schließlich über die Ausatemluft abgeatmet werden. Hierbei ist die Diffusion systemischer VOCs von Blut zu Alveolarraum abhängig von physikochemischen Einflussfaktoren wie Polarität, Fettlöslichkeit oder Flüchtigkeit. In welchem Ausmaß VOCs in unserer Ausatemluft vorkommen richtet sich im Wesentlichen nach dem Verteilungsgleichgewicht der Substanzen zwischen den Kompartimenten Ausatemluft, Blut und Fett [1, 25, 50, 73, 106, 256, 270]. In vielen Fällen ist weiterhin zu klären, ob die aufgezeichneten flüchtigen Substanzen tatsächlich endogenen oder

exogenen Ursprungs sind [50]. In diesem Zusammenhang gilt es, körpereigene Produktionswege endogener VOCs weitreichender zu erforschen [25].

Als maßgebliche Einflussgröße bei der Detektion von VOCs ist der Aspekt der Umweltexposition und die hierbei stattfindende Exposition gegenüber exogenen VOCs zu berücksichtigen. Exogene VOCs kommen ubiquitär in unserer Umgebungsluft sowie in Raumluft innerhalb von Gebäuden oder Verkehrsmitteln vor [25, 93, 101, 202, 264]. Die Luft, die wir atmen, enthält ein mannigfaltiges Spektrum an VOCs, welche in unterschiedlichem Ausmaß von unserem Körper über das Bronchialsystem oder transdermal aufgenommen werden und sich abhängig von pharmakokinetischen Eigenschaften gegebenenfalls in unserer Ausatemluft wiederfinden lassen. Ebenfalls üben die Konzentration exogener VOCs sowie die Dauer der Exposition einen Einfluss [25] aus. Im vorliegenden Studienkollektiv wurden potenzielle Faktoren der Umweltexposition durch klinisch relevante Ein- und Ausschlusskriterien angeglichen (*siehe Kapitel 2.1*). Darüber hinaus atmete jeder Studienteilnehmer vor der Probenahme von Atemwegsexhalat 10 Minuten lang Raumluft innerhalb eines eigens zu Messzwecken installierten Raums. Eine Kontamination der in der vorliegenden Studie aufgezeichneten VOC-Profile und Chromatogramme durch exogene VOCs lässt sich dennoch nicht gänzlich ausschließen.

Der Einfluss von Umweltexposition sowie von genetischen Faktoren auf VOC-Muster, aufgezeichnet mit der Cyranose® 320, wurde in einer Studie von Tarnoki et al. (2014) unter mono- und dizygoten Zwillingen untersucht. Genetische Faktoren hatten hierbei keinen Einfluss auf ausgeatmete VOCs. Im Gegensatz dazu traten bei unterschiedlicher Umweltexposition signifikant unterschiedliche VOC-Muster auf [248]. Ort und Zeitpunkt der Probenahme werden hiernach als entscheidende Stellgrößen beim Aufzeichnen von VOC-Profilen angesehen. Dies geht ebenfalls aus einer Studie von Trefz et al. (2013) hervor, welche Atemwegsprofile mittels Protonen-Transfer-Reaktions-Flugzeit- Massenspektrometrie (PTR-ToF-MS) untersuchte. Hierbei konnte eine Veränderung von VOC-Profilen in klinischer Umgebung durch Kontamination mit exogenen VOCs festgestellt werden. Zudem scheinen sich

die Konzentrationen ausgeatmeter Biomarker zeitabhängig verändern zu können [253]. Kunos et al. (2015) konnten in diesem Zusammenhang per Cyranose® 320 feststellen, dass sich morgens aufgezeichnete VOC-Profile bei OSA-Patienten signifikant gegenüber abends aufgezeichneten Messungen unterschieden [150]. In der vorliegenden Studie wurden 11 von 15 OSAS-Patienten nachmittags zwischen 13:45 Uhr und 15:30 Uhr gemessen, bei vier Patienten fanden die Messungen vormittags zwischen 08:35 Uhr und 10:00 Uhr statt.

Darüber hinaus kann eine Kontamination endogener VOCs durch von außen zugeführte Substanzen erfolgen. Als potenzielle Störgröße gilt in diesem Zusammenhang die Einnahme von Arzneimitteln [25]. Beispielhaft für deren Einfluss auf Atemwegsprofile sei eine Studie von Beauchamp et al. (2010) an gesunden Probanden erwähnt, in welcher eine mittels Protonen-Transfer-Reaktions-Massenspektrometrie (PTR-MS) durchgeführte Echtzeitanalyse von Atemwegsexhalat nach der peroralen Einnahme einer eukalyptolhaltigen Kapsel erfolgte. Hierbei war Eukalyptol noch mindestens 25 Stunden nach Einnahme der Kapsel im Atemwegsexhalat der Probanden nachweisbar. Außerdem wurden große Varianzen unter den Teilnehmern bezüglich des erstmaligen Auftretens von Eukalyptol in der Ausatemluft nach Passieren des Wirkstoffs von Magen-Darm-Trakt und systemischem Kreislauf festgestellt. Darüber hinaus wurden starke Konzentrationsschwankungen von Eukalyptol zwischen den Teilnehmern, aber auch bei mehrmaliger Messung derselben Teilnehmer festgestellt [26]. Auch wenn diese beispielhafte Studie nicht generell auf die Einnahme anderer Arzneimittel und die daraus resultierenden Effekte auf Atemwegsprofile übertragbar ist, ist ein potenzieller Einfluss auf die erfassten VOC-Profile des vorliegenden Studienkollektivs durch etwaige Medikamenteneinnahme zumindest denkbar.

Ebenfalls können Atemwegsprofile durch die Einnahme von Lebensmitteln und/oder Getränken [108, 162] sowie nach dem Konsum von Alkohol [127] oder Nikotin [93, 98, 152], verändert sein. Um derartige Effekte zu verhindern, mussten die Teilnehmer in der vorliegenden Studie zwei Stunden vor der Studienvisite nüchtern geblieben sein. Keiner der Studienteilnehmer betrieb in den 12 Monaten vor Studienvisite aktiven Nikotinabusus. Ein Einfluss von

weiter zurückliegendem Nikotinkonsum konnte durch eine durchgeführte Lungenfunktionsprüfung jedes Studienteilnehmers relativiert werden.

Ferner besteht aufgrund der niedrigen Konzentrationen volatiler Substanzen innerhalb von Atemwegsexhalat bei Durchmischung alveolärer Expirationsluft mit Totraumvolumen die Gefahr der Verdünnung und Überlagerung von potenziell relevanten VOCs [231]. Dieser Tatsache wird bei Messungen mit dem verwendeten BioScout-MCC-IMS (B&S Analytik GmbH, Dortmund) durch ein definiertes Totraumvolumen Rechnung getragen. Hierdurch wird sichergestellt, dass ausschließlich Alveolarluft analysiert wird. Bei Messungen mit der Cyranose® 320 wird der Verdünnungseffekt durch das Atemmanöver einmaliger Expiration der Vitalkapazität beim Sammeln der Atemwegsprobe abgeschwächt [80]. Hierbei kann es gegebenenfalls zu Schwankungen aufgrund unterschiedlicher Mitarbeit der Studienteilnehmer kommen.

Als potenzielle Einflussfaktoren sind weiterhin Alter und Geschlecht zu nennen. In diesem Zusammenhang soll eine Studie von Dragonieri et al. (2016) angeführt werden, in welcher mittels Cyranose® 320 kein signifikanter Unterschied zwischen den Atemwegsprofilen von Männern und Frauen festgestellt werden konnte. Dies stellt den Einfluss des Geschlechts auf ausgeatmete VOCs in Frage. Weiterhin wird hierbei in selbigem Zusammenhang der Einfluss des Alters relativiert [79]. Frühere Ergebnisse dieser Arbeitsgruppe konnten ebenfalls keinen signifikanten Einfluss unterschiedlichen Alters auf Atemwegsprofile feststellen [80]. Im vorliegenden Studienkollektiv herrschte eine signifikant unterschiedliche Geschlechterverteilung im Vergleich von Patienten zu Kontrollgruppe vor, während die Altersverteilung nicht signifikant verschieden war.

Darüber hinaus ist ein Einfluss von Kosmetika (z.B. Deodorant, Parfüm) bei der Detektion von VOCs denkbar. Sämtliche Studienteilnehmer wurden gebeten am Tag der Studienvsiste auf Kosmetika und Duftstoffe zu verzichten.

Neben dem Obstruktiven Schlafapnoesyndrom haben bekanntlich eine Vielzahl anderer Erkrankungen maßgeblichen Einfluss auf die Detektion von

VOCs [8]. Ein Einfluss von mit OSAS assoziierten Komorbiditäten [24, 104, 119, 138, 194, 214] ist in diesem Zusammenhang nicht auszuschließen. Akute und chronische Erkrankungen des oberen und unteren Respirationstrakts wurden im hiesigen Studienkollektiv per Lungenfunktionsprüfung sowie anamnestisch ausgeschlossen. Über den Einfluss anderweitiger Komorbiditäten kann keine Aussage getroffen werden.

In der Zusammenschau aller genannten Einfluss- und Störfaktoren lässt sich nicht abschließend eruieren, ob alle in der vorliegenden Studie erfassten relevanten VOCs in kausalem Zusammenhang zu pathophysiologischen oder biochemischen Prozessen des Krankheitsbilds OSAS stehen.

4.5 Diskussion der Laborchemie

Im Rahmen der vorliegenden Studie erfolgte die laborchemische Analyse der Serumparameter CRP, IL-6, IL-8 und TNF- α im Vergleich von OSAS-Patienten gegenüber gesunden Kontrollprobanden. Für die jeweiligen Biomarker konnte hierbei kein signifikanter Unterschied zwischen OSAS- und Kontrollgruppe festgestellt werden: CRP ($p = 0.32$), IL-6 ($p = 0.07$), IL-8 ($p = 1.0$), TNF- α ($p = 0.94$).

In der Literatur wird eine im Rahmen des Obstruktiven Schlafapnoesyndroms auftretende systemische Inflammation und die damit einhergehende Ausschüttung von Biomarkern ins Blutserum diskutiert [24, 65, 176, 249]. Hierbei wird unter anderem der Einfluss des Transkriptionsfaktors NF- κ B eruiert, dessen Genregulation eine Ausschüttung von C-reaktivem Protein (CRP) und pro-inflammatorischer Zytokine wie beispielsweise dem Tumornekrosefaktor-alpha (TNF- α) oder Interleukinen (IL-6, IL-8) bedingt [218, 219].

Die Datenlage dieser serumanalytisch bestimmten Laborparameter bei OSAS-Patienten gegenüber gesunden Kontrollprobanden ist uneinheitlich. Hierbei gilt es zu berücksichtigen, dass sich die jeweiligen Studiendesigns und Studienpopulationen erheblich voneinander unterscheiden. Zudem ist nach wie vor unklar, inwieweit 'Übergewicht' als unabhängiger Faktor die Ausschüttung (pro-)inflammatorischer Biomarker bei OSAS-Patienten beeinflusst [19, 217, 260].

Svensson et al. (2012) stellten in einem weiblichen Studienkollektiv signifikant erhöhte Serumwerte von CRP ($p = 0.005$) und IL-6 ($p = 0.04$) bei OSAS-Patientinnen (AHI $\geq 15/h$) gegenüber Frauen mit einem AHI $< 15/h$ fest [247]. IL-6 gilt als einer der Hauptstimulatoren für die Ausschüttung von CRP aus der Leber, weswegen beide Parameter oftmals miteinander korrelieren [176]. Weitere Studien zeigen ebenfalls erhöhte CRP- [165, 277] und IL-6-Serumspiegel [60, 159] bei OSAS-Patienten gegenüber Kontrollprobanden. Steiropolus et al. (2010) konnten hingegen in ihrem Studienkollektiv keinen signifikanten Gruppenunterschied für IL-6 ($p = 0.465$) und CRP ($p = 0.125$) zwischen OSAS- (AHI $\geq 15/h$) und Kontrollgruppe (AHI $< 15/h$) feststellen

[242]. Ryan et al. (2006) konnten ebenfalls keine eindeutige Assoziation zwischen der IL-6-Konzentration im Serum und OSAS herstellen [219].

Steiropoulos et al. (2010) konnten bei OSAS-Patienten im Vergleich zu Nicht-OSAS-Patienten eine signifikante Erhöhung von TNF- α feststellen ($p < 0.001$) [242]. Signifikant erhöhte TNF- α -Spiegel bei OSAS-Patienten gegenüber gesunden Kontrollen wurden, unabhängig vom Faktor 'Übergewicht', beispielweise von Ryan et al. (2006) [219] und Minoguchi et al. (2004) [181] sowie von Constantinidis et al. (2008) [60] und Li et al. (2008) [159] festgestellt. Keine signifikante Erhöhung zeigte der Parameter TNF- α ($p = 0.7$) bei OSAS-Patienten im Vergleich mit gesunden Kontrollen in der Studie von Svensson et al. (2012) [247].

Bezüglich Interleukin-8 konnte in verschiedenen Studien eine signifikante Erhöhung bei OSAS-Patienten festgestellt werden, ferner eine Abnahme der Serumkonzentrationen nach CPAP-Therapie [188, 219].

Zusammenfassend konnte der in der Literatur diskutierte Zusammenhang zwischen OSAS bzw. Adipositas und erhöhten Serumkonzentrationen (pro-)inflammatorischer Biomarker im Serum im hier vorliegenden Studienkollektiv nicht nachgewiesen werden. Eine mögliche Erklärung könnte die kleine Fallzahl von Patienten und Probanden sein. Weiterführende Studien sind in diesem Zusammenhang erforderlich.

4.6 Diskussion der Studienpopulation

OSAS-Patienten und gesunde Kontrollprobanden wurden zur selben Zeit rekrutiert, womit saisonale Störeinflüsse auf die Messergebnisse abgeschwächt werden konnten. Jedoch erwies sich die Rekrutierung gesunder Probanden, unter Berücksichtigung der zugrunde gelegten Ein- und Ausschlusskriterien (*siehe Kapitel 2.1*), als diffizil. Eine von Fietze et al. (2003) durchgeführte Studie thematisiert die Problematik, schlafgesunde Probanden im mittleren Erwachsenenalter in der Allgemeinbevölkerung zu finden [92]. Da gesunde Probanden im vorliegenden Kollektiv einen ambulanten AHI $< 5/h$ aufweisen mussten, konnten sieben gescreente Probanden aufgrund eines ambulanten AHI $\geq 5/h$ nicht eingeschlossen werden. Erwähnt werden soll in diesem Zusammenhang die in der Literatur einheitlich beschriebene Korrelation von BMI und AHI [111, 211, 282]. Die Baseline-Charakteristika (*siehe Kapitel 3.1*) des vorliegenden Studienkollektivs (BMI [kg/m^2]: OSAS-Patienten $30,42 \pm 3,87$, Kontrollgruppe $25,62 \pm 0,58$; AHI amb. [n/h]: OSAS-Patienten $26,0 \pm 22,5$, Kontrollgruppe $1,0 \pm 1,0$) lassen ebenfalls einen Zusammenhang von BMI und AHI erkennen.

Die signifikant unterschiedliche Geschlechterverteilung ist im Hinblick auf das Überwiegen von Männern in der Patientengruppe auf den höheren Anteil männlicher OSAS-Patienten in der Bevölkerung und somit auf den Risikofaktor männliches Geschlecht zurückzuführen. Umgekehrt kann die Geschlechterverteilung des Krankheitsbildes [110] als möglicher Erklärungsversuch eines Überwiegens weiblicher Studienteilnehmer innerhalb der Kontrollgruppe dienen.

Zur Charakterisierung der Patientengruppe wurden die im Rahmen einer stationären diagnostischen Nacht erhobenen Polysomnographie-Daten (*siehe Tabelle 4*) in die Arbeit aufgenommen. Die erhobenen Werte für AHI (TST) [n/h]: $23,6 \pm 28,2$, RDI (AHI + RERA, TST) [n/h]: $26,7 \pm 21,1$, SaO₂ Mittelwert [%]: $92,9 \pm 2,4$ und Dauer $< 90\%$ SaO₂ [min]: $26,1 \pm 60,9$ zeigen eine behandlungsbedürftige Obstruktive Schlafapnoe der Studienteilnehmer an. Zusätzlich klagten die teilnehmenden Patienten über eine ausgeprägte Tagesschläfrigkeit, erfasst durch einen ESS-Punktwert von durchschnittlich

15,0 ± 2,5, was die Diagnose eines OSAS untermauert.

Die im Mittel signifikant höhere Herzfrequenz [bpm] in der Patientengruppe (73,0 ± 8,0) gegenüber der Probandengruppe (68,0 ± 6,5) könnte sich anhand eines durch OSAS verursachten Ungleichgewichts des autonomen Nervensystems erklären lassen [141].

4.6.1 Epworth Sleepiness Scale (ESS)

Die in der vorliegenden Studie verwendete Epworth Sleepiness Scale (ESS; z. Dt. Epworth-Schläfrigkeitsskala) wird weitläufig als etabliertes Screeningtool für Obstruktive Schlafapnoe eingesetzt. Durch das Erfassen des Parameters Tagesschläfrigkeit wird eine numerische Beurteilung der Symptomatik ermöglicht, welche Rückschlüsse auf das vorhandene Krankheitsbild gestatten soll. Im vorliegenden Studienkollektiv erzielen OSAS-Patienten im Mittel einen ESS-Punktwert von 15,0 ± 2,5, gesunde Kontrollprobanden weisen Punktwerte von 5,0 ± 3,5 auf (*siehe Tabelle 3*).

Nach Johns (1991) sind Punktwerte ab einer Summe > 10 als klinisch auffällig zu bewerten, Punktwerte > 14 weisen auf eine pathologische Tagesschläfrigkeit hin [125]. Nach Bloch (1999) weisen deutschsprachige Studienteilnehmer mit schlafbezogenen Atmungsstörungen, die die deutsche Übersetzung der ESS bearbeiteten, einen ESS-Punktwert von 13,0 ± 5,1 auf. Gesunde Kontrollprobanden erzielten bei Bloch (1999) im Mittel Punktwerte von 5,7 ± 3,0 [37].

Nach einem systematischen Vergleich von 35 Studien von Kendzerska et al. (2014) gibt es starke Evidenz dafür, dass ESS-Punktwert und der anhand des AHI beurteilte Schweregrad einer OSA wenig bis gar nicht miteinander korrelieren [139]. Bonzelaar et al. (2016) konnten unter Berücksichtigung weiterer Publikationen bei 16 von 33 Studien keine signifikante Korrelation zwischen ESS und AHI finden [43]. Eine mögliche Erklärung sehen Kendzerska et al. (2014) in der schwachen Korrelation zwischen AHI und Tagesschläfrigkeit [102], ferner zwischen AHI und MSLT [262].

Eine maßgebliche Rolle spielt die Definition des Cut-Offs der ESS. In vielen

Studien wird ein Cut-Off von ≥ 10 Punkten als abnormal definiert, wobei dieser Schwellenwert nicht signifikant mit dem Vorhandensein einer OSA zu korrelieren scheint [43]. Koehler et al. (2014) konnten bei einem Patientenkollektiv mit BMI $> 35 \text{ kg/m}^2$ ab einem ESS-Cut-Off von ≥ 11 Punkten eine Aggravation des OSAS hinsichtlich subjektiver exzessiver Tagesschläfrigkeit, längerer Gesamtschlafdauer (TST), höherer Schlafeffizienz und niedriger Schlaflatenz feststellen [146]. Um zunächst ein klinisch relevantes, da hoch-symptomatisches Patientengut zu untersuchen, wurde bewusst ein ESS-Cut-Off von > 12 Punkten für die Patientengruppe gewählt.

4.7 Stärken und Limitationen der Studie

Im folgenden Abschnitt soll auf Stärken und Limitationen der vorliegenden Studie eingegangen werden.

Hervorzuheben ist die detaillierte Charakterisierung des Studienkollektivs. Sowohl Patienten mit Obstruktivem Schlafapnoesyndrom, als auch gesunde Kontrollprobanden wurden einer ausführlichen Anamnese, körperlicher Untersuchung und Diagnostik unterzogen. So wurde eine Obstruktive Schlafapnoe unter den Teilnehmern der Patientengruppe zweifelsfrei mittels stationärer kardiorespiratorischer Polysomnographie diagnostiziert sowie die Notwendigkeit einer Therapie aufgrund charakteristischer OSAS-Symptomatik festgestellt. Bei gesunden Kontrollprobanden konnte die Diagnose OSAS durch die Durchführung einer ambulanten Polygraphie sowie den Ausschluss exzessiver Tagesschläfrigkeit mittels ESS ausgeschlossen werden.

Bemerkenswert ist die in der vorliegenden Arbeit durchgeführte VOC-Analyse von vier unterschiedlichen biologischen Materialien (Atemwegsexhalat, Atemwegskondensat, Rachenspülwasser und Serum). Die hierbei gesammelten Informationen über alveoläre Expirationsluft, Atemwegsepithel, oberen Respirationstrakt und systemisch zirkulierende VOCs ermöglichen eine umfangreiche Betrachtung und Untersuchung volatiler organischer Substanzen im vorliegenden Studienkollektiv. Des

Weiteren erfolgte die VOC-Analyse mittels zwei unterschiedlicher 'elektronischer Nasen' (Cyranose® 320 und MCC-Ionenmobilitätsspektrometrie). Unseres Wissens nach ist das angewandte Studiendesign in der Untersuchung von Patienten mit Obstruktivem Schlafapnoesyndrom bisher einmalig.

Als Limitation der vorliegenden Arbeit ist die Studienpopulation bestehend aus 30 Teilnehmern zu nennen, welche mit 15 Studienteilnehmern pro Vergleichsgruppe eine relativ kleine Fallzahl aufweist. Hierbei besteht die Gefahr, dass bereits einzelne Ausreißer innerhalb der Messreihen das Gesamtergebnis sowie das Signifikanzniveau entscheidend verändern könnten. Aufgrund dessen wurden die mittels Cyranose® 320 und MCC-Ionenmobilitätsspektrometrie erfassten Daten einer Leave-One-Out-Kreuzvalidierung (LOO-CV) unterzogen, wodurch Aussagekraft und interne Validität bei kleinem Stichprobenumfang entscheidend verbessert werden konnten. Außerdem konnte eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse beider elektronischer Nasen hergestellt werden. Aufgrund der kleinen Fallzahl dürfen die vorliegenden Studienergebnisse jedoch nicht als repräsentativ für die Grundgesamtheit angesehen werden.

Als weitere Limitation ist die einmalige Visite aller Studienteilnehmer zu nennen, weshalb eine Aussage über Verlauf und Reproduzierbarkeit der Ergebnisse nicht möglich ist.

Ferner lässt sich nicht ausschließen, ob die ermittelte Trennschärfe zwischen Patienten- und Probandengruppe gegebenenfalls durch Einflussgrößen und Störfaktoren beeinflusst wurde (*siehe Kapitel 4.4*). Hierbei könnten der mögliche Einfluss der unterschiedlichen Geschlechterverteilung sowie der signifikante Unterschied bezüglich des Body-Mass-Index eine Rolle spielen. Zusätzlich wäre es denkbar, dass unterschiedliche Umweltexposition oder die im Rahmen eines OSAS auftretenden Komorbiditäten sowie potenzielle Dauermedikation der Studienteilnehmer zu einem veränderten Profil an VOCs beigetragen haben könnten.

Eine umfassende Trennung von exogenen und endogenen VOCs war im Rahmen des vorliegenden Studiendesigns methodisch und analytisch nicht

durchführbar. Die Durchführung von Messungen und Analysen erfolgte anhand von klinischen Gesichtspunkten und Rahmenbedingungen.

4.8 Vorschläge für zukünftige Studien

Das vorliegende Projekt war als Pilotstudie angelegt und kann durch seine Erkenntnisse als Grundlage für weitere Forschungsprojekte bezüglich der VOC-Analyse von Patienten mit Obstruktivem Schlafapnoesyndrom dienen. Die Durchführung klinischer Folgestudien ist obligat, um die hier dargestellten Ergebnisse zu bestätigen oder zu erweitern. Mit den im Folgenden angeführten Anregungen könnte das Ziel, die nicht-invasive VOC-Analyse in der klinischen Routine-Diagnostik zu etablieren, zukünftig weiterverfolgt werden.

Zunächst empfiehlt sich die Rekrutierung einer größeren Stichprobe, um eine verbesserte Repräsentativität gegenüber der Grundgesamtheit und eine erhöhte Konstanz gegenüber einzelnen Ausreißern innerhalb von Messreihen zu gewährleisten. Möglich wäre in diesem Zusammenhang die Rekrutierung eines erweiterten Kollektivs von OSAS-Patienten, um eine größere Bandbreite einzelner Parameter (z.B. AHI, BMI oder ESS) erfassen und bewerten zu können. Die Größe der Stichprobe könnte ebenso durch einen multizentrischen Studienaufbau erweitert werden, wodurch weiterhin die Voraussetzungen für eine externe Validierung der Studienergebnisse erfüllt würden. Bei kleinerem Stichprobenumfang sollte in jedem Fall auf eine verbesserte Übereinstimmung von BMI und Geschlecht geachtet werden. Um Änderungen und Verlauf von VOC-Profilen und Chromatogrammen nachvollziehen sowie fehlerhafte Messungen gegebenenfalls ausgleichen zu können, empfiehlt sich die mehrmalige Visite und Messung der Studienteilnehmer.

Weiterhin empfiehlt sich eine detaillierte Erfassung von Umweltexposition, Komorbiditäten, Arzneimitteln, Ernährungsgewohnheiten und Genussmittelkonsum. Ebenfalls kann darauf geachtet werden, alle Messungen von Atemwegsexhalat zu einer vergleichbaren Tageszeit durchzuführen. Vor Probennahme könnte eine mehrminütige Inhalation von VOC-freier Raumluft

zur Verbesserung der Aufzeichnungen beitragen [80]. Um die genannten Confounder bei der Detektion von VOCs ohne derartige Maßnahmen kontrollieren zu können, empfiehlt sich eine stetige und umfangreiche Erweiterung von VOC-Datenbanken. Hierdurch könnte entscheidend zur Identifikation endogener und exogener VOCs sowie zu einer verbesserten Zuordnung endogener VOCs zu einzelnen Krankheitsbildern beigetragen werden. Bei Probenahme mittels MCC-IMS würden parallel durchgeführte GC-MS-Messungen maßgeblich zur Identifikation und Zuordnung der gemessenen VOCs beitragen können.

Ein standardisiertes Vorgehen bei Messung und Auswertung von VOC-Analysen ist grundsätzlich zu empfehlen, um die Diagnosesicherheit zu erhöhen. Als Orientierung können in diesem Zusammenhang die Empfehlungen der STARD-Initiative zur Verbesserung diagnostischer Genauigkeit dienen [45].

Als innovativer und praktikabler Ansatz ist die Kombination einer elektronischen Nase mit routinediagnostischen Verfahren wie der Spirometrie anzusehen. Dieses als 'SpiroNose' [69] vorgestellte Konzept wäre in Kombination mit Cyranose® 320 oder Ionenmobilitätsspektrometrie ebenfalls denkbar.

5 Zusammenfassung

Das Obstruktive Schlafapnoesyndrom (OSAS) ist ein in der Gesamtbevölkerung weit verbreitetes Krankheitsbild, welches in der Regel mit exzessiver Tagesschläfrigkeit und hoher Beeinträchtigung von Lebensqualität und Leistungsfähigkeit der betroffenen Patienten einhergeht. Um das Krankheitsbild OSAS zweifelsfrei diagnostizieren zu können, ist eine stationäre Diagnostik mittels Polysomnographie vonnöten, welche zeit-, arbeits- und kostenintensiv ist. Die nicht-invasive Analyse flüchtiger organischer Substanzen (engl.: Volatile Organic Compounds = VOCs) stellt eine innovative Alternative in der Diagnostik des Obstruktiven Schlafapnoesyndroms dar.

Im Rahmen einer am Universitätsklinikum Marburg durchgeführten klinischen Studie wurden in der vorliegenden Arbeit in einem Studienkollektiv von 15 Patienten mit Obstruktivem Schlafapnoesyndrom und 15 gesunden Kontrollprobanden flüchtige organische Substanzen von vier verschiedenen biologischen Materialien (Atemwegsexhalat (EB), Atemwegskondensat (EBC), Rachenspülwasser (PW) und Serum) mittels Ionenmobilitätsspektrometrie in Kopplung an eine Multikapillarsäule (MCC-IMS) und mittels chemischer Mustererkennung durch die elektronische Nase Cyranose® 320 untersucht und analysiert. Die statistische Auswertung der bei der VOC-Analyse aufgezeichneten Daten erfolgte mittels Leave-One-Out-Kreuzvalidierung (LOO-CV). Ferner wurde im vorliegenden Studienkollektiv eine laborchemische Analyse der Serumparameter CRP, IL-6, IL-8 und TNF- α durchgeführt.

Anhand der VOC-Analyse von Atemwegsexhalat mittels Cyranose® 320 und MCC-IMS konnte gezeigt werden, dass sich die Atemwegsprofile von OSAS-Patienten und Kontrollprobanden im vorliegenden Studienkollektiv signifikant unterscheiden. Darüber hinaus ist es gelungen, sowohl mittels Cyranose® 320 als auch via MCC-IMS einen signifikanten Gruppenunterschied in den Headspace-VOC-Profilen von Atemwegskondensat, Rachenspülwasser und Serum zu demonstrieren.

In Bezug auf die mittels MCC-IMS erhobenen Daten war es weiterhin möglich, den im Gruppenvergleich relevant unterschiedlichen Analyten mit Hilfe von Referenzdatenbanken flüchtige organische Substanzen zuzuordnen. Hierbei kann die höchste diagnostische Genauigkeit und Trennschärfe der Substanz 2-Methylfuran in den Messreihen Serum und Atemwegsexhalat zugeordnet werden, bei der Analyse von Atemwegskondensat den Substanzen 2-Undecanon und n-Decan sowie bei der Analyse von Rachenspülwasser der Substanz Toluol. Ferner konnte eine Substanzzuordnung für diejenigen Analyten erfolgen, anhand derer ein relevanter Gruppenunterschied in mehreren biologischen Materialien festgestellt werden konnte: 2-Methylfuran in den Materialien Atemwegsexhalat, Serum und Rachenspülwasser, Toluol in Rachenspülwasser und Serum, Hexanal und 3-Methylbutanal bzw. 3-Methylbutyraldehyd in Atemwegsexhalat und Rachenspülwasser sowie Aceton in Atemwegsexhalat und Atemwegskondensat.

Bezüglich der laborchemischen Analyse der Serumparameter CRP, IL-6, IL-8 und TNF- α war im vorliegenden Studienkollektiv für keinen der Parameter ein signifikanter Unterschied zwischen Patienten mit OSAS und gesunden Kontrollprobanden festgestellt worden. Die Ergebnisse der durchgeführten Labordiagnostik können somit keinen krankheitsrelevanten Unterschied im Rahmen des OSAS demonstrieren.

Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit, dass es mittels Cyranose® 320 und MCC-Ionenmobilitätsspektrometrie möglich ist, signifikante Unterschiede im Vergleich der VOC-Profile von Patienten mit OSAS und gesunden Kontrollen anhand der Analyse der biologischen Materialien Atemwegsexhalat, Atemwegskondensat, Rachenspülwasser und Serum zu detektieren. Diesbezüglich deuten die Ergebnisse darauf hin, dass die Zusammensetzung flüchtiger organischer Substanzen der alveolären Expirationsluft, des Atemwegsepithels, des oberen Respirationstrakts sowie systemisch zirkulierender VOCs im Rahmen eines OSAS verändert sein könnte. Die vorliegende Arbeit kann durch die Ergebnisse der durchgeführten VOC-Analyse einen relevanten Beitrag zum Thema der nicht-invasiven VOC-Diagnostik des OSAS liefern.

5.1 Summary

The Obstructive Sleep Apnea Syndrome (OSAS) is a widely spread disease among the total population. Its clinical presentation usually comes along with excessive daytime sleepiness and impacts negatively on health and quality of life. Gold standard in the diagnosis of OSAS is a polysomnographic examination, which is work-intensive, time-consuming and expensive. Non-invasive analysis of Volatile Organic Compounds (VOCs) represents an innovative alternative to facilitate diagnosis of OSAS.

In this study we used ion mobility spectrometry coupled to a multicapillary column (MCC-IMS) as well as the electronic nose system Cyranose® 320 to analyze and compare VOC profiles of 15 patients with OSAS and 15 healthy controls (HC). All the VOCs have been emitted by four different biological materials (Exhaled breath (EB), Exhaled breath condensate (EBC), Pharyngeal washings (PW) und serum). Data analysis was performed by Leave-One-Out-Cross-Validation (LOO-CV). Furthermore, we performed laboratory analysis of the serum parameters CRP, IL-6, IL-8 and TNF- α to compare both study groups.

Within the recruited sample, we could demonstrate that MCC-IMS and Cyranose® 320 were able to distinguish breathprints of OSAS-patients and healthy controls. In addition it was possible to significantly separate both of the groups by means of headspace VOC profiles coming from EBC, PW and serum.

Regarding cross-validated MCC-IMS data, we were able to assign volatile organic substances to recorded analytes via database matching. Best separation between OSAS and HC could be achieved by 2-Methylfuran referring to the measurement series of EB and serum. In reference to EBC, the chemical compounds 2-Undecanon and n-Decan have featured the most significant distinction between both groups. With regard to PW, we could identify Toluene to have the strongest power to separate between OSAS and HC. Furthermore, we were able to detect same chemical compounds in various of the analyzed biological materials: 2-Methylfuran (EB, PW and serum), Toluene (PW and serum), Hexanal and 3-Methylbutanal/3-

Methylbutyraldehyd (EB and PW) as well as Acetone (EB and EBC).

Analysis of the serum parameters CRP, IL-6, IL-8 and TNF- α could not demonstrate significant distinction among healthy controls and patients with OSAS.

In conclusion, it can be said that MCC-IMS and Cyranose® 320 are able to detect significant distinctions in the VOC profiles of patients with OSAS and healthy controls. These findings could be ascertained among four different biological materials (EB, EBC, PW and serum) what can be seen as an indication for a changing overall VOC profile within the scope of OSAS. The results of this study can support further exploration of OSAS VOC profiles and contribute non-invasive diagnosis of the disease.

6 Literaturverzeichnis

1. Abbott, S.M., et al., *Quantification of acetonitrile in exhaled breath and urinary headspace using selected ion flow tube mass spectrometry*. International Journal of Mass Spectrometry, 2003. **228**(2): p. 655-665.
2. Abd El Qader, A., et al., *Volatile organic compounds generated by cultures of bacteria and viruses associated with respiratory infections*. Biomedical Chromatography, 2015. **29**(12): p. 1783-1790.
3. Ahrens, A., C. McGrath, and U. Hägg, *A systematic review of the efficacy of oral appliance design in the management of obstructive sleep apnoea*. The European Journal of Orthodontics, 2011: p. cj079.
4. Allers, M., et al., *Measurement of exhaled volatile organic compounds from patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) using closed gas loop GC-IMS and GC-APCI-MS*. Journal of breath research, 2016. **10**(2): p. 026004.
5. Alonso, M., et al., *A headspace needle-trap method for the analysis of volatile organic compounds in whole blood*. Journal of Chromatography A, 2012. **1252**: p. 23-30.
6. Alvarez, R.F., et al., *Snoring as a Determinant Factor of Oxidative Stress in the Airway of Patients with Obstructive Sleep Apnea*. Lung, 2016. **194**(3): p. 469-473.
7. Amal, H., et al., *Assessment of ovarian cancer conditions from exhaled breath*. International journal of cancer, 2015. **136**(6).
8. Amann, A., et al., *The human volatilome: volatile organic compounds (VOCs) in exhaled breath, skin emanations, urine, feces and saliva*. Journal of breath research, 2014. **8**(3): p. 034001.
9. American Academy of Sleep Medicine, *International classification of sleep disorders (ICSD-3). 3rd ed. Darien, IL*. 2014, American Academy of Sleep Medicine.
10. Aoki, T., et al., *Editor's Highlight: Prospective Analyses of Volatile Organic Compounds in Obstructive Sleep Apnea Patients*. Toxicological Sciences, 2016. **156**(2): p. 362-374.
11. Arasaradnam, R.P., et al., *Non-invasive exhaled volatile organic biomarker analysis to detect inflammatory bowel disease (IBD)*. Digestive and Liver Disease, 2016. **48**(2): p. 148-153.
12. Arasaradnam, R.P., et al., *Non-invasive distinction of non-alcoholic fatty liver disease using urinary volatile organic compound analysis: early results*. Journal of Gastrointestinal and Liver Diseases, 2015. **24**(2): p. 197-201.
13. Arasaradnam, R.P., et al., *Breathomics—exhaled volatile organic compound analysis to detect hepatic encephalopathy: a pilot study*. Journal of breath

- research, 2016. **10**(1): p. 016012.
14. Arasaradnam, R.P., et al., *Detection of colorectal cancer (CRC) by urinary volatile organic compound analysis*. PLoS One, 2014. **9**(9): p. e108750.
 15. Arasaradnam, R.P., et al., *A novel tool for noninvasive diagnosis and tracking of patients with inflammatory bowel disease*. Inflammatory bowel diseases, 2013. **19**(5): p. 999-1003.
 16. Armenta, S., M. Alcala, and M. Blanco, *A review of recent, unconventional applications of ion mobility spectrometry (IMS)*. Analytica chimica acta, 2011. **703**(2): p. 114-123.
 17. Aubert, G., et al., *The failing heart relies on ketone bodies as a fuel*. Circulation, 2016. **133**(8): p. 698-705.
 18. Bach, J.P., et al., *Measuring Compounds in Exhaled Air to Detect Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease*. PLoS One, 2015. **10**(7): p. e0132227.
 19. Barceló, A., et al., *Effects of obesity on C-reactive protein level and metabolic disturbances in male patients with obstructive sleep apnea*. The American journal of medicine, 2004. **117**(2): p. 118-121.
 20. Baumbach, J., S. Sielemann, and P. Pilzecker, *Coupling of multi-capillary columns with two different types of ion mobility spectrometer*. 2000.
 21. Baumbach, J.I., *Ion mobility spectrometry coupled with multi-capillary columns for metabolic profiling of human breath*. Journal of breath research, 2009. **3**(3): p. 034001.
 22. Baumbach, J.I., *Ionenmobilitätsspektrometrie für Bio-und Prozessanalytik*. Analytik News, 2014.
 23. Baur, X. and L. Barbinova, *Determination of exhaled nitric oxide in respiratory diseases*. Dtsch Arztebl, 2007. **104**(12): p. 790-6.
 24. Bauters, F., et al., *The Link Between Obstructive Sleep Apnea and Cardiovascular Disease*. Current atherosclerosis reports, 2016. **18**(1): p. 1-11.
 25. Beauchamp, J., *Inhaled today, not gone tomorrow: pharmacokinetics and environmental exposure of volatiles in exhaled breath*. Journal of breath research, 2011. **5**(3): p. 037103.
 26. Beauchamp, J., F. Kirsch, and A. Buettnner, *Real-time breath gas analysis for pharmacokinetics: monitoring exhaled breath by on-line proton-transfer-reaction mass spectrometry after ingestion of eucalyptol-containing capsules*. Journal of breath research, 2010. **4**(2): p. 026006.
 27. Becker HF, F.J., Fietze I, Geisler P, Happe S, Hornyak M, Kotterba S, Orth M, Podszus T, Raschke F, Randerath W, Rühle KH, Stiasny-Kolster K, Walther B, Wiater A, Arzt M, Schulz R, Wessendorf T, *S3-Leitlinie: Nicht erholsamer Schlaf/Schlafstörungen*. Somnologie, 2009. **13**: p. 1-160.
 28. Berry, R.B., et al., *The AASM manual for the scoring of sleep and associated*

- events. Rules, Terminology and Technical Specifications, Darien, Illinois, American Academy of Sleep Medicine, 2017.
29. Berry, R.B., et al., *The AASM manual for the scoring of sleep and associated events*. Rules, Terminology and Technical Specifications, Darien, Illinois, American Academy of Sleep Medicine, 2012.
 30. Besa, V., et al., *Exhaled volatile organic compounds discriminate patients with chronic obstructive pulmonary disease from healthy subjects*. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2015. **10**: p. 399-406.
 31. Bessa, V., et al., *Detection of volatile organic compounds (VOCs) in exhaled breath of patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) by ion mobility spectrometry*. *International Journal for Ion Mobility Spectrometry*, 2011. **14**(1): p. 7-13.
 32. Bhattacharyya, D., et al., *Detection of Four Distinct Volatile Indicators of Colorectal Cancer using Functionalized Titania Nanotubular Arrays*. *Sensors*, 2017. **17**(8): p. 1795.
 33. Bikov, A., et al., *Expiratory flow rate, breath hold and anatomic dead space influence electronic nose ability to detect lung cancer*. *BMC Pulm Med*, 2014. **14**: p. 202.
 34. Bikov, A., J.H. Hull, and L. Kunos, *Exhaled breath analysis, a simple tool to study the pathophysiology of obstructive sleep apnoea*. *Sleep medicine reviews*, 2016. **27**: p. 1-8.
 35. Bixler, E.O., et al., *Prevalence of sleep-disordered breathing in women: effects of gender*. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 2001. **163**(3): p. 608-613.
 36. Blankenstein, T., et al., *Point-of-care (POC) diagnosis of bacterial vaginosis (BV) using VGTest™ ion mobility spectrometry (IMS) in a routine ambulatory care gynecology clinic*. *Archives of gynecology and obstetrics*, 2015. **292**(2): p. 355-362.
 37. Bloch, K.E., et al., *German version of the Epworth sleepiness scale*. *Respiration*, 1999. **66**(5): p. 440-447.
 38. Bödeker, B., W. Vautz, and J.I. Baumbach, *Peak comparison in MCC/IMS-data—searching for potential biomarkers in human breath data*. *International Journal for Ion Mobility Spectrometry*, 2008. **11**(1-4): p. 89-93.
 39. Bödeker, B., W. Vautz, and J.I. Baumbach, *Peak finding and referencing in MCC/IMS-data*. *International Journal for Ion Mobility Spectrometry*, 2008. **11**(1-4): p. 83-87.
 40. Bödeker, B., W. Vautz, and J.I. Baumbach, *Visualisation of MCC/IMS-data*. *International Journal for Ion Mobility Spectrometry*, 2008. **11**(1-4): p. 77-81.
 41. Bomers, M.K., et al., *Rapid, accurate, and on-site detection of C. difficile in stool samples*. *The American journal of gastroenterology*, 2015. **110**(4): p. 588-

- 594.
42. Bondesson, E., et al., *Exhaled breath condensate—site and mechanisms of formation*. Journal of breath research, 2009. **3**(1): p. 016005.
 43. Bonzelaar, L.B., et al., *Validity of the epworth sleepiness scale as a screening tool for obstructive sleep apnea*. The Laryngoscope, 2016.
 44. Bos, L.D., P.J. Sterk, and M.J. Schultz, *Volatile metabolites of pathogens: a systematic review*. PLoS pathogens, 2013. **9**(5): p. e1003311.
 45. Bossuyt, P.M., et al., *STARD 2015: an updated list of essential items for reporting diagnostic accuracy studies*. Radiology, 2015. **277**(3): p. 826-832.
 46. Bradley, T.D. and J.S. Floras, *Sleep apnea and heart failure part I: obstructive sleep apnea*. Circulation, 2003. **107**(12): p. 1671-1678.
 47. Breiman, L., et al., *Classification and regression trees*. 1984: CRC press.
 48. Brekelmans, M.P., et al., *Smelling the Diagnosis: The Electronic Nose as Diagnostic Tool in Inflammatory Arthritis. A Case-Reference Study*. PloS one, 2016. **11**(3): p. e0151715.
 49. Bruhn, C., *Elektronische Nasen: Krankheiten „erriechen“*. DMW-Deutsche Medizinische Wochenschrift, 2013. **138**(20): p. 1040-1041.
 50. Buszewski, B., et al., *Human exhaled air analytics: biomarkers of diseases*. Biomedical chromatography, 2007. **21**(6): p. 553-566.
 51. Caldeira, M., et al., *Allergic asthma exhaled breath metabolome: a challenge for comprehensive two-dimensional gas chromatography*. Journal of Chromatography A, 2012. **1254**: p. 87-97.
 52. Carpagnano, G.E., D. Lacedonia, and M.P. Foschino-Barbaro, *Non-invasive study of airways inflammation in sleep apnea patients*. Sleep medicine reviews, 2011. **15**(5): p. 317-326.
 53. Carstens, E.T., *Quantifizierung von Propofol in der Atemluft mittels endtidaler Ionenmobilitätsspektrometrie*. 2010.
 54. Chaichi, M., et al., *Furanic compounds and furfural in different coffee products by headspace liquid-phase micro-extraction followed by gas chromatography–mass spectrometry: survey and effect of brewing procedures*. Food Additives & Contaminants: Part B, 2015. **8**(1): p. 73-80.
 55. Chapman, E.A., et al., *A breath test for malignant mesothelioma using an electronic nose*. European Respiratory Journal, 2012. **40**(2): p. 448-454.
 56. Cheng, Y.-K., et al., *Applications of Hadamard transform-gas chromatography/mass spectrometry to online detection of exhaled breath after drinking or smoking*. Journal of Chromatography A, 2010. **1217**(32): p. 5274-5278.
 57. Chi, L., et al., *Identification of craniofacial risk factors for obstructive sleep apnoea using three-dimensional MRI*. Eur Respir J, 2011. **38**(2): p. 348-58.

58. Chung, F., et al., *STOP Questionnaire A Tool to Screen Patients for Obstructive Sleep Apnea*. The Journal of the American Society of Anesthesiologists, 2008. **108**(5): p. 812-821.
59. Cohen, M.J. and F. Karasek, *Plasma chromatography™—a new dimension for gas chromatography and mass spectrometry*. Journal of Chromatographic science, 1970. **8**(6): p. 330-337.
60. Constantinidis, J., et al., *Cytokine changes after surgical treatment of obstructive sleep apnoea syndrome*. European Archives of Oto-Rhino-Laryngology, 2008. **265**(10): p. 1275-1279.
61. Covington, J.A., et al., *The detection of patients at risk of gastrointestinal toxicity during pelvic radiotherapy by electronic nose and FAIMS: a pilot study*. Sensors, 2012. **12**(10): p. 13002-13018.
62. Cumeras, R., et al., *Review on ion mobility spectrometry. Part 1: current instrumentation*. Analyst, 2015. **140**(5): p. 1376-1390.
63. de Heer, K., et al., *Electronic nose technology for detection of invasive pulmonary aspergillosis in prolonged chemotherapy-induced neutropenia: a proof-of-principle study*. Journal of clinical microbiology, 2013. **51**(5): p. 1490-1495.
64. de Lacy Costello, B., et al., *A review of the volatiles from the healthy human body*. Journal of breath research, 2014. **8**(1): p. 014001.
65. de Lima, F.F.F., et al., *The role inflammatory response genes in obstructive sleep apnea syndrome: a review*. Sleep and Breathing, 2016. **20**(1): p. 331-338.
66. de Meij, T., et al., *Faecal gas analysis by electronic nose as novel, non-invasive method for assessment of active and quiescent paediatric inflammatory bowel disease: Proof of principle study*. Journal of Crohn's & colitis, 2014.
67. de Meij, T.G., et al., *Electronic nose can discriminate colorectal carcinoma and advanced adenomas by fecal volatile biomarker analysis: proof of principle study*. International Journal of Cancer, 2014. **134**(5): p. 1132-1138.
68. De Vito, A., et al., *European position paper on drug-induced sedation endoscopy (DISE)*. Sleep and Breathing, 2014. **18**(3): p. 453-465.
69. De Vries, R., et al., *Integration of electronic nose technology with spirometry: validation of a new approach for exhaled breath analysis*. Journal of breath research, 2015. **9**(4): p. 046001.
70. Del Chierico, F., et al., *Gut microbiota profiling of pediatric nonalcoholic fatty liver disease and obese patients unveiled by an integrated meta-omics-based approach*. Hepatology, 2017. **65**(2): p. 451-464.
71. Deng, C., X. Zhang, and N. Li, *Investigation of volatile biomarkers in lung cancer blood using solid-phase microextraction and capillary gas chromatography–mass spectrometry*. Journal of Chromatography B, 2004. **808**(2): p. 269-277.

72. DGSM, D.G.f.S.u.S. *Epworth-Schlufigkeitsskala*. 2007 19.07.2007.
73. Di Francesco, F., et al., *Breath analysis: trends in techniques and clinical applications*. Microchemical Journal, 2005. **79**(1): p. 405-410.
74. Doleman, B.J. and N.S. Lewis, *Comparison of odor detection thresholds and odor discriminabilities of a conducting polymer composite electronic nose versus mammalian olfaction*. Sensors and Actuators B: Chemical, 2001. **72**(1): p. 41-50.
75. Dragonieri, S., et al., *An electronic nose discriminates exhaled breath of patients with untreated pulmonary sarcoidosis from controls*. Respiratory medicine, 2013. **107**(7): p. 1073-1078.
76. Dragonieri, S., et al., *An electronic nose in the discrimination of obese patients with and without obstructive sleep apnoea*. J Breath Res, 2015. **9**(2): p. 026005.
77. Dragonieri, S., et al., *An electronic nose may sniff out amyotrophic lateral sclerosis*. Respiratory Physiology & Neurobiology, 2016. **232**: p. 22-25.
78. Dragonieri, S., et al., *Exhaled breath profiling in patients with COPD and OSA overlap syndrome: a pilot study*. Journal of breath research, 2016. **10**(4): p. 041001.
79. Dragonieri, S., et al., *Influence of age and gender on the profile of exhaled volatile organic compounds analyzed by an electronic nose*. Jornal Brasileiro de Pneumologia, 2016. **42**(2): p. 143-145.
80. Dragonieri, S., et al., *An electronic nose in the discrimination of patients with asthma and controls*. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2007. **120**(4): p. 856-862.
81. Eckert, D.J., et al., *Sensorimotor function of the upper-airway muscles and respiratory sensory processing in untreated obstructive sleep apnea*. Journal of Applied Physiology, 2011. **111**(6): p. 1644-1653.
82. Edwards, B.A., et al. *Aging and sleep: physiology and pathophysiology*. in *Seminars in respiratory and critical care medicine*. 2010. © Thieme Medical Publishers.
83. Eguchi, K., et al., *Significance of high levels of serum IgA and IgA-class circulating immune complexes (IgA-CIC) in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus*. Journal of diabetes and its complications, 1995. **9**(1): p. 42-48.
84. Eiceman, G.A. and Z. Karpas, *Ion Mobility Spectrometry, Second Edition*. 2005: CRC Press.
85. Eiceman, G.A., Z. Karpas, and H.H. Hill Jr, *Ion mobility spectrometry, Third Edition*. 2013: CRC press.
86. Eikermann, M., et al., *The influence of aging on pharyngeal collapsibility during sleep*. Chest Journal, 2007. **131**(6): p. 1702-1709.

87. Evans, R.A., et al., *The effects of exercise modality and intensity on energy expenditure and cardiorespiratory response in adults with obesity and treated obstructive sleep apnoea*. *Chronic respiratory disease*, 2016: p. 1479972316643699.
88. Fairchild, C. and J. Stampfer, *Particle concentration in exhaled breath*. *The American Industrial Hygiene Association Journal*, 1987. **48**(11): p. 948-949.
89. Fens, N., et al., *Exhaled breath analysis by electronic nose in airways disease. Established issues and key questions*. *Clinical & Experimental Allergy*, 2013. **43**(7): p. 705-715.
90. Fens, N., et al., *Exhaled breath profiling enables discrimination of chronic obstructive pulmonary disease and asthma*. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 2009. **180**(11): p. 1076-1082.
91. Ficker, J., et al., *Evaluation of a portable recording device (Somnocheck®) for use in patients with suspected obstructive sleep apnoea*. *Respiration*, 2001. **68**(3): p. 307-312.
92. Fietze, I. and K. Diefenbach, *Healthy sleepers are rare: problems and success rates in establishing a control group for sleep studies*. *Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 2003. **28**(3): p. 558-561.
93. Filipiak, W., et al., *Dependence of exhaled breath composition on exogenous factors, smoking habits and exposure to air pollutants*. *Journal of breath research*, 2012. **6**(3): p. 036008.
94. Filipiak, W., et al., *Molecular analysis of volatile metabolites released specifically by Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa*. *BMC microbiology*, 2012. **12**(1): p. 1.
95. Franklin, K.A. and E. Lindberg, *Obstructive sleep apnea is a common disorder in the population—a review on the epidemiology of sleep apnea*. *Journal of thoracic disease*, 2015. **7**(8): p. 1311.
96. Fuchs, P., et al., *Breath gas aldehydes as biomarkers of lung cancer*. *International Journal of Cancer*, 2010. **126**(11): p. 2663-2670.
97. Fukao, T., G.D. Lopaschuk, and G.A. Mitchell, *Pathways and control of ketone body metabolism: on the fringe of lipid biochemistry*. *Prostaglandins, leukotrienes and essential fatty acids*, 2004. **70**(3): p. 243-251.
98. Gaida, A., et al., *A dual center study to compare breath volatile organic compounds from smokers and non-smokers with and without COPD*. *Journal of breath research*, 2016. **10**(2): p. 026006.
99. Gao, J., et al., *Breath analysis for noninvasively differentiating Acinetobacter baumannii ventilator-associated pneumonia from its respiratory tract colonization of ventilated patients*. *Journal of breath research*, 2016. **10**(2): p. 027102.

100. Geissler, K. and O. Guntinas-Lichius, [*Surgery in the Pharynx: Adenoidectomy, Tonsillectomy, Tonsillotomy and Surgery for Obstructive Sleep Apnea*]. *Laryngorhinootologie*, 2016. **95**(2): p. 132-45.
101. Gilbert, R.O., *Statistical methods for environmental pollution monitoring*. 1987: John Wiley & Sons.
102. Gondim, L.M.A., et al., *Comparative study between clinical history and polysomnogram in the obstructive sleep apnea/hypopnea syndrome*. *Brazilian journal of otorhinolaryngology*, 2007. **73**(6): p. 733-737.
103. Gordon, S., et al., *Volatile organic compounds in exhaled air from patients with lung cancer*. *Clinical chemistry*, 1985. **31**(8): p. 1278-1282.
104. Gottlieb, D.J., et al., *Prospective study of obstructive sleep apnea and incident coronary heart disease and heart failure the sleep heart health study*. *Circulation*, 2010. **122**(4): p. 352-360.
105. Greulich, T., et al., *Detection of obstructive sleep apnoea by an electronic nose*. *European Respiratory Journal*, 2013. **42**(1): p. 145-155.
106. Haick, H., et al., *Assessment, origin, and implementation of breath volatile cancer markers*. *Chemical Society Reviews*, 2014. **43**(5): p. 1423-1449.
107. Handa, H., et al., *Exhaled breath analysis for lung cancer detection using ion mobility spectrometry*. *PLoS One*, 2014. **9**(12): p. e114555.
108. Hansanugrum, A. and S.A. Barringer, *Effect of milk on the deodorization of malodorous breath after garlic ingestion*. *Journal of food science*, 2010. **75**(6): p. C549-C558.
109. Hattesoehl, A.D., et al., *Discrimination between COPD patients with and without alpha 1-antitrypsin deficiency using an electronic nose*. *Respirology*, 2011. **16**(8): p. 1258-1264.
110. Heinzer, R., H. Marti-Soler, and J. Haba-Rubio, *Prevalence of sleep apnoea syndrome in the middle to old age general population*. *The Lancet Respiratory Medicine*, 2016. **4**(2): p. e5-e6.
111. Heinzer, R., et al., *Prevalence of sleep-disordered breathing in the general population: the HypnoLaus study*. *The Lancet Respiratory Medicine*, 2015. **3**(4): p. 310-318.
112. Heinzer, R.C., et al., *Lung volume and continuous positive airway pressure requirements in obstructive sleep apnea*. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 2005. **172**(1): p. 114-117.
113. Herold, G., *Innere Medizin eine vorlesungsorientierte Darstellung ; unter Berücksichtigung des Gegenstandskataloges für die Ärztliche Prüfung ; mit ICD 10-Schlüssel im Text und Stichwortverzeichnis*. 2013, Köln: Herold. 988 S.
114. Herr, C., et al., *Suppression of pulmonary innate host defence in smokers*. *Thorax*, 2009. **64**(2): p. 144-149.

115. Herrero, J.L., et al., *On-line classification of pollutants in water using wireless portable electronic noses*. Chemosphere, 2016. **152**: p. 107-116.
116. Horvath, G., H. Andersson, and G. Paulsson, *Characteristic odour in the blood reveals ovarian carcinoma*. BMC cancer, 2010. **10**(1): p. 1.
117. Huber, C. and F.-C. Vogeler, *Allgemeine Symptome und Befunde*, in *Gesundheitsstörungen*. 2008, Springer. p. 1-37.
118. Hüttmann, E.-M., et al., *Comparison of two devices and two breathing patterns for exhaled breath condensate sampling*. PloS one, 2011. **6**(11): p. e27467.
119. Incalzi, R.A., et al., *Comorbidity modulates non invasive ventilation-induced changes in breath print of obstructive sleep apnea syndrome patients*. Sleep and Breathing, 2015. **19**(2): p. 623-630.
120. Issa, F. and C. Sullivan, *Alcohol, snoring and sleep apnea*. Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry, 1982. **45**(4): p. 353-359.
121. Jalali, M., et al., *Oxidative stress biomarkers in exhaled breath of workers exposed to crystalline silica dust by SPME-GC-MS*. Journal of research in health sciences, 2016. **16**(3): p. 153-161.
122. Janardhan, A., J. Chen, and P.A. Crawford, *Altered systemic ketone body metabolism in advanced heart failure*. Texas Heart Institute Journal, 2011. **38**(5): p. 533.
123. Jareño-Esteban, J., et al., *Study of 5 Volatile Organic Compounds in Exhaled Breath in Chronic Obstructive Pulmonary Disease*. Archivos de bronconeumologia, 2016.
124. Jobin, V., et al., *Swallowing function and upper airway sensation in obstructive sleep apnea*. Journal of Applied Physiology, 2007. **102**(4): p. 1587-1594.
125. Johns, M.W., *A new method for measuring daytime sleepiness: the Epworth sleepiness scale*. sleep, 1991. **14**(6): p. 540-545.
126. Johnson, G.R. and L. Morawska, *The mechanism of breath aerosol formation*. Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery, 2009. **22**(3): p. 229-237.
127. Jones, A.W. and L. Andersson, *Comparison of ethanol concentrations in venous blood and end-expired breath during a controlled drinking study*. Forensic science international, 2003. **132**(1): p. 18-25.
128. Joosten, S.A., et al., *The effect of body position on physiological factors that contribute to obstructive sleep apnea*. Sleep, 2015. **38**(9): p. 1469.
129. Jordan, A.S., D.G. McSharry, and A. Malhotra, *Adult obstructive sleep apnoea*. The Lancet, 2014. **383**(9918): p. 736-747.
130. Jünger, M., B. Bödeker, and J.I. Baumbach, *Peak assignment in multi-capillary column-ion mobility spectrometry using comparative studies with gas*

- chromatography–mass spectrometry for VOC analysis*. Analytical and bioanalytical chemistry, 2010. **396**(1): p. 471-482.
131. Jünger, M., et al., *Ion mobility spectrometry for microbial volatile organic compounds: a new identification tool for human pathogenic bacteria*. Applied microbiology and biotechnology, 2012. **93**(6): p. 2603-2614.
 132. Kanu, A.B., et al., *Ion mobility–mass spectrometry*. Journal of Mass Spectrometry, 2008. **43**(1): p. 1-22.
 133. Kanu, A.B., et al., *Ribonucleotide and ribonucleoside determination by ambient pressure ion mobility spectrometry*. Analytica chimica acta, 2010. **658**(1): p. 91-97.
 134. Karasek, F. and D. Denney, *Detection of 2, 4, 6-trinitrotoluene vapours in air by plasma chromatography*. Journal of Chromatography A, 1974. **93**(1): p. 141-147.
 135. Karpas, Z., et al., *The potential of ion mobility spectrometry (IMS) for detection of 2, 4, 6-trichloroanisole (2, 4, 6-TCA) in wine*. Talanta, 2012. **93**: p. 200-205.
 136. Karrasch, S., et al., *Accuracy of FENO for diagnosing asthma: a systematic review*. Thorax, 2016: p. thoraxjnl-2016-208704.
 137. Kearns, M. and D. Ron, *Algorithmic stability and sanity-check bounds for leave-one-out cross-validation*. Neural Computation, 1999. **11**(6): p. 1427-1453.
 138. Kendzerska, T., et al., *Obstructive sleep apnea and incident diabetes. A historical cohort study*. American journal of respiratory and critical care medicine, 2014. **190**(2): p. 218-225.
 139. Kendzerska, T.B., et al., *Evaluation of the measurement properties of the Epworth sleepiness scale: a systematic review*. Sleep medicine reviews, 2014. **18**(4): p. 321-331.
 140. Kim, K.-H., S.A. Jahan, and E. Kabir, *A review of breath analysis for diagnosis of human health*. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2012. **33**: p. 1-8.
 141. Kim, Y.S., et al., *Clinical Implication of Heart Rate Variability in Obstructive Sleep Apnea Syndrome Patients*. Journal of Craniofacial Surgery, 2015. **26**(5): p. 1592-1595.
 142. Kimoff, R.J., et al., *Upper airway sensation in snoring and obstructive sleep apnea*. American journal of respiratory and critical care medicine, 2001. **164**(2): p. 250-255.
 143. Knowles, M.R., et al., *Ion composition of airway surface liquid of patients with cystic fibrosis as compared with normal and disease-control subjects*. Journal of Clinical Investigation, 1997. **100**(10): p. 2588.
 144. Koczulla, A., et al., *[Smelling diseases? A short review on electronic noses]*. Pneumologie (Stuttgart, Germany), 2011. **65**(7): p. 401-405.
 145. Koczulla, R., et al., *MCC/IMS as potential noninvasive technique in the*

- diagnosis of patients with COPD with and without alpha 1-antitrypsin deficiency.* International Journal for Ion Mobility Spectrometry, 2011. **14**(4): p. 177-185.
146. Koehler, U., et al., *Daytime sleepiness in patients with obstructive sleep apnea and severe obesity: prevalence, predictors, and therapy.* Wiener klinische Wochenschrift, 2014. **126**(19-20): p. 619-625.
 147. König, C., et al., *Legionella waltersii—a novel cause of pneumonia?* Acta Paediatrica, 2005. **94**(10): p. 1505-1507.
 148. Koppmann, R., *Volatile organic compounds in the atmosphere.* 2008: John Wiley & Sons.
 149. Kumar, S., et al., *Mass spectrometric analysis of exhaled breath for the identification of volatile organic compound biomarkers in esophageal and gastric adenocarcinoma.* Annals of surgery, 2015. **262**(6): p. 981-990.
 150. Kunos, L., et al., *Evening and morning exhaled volatile compound patterns are different in obstructive sleep apnoea assessed with electronic nose.* Sleep and Breathing, 2015. **19**(1): p. 247-253.
 151. Kunze, N., et al., *Detection and validation of volatile metabolic patterns over different strains of two human pathogenic bacteria during their growth in a complex medium using multi-capillary column-ion mobility spectrometry (MCC-IMS).* Applied microbiology and biotechnology, 2013. **97**(8): p. 3665-3676.
 152. Kushch, I., et al., *Compounds enhanced in a mass spectrometric profile of smokers' exhaled breath versus non-smokers as determined in a pilot study using PTR-MS.* Journal of breath research, 2008. **2**(2): p. 026002.
 153. Kushida, C.A., et al., *Practice parameters for the indications for polysomnography and related procedures: an update for 2005.* Sleep, 2005. **28**(4): p. 499-521.
 154. Laakia, J., et al., *Separation of different ion structures in atmospheric pressure photoionization-ion mobility spectrometry-mass spectrometry (APPI-IMS-MS).* Journal of the American Society for Mass Spectrometry, 2010. **21**(9): p. 1565-1572.
 155. Lavie, L. and V. Polotsky, *Cardiovascular aspects in obstructive sleep apnea syndrome—molecular issues, hypoxia and cytokine profiles.* Respiration, 2009. **78**(4): p. 361-370.
 156. Leasure, C., et al., *Photoionization in air with ion mobility spectrometry using a hydrogen discharge lamp.* Analytical Chemistry, 1986. **58**(11): p. 2142-2147.
 157. Leonhardt, M., J. Leonhardt, and H. Bensch, *Mobilities of halogenated compounds.* Int J Ion Mobil Spectrom, 2002. **5**: p. 43-46.
 158. Lewis, N.S., *Comparisons between mammalian and artificial olfaction based on arrays of carbon black-polymer composite vapor detectors.* Accounts of

- chemical research, 2004. **37**(9): p. 663-672.
159. Li, Y., et al., *Exhaled breath condensate cytokine level as a diagnostic tool for obstructive sleep apnea syndrome*. Sleep medicine, 2009. **10**(1): p. 95-103.
 160. Lieberman, D., et al., *Nasopharyngeal versus oropharyngeal sampling for isolation of potential respiratory pathogens in adults*. Journal of clinical microbiology, 2006. **44**(2): p. 525-528.
 161. Lin, C.-C., et al., *Effects of nasal CPAP on exhaled SIRT1 and tumor necrosis factor- α in patients with obstructive sleep apnea*. Respiratory physiology & neurobiology, 2016. **228**: p. 39-46.
 162. Lindinger, W., A. Hansel, and A. Jordan, *On-line monitoring of volatile organic compounds at pptv levels by means of proton-transfer-reaction mass spectrometry (PTR-MS) medical applications, food control and environmental research*. International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes, 1998. **173**(3): p. 191-241.
 163. Lommi, J., et al., *Blood ketone bodies in congestive heart failure*. Journal of the American College of Cardiology, 1996. **28**(3): p. 665-672.
 164. Loutfi, A., et al., *Electronic noses for food quality: A review*. Journal of Food Engineering, 2015. **144**: p. 103-111.
 165. Lui, M.M.-s., et al., *C-reactive protein is associated with obstructive sleep apnea independent of visceral obesity*. CHEST Journal, 2009. **135**(4): p. 950-956.
 166. Maga, J.A. and I. Katz, *Furans in foods*. Critical Reviews in Food Science & Nutrition, 1979. **11**(4): p. 355-400.
 167. Malhotra, A. and D. Hillman, *Obesity and the lung: 3. Obesity, respiration and intensive care*. Thorax, 2008. **63**(10): p. 925-931.
 168. Malhotra, A., et al., *Aging influences on pharyngeal anatomy and physiology: the predisposition to pharyngeal collapse*. The American journal of medicine, 2006. **119**(1): p. 72. e9.
 169. Malhotra, A. and D.P. White, *Obstructive sleep apnoea*. The lancet, 2002. **360**(9328): p. 237-245.
 170. Manolis, A., *The diagnostic potential of breath analysis*. Clinical chemistry, 1983. **29**(1): p. 5-15.
 171. Marco, E. and J.O. Grimalt, *A rapid method for the chromatographic analysis of volatile organic compounds in exhaled breath of tobacco cigarette and electronic cigarette smokers*. Journal of Chromatography A, 2015. **1410**: p. 51-59.
 172. Marcondes-Braga, F.G., et al., *Exhaled Acetone as a new biomarker of heart failure severity*. CHEST Journal, 2012. **142**(2): p. 457-466.
 173. Marti-Soler, H., et al., *The NoSAS score for screening of sleep-disordered*

- breathing: a derivation and validation study.* The Lancet Respiratory Medicine, 2016.
174. Maurer, F., et al., *MIMA—a software for analyte identification in MCC/IMS chromatograms by mapping accompanying GC/MS measurements.* International Journal for Ion Mobility Spectrometry, 2014. **17**(2): p. 95-101.
 175. McDaid, C., et al., *A systematic review of continuous positive airway pressure for obstructive sleep apnoea–hypopnoea syndrome.* Sleep medicine reviews, 2009. **13**(6): p. 427-436.
 176. McNicholas, W.T., *Obstructive sleep apnea and inflammation.* Progress in cardiovascular diseases, 2009. **51**(5): p. 392-399.
 177. McSharry, D., et al., *Genioglossus fatigue in obstructive sleep apnea.* Respiratory physiology & neurobiology, 2012. **183**(2): p. 59-66.
 178. Mendez, M., et al., *Automatic screening of obstructive sleep apnea from the ECG based on empirical mode decomposition and wavelet analysis.* Physiological measurement, 2010. **31**(3): p. 273.
 179. Miekisch, W., J.K. Schubert, and G.F. Noeldge-Schomburg, *Diagnostic potential of breath analysis—focus on volatile organic compounds.* Clinica chimica acta, 2004. **347**(1): p. 25-39.
 180. Miller, M.R., et al., *Standardisation of spirometry.* European respiratory journal, 2005. **26**(2): p. 319-338.
 181. Minoguchi, K., et al., *Elevated production of tumor necrosis factor- α by monocytes in patients with obstructive sleep apnea syndrome.* CHEST Journal, 2004. **126**(5): p. 1473-1479.
 182. Mitchell, L.J., et al., *Weight loss from lifestyle interventions and severity of sleep apnoea: a systematic review and meta-analysis.* Sleep medicine, 2014. **15**(10): p. 1173-1183.
 183. Mohamed, E.I., et al., *Predicting Type 2 diabetes using an electronic nose-based artificial neural network analysis.* Diabetes, nutrition & metabolism, 2002. **15**(4): p. 215-221.
 184. Montuschi, P., *Review: Analysis of exhaled breath condensate in respiratory medicine: methodological aspects and potential clinical applications.* Therapeutic Advances in Respiratory Disease, 2007. **1**(1): p. 5-23.
 185. Montuschi, P. and P.J. Barnes, *Exhaled leukotrienes and prostaglandins in asthma.* Journal of allergy and clinical immunology, 2002. **109**(4): p. 615-620.
 186. Netzer, N.C., et al., *Using the Berlin Questionnaire to identify patients at risk for the sleep apnea syndrome.* Annals of internal medicine, 1999. **131**(7): p. 485-491.
 187. Nizio, K., et al., *In vitro volatile organic compound profiling using GC \times GC-TOFMS to differentiate bacteria associated with lung infections: a proof-of-concept study.* Journal of breath research, 2016. **10**(2): p. 026008.

188. Ohga, E., et al., *Effects of obstructive sleep apnea on circulating ICAM-1, IL-8, and MCP-1*. Journal of Applied Physiology, 2003. **94**(1): p. 179-184.
189. Pahkala, R., et al., *The impact of pharyngeal fat tissue on the pathogenesis of obstructive sleep apnea*. Sleep and Breathing, 2014. **18**(2): p. 275-282.
190. Pauling, L., et al., *Quantitative analysis of urine vapor and breath by gas-liquid partition chromatography*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1971. **68**(10): p. 2374-6.
191. Pellizzari, E., *Electron capture detection in gas chromatography*. Journal of Chromatography A, 1974. **98**(2): p. 323-361.
192. Peppard, P.E., et al., *Longitudinal association of sleep-related breathing disorder and depression*. Archives of Internal Medicine, 2006. **166**(16): p. 1709-1715.
193. Peppard, P.E., et al., *Longitudinal study of moderate weight change and sleep-disordered breathing*. Jama, 2000. **284**(23): p. 3015-3021.
194. Peppard, P.E., et al., *Prospective study of the association between sleep-disordered breathing and hypertension*. New England Journal of Medicine, 2000. **342**(19): p. 1378-1384.
195. Perl, T., et al., *Detection of characteristic metabolites of Aspergillus fumigatus and Candida species using ion mobility spectrometry–metabolic profiling by volatile organic compounds*. Mycoses, 2011. **54**(6): p. e828-e837.
196. Peter, H., T. Penzel, and J.H. Peter, *Enzyklopädie der Schlafmedizin*. 2007, Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg. p. XLIII, 1331 S.
197. Peter, J., et al., *Atmung und Schlaf: Schlafbezogene Atmungsstörungen*, in *Handbuch des normalen und gestörten Schlafs*. 1992, Springer Berlin Heidelberg. p. 268-300.
198. Pfeifer, K.B., et al., *Development of rolled miniature drift tubes using low temperature co-fired ceramics (LTCC)*. Int J Ion Mobil Spectrom, 2004. **7**: p. 52-58.
199. Phillips, M., *Breath tests in medicine*. Sci Am, 1992. **267**(1): p. 74-79.
200. Phillips, M., et al., *Volatile organic compounds in breath as markers of lung cancer: a cross-sectional study*. The Lancet, 1999. **353**(9168): p. 1930-1933.
201. Phillips, M., et al., *Variation in volatile organic compounds in the breath of normal humans*. Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications, 1999. **729**(1): p. 75-88.
202. Pleil, J.D., *Role of exhaled breath biomarkers in environmental health science*. Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B, 2008. **11**(8): p. 613-629.
203. Pleil, J.D. and M.A. Stiegel, *Evolution of environmental exposure science: using breath-borne biomarkers for “discovery” of the human exposome*. Analytical chemistry, 2013. **85**(21): p. 9984-9990.

204. Probert, C.S., et al., *Volatile organic compounds as diagnostic biomarkers in gastrointestinal and liver diseases*. Journal of Gastrointestinal and Liver Disease, 2009. **18**(3): p. 337-343.
205. Punjabi, N.M., *The epidemiology of adult obstructive sleep apnea*. Proceedings of the American Thoracic Society, 2008. **5**(2): p. 136-143.
206. Quan, S.F., et al., *The Sleep Heart Health Study: design, rationale, and methods*. Sleep, 1997. **20**(12): p. 1077-85.
207. R-Core-Team, *R: A language and environment for statistical computing. Version 3.3.1 (2016-06-21)*, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2016, ISBN 3-900051-07-0.
208. Rahman, M.M. and K.-H. Kim, *Exposure to hazardous volatile pollutants back diffusing from automobile exhaust systems*. Journal of hazardous materials, 2012. **241**: p. 267-278.
209. Rahman, M.M. and K.-H. Kim, *Release of offensive odorants from the combustion of barbecue charcoals*. Journal of hazardous materials, 2012. **215**: p. 233-242.
210. Ramsey, J. and R. Flanagan, *Detection and identification of volatile organic compounds in blood by headspace gas chromatography as an aid to the diagnosis of solvent abuse*. Journal of Chromatography A, 1982. **240**(2): p. 423-444.
211. Randerath, W., et al., *Arousals bei Patienten mit obstruktivem Schlafapnoe-Syndrom—Untersuchung zur Häufigkeit in Abhängigkeit von Lebensalter, Geschlecht und Schweregrad der Erkrankung*. Somnologie-Schlafforschung und Schlafmedizin, 2000. **4**(1): p. 7-12.
212. Ravesloot, M., et al., *The undervalued potential of positional therapy in position-dependent snoring and obstructive sleep apnea—a review of the literature*. Sleep and Breathing, 2013. **17**(1): p. 39-49.
213. Ravindranath, V., et al., *2-Methylfuran toxicity in rats—role of metabolic activation in vivo*. Toxicology and applied pharmacology, 1986. **85**(1): p. 78-91.
214. Redline, S., et al., *Obstructive sleep apnea—hypopnea and incident stroke: the sleep heart health study*. American journal of respiratory and critical care medicine, 2010. **182**(2): p. 269-277.
215. Röck, F., N. Barsan, and U. Weimar, *Electronic nose: current status and future trends*. Chemical reviews, 2008. **108**(2): p. 705-725.
216. Rogers, R.R., *Past, present, and future use of oral appliance therapies in sleep-related breathing disorders*. Journal of the California Dental Association, 2012. **40**(2): p. 151-157.
217. Ryan, S., et al., *Cardiovascular risk markers in obstructive sleep apnoea syndrome and correlation with obesity*. Thorax, 2007. **62**(6): p. 509-514.
218. Ryan, S., C. Taylor, and W. McNicholas, *Systemic inflammation: a key factor in*

- the pathogenesis of cardiovascular complications in obstructive sleep apnoea syndrome?* Thorax, 2009. **64**(7): p. 631-636.
219. Ryan, S., C.T. Taylor, and W.T. McNicholas, *Predictors of elevated nuclear factor- κ B-dependent genes in obstructive sleep apnea syndrome*. American journal of respiratory and critical care medicine, 2006. **174**(7): p. 824-830.
 220. Saalberg, Y. and M. Wolff, *VOC breath biomarkers in lung cancer*. Clinica Chimica Acta, 2016. **459**: p. 5-9.
 221. Sabato, R., et al., *Airway inflammation in patients affected by obstructive sleep apnea*. Monaldi Arch Chest Dis, 2006. **65**(2): p. 102-5.
 222. Salerno, F., et al., *Airway inflammation in patients affected by obstructive sleep apnea syndrome*. Respiratory medicine, 2004. **98**(1): p. 25-28.
 223. Sanchez, J.M. and R.D. Sacks, *Development of a multibed sorption trap, comprehensive two-dimensional gas chromatography, and time-of-flight mass spectrometry system for the analysis of volatile organic compounds in human breath*. Analytical chemistry, 2006. **78**(9): p. 3046-3054.
 224. Santini, G., et al., *Exhaled and non-exhaled non-invasive markers for assessment of respiratory inflammation in patients with stable COPD and healthy smokers*. Journal of breath research, 2016. **10**(1): p. 017102.
 225. Sateia, M.J., *International classification of sleep disorders-: highlights and modifications*. CHEST Journal, 2014. **146**(5): p. 1387-1394.
 226. Savelev, S.U., et al., *Individual variation in 3-methylbutanal: a putative link between human leukocyte antigen and skin microflora*. Journal of chemical ecology, 2008. **34**(9): p. 1253-1257.
 227. Sayin, M.R., et al., *Presence of Fragmented QRS Complexes in Patients with Obstructive Sleep Apnea Syndrome*. Chinese medical journal, 2015. **128**(16): p. 2141.
 228. Schleibinger, H., et al., *Microbial volatile organic compounds in the air of moldy and mold-free indoor environments*. Indoor Air, 2008. **18**(2): p. 113-124.
 229. Schmidt-Nowara, W., et al., *Oral appliances for the treatment of snoring and obstructive sleep apnea: a review*. Sleep-Lawrence, 1995. **18**(6): p. 501-510.
 230. Schneider, T., et al., *An integrative clinical database and diagnostics platform for biomarker identification and analysis in ion mobility spectra of human exhaled air*. J Integr Bioinform, 2013. **10**: p. 218.
 231. Schubert, J.K., et al., *CO₂-controlled sampling of alveolar gas in mechanically ventilated patients*. Journal of Applied Physiology, 2001. **90**(2): p. 486-492.
 232. Schwartz, A.R., et al., *Effect of Weight Loss on Upper Airway Collapsibility in Obstructive Sleep Apnea*1-3. Am Rev Respir Dis, 1991. **144**: p. 494-498.
 233. Schwartz, A.R., et al., *Obesity and upper airway control during sleep*. J Appl Physiol (1985), 2010. **108**(2): p. 430-5.

234. Schwarz, E.I., et al., *Effects of CPAP therapy withdrawal on exhaled breath pattern in obstructive sleep apnoea*. Thorax, 2015: p. thoraxjnl-2015-207597.
235. Segovia, B.L., G.C. Sandoval, and F.d.R.E. Pacheco, *Increased Interleukin-6 (IL-6) in Exhaled Breath Condensate of Asthmatic Children*. Archivos de Bronconeumología (English Edition), 2016.
236. Shigeta, Y., et al., *Influence of tongue/mandible volume ratio on oropharyngeal airway in Japanese male patients with obstructive sleep apnea*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2011. **111**(2): p. 239-43.
237. Sielemann, S., *Detektion flüchtiger organischer Verbindungen mittels Ionenmobilitätsspektrometrie und deren Kopplung mit Multi-Kapillar-Gas-Chromatographie*. 1999, Universität Dortmund.
238. Sielemann, S., et al., *Quantitative analysis of benzene, toluene, and m-xylene with the use of a UV-ion mobility spectrometer*. Field Analytical Chemistry & Technology, 2000. **4**(4): p. 157-169.
239. Sinues, P.M.-L., R. Zenobi, and M. Kohler, *Analysis of the exhalome: a diagnostic tool of the future*. CHEST Journal, 2013. **144**(3): p. 746-749.
240. Sobel, J.D., Z. Karpas, and A. Lorber, *Diagnosing vaginal infections through measurement of biogenic amines by ion mobility spectrometry*. European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology, 2012. **163**(1): p. 81-84.
241. Soppart, O. and J. Baumbach, *Comparison of electric fields within drift tubes for ion mobility spectrometry*. Measurement Science and Technology, 2000. **11**(10): p. 1473.
242. Steiropoulos, P., et al., *Inflammatory markers in middle-aged obese subjects: does obstructive sleep apnea syndrome play a role? Mediators of inflammation*, 2010. **2010**.
243. Stewart, S., et al., *AHI outcomes are superior after upper airway reconstructive surgery in adult CPAP failure patients*. Otolaryngology--Head and Neck Surgery, 2015: p. 0194599815621729.
244. Stuck, B. and H. Weeß, *Die neue „International Classification of Sleep Disorders“*. Somnologie-Schlafforschung und Schlafmedizin, 2015. **19**(2): p. 126-132.
245. Stuck, B.A. and J.T. Maurer, *[Recent developments in the diagnosis and treatment of obstructive sleep apnea]*. HNO, 2016. **64**(2): p. 75-81.
246. Stuck, B.A. and J.T. Maurer, *Schlafbezogene Atmungsstörungen*, in *Praxis der Schlafmedizin*. 2018, Springer.
247. Svensson, M., et al., *Relationship between sleep-disordered breathing and markers of systemic inflammation in women from the general population*. Journal of sleep research, 2012. **21**(2): p. 147-154.
248. Tarnoki, D.L., et al., *Lack of heritability of exhaled volatile compound pattern: an electronic nose twin study*. Journal of breath research, 2014. **8**(1): p.

016001.

249. Testelmans, D., et al., *Profile of circulating cytokines: impact of OSA, obesity and acute cardiovascular events*. Cytokine, 2013. **62**(2): p. 210-216.
250. Thaler, E.R. and C.W. Hanson, *Medical applications of electronic nose technology*. Expert review of medical devices, 2005. **2**(5): p. 559-566.
251. Tichanon, P., et al., *Effect of Continuous Positive Airway Pressure on Airway Inflammation and Oxidative Stress in Patients with Obstructive Sleep Apnea*. Canadian Respiratory Journal, 2016. **2016**.
252. Tomino, Y., et al., *Increase of IgA in pharyngeal washings from patients with IgA nephropathy*. The American journal of the medical sciences, 1983. **286**(2): p. 15-21.
253. Trefz, P., et al., *Continuous real time breath gas monitoring in the clinical environment by proton-transfer-reaction-time-of-flight-mass spectrometry*. Analytical chemistry, 2013. **85**(21): p. 10321-10329.
254. Valentiner, W., *Die chemische Diagnostik in Krankheiten: dargestellt für Aerzte*. 1860: Schneider.
255. Van Berkel, J., et al., *Development of accurate classification method based on the analysis of volatile organic compounds from human exhaled air*. Journal of Chromatography B, 2008. **861**(1): p. 101-107.
256. van der Schee, M.P., et al., *Breathomics in lung disease*. CHEST Journal, 2015. **147**(1): p. 224-231.
257. van Maanen, J.P. and N. de Vries, *Long-term effectiveness and compliance of positional therapy with the sleep position trainer in the treatment of positional obstructive sleep apnea syndrome*. Sleep, 2014. **37**(7): p. 1209-1215.
258. van Maanen, J.P., et al., *The sleep position trainer: a new treatment for positional obstructive sleep apnoea*. Sleep and Breathing, 2013. **17**(2): p. 771-779.
259. Vautz, W., et al., *An implementable approach to obtain reproducible reduced ion mobility*. International Journal for Ion Mobility Spectrometry, 2009. **12**(2): p. 47-57.
260. Visser, M., et al., *Elevated C-reactive protein levels in overweight and obese adults*. Jama, 1999. **282**(22): p. 2131-2135.
261. Walendzik, G., *Entwicklung einer Feldmethode zur Untersuchung von durch Störfälle verursachten Kontaminationen von Wasser auf der Grundlage der Ionenmobilitätsspektrometrie*. 2004, Universität Dortmund.
262. Walter, T.J., et al., *Comparison of Epworth Sleepiness Scale scores by patients with obstructive sleep apnea and their bed partners*. Sleep medicine, 2002. **3**(1): p. 29-32.
263. Wang, S., H. Ang, and M.O. Tade, *Volatile organic compounds in indoor*

- environment and photocatalytic oxidation: state of the art*. Environment international, 2007. **33**(5): p. 694-705.
264. Weschler, C.J., *Changes in indoor pollutants since the 1950s*. Atmospheric Environment, 2009. **43**(1): p. 153-169.
 265. Westhoff, M., et al., *Ion mobility spectrometry for the detection of volatile organic compounds in exhaled breath of patients with lung cancer: results of a pilot study*. Thorax, 2009. **64**(9): p. 744-8.
 266. Westhoff, M., et al., *Differentiation of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) including lung cancer from healthy control group by breath analysis using ion mobility spectrometry*. International Journal for Ion Mobility Spectrometry, 2010. **13**(3-4): p. 131-139.
 267. White, D.P., *Sleep-related breathing disorder. 2. Pathophysiology of obstructive sleep apnoea*. Thorax, 1995. **50**(7): p. 797-804.
 268. Whittle, A.T., et al., *Neck soft tissue and fat distribution: comparison between normal men and women by magnetic resonance imaging*. Thorax, 1999. **54**(4): p. 323-328.
 269. Wilson, A.D. and M. Baietto, *Advances in electronic-nose technologies developed for biomedical applications*. Sensors, 2011. **11**(1): p. 1105-1176.
 270. Wilson, H.K., *Breath analysis: physiological basis and sampling techniques*. Scandinavian journal of work, environment & health, 1986: p. 174-192.
 271. Wu, C., W.F. Siems, and H.H. Hill, *Secondary electrospray ionization ion mobility spectrometry/mass spectrometry of illicit drugs*. Analytical chemistry, 2000. **72**(2): p. 396-403.
 272. Xie, H., L. Doherty, and C. O'Boyle, *The positive impact of bariatric surgery on sleep*. Irish medical journal, 2016.
 273. Xue, R., et al., *Investigation of volatile biomarkers in liver cancer blood using solid-phase microextraction and gas chromatography/mass spectrometry*. Rapid communications in mass spectrometry, 2008. **22**(8): p. 1181-1186.
 274. YAGAME, M., et al., *Correlation between the pharyngeal secretion of IgA, secretory-IgA and free secretory component and the upper respiratory tract infections in patients with IgA nephropathy*, 1987. **29**(9): p. 1101-1105.
 275. Yaggi, H.K., et al., *Obstructive sleep apnea as a risk factor for stroke and death*. New England Journal of Medicine, 2005. **353**(19): p. 2034-2041.
 276. Yalamanchali, S., et al., *Diagnosis of obstructive sleep apnea by peripheral arterial tonometry: meta-analysis*. JAMA Otolaryngology–Head & Neck Surgery, 2013. **139**(12): p. 1343-1350.
 277. Yokoe, T., et al., *Elevated levels of C-reactive protein and interleukin-6 in patients with obstructive sleep apnea syndrome are decreased by nasal continuous positive airway pressure*. Circulation, 2003. **107**(8): p. 1129-1134.

278. Yokokawa, T., et al., *A case of acute decompensated heart failure evaluated by series of exhaled acetone concentrations as noninvasive biomarker of heart failure severity*. International journal of cardiology, 2016. **204**: p. 112-113.
279. Yokoyama, Y. and Y. Harabuchi, *Intranasal immunization with lipoteichoic acid and cholera toxin evokes specific pharyngeal IgA and systemic IgG responses and inhibits streptococcal adherence to pharyngeal epithelial cells in mice*. International journal of pediatric otorhinolaryngology, 2002. **63**(3): p. 235-241.
280. Young, R.C., et al., *Electronic nose for space program applications*. Sensors and Actuators B: Chemical, 2003. **93**(1): p. 7-16.
281. Young, T., et al., *Menopausal status and sleep-disordered breathing in the Wisconsin Sleep Cohort Study*. American journal of respiratory and critical care medicine, 2003. **167**(9): p. 1181-1185.
282. Young, T., et al., *The occurrence of sleep-disordered breathing among middle-aged adults*. New England Journal of Medicine, 1993. **328**(17): p. 1230-1235.
283. Yuan, H., et al., *Relationship between body fat distribution and upper airway dynamic function during sleep in adolescents*. Sleep, 2013. **36**(8): p. 1199.
284. Yumino, D., et al., *Nocturnal Rostral Fluid Shift A Unifying Concept for the Pathogenesis of Obstructive and Central Sleep Apnea in Men With Heart Failure*. Circulation, 2010. **121**(14): p. 1598-1605.
285. Zhang, L., et al., *Classification of multiple indoor air contaminants by an electronic nose and a hybrid support vector machine*. Sensors and Actuators B: Chemical, 2012. **174**: p. 114-125.
286. Zhu, Y., et al., *The effectiveness of oral appliances for obstructive sleep apnea syndrome: A meta-analysis*. Journal of dentistry, 2015. **43**(12): p. 1394-1402.
287. Zlatkis, A., et al., *Capillary column gas chromatographic profile analysis of volatile compounds in sera of normal and virus-infected patients*. Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications, 1979. **163**(2): p. 125-133.
288. Zweifel, M., et al., *Detection of pulmonary amylase activity in exhaled breath condensate*. Journal of breath research, 2013. **7**(4): p. 046007.

7 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Geräteeinstellungen der verwendeten Cyranose® 320	44
Tabelle 2: Geräteeigenschaften der verwendeten MCC-Ionenmobilitätsspektrometrie.....	45
Tabelle 3: Baseline-Charakteristika der gesamten Studienpopulation	52
Tabelle 4: Polysomnographische Werte der Patientenkohorte.....	53
Tabelle 5: Spirometrie	54
Tabelle 6: Laborwerte	54
Tabelle 7: Vier-Felder-Tafel Cyranose® 320 EB	55
Tabelle 8: Vier-Felder-Tafel Cyranose® 320 EBC.....	56
Tabelle 9: Vier-Felder-Tafel Cyranose® 320 PW	57
Tabelle 10: Vier-Felder-Tafel Cyranose® 320 Serum	58
Tabelle 11: Gesamtübersicht über die mit Cyranose® 320 untersuchten biologischen Materialien mit zugehörigen statistischen Werten nach LOO-Kreuzvalidierung.....	58
Tabelle 12: Vier-Felder-Tafel MCC-IMS EB	61
Tabelle 13: Vier-Felder-Tafel MCC-IMS EBC	61
Tabelle 14: Vier-Felder-Tafel MCC-IMS PW	62
Tabelle 15: Vier-Felder-Tafel MCC-IMS Serum.....	63
Tabelle 16: Gesamtübersicht über die mittels MCC-IMS untersuchten biologischen Materialien mit zugehörigen statistischen Werten nach Kreuzvalidierung.....	63
Tabelle 17: Zuordnung spezifischer volatiler organischer Substanzen zu IMS-VOC-Peaks	66

8 **Abbildungsverzeichnis**

Abbildung 1: Reaktionsionenpeak.....	30
Abbildung 2: Ionenmobilitätsspektrometer in schematischer Darstellung.....	32
Abbildung 3: Rekrutierung der Studienpopulation: Trial Flow.....	38
Abbildung 4: IMS-Chromatogramm des Patienten F38.....	49
Abbildung 5: Decision-Tree-Model (Entscheidungsbaum) der VOC-Analyse von Atemwegskondensat-Headspace (EBC) mittels Cyranose® 320.....	56
Abbildung 6: Decision-Tree-Model (Entscheidungsbaum) der VOC-Analyse von Rachenspülwasser-Headspace (PW) mittels Cyranose® 320.....	57
Abbildung 7: Darstellung der diagnostischen Genauigkeit der Cyranose® 320 in unterschiedlichen biologischen Materialien anhand von ROC-Kurven.....	59
Abbildung 8: Decision-Tree-Model (Entscheidungsbaum) der VOC-Analyse von Atemwegskondensat-Headspace (EBC) mittels MCC-IMS.....	62
Abbildung 9: Darstellung der diagnostischen Genauigkeit der MCC-Ionenmobilitätsspektrometrie in unterschiedlichen biologischen Materialien anhand von ROC-Kurven.....	64

9 Anhang

1. Einwilligungserklärung

Timm Greulich

Pilotstudie: IMS bei OSAS

Einwilligungserklärung

*Pilotstudie zum Stellenwert der Ionenmobilitätsspektrometrie in der
Untersuchung der Ausatemluft von Patienten mit Obstruktivem
Schlafapnoesyndrom im Vergleich mit gesunden Kontrollen*

Ich, _____, geb. am _____

wohnhaft in _____
PLZ Ort Telefon

wurde von Herrn/Frau _____ über Ziel und Ablauf der Studie „Pilotstudie zum Stellenwert der Ionenmobilitätsspektrometrie in der Untersuchung der Ausatemluft von Patienten mit Obstruktivem Schlafapnoesyndrom im Vergleich mit gesunden Kontrollen“ umfassend aufgeklärt. Die Aufklärung wurde mir zusätzlich schriftlich in Form einer Patienteninformation übergeben. Ich habe den Inhalt der Aufklärung verstanden und zur Kenntnis genommen, dass ich bei weiteren Fragen jederzeit meinen behandelnden Arzt oder die Studienleiter (Dr. T. Greulich, Dr. A. R. Koczulla) an der Klinik für Innere Medizin, Schwerpunkt Pneumologie des Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH, Baldingerstraße, 35043 Marburg, Tel 06421 586 2704) ansprechen kann. Mir ist bekannt, dass ich die Untersuchung jederzeit, ohne Nennung von Gründen und ohne persönliche Nachteile, beenden kann. Ich werde dies meinem behandelnden Arzt sofort mitteilen.

Hiermit erkläre ich meine Einwilligung zur freiwilligen Teilnahme an der Untersuchung.

Ort, Datum

Unterschrift des Patienten / Probanden

Ort, Datum

Aufklärender Arzt

2. Epworth-Schläfrigkeitsskala

Epworth Schläfrigkeitsskala

Name: _____

Alter (in Jahren): _____ Heutiges Datum: _____

Geschlecht (männlich = m; weiblich = w): _____

Wie wahrscheinlich ist es, dass Sie in den folgenden Situationen einnicken oder einschlafen, sich also nicht nur müde fühlen? Dies bezieht sich auf Ihren Alltag in der letzten Zeit. Selbst wenn Sie einige der Situationen in letzter Zeit nicht erlebt haben, versuchen Sie sich vorzustellen, wie diese auf Sie gewirkt hätten.

Benutzen Sie die folgende Skala, um die *am besten passende Zahl* für jede Situation auszuwählen.

- 0 = würde **niemals** einnicken
- 1 = **geringe** Wahrscheinlichkeit einzunicken
- 2 = **mittlere** Wahrscheinlichkeit einzunicken
- 3 = **hohe** Wahrscheinlichkeit einzunicken

Es ist wichtig, dass Sie jede Frage so gut Sie können beantworten.

Situation	Wahrscheinlichkeit des Einnickens
im Sitzen lesend	
beim Fernsehen	
ruhiges Sitzen an einem öffentlichen Ort (z.B. Theater oder Versammlung)	
als Mitfahrer in einem Auto, während einer einstündigen Fahrt ohne Unterbrechung	
sich nachmittags zum Ausruhen hinlegen, wenn es die Umstände erlauben	
wenn Sie sitzen und sich mit jemandem unterhalten	
ruhiges Sitzen nach einem Mittagessen ohne Alkohol	
in einem Auto, während man für wenige Minuten im Verkehr anhält	

Vielen Dank für Ihre Mitarbeit!

Version 2.0 / 09.06.2008

3. Verzeichnis der akademischen Lehrer

Meine akademischen Lehrer waren

an der **Philipps-Universität Marburg** in alphabetischer Reihenfolge die folgenden Damen und Herren:

Adamkiewicz, Ahrens, Arabin, Bartsch, Baum, Baumann, Becker, Best, Bürk, Buchholz, Burchert, Cetin, Czubayko, Damanakis, Dannlowski, Daut, Decher, Dettmeyer, Dodel, Donner-Banzhoff, Efe, Eilers, Ellenrieder, Fendrich, Feuser, Fuchs-Wunkelmann, Geks, Glatzl, Görg C., Greulich, Gress, Grimm, Henke, Heverhagen, Heyse, Höffken, Hofmann, Hoyer, Jerrentrup, Josephs, Kann, Kill, Kircher, Kirschbaum, Klose, Koczulla, Koehler, Koolman, Krug, Leonhardt, Lill, Lohoff, Lüsebrink, Maier, Maisch, Mittag, Moll, Moosdorf, Mueller, Müller, Mutters, Neubauer, Neumüller, Nimphius, Nimsky, Oertel, Oliver, Pagenstecher, Pantazis, Pape-Meyer, Peterlein, Plant, Renz, Rey del, Richter, Riera, Rosenow, Rothmund, Ruchholtz, Sahmland, Schäfer, Schieffer, Schneider, Schu, Schwarting, Seffer, Seitz, Sekundo, Sevinc, Sommer, Steinfeldt, Steiniger, Steinkamp, Strick, Stiewe, Suske, Tackenberg, Teymoortasch, Vogelmeier, Vogt, Weihe, Werner, Westermann, Wiegand, Wöhr, Wrocklage, Wulf, Zwioerek, Zemlin, Zettl, Zoremba

am **Universitätsklinikum Köln** in alphabetischer Reihenfolge die folgenden Damen und Herren:

Alakus, Bludau, Brunkwall, Dieplinger, Leers, Heiermann, Hekmat, Hölscher, Kleinert, Kröner, Kuhn, Kuhn-Régnier, Mader, Majd, Matoussevitch, Scherner, Schröder, Stippel, Thul, Wahba, Wippermann

am **Klinikum St. Georg Leipzig**, Lehrkrankenhaus der Universität Leipzig in alphabetischer Reihenfolge die folgenden Damen und Herren:

Hanschke, Kretzschmar, Mantovani-Löffler, Schimmelpfennig, Treutler

am **Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf** in alphabetischer Reihenfolge die folgenden Damen und Herren:

Diedrichs, Fleischhacker, Goerig, Götz, Hoffmann, Issleib, Kiefmann, Kubitz, Nitzschke, Petzoldt, Plümer, Trepte, Zöllner

4. Danksagung

Besonderer Dank gilt meinen Betreuern Herrn PD Dr. Timm Greulich und Herrn Professor Dr. Rembert Koczulla, die mich bei der Planung, Entwicklung und Durchführung dieses Projektes allzeit unterstützt haben und mich für wissenschaftliches Arbeiten begeistern konnten.

Ich danke Herrn Professor Dr. Claus Franz Vogelmeier und Herrn Professor Dr. Ulrich Koehler für die Überlassung des Themas dieser Dissertation sowie für die Anregungen bei ihrer Durchführung.

Herrn Dr. Christoph Nell, Herrn Dr. Dirk Lubbe, Herrn Professor Dr. Jörg-Ingo Baumach und Herrn Dr. Dr. Tobias Bösel danke ich für den intensiven wissenschaftlichen Austausch im Rahmen der zugrunde liegenden Studie.

Frau Ursula Boas, Herrn Viktor Kotke und Herrn Stefan Wiedmann danke ich für die Bereitstellung von Arbeitsplatz und Material im Alpha-1-Antitrypsin-Zentrum des Universitätsklinikums Marburg.

Herrn Dr. Karl Kesper, Herrn Dirk Stawenow, Herrn Ernst-Peter Kraus, Frau Petra Mayr, Frau Daniela Schach und Herrn Dipl. Psych. Werner Cassel danke ich für die Bereitstellung von Arbeitsplatz und Material im Schlafmedizinischen Zentrum des Universitätsklinikums Marburg.

Mein Dank gilt außerdem der B&S Analytik GmbH, Dortmund sowie Frau Professorin Dr. Stefanie Sielemann für die freundliche Zurverfügungstellung von Abbildungen in der hiesigen Dissertation.

Ich bedanke mich sehr herzlich bei meinen Eltern Agnes und Harald Fischer, meinen Geschwistern Friederike Hintze, Sebastian Fischer und Georg Fischer sowie bei meiner langjährigen Freundin Miriam-Lara Geipert für die bedingungslose Unterstützung in allen Lebenslagen.

5. Ehrenwörtliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die dem Fachbereich Medizin Marburg zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel 'Pilotstudie zum Stellenwert der Ionenmobilitätsspektrometrie in der Untersuchung der Ausatemluft von Patienten mit Obstruktivem Schlafapnoesyndrom im Vergleich mit gesunden Kontrollen' in der Klinik für Innere Medizin am Universitätsklinikum Marburg, unter Leitung von Herrn Professor Dr. Andreas Rembert Koczulla und Herrn Privatdozent Dr. Timm Greulich ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation aufgeführten Hilfsmittel benutzt habe. Ich habe bisher an keinem in- oder ausländischen Medizinischen Fachbereich ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht, noch die vorliegende oder eine andere Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Ich versichere, dass ich sämtliche wörtlichen oder sinngemäßen Übernahmen und Zitate kenntlich gemacht habe.

Mit dem Einsatz von Software zur Erkennung von Plagiaten bin ich einverstanden.

Die vorliegende Arbeit wurde im Rahmen eines Vortrags 'Stellenwert der Ionenmobilitätsspektrometrie in der Untersuchung der Ausatemluft von Patienten mit Obstruktivem Schlafapnoesyndrom im Vergleich mit gesunden Kontrollen' auf dem Kongress 1. Homburger Ausatemluft-Analytik-Forum (HAAF) am 11. November 2016 in Homburg, Deutschland vorgestellt. Die vorliegenden Daten führten darüber hinaus zur Entstehung der Publikation 'Obstructive sleep apnea patients can be identified by ion mobility spectrometry-derived smell prints of different biological materials: T. Greulich, H. Fischer, D. Lubbe, C. Nell, J.I. Baumbach, U. Koehler, T. Bösel, C. Vogelmeier, A. Koczulla', welche im Februar 2018 im Publikationsorgan 'Journal of Breath Research' veröffentlicht wurde.

Marburg, 23.05.2019