

AUS DER KLINIK UND POLIKLINIK FÜR ANÄSTHESIOLOGIE UND INTENSIVTHERAPIE
DER UNIVERSITÄT ROSTOCK

DIREKTOR: UNIV.-PROF. DR. MED. DANIEL A. REUTER

UNTERSUCHUNG DES ATEMGASMETABOLOMS BEI PÄDIATRISCHEN PATIENTEN MITTELS ECHTZEIT-MASSENSPEKTROMETRIE

INAUGURALDISSERTATION

ZUR

ERLANGUNG DES AKADEMISCHEN GRADES

DOKTOR DER MEDIZIN

DER

UNIVERSITÄTSMEDIZIN ROSTOCK

VORGELEGT VON

JOSEPHINE HAPP, GEBOREN AM 03.11.1989 IN FRANKFURT (ODER)

AUS BERGISCH GLADBACH

ROSTOCK | DEZEMBER 2020

https://doi.org/10.18453/rosdok_id00003177

Dekan: Prof. Dr. med. univ. Emil Christian Reisinger

Gutachter:

1. Prof. Dr. med. Dipl. Chem. Jochen Schubert

Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und Intensivtherapie

Universität Rostock

2. Prof. Dr. rer. nat. Dagmar-Christiane Fischer

Kinder- und Jugendklinik

Universität Rostock

3. Prof. Dr. med. Lutz T. Weber

Pädiatrische Nephrologie

Universitätsklinik Köln

Tag der Verteidigung: 17.08.2021

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1 Bedeutung der Atemgasanalytik für den pädiatrischen Patienten	1
1.2 Definition und Ätiologie des Diabetes mellitus	2
1.3 Klassifikation, Pathogenese und Klinik des Diabetes mellitus	2
1.4 Komplikationen des Diabetes mellitus	4
1.5 Techniken zur Charakterisierung und Monitoring des Atemgasmethyloloms	6
1.6 Potentielle Atemgasbiomarker	6
1.7 Zielstellung	8
2. Material und Methoden	9
2.1 Probanden und Studiendesign	9
2.1.1 Epidemiologische Daten	9
2.2 Blutprobennahme	12
2.3 Untersuchung des Atemgasmethyloloms	12
2.3.1 Eigenschaften und Funktionsweise des PTR-TOF-MS	12
2.3.2 Vorbereitung der Atemgasmessung	13
2.3.3 Durchführung der Atemgasmessung	13
2.4 Blutprobenanalytik	14
2.5 PTR-TOF-MS Datenauswertung	15
2.6 Statistik	16
3. Ergebnisse	18
3.1 Punktuelle und kontinuierliche Charakterisierung des Atemgasmethyloloms bei pädiatrischen Patienten	18
3.2 Vergleich von VOC-Atemgasprofilen zwischen Diabetikern und Kontrollen	20
3.3 Vergleich von VOC-Atemgaskonzentrationen zwischen Diabetikern und Kontrollen ...	22
3.4 Zusammenhang zwischen VOC-Atemgaskonzentrationen und glykämischen Serumparametern bei Kindern und Jugendlichen mit Diabetes mellitus Typ 1	25
3.4.1 Zusammenhang zwischen VOC-Atemgaskonzentrationen und Blutglukose bei Kindern und Jugendlichen mit Diabetes mellitus Typ 1	25

3.4.2 Zusammenhang zwischen VOC-Atemgaskonzentrationen und HbA1c bei Kindern und Jugendlichen mit Diabetes mellitus Typ 1.....	26
3.5 Zusammenhang zwischen VOC-Atemgaskonzentrationen und klinischen Parametern bei Kindern und Jugendlichen mit Diabetes mellitus Typ 1.....	27
3.5.1 Zusammenhang zwischen VOC-Atemgaskonzentrationen und Alter	27
3.5.1.1 Zusammenhang zwischen VOC-Atemgaskonzentrationen und Alter bei Kindern und Jugendlichen mit Diabetes mellitus Typ 1.....	27
3.5.1.2 Zusammenhang zwischen Isoprenkonzentrationen im Atemgas und Alter bei Kindern und Jugendlichen mit Diabetes mellitus Typ 1 und gesunden Kontrollen	27
3.5.2 Zusammenhang zwischen VOC-Atemgaskonzentrationen und SDS BMI bei Kindern und Jugendlichen mit Diabetes mellitus Typ 1	29
3.5.3 Zusammenhang zwischen VOC-Atemgaskonzentrationen und Erkrankungsdauer der Kinder und Jugendlichen mit Diabetes mellitus Typ 1	29
3.5.4 Vergleich der VOC-Atemgaskonzentrationen zwischen männlichen und weiblichen Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1	30
3.5.5 Vergleich der VOC-Atemgaskonzentrationen zwischen Diabetikern mit Insulinspritze und Diabetikern mit Insulinpumpe	31
4. Diskussion	32
5. Zusammenfassung	48
6. Literaturverzeichnis.....	49
7. Thesen	Fehler! Textmarke nicht definiert.
8. Abkürzungsverzeichnis.....	57
9. Abbildungsverzeichnis	59
10. Tabellenverzeichnis	61
11. Eidesstattliche Erklärung	62
12. Danksagung	63
13. Lebenslauf	64

1. Einleitung

1.1 Bedeutung der Atemgasanalytik für den pädiatrischen Patienten

Die Gesamtheit aller chemischen Substanzen in der Ausatemluft beschreibt das Atemgasmetabolom. Hauptbestandteile des Atemgases sind Stickstoff, Sauerstoff, Wasser, Kohlenstoffdioxid und Edelgase. Während Hauptbestandteile der Ausatemluft wie z.B. Kohlendioxid bereits in der Routinediagnostik bei pädiatrischen Patienten (z.B. als Marker für Ventilation) verwendet werden, sind volatile organische Verbindungen (VOCs) in sehr geringen Anteilen bzw. in Spurenkonzentrationen im nmol/l bis pmol/l (ppbV bis pptV) im menschlichen Atem Gegenstand der biomedizinischen Forschung^{1,2}. VOCs können im Organismus selbst generiert werden oder aus der Umgebungsluft eingeatmet und in den Blutkreislauf aufgenommen werden. Über diesen gelangen sie in die Lunge, diffundieren über die Alveolarmembranen in die Atemluft und werden expiriert. Nur die Konzentrationen in der alveolaren Atemphase sind repräsentativ für deren Blutkonzentrationen^{1,3}. Exhalierete endogene volatile Substanzen bieten daher das Potential um den Ablauf biochemischer und metabolischer Vorgänge im Körper abzubilden und Rückschlüsse auf pathologische Prozesse im Organismus zu ziehen. Schon einige der über 500 Substanzen im menschlichen Atem wurden als potentielle Biomarker für Erkrankungen beschrieben¹. Dabei hat ein kombiniertes VOC-Profil der Expirationsluft oft ein größeres diagnostisches Potenzial und gibt mehr Aufschluss über komplexe physiologische sowie pathologische Vorgänge im Körper als ein einzelner Atemgasmarker⁴.

Bei der Mehrzahl der erwachsenen Patienten müssen jedoch mit Alter und Lebensstil assoziierte Komorbiditäten berücksichtigt werden, die die atemgasanalytischen Ergebnisse beeinflussen könnten. Bei pädiatrischen Patienten hingegen ist diese Problematik von geringer Relevanz⁵. Andererseits ist für pädiatrische Patienten eine frühe Erkennung und eine gute Therapiekontrolle gerade bei Patienten mit Stoffwechselerkrankungen wichtig für den Erfolg der Therapie und positive Effekte auf den Gesundheitszustand des Patienten. Eine der relevantesten Erkrankungen im Kinder- /Jugendalter ist der Diabetes mellitus Typ 1. Im Kindes- und Jugendalter ist die Inzidenz dieser Stoffwechselerkrankung steigend. Insbesondere jüngere Kinder erkranken zunehmend. In Deutschland sind etwa 17.500 Kinder und Jugendliche im Alter von 0 bis 14 Jahren an einem Typ-1-Diabetes erkrankt. Bei den unter 20-jährigen sind ca. 30.500 Kinder und Jugendliche von der Stoffwechselerkrankung betroffen⁶.

Vor diesem Hintergrund liegt der Focus dieser Arbeit auf der Charakterisierung des Atemgasmetaboloms von Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 und gesunden Kontrollen.

1.2 Definition und Ätiologie des Diabetes mellitus

Der Diabetes mellitus ist eine chronische Stoffwechselerkrankung, die durch eine gestörte Regulation des Blutzuckerspiegels infolge eines absoluten oder relativen Insulinmangels gekennzeichnet ist. In Deutschland ist er die häufigste Stoffwechselerkrankung im Kindes- und Jugendalter⁶.

Laut „Deutscher Gesundheitsbericht Diabetes 2018“ ist deutschlandweit bei 6,5 Millionen Menschen ein Diabetes mellitus diagnostiziert, wovon 95% Typ-2-Diabetiker sind. Außerdem wird vermutet, dass weitere 2 Millionen Deutsche an einem noch unentdeckten Diabetes mellitus erkrankt sind. Der Typ-2-Diabetes kann, im Gegensatz zum Typ-1-Diabetes, oft lange unerkannt bleiben, da er häufig nur unspezifische oder gar keine Symptome aufweist. Jedoch gehen sowohl der diagnostizierte als auch der nicht identifizierte Diabetes mellitus mit einer erhöhten Sterblichkeit einher⁷.

1.3 Klassifikation, Pathogenese und Klinik des Diabetes mellitus

Die WHO klassifizierte den Diabetes mellitus in vier ätiologische Typen: den Typ-1-Diabetes, den Typ-2-Diabetes, andere spezifische Diabetesformen und den Gestationsdiabetes⁸.

Der Typ-1-Diabetes macht nur 5 – 10% aller Diabetes mellitus Erkrankungen aus und manifestiert sich größtenteils im Kindes- und Jugendalter, kann aber auch in jedem anderen Alter auftreten. Er ist durch einen absoluten Insulinmangel gekennzeichnet, der meist autoimmuner Genese oder selten idiopathisch bedingt ist. Dieser Diabetestyp wird auch als insulinabhängig bezeichnet, da die Patienten auf eine Insulintherapie angewiesen sind, um zu überleben.

Bei der immunologisch bedingten Form kommt es zu einer T-Lymphozyten vermittelten autoimmunen Zerstörung der insulinproduzierenden β -Zellen in den Langerhans'schen Insel des Pankreas. Hierbei können Inselzellautoantikörper gegen die Glutamatdecarboxylase 65 und die Thyrosinphosphatase IA-2 und Insulinautoantikörper nachgewiesen werden⁹. Außerdem wurde eine starke humane Leukozyten-Antigen (HLA)-DR- und HLA-DQ-Assoziation gefunden. Diese Allele können entweder prädisponierend oder schützend sein. Der Diabetes mellitus Typ 1 manifestiert sich erstmals, insbesondere bei Kindern und Jugendlichen, meist mit einer Ketoazidose oder mit Nüchternhyperglykämien. In Stresssituationen wie akuten Infektionen können sich schnell schwere Hyperglykämien oder Ketoazidosen entwickeln. Andere Patienten, insbesondere Erwachsene, haben oft noch eine

residuale β -Zellfunktion, wodurch Ketoazidosen noch über Jahre verhindert werden können. Im Endstadium ist die Insulinsekretion jedoch sehr gering oder komplett aufgehoben, sodass die Plasmakonzentration des C-Peptids sehr niedrig oder gar nicht detektierbar ist. Typ-1-Diabetiker neigen dazu, weitere Autoimmunerkrankungen zu entwickeln wie z.B. eine Hashimoto Thyreoiditis, Morbus Basedow, nichttropische Sprue, Morbus Addison, Vitiligo, Autoimmunhepatitis, Myasthenia gravis oder perniziöse Anämie.

Selten treten auch Fälle des Typ-1-Diabetes auf, deren Ätiologie unbekannt ist. Teils leiden diese Patienten unter permanenten Hyperglykämien und Ketoazidosen. Dennoch liegt keine Autoimmunität gegen β -Zellen und ebenfalls keine HLA-Assoziation vor. Diese Patienten sind meist asiatischer oder afrikanischer Herkunft. Weiterhin wird eine Vererbung beobachtet.

Der Typ-2-Diabetes macht 90 – 95% aller Diabetes mellitus Erkrankungen aus und manifestiert sich meist erst im Erwachsenenalter. Er ist durch eine Resistenz der Insulinwirkung an den Zielgeweben sowie eine konsekutiv inadäquate Insulinsekretion bedingt. Die meisten Patienten mit diesem Diabetestyp sind adipös bzw. haben einen erhöhten intraabdominellen Fettgewebsanteil und es mangelt ihnen an Bewegung. Dieser Diabetestyp wird auch als insulinunabhängig bezeichnet, da der gestörte Glukosestoffwechsel oftmals durch Gewichtsreduktion, sportliche Betätigung und/oder orale Antidiabetika unter Kontrolle gebracht werden kann. Ketoazidosen treten beim Typ-2-Diabetiker selten oder nur in Stresssituationen wie z.B. bei akuten Infekten auf. So bleibt diese Form des Diabetes mellitus oft lange unerkannt, da nur unspezifische oder gar keine Symptome auftreten. Trotzdem haben die Patienten ein erhöhtes Risiko, Folgeerkrankungen zu entwickeln.

Zu den anderen Diabetesformen zählen genetische Defekte in der β -Zellfunktion oder der Insulinwirkung, Erkrankungen des exokrinen Pankreas, Endokrinopathien, medikamentös induzierter Diabetes, Infektionen, seltener immunologisch bedingter Diabetes sowie genetische Syndrome, die gelegentlich mit Diabetes vergesellschaftet sind.

Der Gestationsdiabetes ist definiert als ein Diabetes, der sich erstmals in der Schwangerschaft manifestiert, unabhängig davon, ob er nach der Entbindung weiterhin persistiert oder nicht¹⁰.

Kennzeichnende Symptome einer Hyperglykämie sind Polydipsie, Polyurie, unbeabsichtigter Gewichtsverlust und teilweise auch Hyperphagie und Visusverschlechterung.

Als akute lebensbedrohliche Konsequenz einer Hyperglykämie bei Diabetes mellitus kann das ketoazidotische Koma beim Typ-1-Diabetiker bzw. das nicht ketotische hyperosmolare Koma beim Typ-2-Diabetiker auftreten¹⁰.

1.4 Komplikationen des Diabetes mellitus

Insbesondere sind die durch den gestörten Glukosemetabolismus bedingten Folgeerkrankungen gefürchtet. Im Vergleich zu Nicht-Diabetikern besteht bei Diabetikern aufgrund von kardiovaskulären Komplikationen ein um 60% höheres Mortalitätsrisiko¹¹. Myokardinfarkt und Apoplex zählen zu den häufigsten Todesursachen des Diabetespatienten¹².

Die endotheliale Dysfunktion ist ein wichtiger Faktor bei der Pathogenese von Mikro- und Makroangiopathien beim Diabetes mellitus. *In vitro* Versuche haben gezeigt, dass es bei der Inkubation von Gefäßgewebe mit hohen Glukosekonzentrationen zu einer Stimulation des Diacylglycerol (DAG)–Proteinkinase C (PKC)-Signalweges kommt. Durch die Hyperglykämie steigt die intrazelluläre DAG-Konzentration an, wodurch die PKC-Aktivität erhöht wird. Durch die PKC wiederum werden endotheliale Dysfunktionen vermittelt, was in weiteren Versuchen gezeigt werden konnte¹².

Mikrovaskuläre Schäden der retinalen Gefäße bedingen die diabetische Retinopathie und sind die Hauptursache für einen Visusverlust und Blindheit im Präseniorenalter¹³.

Durch glomeruläre sowie tubulointerstitielle Veränderungen an den Nieren entwickelt sich die diabetische Nephropathie als häufigste Ursache der chronischen Niereninsuffizienz. Die gestörte Nierenfunktion zeigt sich klinisch anfangs durch eine gesteigerte glomeruläre Filtrationsrate (GFR) und eine Mikroalbuminurie. Fortschreitend kommt es jedoch zu einer Abnahme der GFR. Im Endstadium liegt eine Proteinurie ggf. mit nephrotischem Syndrom bei chronischer Niereninsuffizienz vor¹⁴.

Außerdem werden beim Diabetes mellitus unterschiedliche klinische Manifestationen einer diabetischen Neuropathie beobachtet. Sie kann das periphere und das autonome Nervensystem betreffen. Bei der peripheren Neuropathie treten häufig distal symmetrisch in der Tiefe empfundene Schmerzen, Parästhesien oder Taubheitsgefühle auf. Die autonome Neuropathie zieht gastrointestinale, kardiovaskuläre (maligne Herzrhythmusstörungen), urogenitale und sexuelle Dysfunktionen nach sich¹⁵.

Die diabetische Neuropathie kann durch Knochen- und Weichteilentzündungen zu Osteolysen und weitergehend zu Frakturen und Dislokationen mit der Ausprägung eines Charcot-Fußes führen¹⁶.

Weiterhin haben Patienten mit Diabetes mellitus ein erhöhtes Risiko für frühzeitige arteriosklerotisch bedingte kardiovaskuläre und zerebrovaskuläre Ereignisse sowie für eine periphere arterielle Verschlusskrankheit.

Durch eine beschleunigte Koronarsklerose kann ein Myokardinfarkt ebenso wie eine Herzinsuffizienz bis hin zu einem kardiogenen Schock auftreten¹⁷.

Des Weiteren ist bereits ein „Prädiabetes“, der durch eine gestörte Glukosetoleranz und erhöhte Nüchternblutglukosewerte gekennzeichnet ist, mit einem erhöhten Schlaganfallrisiko assoziiert¹⁸.

Das gehäufte Auftreten der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit bei Diabetespatienten führt ischämiebedingt oft zum diabetischen Fußsyndrom und geht vermehrt mit Wundheilungsstörungen, -infektionen, Fußulzerationen und kleinen Minor- oder sogar hohen Majoramputationen einher¹⁹.

Besonders Kinder sind durch die lange Krankheitsdauer gefährdet, diese Folgeerkrankungen zu erleiden. Umso bedeutender ist es, eine möglichst optimale Therapieeinstellung zu gewährleisten, sodass das Risiko für mikro- und makrovaskuläre Komplikationen reduziert wird^{6,20}.

In der DCCT/EDIC Studie konnte nachgewiesen werden, dass die Inzidenz vaskulärer Folgeerkrankungen in einer DMT1-Patientengruppe mit einer intensivierten Insulintherapie, die häufiger Blutzuckermessungen und Insulininjektionen durchführte, geringer war, als in einer DMT1-Patientengruppe mit einer konventionellen Insulintherapie, die seltener Blutzuckermessungen und Insulininjektionen durchführte²¹.

Nadelphobien, Schmerzen sowie die Angst vor Blut und Stichverletzungen bedingen jedoch häufig eine schlechte Patientencompliance, sodass die selbstständigen Blutzuckermessungen nur unregelmäßig und zu selten durchgeführt werden^{22,23}. Insbesondere auch bei Diabetes mellitus Patienten im Kindes- und Jugendalter stellen die eigenständigen Blutglukosekontrollmessungen ein Problem dar. Studien haben gezeigt, dass 43% der Jugendlichen und 30% der Kinder (<14 Jahre) regelmäßig vergessen, ihren Blutglukosespiegel zu messen und außerdem nur schlecht die Symptome einer Hypo- sowie Hyperglykämie erkennen bzw. beschreiben können²⁴. Deshalb ist eine nicht invasive Methode wie die Atemgasanalyse von großem Interesse.

1.5 Techniken zur Charakterisierung und Monitoring des Atemgasmolekols

Perspektivisch ist die Atemgasanalyse im medizinischen Bereich eine vielversprechende Methode zur nicht invasiven Diagnostik, zum Therapiemonitoring und zur Verlaufskontrolle¹. Zur Identifizierung von VOCs im Atemgas können laborbasierte kombinierte Verfahren wie die Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC-MS) verwendet werden. Durch zeitaufwendige Probennahme und -analytik erlaubt diese Methode aber keine Echtzeitmessungen, die jedoch zahlreiche Vorteile bieten²⁵. Echtzeitmessungen liefern augenblicklich Ergebnisse, was für klinische Tests sehr bedeutend ist. Weiterhin können Komplikationen bei der Probennahme und -lagerung umgangen werden, wie z.B. der Zerfall instabiler Verbindungen. Außerdem kann der komplette Atemzyklus beurteilt werden, sodass verfälschte Expirationen erkannt und aus der Analyse ausgeschlossen werden können.

Verschiedene Techniken zur Echtzeitmessung wurden bereits verwendet (IMS, Sensoren, SIFT)²⁶⁻²⁹. Mittels Proton-Transfer-Reaktion-MS (PTR-MS) können die erwähnten Probleme bei der Probenlagerung und lange Analysezeiten erfolgreich reduziert und Proben mit einer hohen Sensitivität und relativ guten Spezifität im Vergleich zu anderen Methoden wie IMS oder Sensoren charakterisiert werden.

Die Kombination der PTR-Ionisierung mit der Time-of-Flight- Massenspektrometrie (PTR-TOF-MS) ermöglicht die Detektion relevanter Molekülmassen im Bereich von 0-500 m/z mit einer sehr guten Zeitauflösung (≤ 200 ms) und einer relativ hohen Massenauflösung ($m/\Delta m > 4000$)^{30,86}.

1.6 Potentielle Atemgasbiomarker

Die herkömmliche Diagnostik bei Diabetes mellitus umfasst Verlaufskontrollen wie die laborchemische Bestimmung der Blutglukose und des HbA1c. Sie bilden die glykämische Stoffwechsellage des Diabetikers ab. Untersuchungen zur Erfassung der erwähnten potentiellen Komplikationen wie die laborchemische Bestimmung einer (Mikro-)Albuminurie und der Retentionsparameter, eine regelmäßige Fußinspektion und -pflege, die Erhebung des Puls- und neurologischen Status und die Ophthalmoskopie zeigen das Resultat bereits stattgehabter pathologischer Vorgänge auf³¹.

Die Untersuchung der chemischen Zusammensetzung der Ausatemluft vermag augenblicklich ablaufende pathologische Prozesse im Körper abzubilden¹, die in der herkömmlichen Diagnostik unberücksichtigt bleiben.

Die n-Alkane Pentan und Ethan entstehen bei der Peroxidation mehrfach ungesättigter Fettsäuren, die essentielle Bestandteile der Zellmembran darstellen. Ebenso werden Aldehyde in diesem Stoffwechselvorgang generiert. Mithilfe der Atemgasanalyse konnten einige dieser volatilen organischen Substanzen als Biomarker der Lipidperoxydation nachgewiesen werden und dienen als Indikator für oxidativen Stress^{1,32}.

Oxidativer Stress wird als eine ausschlaggebende Ursache bei der Pathogenese von Komplikationen des Diabetes mellitus angesehen. Langanhaltende Hyperglykämien verursachen eine gesteigerte Bildung freier Radikale durch Autooxidation der Glukose und nichtenzymatische Glykosylierung von Proteinen. Diese hochreaktiven Moleküle peroxidieren Lipide und verringern den Anteil an Antioxidantien sowie die Aktivität antioxidativer Enzyme. Deshalb haben sie zytotoxische Effekte auf Phospholipidmembranen und rufen Zellschäden hervor^{33,34}.

Aceton gehört neben Acetoacetat und β -Hydroxybutyrat zu den Ketonkörpern. Sie werden in der Leber durch die Oxidation freier Fettsäuren gebildet und dienen dem Körper als Energiequelle, wenn keine Glukose verfügbar ist. Aceton entsteht durch Decarboxylierung von Acetoacetat und durch Dehydrierung der volatilen organischen Verbindung Isopropanol³⁵. Es ist eine sehr volatile Substanz und kann im Atem aller Menschen nachgewiesen werden³⁶. Zu erhöhten Acetonkonzentrationen im Atemgas kommt es bei lang anhaltender Nahrungskarenz³⁷, bei körperlicher Anstrengung³⁸ sowie beim hyperglykämisch entgleisten Diabetes mellitus, wodurch auch der typische Foetor ex ore des Diabetikers in dieser Stoffwechsellaage verursacht wird¹.

Isopren (2-Methyl-1,3-Butadien) ist ein großer Bestandteil der volatilen Kohlenwasserstoffe in der menschlichen Expirationsluft³⁹ und konnte bereits in den 70er Jahren im Atemgasgemisch detektiert werden⁴⁰. Deneris *et al.* gelang erstmals den Syntheseweg von Isopren in Rattenleberzytosol aufzudecken und somit der Nachweis der Isoprenengenerierung während des Mevalonat-Stoffwechselweges der Cholesterinsynthese⁴¹. Die Theorie erhärtete sich, als Stone *et al.* eine verminderte Isoprenexhalation unter Lovastatintherapie nachwies⁴². Erhöhte expiratorische Isoprenkonzentrationen wurden als Ausdruck von Lipidperoxydationsprozessen diskutiert⁴³. Außerdem wird von einigen Autoren eine Isoprenproduktion im Muskel unterstellt⁴⁴ oder ein Zusammenhang zwischen der Isoprenkonzentration im Atemgas und dem Diabetes mellitus hinterfragt³⁹.

Außerdem beschrieben Novak *et al.* in einer Studie mit DMT1-Kindern eine gute Korrelation der Blutglukosekonzentration mit der Methylnitratkonzentration in der Ausatemluft⁴⁵.

Weiterhin wurde Ethanol bereits als ein volatiler organischer Atemgasmarker diskutiert, der mit der Blutglukose und dem Diabetes mellitus korreliert^{46,47}. Humane Zellen selbst produzieren zwar keinen Ethanol, jedoch wird Glukose durch die Darmflora des Menschen alkoholisch fermentiert, wodurch die Ethanolkonzentration im Blut und Atem ansteigt⁴⁶.

Im Krankenhaus ist Ethanol ein klassischer Vertreter der exogenen VOCs, da Alkohole wie Ethanol und Isopropanol ein Bestandteil von Desinfektionsmitteln sind und deshalb oft in hohen Konzentrationen in der Raumluft auftreten⁴⁸.

1.7 Zielstellung

Ziel dieser Arbeit war es, das Atemgasmetabolom von pädiatrischen Patienten am Beispiel von Diabetes mellitus Typ 1 zu untersuchen und zu klären, ob dadurch Informationen über pathologische Prozesse der Stoffwechselerkrankung geliefert werden könnten.

Folgende Fragestellungen wurden in der vorliegenden Dissertation untersucht:

1. Eignet sich die Echtzeit-Massenspektrometrie um das Atemgasmetabolom gesunder Kinder und Jugendlicher zu charakterisieren und im Verlauf zu verfolgen?
2. Wie unterscheidet sich das VOC-Profil der alveolaren Atemphase von Kindern und Jugendlichen mit Diabetes mellitus Typ 1 von dem gesunder Kinder und Jugendlicher?
3. Gibt es Zusammenhänge zwischen der Abatmung volatiler Substanzen bei Diabetes mellitus Patienten und Serumparametern wie Glukose und HbA1c bzw. klinischen Parametern wie Alter, Geschlecht, standardisiertem Body Mass Index (SDS BMI), Erkrankungsdauer und Insulinregime?
4. Lassen sich anhand der untersuchten VOC-Konzentrationen perspektivisch Aussagen über den Einsatz der nicht invasiven Atemgasanalytik zur Diagnostik sowie Therapie- und Verlaufskontrolle bei Diabetes mellitus Typ 1 treffen?

2. Material und Methoden

2.1 Probanden und Studiendesign

Nach Genehmigung durch die zuständige Ethikkommission wurden in der vorliegenden klinisch experimentellen Studie zunächst 58 pädiatrische Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 im Alter von 6 bis 18 Jahren über einen Zeitraum von 6 Monaten konsekutiv rekrutiert.

Anschließend wurden 60 gesunde Kinder und Jugendliche im Alter von 6 bis 18 Jahren über einen Zeitraum von 10 Monaten von lokalen Schulen konsekutiv rekrutiert, wobei auf eine gleiche Geschlechter- und Altersverteilung in beiden Probandengruppen geachtet wurde.

Nach Aufklärung der Probanden sowie deren Eltern und mit deren Einverständnis wurde von den pädiatrischen Patienten im Rahmen eines planmäßigen Ambulanzbesuches in der Diabetologie der UKJ Rostock eine peripher-venöse Blutprobe gewonnen und anschließend eine Atemgasmessung über eine Zeitspanne von 5 Minuten durchgeführt. Mit den gesunden Probanden wurde ein separater Termin in der UKJ Rostock vereinbart, um eine 5-minütige Atemgasmessung durchzuführen. Alle Probanden wurden gebeten, 2 Stunden vor Beginn der atemgasanalytischen Untersuchungen keine Nahrung zu sich zu nehmen und lediglich Wasser zu trinken.

2.1.1 Epidemiologische Daten

Vor Beginn der Atemgasprobennahme wurden personenbezogene Daten der Probanden wie Alter, Geschlecht, Größe, Gewicht und bei den Diabetikern der Zeitpunkt der Erstmanifestation des Diabetes mellitus Typ 1 aufgenommen.

Aus Größe und Gewicht wurde der individuelle BMI jedes Probanden berechnet. Der standardisierte BMI (SDS BMI) wurde nach Kromeyer-Hauschild *et al.* berechnet. Er gibt an, um ein Wievielfaches einer Standardabweichung der individueller BMI vom BMI-Medianwert bei gegebenem Alter und Geschlecht abweicht⁴⁹. Er wird in der Pädiatrie bevorzugt, da er alters- und geschlechtsspezifische Parameter in seiner Berechnung mit einbezieht und dadurch eine exaktere Beurteilung ermöglicht.

Die Erkrankungsdauer wurde durch Subtraktion von Messdatum der Atemgasanalyse und Datum der Diabeteserstmanifestation ermittelt.

Alle rekrutierten Probanden waren Nicht-Raucher, hatten keine Nebendiagnosen und nahmen keine Dauermedikation ein (Tab. 1 und Tab. 2).

Diabetiker	Geschlecht	Alter [Jahre]	SDS BMI	Erkrankungsdauer [Jahre]	Blutglukose [mmol/l]	HbA1c [%]
1	W	13	1,05	4,8	11	11,7
2	W	8	2,54	0,3	9,5	8,5
3	M	8	0,47	1,2	7,1	7,1
4	M	17	0,05	2,0	6,8	7,2
5	M	9	0,62	8,0	11,7	7,2
6	W	13	0,12	1,8	11,2	7,4
7	M	9	-0,03	8,3	13	9,5
8	M	18	-0,28	7,4	2,22	8,4
9	M	13	-1,59	4,8	9,03	8,4
10	M	12	1,44	4,0	11,9	9,7
11	W	8	0,64	0,3	3,5	5,4
12	M	10	0,6	10,4	3,15	7,2
13	W	10	-0,1	3,2	11,6	7,9
14	W	14	-0,56	10,9	11,1	7,4
15	W	12	1,06	6,6	14,9	9,5
16	W	16	1,37	8,1	8,4	12,3
17	M	8	0,5	5,0	5,9	9,0
18	W	9	0,54	5,0	6	8,7
19	W	11	-0,2	5,2	5,16	7,1
20	M	11	-0,23	1,3	2,9	9,6
21	W	8	1,67	7,5	5,58	7,8
22	M	13	1,46	8,0	11,1	10,2
23	W	12	-0,04	5,0	9,6	9,1
24	W	13	0,52	2,3	5,9	8,5
25	M	11	-0,76	4,2	8,66	7,4
26	M	14	1,29	1,8	5	6,7
27	M	14	-0,35	8,3	11,3	8,5
28	W	16	0,3	4,0	5,22	6,7
29	W	12	0,61	4,4	7,36	9,6
30	M	6	0,36	1,6	11,7	10,4
31	W	6	1	3,8	15,6	9,3
32	W	17	0,28	8,8	6,7	8,1
33	M	12	1,23	2,8	8,1	8,5
34	W	10	1,17	3,4	12,9	11,1
35	M	16	0,3	15,3	2,59	9,6
36	M	7	-0,25	0,2	7,5	7,5
37	M	7	0,52	4,9	13,6	7,9
38	M	12	0,32	0,3	9,33	5,7
39	W	13	-1,54	0,6	11,2	7,5
40	M	15	-1,6	12,1	17,3	9,0
41	W	15	0,52	14,3	9,55	10,3
42	W	16	-0,2	1,2	8,59	8,6
43	M	7	-0,11	2,6	11,7	7,9
44	W	12	-0,44	4,2	10,7	7,4
45	M	15	-0,51	10,2	18,9	8,3
46	M	13	1,24	3,3	15	9,2
47	M	9	0,51	2,2	19,1	7,7
48	M	12	1,59	2,8	4,44	7,6
49	M	16	0,47	4,2	2,14	9,6
50	M	12	-0,5	2,5	13	6,3
51	M	12	0,48	3,2	15	10,1
52	M	9	0,06	5,6	17,2	8,9
53	W	16	1,92	13,1	18,1	9,9
54	M	12	-0,27	1,2	8	7,5
55	M	12	0,09	0,8	4,95	6,4
56	M	16	0,04	3,9	8,31	8,4
57	M	14	0,15	2,0	11,4	12,4
58	M	15	-0,71	5,9	12,3	10,9

Tab. 1: Epidemiologische Daten der Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1; SDS BMI – Standard-Deviation-Score Body-Mass-Index; HbA1c – glykiertes Hämoglobin.

Kontrollen	Geschlecht	Alter [Jahre]	SDS BMI
1	W	15	1.92
2	W	14	1.42
3	M	12	-1.21
4	W	14	-0.88
5	W	14	-1.32
6	W	16	0.66
7	W	17	-0.02
8	M	7	-2.05
9	W	7	-0.90
10	W	14	0.19
11	M	14	0.07
12	W	13	0.52
13	M	12	0.79
14	W	15	-0.07
15	W	17	0.61
16	W	16	0.30
17	W	16	-0.31
18	W	14	-0.47
19	M	18	-0.49
20	W	13	-0.33
21	W	14	0.39
22	W	13	1.33
23	W	16	-0.41
24	M	10	-0.88
25	W	13	0.44
26	W	14	0.27
27	M	13	0.40
28	M	13	-1.23
29	W	14	1.39
30	W	13	-1.15
31	W	16	0.50
32	M	13	0.39
33	M	17	0.07
34	M	15	1.90
35	M	16	0.64
36	W	16	-1.11
37	M	13	0.44
38	M	13	0.66
39	W	13	0.66
40	M	7	0.55
41	W	13	0.08
42	M	12	0.45
43	W	12	1.35
44	M	10	0.19
45	M	13	0.28
46	W	12	0.18
47	M	16	1.50
48	M	17	0.18
49	M	14	-0.59
50	W	14	1.23
51	W	7	0.58
52	M	15	-0.28
53	M	10	-0.45
54	M	14	0.91
55	M	14	-0.22
56	W	11	-0.06
57	M	11	0.22
58	M	9	-0.23
59	M	9	0.19
60	W	7	-0.34

Tab. 2: Epidemiologische Daten der gesunden Kontrollen; SDS BMI – Standard-Deviation-Score Body-Mass-Index.

2.2 Blutprobennahme

Zur Bestimmung konventioneller Laborparameter (Tab. 1) wurden den rekrutierten Diabetikern vor Beginn der Atemgasmessung zwei peripher-venöse Blutproben (EDTA- und Serum-Monovette von je 5 ml Volumen) entnommen.

2.3 Untersuchung des Atemgasmetaboloms

2.3.1 Eigenschaften und Funktionsweise des PTR-TOF-MS

Für die Messung der Atemgase wurde ein PTR-TOF-MS 8000 (Ionicon Analytik GmbH, Innsbruck, Austria) und die dazugehörige Software verwendet. Zur Software gehören der PTR-Manager 2.2 zum Einstellen der PTR-Parameter und der TofDaqViewer zur Akquirierung, Visualisierung und Auswertung der Messdaten.

Das PTR-TOF-MS verfügt über eine hohe Sensitivität, niedrige Detektionsschwelle (im oberen pptV bis unteren ppbV Bereich) und eine sehr gute Massen- ($m/\Delta m > 4000$) und Zeitauflösung (≤ 200 ms). Es ermöglicht alle ionisierten Molekülmassen im Bereich von 0-500 m/z zu bestimmen. So können VOC-Profile mit Konzentrationen im Spurenbereich (nmol/l bis pmol/l) in Echtzeit gemessen werden. Erwachsene haben eine durchschnittliche Ruheatemfrequenz von $12-15 \text{ min}^{-1}$ und Kinder von etwa $20-30 \text{ min}^{-1}$. Aufgrund der hohen Zeitauflösung des PTR-TOF-MS können atemzug aufgelöste Messungen durchgeführt und VOC-Profile im Patientenatem online detektiert werden^{50,51,86}.

Das Funktionsprinzip des PTR-TOF-MS beruht auf der Kopplung der „weichen“ Ionisierungsmethode der Protonen-Transfer-Reaktion mit einem Time-of-Flight-Massenspektrometer. Anders als bei der „harten“ Ionisierungsmethode mittels Elektronenbeschuss (EI) der konventionellen Massenspektrometrie werden die Analyten im Atemgas chemisch ionisiert und damit weniger fragmentiert. Diese Ionisierung läuft in der Reaktionskammer (Drifttube) ab, indem die in der Ionenquelle aus Wasserdampf produzierten Primärionen (H_3O^+) Protonen auf die Atemgasmoleküle (X) übertragen ($\text{X} + \text{H}_3\text{O}^+ \rightarrow \text{XH}^+ + \text{H}_2\text{O}$). Die nun positiv geladenen Moleküle werden durch ein Linsensystem gebündelt in das TOF-MS transferiert. Dort werden die Moleküle durch einen positiven Impuls beschleunigt und in ihrer Flugbahn durch ein Magnetfeld umgelenkt. Am Ende der Flugbahn befindet sich ein Detektor, der die unterschiedlichen Flugzeiten der Moleküle aufzeichnet und darüber das Massen/Ladungsverhältnis der Ionen bestimmt²⁵ (Abb. 1).

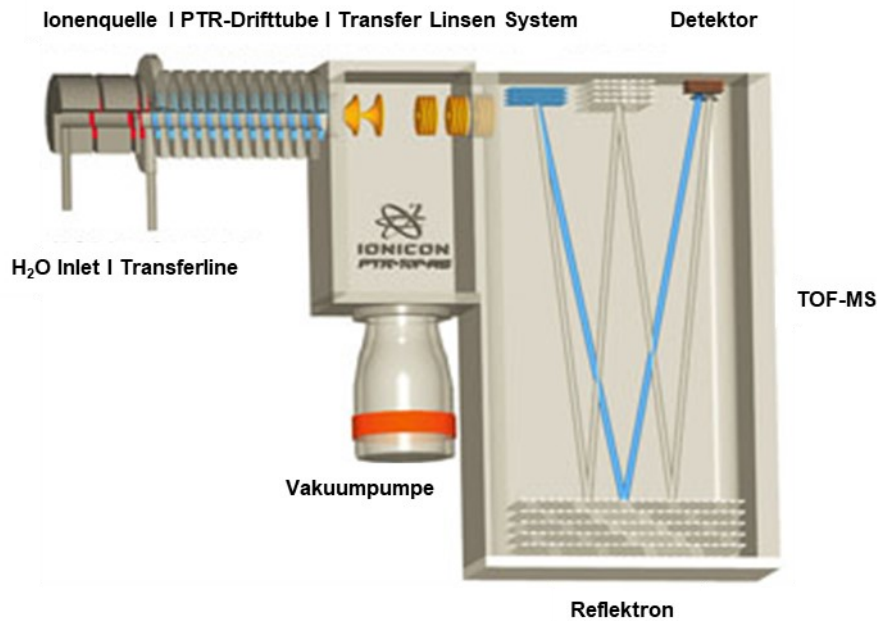


Abb. 1: Schematische Darstellung eines PTR-TOF-MS modifiziert nach⁵².

2.3.2 Vorbereitung der Atemgasmessung

Vor jeder Atemgasmessung wurde der Raum, in dem die Messung stattfand, für 3 Minuten durch Fensteröffnen gelüftet, um möglichst standardisierte Raumlufbedingungen zu schaffen. Im Anschluss wurde eine 5-minütige Raumlufmessung im Sinne einer Hintergrundmessung durchgeführt. Für die Messungen am Probanden wurde die Transferline des PTR-TOF-MS mit zwei Winkelstücken konnektiert, wobei das endständige Winkelstück als Mundstück für den jeweiligen Probanden diente. Alle verwendeten Winkelstücke wurden vor Gebrauch desinfiziert und nach jeder Benutzung ausgewechselt.

Anschließend nahm der Proband auf einem Stuhl Platz, sodass das Mundstück auf eine für den Probanden angenehme Höhe montiert werden konnte. Anschließend wurde dem Probanden kurz der Ablauf der Atemgasmessung erklärt und gezeigt. Außerdem wurden den Probanden kurze Videoclips oder Comics angeboten, die sie sich zur Ablenkung während der Messung angucken konnten, um eine möglichst ruhige und physiologische Atmung zu gewährleisten.

2.3.3 Durchführung der Atemgasmessung

Zur Atemgasmessung umschloss der Proband das Mundstück vollständig mit seinen Lippen, sodass keine Luft am Mundstück vorbei entweichen konnte. Anschließend wurde die 5-minütige Echtzeitmessung der Atemgase der Alveolarphase gestartet, während der der

Proband ruhig und gleichmäßig durch den Mund atmete (Abb. 2). Während der Messung konnte die Atmung des Probanden im TofDaqViewer visuell beurteilt werden. So konnten ggf. eine Nasenklammer aufgesetzt werden, wenn nicht ausschließlich durch den Mund geatmet wurde.



Abb. 2: Atemgasmessung bei einem Probanden.

Für die wiederholten Messungen (Verlaufsmessungen) wurde die oben beschriebene Messung bei zwei Probanden (Diabetiker 52 aus Tab.1 und Kontrolle 53 aus Tab.2) über einen Zeitraum von 9 Stunden mit einer Messdauer von je 60 Sekunden alle 5 Minuten wiederholt.

2.4 Blutprobenanalytik

Die konventionellen Laborparameter Glukose und HbA1c wurden mittels standardisierter Analytik der Blutproben im Zentrallabor der Universität Rostock bestimmt.

Die Bestimmung der Gelegenheitsblutglukose gibt Auskunft über die momentane Glukosestoffwechsellage.

Ist sie über den Referenzwert erhöht, spricht man von einer Hyperglykämie, welche nach einer zweistündigen Nahrungskarenz den gestörten Glukosestoffwechsel des Diabetes mellitus sowie eine ungenügende therapeutische Einstellung abbildet.

Ist die Glukose unter den Referenzwert erniedrigt, spricht man von einer Hypoglykämie, welche durch eine überdosierte Insulintherapie oder durch starke körperliche Belastung des Nicht-Diabetikers verursacht sein kann.

Der HbA1c ist das glykierte Hämoglobin, welches die Glukosestoffwechsellage des Probanden in den letzten 8 Wochen widerspiegelt.

2.5 PTR-TOF-MS Datenauswertung

Die Substanzen des Atemgases wurden durch ihre Massenspektren identifiziert. Die Zuordnung der entsprechenden VOCs zu den PTR-TOF-Massenpeaks erfolgte durch Vergleich der Massenspektren mit denen der PTR-TOF Datenbank.

Zur Auswertung der komplexen PTR-TOF-MS Daten wurde ein Matlab-basierter Algorithmus angewandt, der mithilfe des Signals einer endogenen Substanz (z.B. Aceton, CO₂, Isopren) eine automatische Unterscheidung zwischen inspiratorischer und alveolarer Phase des Atemzyklus ermöglicht (Abb. 3). Dafür muss das Signal in der alveolaren Phase stets deutlich höhere Konzentrationen aufweisen als in der inspiratorischen Phase, um andere Signale der Echtzeitmessung einer der beiden Atemphasen eindeutig zuordnen zu können. Hier wurde das Signal des endogen generierten Ketonkörpers Aceton angewandt⁵¹.

Die Unterscheidung beider Atemphasen erlaubt endogen erzeugte VOCs als potentielle Biomarker von exogenen VOCs als Kontaminationen der Expirationsluft durch die Umgebungsluft zu selektieren. Volatile Substanzen, die während der Inspiration in höheren Konzentrationen als während der Expiration auftraten, wurden aus dem Datenset ausgeschlossen, da sie aus der Raumluft statt aus dem Körper stammten⁵¹.

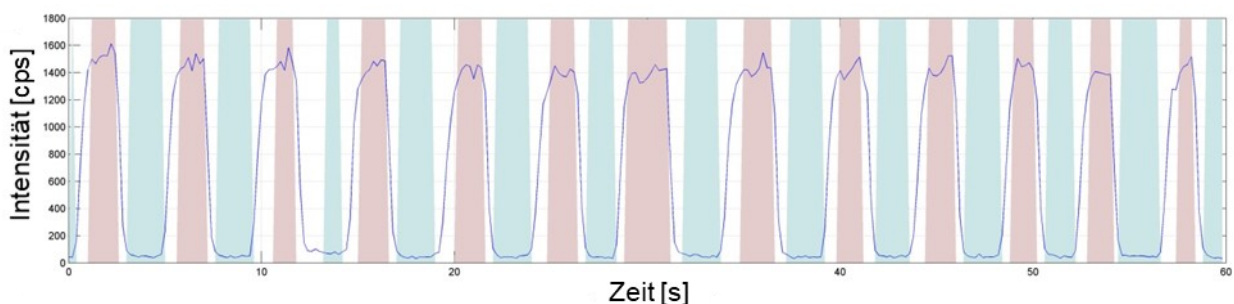


Abb. 3: Aceton-basierte Unterscheidung beider Atemphasen zur Datenauswertung (Expiration = rot, Inspiration = blau).

Die PTR-TOF ist eine pseudoabsolute Methode, da Analytenkonzentrationen unter idealen Bedingungen ohne vorhergehende Kalibrierung direkt über Signalintensität und die Reaktionsratenkonstante k berechnet werden können⁵³. Allerdings ist die Ausatemluft wassergesättigt, was die Quantifizierung verzerren könnte. Deshalb wurde eine Standardgasgenerator - LCU (liquid calibration unit, Ionicon Analytic GmbH, Innsbruck, Österreich) zur externen Kalibrierung relevanter VOCs genutzt. Aceton, Isopren, Pentanal, Ethanol, Isopropanol, Dimethylsulfid, Cyclohexanon und Limonen wurden mittels LCU vorbereitet und gasförmig in verschiedenen Konzentrationen direkt zum PTR-TOF-MS transferiert, um die Analytenkonzentrationen bestimmen zu können. Die Phenol- und Trimethylbenzolkonzentrationen wurden direkt über die Reaktionsratenkonstante k berechnet⁵⁴.

2.6 Statistik

Alle im Rahmen der klinisch experimentellen Studie erhobenen Daten wurden mittels eines Datenbank- und Tabellenkalkulationsprogramms (Microsoft Access und Excel) verwaltet.

Die statistische Auswertung und graphische Darstellung erfolgte mit der SigmaPlot 10.0 und der SigmaStat 3.5 Software (Jandel Scientific Inc.).

Die Ergebnisse normalverteilter Daten wurden als Mittelwert und Standardabweichung, die nicht-normalverteilter Daten als Median und 25-75-%-Perzentile angegeben.

Zum Vergleich zweier Probandengruppen wurde bei normalverteilten Daten der t-Test, bei nicht-normalverteilten Daten der Mann-Whitney-Rank-Sum-Test durchgeführt.

Um die Korrelation zwischen Serumparametern sowie klinischen Parametern der Probanden und den entsprechenden VOC-Konzentrationen der alveolaren Atemphase zu untersuchen, wurde für normalverteilte Daten der Korrelationskoeffizient nach Pearson, für nicht-normalverteilte Daten der Korrelationskoeffizient nach Spearman ermittelt.

Statistische Signifikanz wurde bei $p < 0,05$ angenommen.

Die grafische Darstellung erfolgte bei normalverteilten Daten als Säulendiagramm, bei nicht-normalverteilten Daten als Boxplot.

Der Zusammenhang zwischen zwei Parametern wurde mithilfe von Streudiagrammen grafisch dargestellt.

3. Ergebnisse

3.1 Punktuelle und kontinuierliche Charakterisierung des Atemgasmetaboloms bei pädiatrischen Patienten

Mittels einer adaptierten und optimierten Probenahme lässt sich das Atemgasmetabolom bei pädiatrischen Patienten reproduzierbar erfassen. Abbildung 4 zeigt exemplarisch eine Echtzeitmessung über 60 Sekunden und die daraus resultierenden Ergebnisse.

Für punktuelle Messungen werden die Plateau-Phasen der Exhalationen über die gesamte Messdauer (5 Minuten) gemittelt und anschließend ausgewertet.

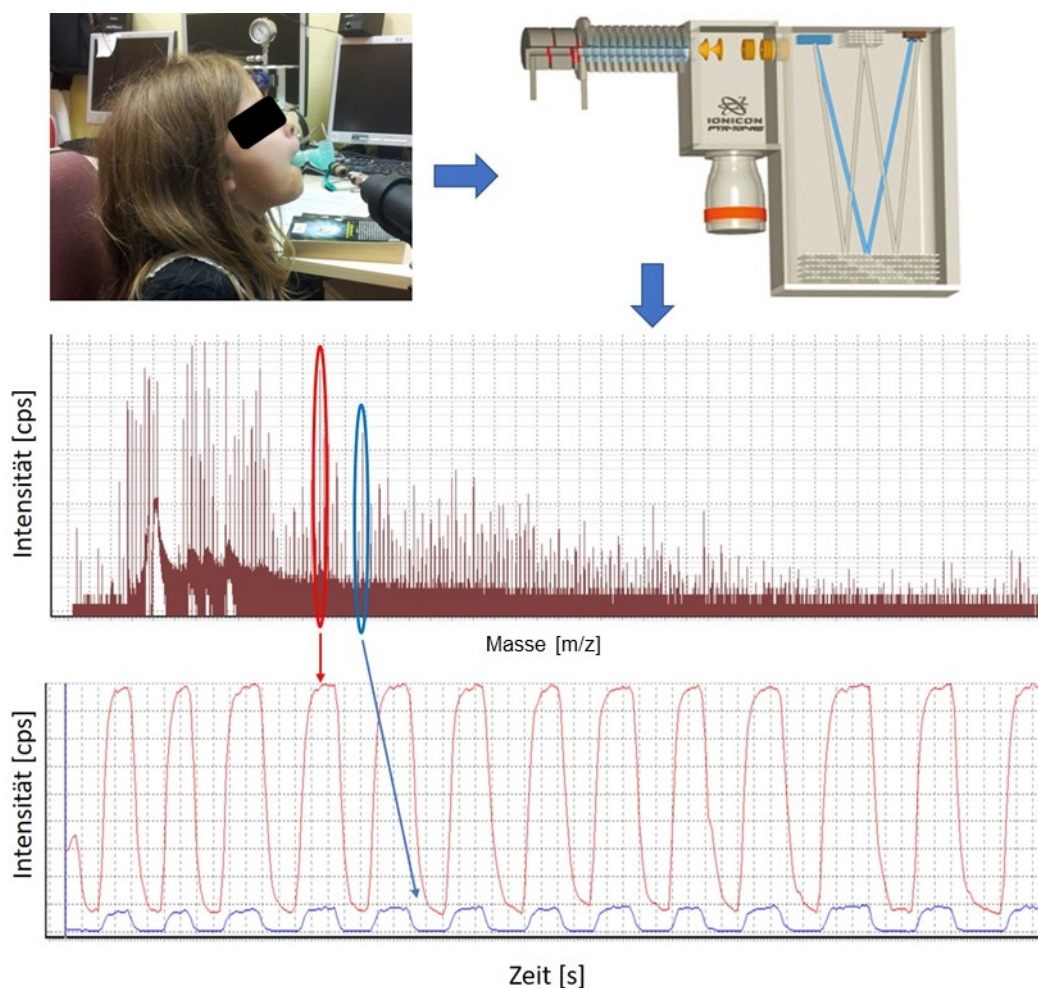


Abb. 4: Exemplarische Ergebnisse der Messung mittels Echtzeit-Massenspektrometrie an einem gesunden Probanden (Kontrolle 51 aus Tab.2). Die in der Atemluft vorhandenen VOCs werden im PTR ionisiert und alle 200 ms im ToF-Massenspektrometer als komplettes Massespektrum erfasst (mittlere Grafik). Über das protonierte Masse-zu-Ladungs-Verhältnis (m/z) können einzelne VOCs zugeordnet und im zeitlichen Verlauf der Messung abgebildet werden (untere Grafik). Mit der gewählten Zeitaufösung lassen sich so Expirations- und Inspirationsphasen identifizieren, zuordnen (z.B. alveolare Phase für exhalierter und inspiratorische Phase für inhalierter VOC-Konzentrationen) und anschließend auswerten.

Für kontinuierliche Messungen können die Zeitphasen beliebig modifiziert werden. Für eine Verlaufsmessung über 9 Stunden können z.B. die Mittelwerte einer alle 5 Minuten stattfindenden 60-sekündigen Messung verwendet werden (Abb. 5). Messzeiten und Mittelungsphasen lassen sich an die Fragestellung anpassen. Für potentielle schnelle Änderungen (im Sekundenbereich) können auch einzelne Atemzüge ausgewertet werden. Für langfristige Verlaufsbeobachtungen (z.B. über mehrere Tage) kann es ausreichen, alle 6 Stunden eine 2- bis 3-minütige Messphase auszuwerten. Abbildung 5 zeigt die Ergebnisse einer kontinuierlichen Pilotmessung an einem Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 und einem gesunden Probanden für die volatile Substanz Aceton.

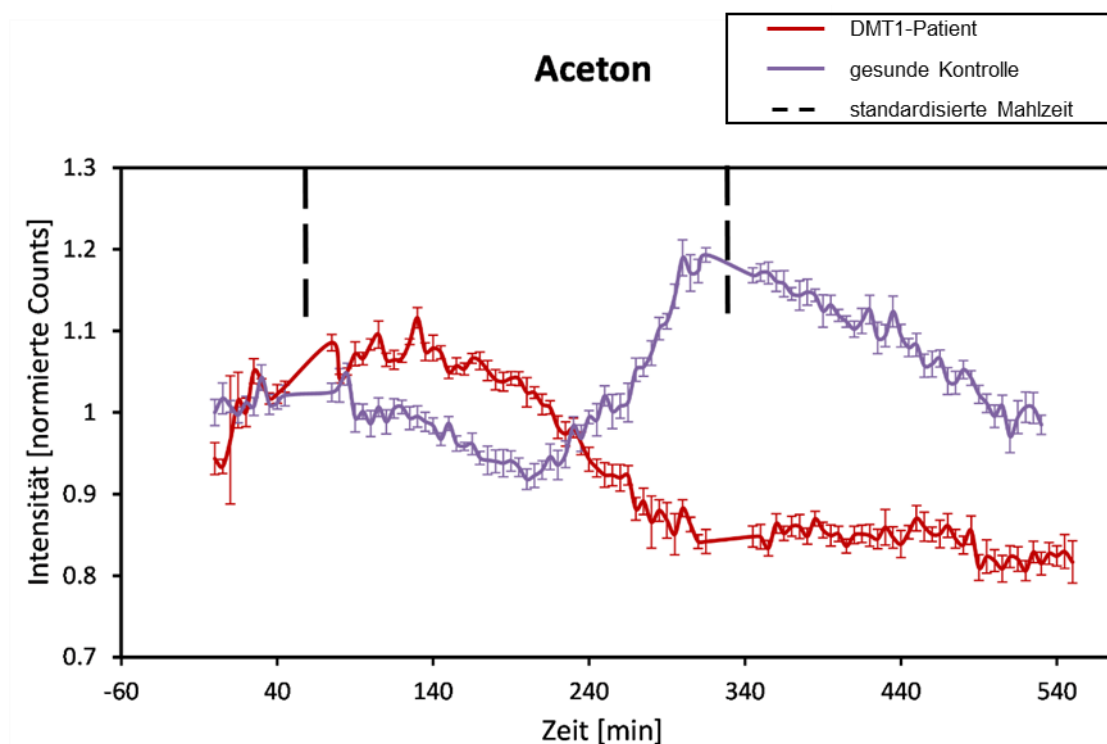


Abb. 5: Normierte Acetonkonzentrationen eines Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 und eines gesunden Probanden (Diabetiker 52 aus Tab.1 und Kontrolle 53 aus Tab.2) im zeitlichen Verlauf über 9 Stunden. Alle 5 Minuten wurden die Echtzeitmessungen für je eine Minute durchgeführt und über diesen Zeitraum gemittelt. Die Fehlerbalken zeigen die Variabilität der einzelnen Messwerte in diesem Zeitbereich an.

Die Variabilität der einzelnen gemittelten Messwerte bildet die Dynamik der Konzentrationsänderungen im gewählten Messbereich ab. Durch die hohe Zeitauflösung der Messung (200 ms) können Werte mit hoher Variabilität nochmals mit einer höheren Zeitauflösung (z.B. atemzug aufgelöst) untersucht werden.

3.2 Vergleich von VOC-Atemgasprofilen zwischen Diabetikern und Kontrollen

Im alveolaren Atemgas der Diabetiker und Kontrollen konnten über 300 VOCs detektiert werden. Darunter befanden sich auch einige Molekülfragmente oder nicht identifizierte Verbindungen, die hier als „Compound x“ bezeichnet werden. Nach Korrektur bezüglich potenzieller Kontaminationen (inspiratorische Konzentrationen > expiratorische Konzentrationen) und bezüglich der Erfassungs- (LOD) und Bestimmungsgrenzen (LOQ) wurden 44 volatile Substanzen detaillierter untersucht.

Der Tabelle 3 sind die Messdaten dieser 44 VOCs im alveolaren Atemgas der Probanden zu entnehmen.

Von den 44 in der Ausatemluft detektierten volatilen Substanzen weisen 33 einen statistisch signifikanten Unterschied im Vergleich zwischen Diabetikern und Kontrollen auf. In Abbildung 6 sind die Messdaten mithilfe einer normierten Heatmap farblich visualisiert worden.

Substanz	Masse (m/z)	Intensitäten in Counts		p
		Diabetes	Kontrolle	
Methanal	31,017	47,27 (35,74; 63,19)	155,68 (104,07; 240,65)	0.001
(CH5N)+	31,041	87,53 (59,46; 121,91)	112,58 (88,53; 158,61)	0.001
Methanol	33,033	1940,62 (1527,48; 2284,92)	1563,47 (1092,04; 2351,62)	0.025
Compound2	36,048	5,58 (2,16; 7,36)	1,97 (1,44; 2,59)	0.001
Compound3	38,036	192,38 (143,07; 219,91)	76,81 (65,64; 91,96)	0.001
(C3H5)+	41,038	781,99 (570,11; 995,63)	952,09 (698,65; 1300,03)	0.011
Compound4	41,041	1000,76 (732,73; 1293,70)	1200,78 (888,92; 1705,42)	0.021
Acetonitril	42,033	60,91 (52,10; 71,26)	60,69 (46,40; 89,38)	0.903
(C2H3O)+	43,017	617,10 (492,83; 841,75)	754,91 (419,16; 1245,15)	0.288
Methansäure	47,012	141,92 (122,58; 196,82)	165,40 (114,25; 307,92)	0.336
Ethanol	47,049	338,04 (221,71; 667,26)	173,54 (102,19; 246,88)	0.001
(Mono)Methylhydrazin	47,060	331,91 (211,39; 644,60)	146,37 (91,11; 226,98)	0.001
Compound5	48,056	11,01 (8,29; 22,26)	6,66 (4,73; 9,28)	0.001
Methanethiol	49,010	6,73 (3,39; 12,41)	5,25 (2,97; 7,31)	0.031
Compound7	51,048	46,67 (25,64; 62,64)	9,46 (6,14; 15,20)	0.001
Compound9	55,044	344,75 (242,64; 493,02)	84,19 (59,34; 112,42)	0.001
Cyclopropanon/Propenal	57,033	42,11 (28,85; 55,52)	48,74 (34,17; 73,95)	0.007
Aceton	59,049	6937,0 (6668,8; 7134,8)	6768,3 (6267,1; 7086,0)	0.052
Aceton-Iso	60,052	972,11 (728,04; 1391,99)	541,72 (437,94; 784,15)	0.001
Essigsäure	61,028	744,80 (485,64; 1017,88)	896,46 (390,11; 1685,37)	0.146
Isopropanol	61,064	126,59 (91,16; 194,62)	84,95 (51,98; 167,77)	0.002
Compound12	62,033	47,22 (39,43; 62,54)	45,10 (27,18; 75,92)	0.297
(HNO3)+	62,995	21,18 (16,89; 28,17)	20,63 (13,68; 31,57)	0.774
Dimethylsulfid	63,026	175,85 (126,95; 261,09)	104,34 (78,08; 170,04)	0.001
Isopren	69,069	996,16 (673,54; 1626,47)	428,82 (258,73; 647,63)	0.001
Compound15	70,078	61,63 (42,59; 111,89)	26,98 (18,39; 40,62)	0.001
Propansäure	75,044	191,70 (120,90; 297,74)	218,36 (124,18; 488,90)	0.122
Propandiol	77,059	9,15 (7,42; 11,41)	7,11 (5,67; 8,86)	0.001
Cyclohexadien	81,069	85,79 (61,25; 118,88)	85,02 (58,00; 154,80)	0.584
Pentanal	87,080	28,78 (21,16; 38,25)	13,27 (9,71; 21,19)	0.001
Ethylacetat	89,059	48,39 (32,39; 70,00)	47,58 (24,84; 72,30)	0.455
Pentanol/Methylbutanol	89,096	14,93 (10,54; 29,01)	9,09 (5,12; 18,11)	0.001
Phenol	95,049	107,81 (66,35; 152,18)	67,61 (47,98; 108,11)	0.002
Cycloheptadien	95,085	80,07 (57,88; 113,88)	38,42 (32,39; 68,44)	0.001
Cyclohexanon	99,080	72,59 (53,92; 110,36)	46,47 (26,83; 81,67)	0.001
Dimethylaminopropionitril	99,091	95,54 (68,52; 136,29)	51,44 (26,94; 91,12)	0.001
(C6H13N)+	99,104	89,35 (63,03; 132,43)	41,26 (19,43; 74,30)	0.001
Methylcyclohexan	99,116	60,98 (33,06; 89,72)	17,82 (8,80; 35,82)	0.001
Compound25	105,950	19,47 (16,30; 21,64)	28,69 (18,75; 85,59)	0.001
Methylbenzaldehyd	121,064	27,24 (13,06; 1,63)	20,94 (11,87; 1,53)	0.006
(C8H11N)+	121,088	40,31 (15,91; 1,99)	24,32 (14,71; 1,90)	0.001
Trimethylbenzol	121,101	34,81 (26,60; 45,56)	16,82 (9,73; 26,04)	0.001
Limonen	137,132	49,72 (32,27; 72,80)	37,93 (22,72; 70,17)	0.117
2-Ethylhexansäure	145,122	3,94 (2,39; 5,90)	2,05 (1,13; 3,29)	0.001

Tab. 3: VOC-Intensitäten in Counts [Median (25-Perzentil; 75-Perzentil)]; p bezieht sich auf den Vergleich zwischen Diabetikern und Kontrollen (Mann-Whitney).

Die Abbildung 6 zeigt eine Heatmap der alveolaren Atemgasprofile im Vergleich zwischen Diabetikern (links auf der X-Achse) und Kontrollen (rechts auf der X-Achse). Sie beinhaltet 44 VOCs der Expirationsluft der Probanden im Bereich von 31 bis 145 m/z (Y-Achse). Die Messdaten wurden auf die Maximalwerte normiert, um relative Unterschiede zwischen den beiden Probandengruppen abzubilden.

Die Heatmap visualisiert zahlreiche Unterschiede der VOC-Profile der alveolaren Atemphase im Vergleich zwischen Diabetikern und Kontrollen. Die Diabetiker expirierten in mehreren Bereichen höhere VOC-Konzentrationen als die Kontrollen (gelbe Markierungen). Anhand

dieser visualisierten Unterschiede wurden 10 markante VOCs der Alveolarphase genauer betrachtet und sind in Tabelle 4 und den Abbildungen 7 bis 11 dargestellt.

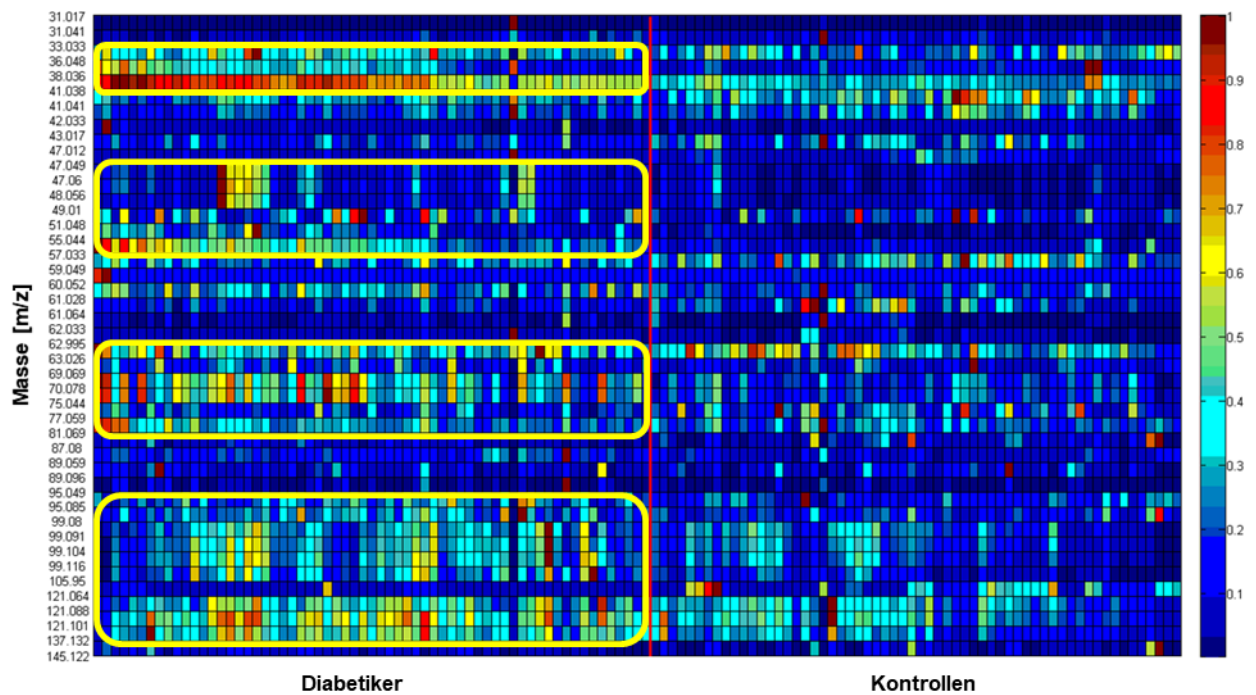


Abb. 6: VOC-Profil im Vergleich zwischen Diabetikern (links) und Kontrollen (rechts). Die Messdaten sind auf die Maximalwerte normiert.

3.3 Vergleich von VOC-Atemgaskonzentrationen zwischen Diabetikern und Kontrollen

Die Tabelle 4 und die Abbildungen 7 bis 11 zeigen die Messdaten der alveolaren Atemgaskonzentrationen von 10 VOCs, die sich in der Heatmap visuell unterschieden im Vergleich zwischen Diabetikern und Kontrollen. Hierbei handelt es sich um die volatilen Substanzen Aceton, Isopren, Pentanal, Ethanol, Isopropanol, Dimethylsulfid, Cyclohexanon, Trimethylbenzol, Limonen und Phenol.

Die im Atemgas detektierten Konzentrationen von Isopren, Pentanal, Ethanol, Isopropanol, Dimethylsulfid (DMS), Cyclohexanon, Trimethylbenzol (TMB) und Phenol zeigten einen statistisch signifikanten Unterschied im Vergleich zwischen Diabetikern und Kontrollen. Die Diabetiker expirierten signifikant höhere Konzentrationen dieser volatilen Substanzen im Vergleich zu den Kontrollen. Die Aceton- und Limonenkonzentrationen wiesen keinen signifikanten Unterschied im Vergleich der Probandengruppen auf.

Substanz	Konzentrationen in ppbV		p
	Diabetes mellitus (n = 64)	Kontrollen (n = 60)	
Aceton	238,0 (228,6; 244,9)	232,1 (214,6; 243,2)	= 0,052
Isopren	117,2 (78,7; 192,3)	49,6 (29,3; 75,7)	< 0,001
Pentanal	13,4 (9,4; 18,4)	5,3 (3,4; 9,4)	< 0,001
Ethanol	168,2 (107,5; 339,8)	82,4 (45,2; 120,6)	< 0,001
Isopropanol	1167,8 (840,9; 1795,4)	783,7 (479,5; 1547,7)	= 0,002
DMS	19,4 (13,8; 29,0)	11,3 (8,3; 18,7)	< 0,001
Cyclohexanon	3,6 (2,6; 5,4)	2,3 (1,3; 4,0)	< 0,001
TMB	0,9 (0,7; 1,1)	0,4 (0,2; 0,7)	< 0,001
Limonen	67,9 (44,1; 99,4)	51,8 (31,0; 95,8)	= 0,117
Phenol	3,6 (2,2; 5,2)	2,3 (1,6; 3,6)	= 0,002

Tab. 4: VOC- Konzentrationen in ppbV [Median (25-Perzentil; 75-Perzentil)]; p bezieht sich auf den Vergleich zwischen Diabetikern und Kontrollen (Mann-Whitney).

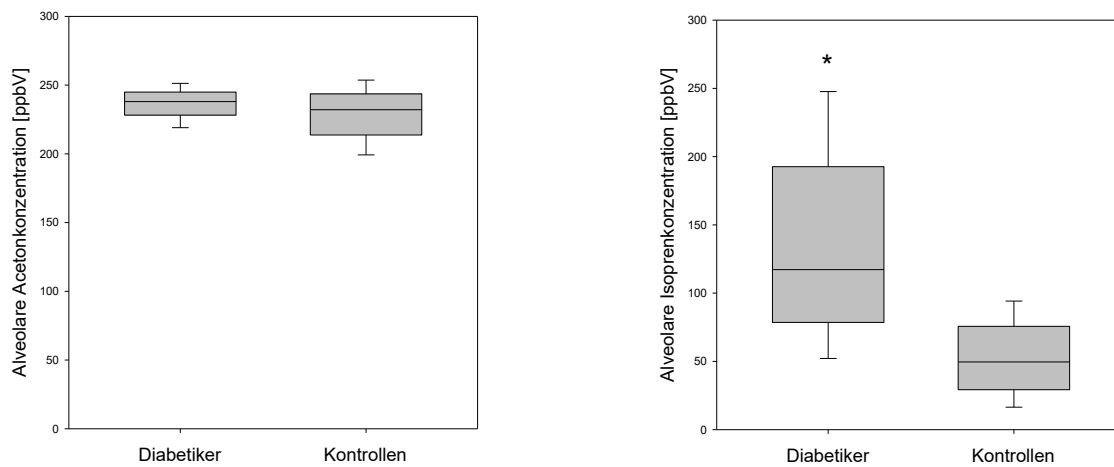


Abb. 7: Aceton- (links) und Isoprenkonzentrationen (rechts) im Atemgas in ppbV im Vergleich zwischen Diabetikern und Kontrollen; [Median (25- und 75-Perzentil)]; * signifikanter Unterschied (p < 0,05).

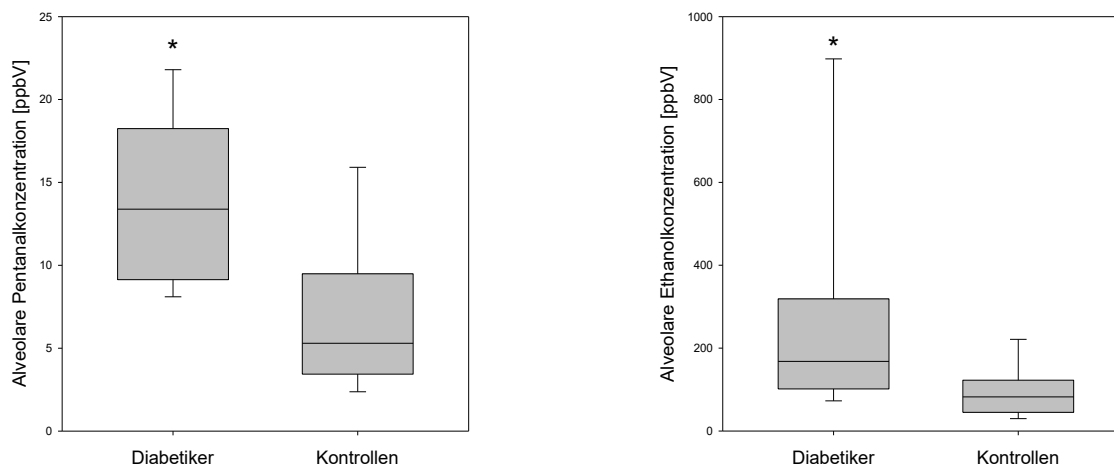


Abb. 8: Pentanal- (links) und Ethanolkonzentrationen (rechts) im Atemgas in ppbV im Vergleich zwischen Diabetikern und Kontrollen; [Median (25- und 75-Perzentil)]; * signifikanter Unterschied (p < 0,05).

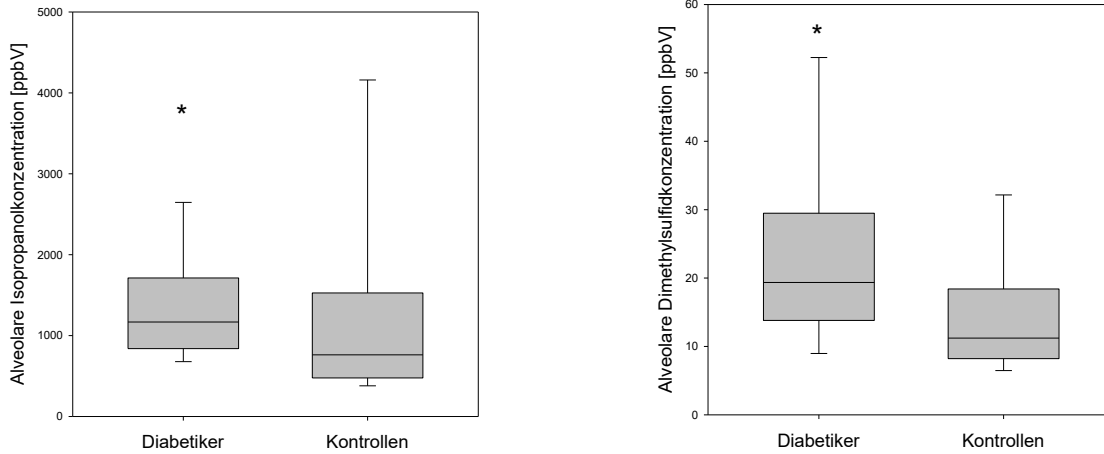


Abb. 9: Isopropanol- (links) und Dimethylsulfidkonzentrationen (rechts) im Atemgas in ppbV im Vergleich zwischen Diabetikern und Kontrollen; [Median (25- und 75-Perzentil)]; * signifikanter Unterschied ($p < 0,05$).

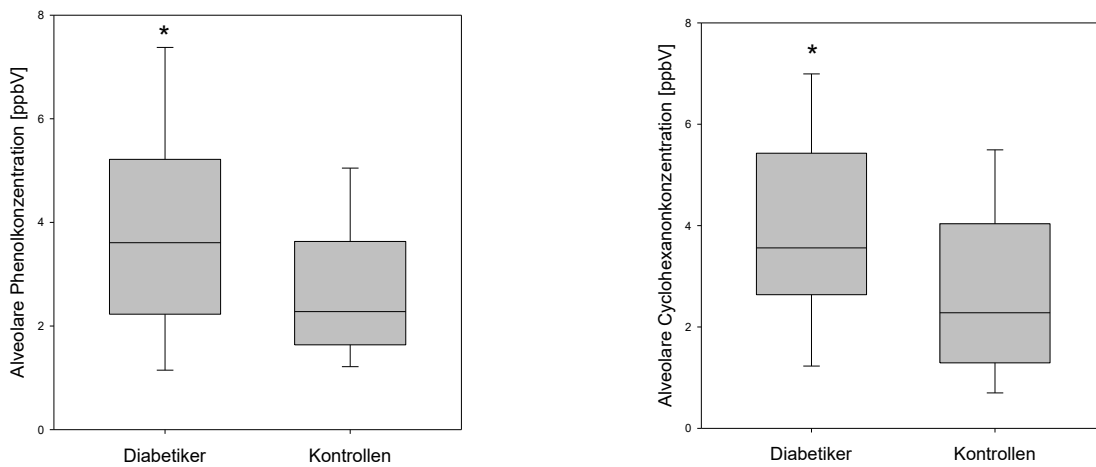


Abb. 10: Phenol- (links) und Cyclohexanonkonzentrationen (rechts) im Atemgas in ppbV im Vergleich zwischen Diabetikern und Kontrollen; [Median (25- und 75-Perzentil)]; * signifikanter Unterschied ($p < 0,05$).

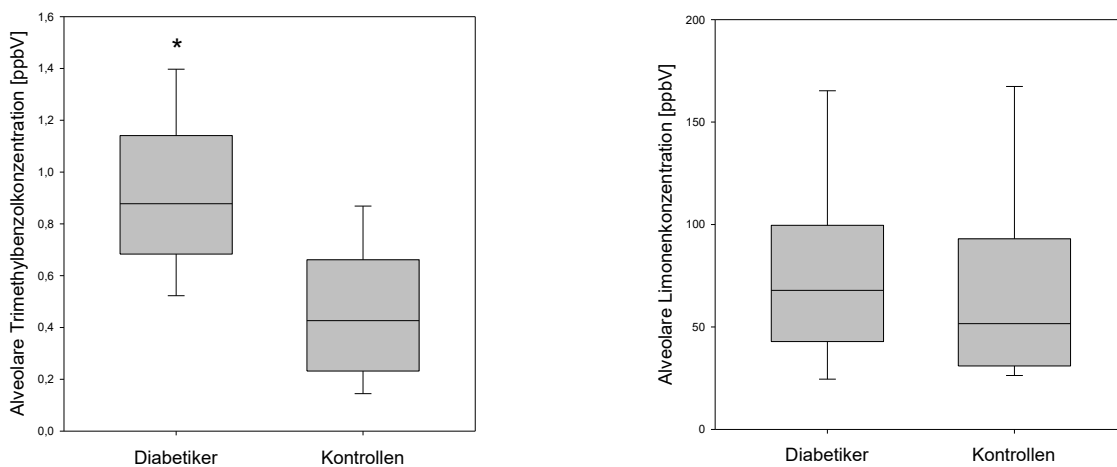


Abb. 11: Trimethylbenzol- (links) und Limonenkonzentrationen (rechts) im Atemgas in ppbV im Vergleich zwischen Diabetikern und Kontrollen; [Median (25- und 75-Perzentil)]; * signifikanter Unterschied ($p < 0,05$).

3.4 Zusammenhang zwischen VOC-Atemgaskonzentrationen und glykämischen Serumparametern bei Kindern und Jugendlichen mit Diabetes mellitus Typ 1

3.4.1 Zusammenhang zwischen VOC-Atemgaskonzentrationen und Blutglukose bei Kindern und Jugendlichen mit Diabetes mellitus Typ 1

In der Tabelle 5 sind die ermittelten Korrelationskoeffizienten r aufgeführt, um den Zusammenhang zwischen den VOC-Konzentrationen von Aceton, Isopren, Pentanal, Ethanol, Isopropanol, Dimethylsulfid, Cyclohexanon, Trimethylbenzol, Limonen und Phenol im Atemgas der Diabetiker und der Blutglukose zu beschreiben. Beispielhaft zeigt die Abbildung 12 die Regressionsanalyse von Aceton im Atemgas der Diabetiker und der simultan gemessenen Blutglukose, um deren sehr geringe Korrelation zu veranschaulichen.

Der Spearman Korrelationskoeffizient erstreckt sich von -0,249 bis 0,287 und beschreibt damit eine geringe Korrelation aller 10 VOC-Konzentrationen der Alveolarphase mit der simultan gemessenen Blutglukose der Diabetiker.

Substanz	r
Aceton	-0,056
Isopren	-0,249
Pentanal	0,287
Ethanol	0,183
Isopropanol	0,142
Dimethylsulfid	-0,128
Cyclohexanon	0,162
Trimethylbenzol	0,168
Limonen	0,195
Phenol	0,020

Tab. 5: Spearman Korrelationskoeffizient von Blutglukose und VOC-Konzentrationen im Atemgas der Diabetiker.

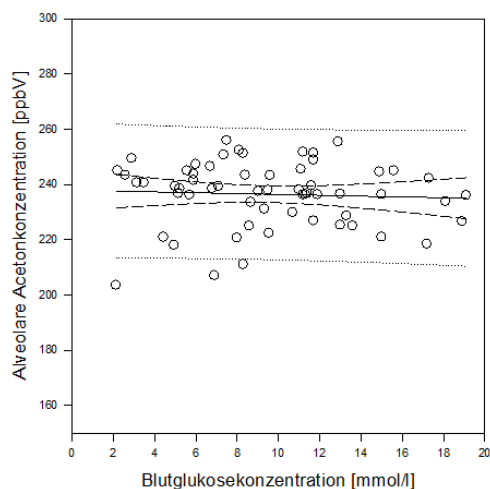


Abb. 12: Regressionsanalyse von Acetonkonzentration der Alveolarphase und Blutglukosekonzentration.

3.4.2 Zusammenhang zwischen VOC-Atemgaskonzentrationen und HbA1c bei Kindern und Jugendlichen mit Diabetes mellitus Typ 1

In der Tabelle 6 sind die ermittelten Korrelationskoeffizienten r aufgeführt, um den Zusammenhang zwischen den VOC-Konzentrationen von Aceton, Isopren, Pentanal, Ethanol, Isopropanol, Dimethylsulfid, Cyclohexanon, Trimethylbenzol, Limonen und Phenol im Atemgas der Diabetiker und dem HbA1c zu untersuchen. Beispielhaft zeigt die Abbildung 13 die Regressionsanalyse von Aceton im Atemgas der Diabetiker und dem simultan gemessenen HbA1c, um deren geringe Korrelation zu verdeutlichen.

Der Spearman Korrelationskoeffizient reicht von -0,352 bis 0,395 und somit stehen alle 10 VOC-Konzentrationen der alveolaren Atemphase in geringer Korrelation mit dem simultan gemessenen HbA1c der Diabetiker.

Substanz	r
Aceton	0,225
Isopren	-0,182
Pentanal	0,121
Ethanol	0,139
Isopropanol	0,395
Dimethylsulfid	-0,271
Cyclohexanon	-0,035
Trimethylbenzol	0,158
Limonen	0,046
Phenol	-0,352

Tab. 6: Spearman Korrelationskoeffizient von HbA1c und VOC-Konzentrationen im Atemgas der Diabetiker.

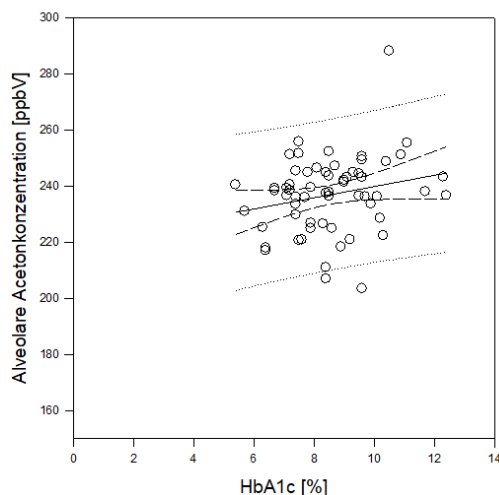


Abb. 13: Regressionsanalyse von Acetonkonzentration der Alveolarphase und HbA1c.

3.5 Zusammenhang zwischen VOC-Atemgaskonzentrationen und klinischen Parametern bei Kindern und Jugendlichen mit Diabetes mellitus Typ 1

3. 5.1 Zusammenhang zwischen VOC-Atemgaskonzentrationen und Alter

3.5.1.1 Zusammenhang zwischen VOC-Atemgaskonzentrationen und Alter bei Kindern und Jugendlichen mit Diabetes mellitus Typ 1

Die Tabelle 7 zeigt die ermittelten Korrelationskoeffizienten r , um den Zusammenhang zwischen den VOC-Konzentrationen von Aceton, Isopren, Pentanal, Ethanol, Isopropanol, Dimethylsulfid, Cyclohexanon, Trimethylbenzol, Limonen und Phenol im Atemgas und dem Alter der Diabetiker zu beschreiben.

Der Spearman Korrelationskoeffizient erstreckt sich von -0,268 bis 0,356 und beschreibt damit eine geringe Korrelation dieser 10 VOC-Konzentrationen der alveolaren Atemphase mit dem Alter der Diabetiker.

Substanz	r
Aceton	-0,114
Isopren	0,356
Pentanal	-0,048
Ethanol	-0,080
Isopropanol	0,075
Dimethylsulfid	0,092
Cyclohexanon	-0,268
Trimethylbenzol	-0,093
Limonen	-0,093
Phenol	-0,169

Tab. 7: Spearman Korrelationskoeffizient vom Alter und VOC-Konzentrationen im Atemgas der Diabetiker.

3.5.1.2 Zusammenhang zwischen Isoprenkonzentrationen im Atemgas und Alter bei Kindern und Jugendlichen mit Diabetes mellitus Typ 1 und gesunden Kontrollen

Die Abbildung 14 zeigt Regressionsanalysen von Isopren im Atemgas der Diabetiker, der Kontrollen sowie beider Probandengruppen und deren Alter. In der Tabelle 8 sind die ermittelten Korrelationskoeffizienten r aufgeführt, um den Zusammenhang zwischen den Isoprenkonzentrationen im Atemgas der Diabetiker, der Kontrollen sowie beider Probandengruppen und deren Alter zu untersuchen.

Die Isoprenkonzentrationen der Alveolarphase der Diabetiker weisen mit 0,356 lediglich eine geringe positive Korrelation zum Alter auf, wohingegen die Isoprenkonzentrationen im Atemgas der Kontrollen mit 0,601 eine mittlere positive Korrelation zum Alter aufzeigen. Bei

Betrachtung beider Probandengruppen zeigt sich mit 0,222 eine geringe Abhängigkeit der Isoprenkonzentrationen der alveolaren Atemphase vom Probandenalter.

Substanz	r
Isopren (Diabetiker)	0,356
Isopren (Kontrollen)	0,601
Isopren (Diabetiker und Kontrollen)	0,222

Tab. 8: Spearman Korrelationskoeffizient vom Alter und Isoprenkonzentrationen der Alveolarphase der Diabetiker, der Kontrollen sowie beider Probandengruppen.

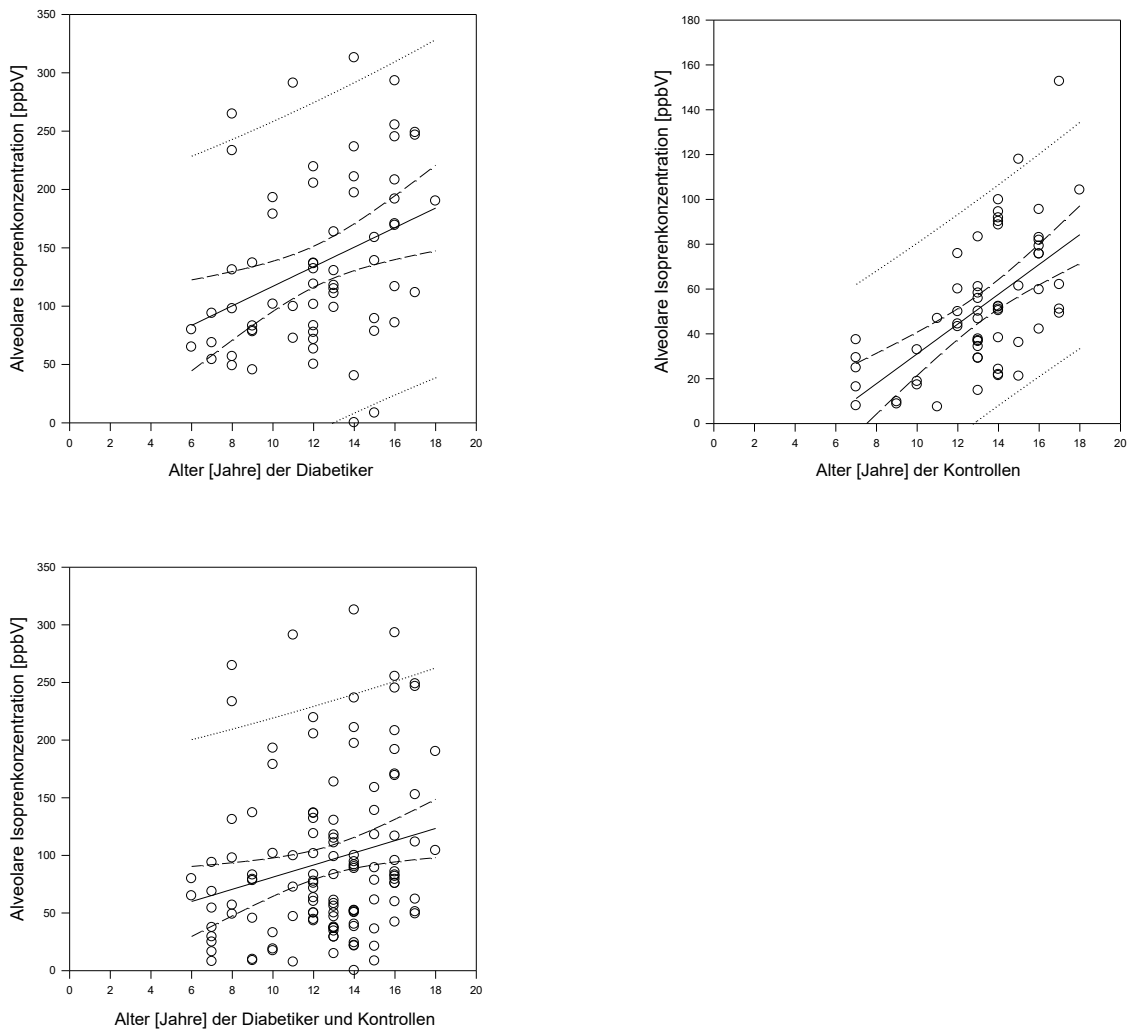


Abb. 14: Regressionsanalysen von Isoprenkonzentrationen der Alveolarphase der Diabetiker, der Kontrollen sowie beider Probandengruppen und deren Alter.

3.5.2 Zusammenhang zwischen VOC-Atemgaskonzentrationen und SDS BMI bei Kindern und Jugendlichen mit Diabetes mellitus Typ 1

In der Tabelle 9 sind die ermittelten Korrelationskoeffizienten r aufgeführt, um den Zusammenhang zwischen den VOC-Konzentrationen von Aceton, Isopren, Pentanal, Ethanol, Isopropanol, Dimethylsulfid, Cyclohexanon, Trimethylbenzol, Limonen und Phenol im Atemgas und dem SDS BMI der Diabetiker zu untersuchen.

Der Spearman Korrelationskoeffizient reicht von -0,171 bis 0,19 und somit stehen diese 10 VOC-Konzentrationen der alveolaren Atemphase in sehr geringer Korrelation mit dem SDS BMI der Diabetiker.

Substanz	r
Aceton	-0,102
Isopren	0,022
Pentanal	0,19
Ethanol	0,024
Isopropanol	-0,053
Dimethylsulfid	0,084
Cyclohexanon	0,047
Trimethylbenzol	0,056
Limonen	-0,072
Phenol	-0,171

Tab. 9: Spearman Korrelationskoeffizient von SDS BMI und VOC-Konzentrationen im Atemgas der Diabetiker.

3.5.3 Zusammenhang zwischen VOC-Atemgaskonzentrationen und Erkrankungsdauer der Kinder und Jugendlichen mit Diabetes mellitus Typ 1

Die Tabelle 10 zeigt die ermittelten Korrelationskoeffizienten r , um den Zusammenhang zwischen den VOC-Konzentrationen von Aceton, Isopren, Pentanal, Ethanol, Isopropanol, Dimethylsulfid, Cyclohexanon, Trimethylbenzol, Limonen und Phenol im Atemgas und der Erkrankungsdauer der Diabetiker zu beschreiben.

Der Spearman Korrelationskoeffizient erstreckt sich von -0,182 bis 0,426 und beschreibt damit eine geringe Korrelation dieser 10 VOC-Konzentrationen der Alveolarphase mit der Erkrankungsdauer der Diabetiker.

Substanz	r
Aceton	0,051
Isopren	0,066
Pentanal	0,079
Ethanol	0,219
Isopropanol	0,259
Dimethylsulfid	-0,024
Cyclohexanon	0,011
Trimethylbenzol	0,426
Limonen	0,001
Phenol	-0,182

Tab. 10: Spearman Korrelationskoeffizient von Erkrankungsdauer und VOC-Konzentrationen im Atemgas der Diabetiker.

3.5.4 Vergleich der VOC-Atemgaskonzentrationen zwischen männlichen und weiblichen Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1

Der Tabelle 11 sind die alveolaren Atemgaskonzentrationen von Aceton, Isopren, Pentanal, Ethanol, Isopropanol, Dimethylsulfid, Cyclohexanon, Trimethylbenzol, Limonen und Phenol im Vergleich zwischen männlichen und weiblichen Diabetikern zu entnehmen.

Die im Atemgas detektierten Konzentrationen der volatilen Substanzen Aceton, Isopren, Pentanal, Ethanol, Isopropanol, Dimethylsulfid, Cyclohexanon, Trimethylbenzol, Limonen und Phenol weisen keinen statistisch signifikanten Unterschied im Gruppenvergleich zwischen männlichen und weiblichen Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 auf.

Substanz	Konzentrationen in ppbV		p
	männlich (n = 26)	weiblich (n = 30)	
Aceton	236,4 (225,6; 243,0)	243,2 (236,5; 245,7)	= 0,069
Isopren	93,8 (69,3; 187,3)	131,0 (101,6; 196,7)	= 0,076
Pentanal	10,9 (9,3; 17,0)	14,9 (10,9; 19,5)	= 0,221
Ethanol	146,9 (97,2; 260,4)	191,2 (124,6; 750,1)	= 0,059
Isopropanol	1007,9 (822,0; 1665,7)	1393,6 (994,8; 1909,7)	= 0,187
Dimethylsulfid	16,8 (13,6; 24,4)	20,4 (16,6; 40,0)	= 0,169
Cyclohexanon	3,9 (2,7)	4,2 (1,7)	= 0,550
Trimethylbenzol	0,9 (0,4)	1,0 (0,4)	= 0,413
Limonen	65,3 (35,4; 98,9)	76,2 (56,3; 126,8)	= 0,107
Phenol	4,3 (2,6)	3,6 (2,3)	= 0,284

Tab. 11: VOC-Konzentrationen in ppbV [Median (25-Perzentil; 75-Perzentil)] bzw. [Mittelwert (Standardabweichung)]; p bezieht sich auf den Vergleich zwischen männlichen und weiblichen Diabetikern (Mann-Whitney- bzw. t-Test).

3.5.5 Vergleich der VOC-Atemgaskonzentrationen zwischen Diabetikern mit Insulinspritze und Diabetikern mit Insulinpumpe

Der Tabelle 12 sind die alveolaren Atemgaskonzentrationen von Aceton, Isopren, Pentanal, Ethanol, Isopropanol, Dimethylsulfid, Cyclohexanon, Trimethylbenzol, Limonen und Phenol im Vergleich zwischen Diabetikern mit Insulinspritze und Diabetikern mit Insulinpumpe zu entnehmen.

Die im Atemgas detektierten Konzentrationen von Aceton, Isopren, Pentanal, Ethanol, Isopropanol, Dimethylsulfid, Cyclohexanon, Trimethylbenzol, Limonen und Phenol weisen keinen statistisch signifikanten Unterschied im Vergleich zwischen Diabetikern mit Insulinspritze und Diabetikern mit Insulinpumpe auf.

Substanz	Konzentrationen in ppbV		p
	Spritze (n = 26)	Pumpe (n = 30)	
Aceton	238,0 (227,4; 248,0)	239,3 (229,9; 244,9)	= 0,885
Isopren	112,8 (75,4; 185,3)	118,8 (78,4; 192,2)	= 0,643
Pentanal	12,7 (8,8; 20,5)	13,6 (10,6; 17,5)	= 0,982
Ethanol	166,0 (88,8; 212,3)	212,4 (118,8; 483,7)	= 0,055
Isopropanol	1176,4 (853,6; 1748,1)	1291,2 (764,4; 2044,5)	= 0,861
Dimethylsulfid	19,6 (12,7; 30,1)	17,5 (14,1; 24,9)	= 0,767
Cyclohexanon	4,0 (2,8)	4,2 (2,0)	= 0,782
Trimethylbenzol	0,8 (0,4)	1,1 (0,4)	= 0,022
Limonen	59,2 (35,2; 79,2)	75,8 (53,0; 140,6)	= 0,026
Phenol	4,2 (2,6)	3,4 (1,9)	= 0,160

Tab. 12: VOC-Konzentrationen in ppbV [Median (25-Perzentil; 75-Perzentil)] bzw. [Mittelwert (Standardabweichung)]; p bezieht sich auf den Vergleich zwischen Diabetikern mit Insulinspritze und Diabetikern mit Insulinpumpe (Mann-Whitney- bzw. t-Test).

4. Diskussion

Die Messung des Atemgasmataboloms bei Kindern und Jugendlichen mittels Echtzeit-Massenspektrometrie lässt sich im klinischen Bereich gut durchführen und liefert interessante Ergebnisse für die Charakterisierung körpereigener Stoffwechselprozesse⁵. Die Atemgasprobenahme stellt keine zusätzliche Belastung für den pädiatrischen Patienten dar und das Probenmaterial steht praktisch unbegrenzt zur Verfügung. Da die Zeit zwischen zellulärer Freisetzung und Abatmung der VOCs kurz ist und die Messungen beliebig oft wiederholbar sind, bietet sich die Methode besonders für das Monitoring von Stoffwechselprozessen oder als Therapie- bzw. Verlaufskontrolle an.

Um den Einfluss möglicher Störgrößen auf die Analyse der Atemluft zu minimieren, ist eine Standardisierung der Probenahme unter Einbeziehung physiologischer Faktoren wünschenswert. Bereits eine Veränderung der Körperhaltung oder kurzes Anhalten des Atems kann die Konzentration bestimmter Verbindungen verändern⁵⁵. Für die Messung an pädiatrischen Patienten müssen einige spezielle Besonderheiten in Betracht gezogen werden. So können insbesondere physiologische Effekte, wie z.B. eine (anspannungsbedingte) Hyperventilation oder zusätzliche körperliche Aktivität die Messungen verfälschen. Einfache Maßnahmen wie eine ruhige und entspannte Atmosphäre und das parallele Lesen von Büchern oder Comics sind geeignet, diese Faktoren zu minimieren.

Die im Vergleich zu Erwachsenen relativ hohen Atemfrequenzen können durch Anpassung der Zeitauflösung des Massenspektrometers berücksichtigt werden. Durch das Ausschneiden und Übereinanderlegen der alveolaren Profile im Rahmen der Messzeit (typischerweise 1 bis 3 Minuten) lassen sich die durch höhere Zeitauflösung bedingten Empfindlichkeitseinbußen vermeiden und Nachweisgrenzen bis in den Ultraspurenbereich (pptV) trotz Echtzeitmessung realisieren.

Kinder und Jugendliche mit Diabetes mellitus Typ 1 wiesen charakteristische VOC-Profile auf, welche sich von denen gesunder Kontrollen gleicher Alters- und Geschlechterverteilung unterschieden, wodurch auf pathologische Prozesse, wie z.B. oxidativen Stress, im Körper der Patienten geschlossen werden kann.

In dieser Studie fanden sich, im Gegensatz zu Nelson *et al.*⁵⁶ und Guo *et al.*⁵⁷, im Gruppenvergleich zwischen Diabetikern und gesunden Probanden keine signifikant unterschiedlichen Acetonkonzentrationen in der Alveolarphase. Erklärbar ist dieses Phänomen durch das von den Diabetikern subkutan applizierte Insulin, welches über eine biochemische Wirkung verfügt, die eine augenblickliche Hemmung der Lipolyse bewirkt und folglich die Verfügbarkeit freier Fettsäuren zur Oxidation für die Ketonkörpersynthese

unterbindet^{4,58}. In Anbetracht dessen lässt sich schlussfolgern, dass Insulin-behandelte Diabetiker keineswegs vermehrt Aceton expirieren, da die Lipolyseinhibition des Insulins die Acetonsynthese unterdrückt.

Lediglich bei schlecht eingestelltem Insulin-abhängigen Diabetes mellitus neigen die Patienten zu Ketoazidosen und weisen hohe Ketonkörperkonzentrationen im Blut und Urin⁵⁹ sowie erhöhte Acetonkonzentrationen im Atemgasgemisch auf, die den markanten Foetor ex ore hervorrufen. Somit können bei hyperglykämisch entgleister Stoffwechsellage erhöhte expiratorische Acetonkonzentrationen beim Typ-1-Diabetiker detektiert werden¹, was in dieser Studie jedoch nicht der Fall war.

Ebenfalls wiesen Deng *et al.*, anders als in der vorliegenden Arbeit, deutliche Unterschiede der expirierten Acetonkonzentrationen zwischen einem Diabetiker- und einem Kontrollkollektiv nach⁶⁰. Jedoch rekrutierten Deng *et al.* Insulin-unabhängige Typ-2-Diabetiker, die auch mit oralen Antidiabetikern therapierbar sind³¹ und somit nicht, wie der in dieser Studie rekrutierte Insulin-abhängige Typ-1-Diabetiker, der Lipolyseinhibition und der Unterdrückung der Acetonsynthese unterlagen.

Somit ist ersichtlich, dass verschiedene Faktoren wie der Diabetestyp, die antidiabetische Therapie sowie die akute Stoffwechsellage die Expiration von Aceton bei Patienten mit Diabetes mellitus beeinflussen und deshalb bei der Interpretation der Messwerte berücksichtigt werden müssen.

Weiterhin fällt auf, dass die Schwankungsbreite der Acetonkonzentrationen im Atemgas im Gruppenvergleich unterschiedlich stark ausgeprägt ist. Die Diabetiker weisen eine wesentlich geringere Varianz der expiratorischen Acetonkonzentrationen auf als die gesunden Probanden. Erklärbar ist dieses Phänomen wieder durch den biochemischen Effekt der Lipolysehemmung durch das Insulin⁴, das alle rekrutierten Diabetiker als Therapie erhalten, woraus die geringe Messwertstreuung des Acetongehalts in der Expirationsluft resultiert. Bei den gesunden Kindern hingegen lagen zum Messzeitpunkt individuell unterschiedliche physiologische Stoffwechsellagen vor, die durch die größere Varianz des Acetongehalts der Ausatemluft abgebildet werden.

Anders als in den Untersuchungen von Nelson *et al.*⁵⁶ ließen sich in der vorliegenden Studie signifikant höhere expiratorische Isoprenkonzentrationen bei Kindern mit Diabetes mellitus im Vergleich zu gesunden Kindern detektieren. Eine mögliche Erklärung hierfür liefert der Mevalonat-Stoffwechselweg der Cholesterinsynthese, während welchem Isopren generiert wird⁴¹. Hierbei ist die HMG-CoA Reduktase das limitierende Enzym, das wiederum durch die AMP-aktivierte Proteinkinase (AMPK) gehemmt wird. Dieses Enzym moduliert ebenfalls die Insulinsekretion der β -Zellen des Pankreas, weshalb eine Assoziation zwischen der expirierten Isoprenkonzentration und dem Diabetes mellitus plausibel erscheint und somit

auch unterschiedliche Isoprenkonzentrationen der Atemluft zwischen Diabetikern und Gesunden erklärbar sind. Darüber hinaus spielt die AMPK eine Schlüsselrolle in der Regulation des Kohlenhydrat- und Fettsäurestoffwechsels in der Leber. Es dient als ein metabolischer Schalter bei Veränderungen des zellulären Energievorrates⁶¹.

Foster *et al.* detektierten zudem erhöhte Isoprenkonzentrationen im Atemgas nach Ozonexposition. Diese führten sie auf einen Anstieg reaktiver Sauerstoffspezies und dadurch verursachte Schäden cholesterinhaltiger Zellmembranen zurück, da diese Reparaturmechanismen und damit auch eine gesteigerte Cholesterinsynthese und deren Metaboliten, wie dem Isopren, nach sich ziehen⁶². Somit wurde das Isopren in der Studie von Foster *et al.* als ein Atemgasmarker für Gewebsschäden durch oxidativen Stress herausgestellt.

Die Tatsache, dass beim Diabetes mellitus ebenfalls Gewebsverletzungen durch freie Radikale entstehen^{33,34,63}, liefert eine mögliche Erklärung für die in der vorliegenden Arbeit detektierten signifikant höheren Isoprenkonzentrationen in der Expirationsluft der Probanden mit Diabetes mellitus im Vergleich zu den gesunden Probanden.

Außerdem beschrieben Boemi *et al.* bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 eine erniedrigte Serumkonzentration der Paraoxonase (PON), einem Enzym, das eine antioxidative Funktion ausübt und LDL-Cholesterin (Low density lipoprotein) vor oxidativer Modifikation bewahrt. Verglichen mit gesunden Probanden wiesen Boemi *et al.* ein vermindertes LDL-Cholesterin, aber ein erhöhtes LDL/PON-Verhältnis bei Diabetikern nach, was mit einem verringerten Schutz des LDL-Cholesterins vor Oxidation aufgrund einer erniedrigten Serumparaoxonase vereinbar ist⁶⁴.

In Anbetracht dessen lässt sich vermuten, dass pathologische Prozesse am LDL-Cholesterin bei Diabetikern auch Auswirkungen auf die Cholesterinsynthese haben, wodurch eine Veränderung in der Isoprengenerierung und -abatmung denkbar ist.

Weiterhin berichteten Krause *et al.* von einer diabetischen Myopathie beim Typ-1-Diabetes. Durch hormonelle Veränderungen (Insulinmangel, Cortisolanstieg) und Hyperglykämien kommt es zu Modifikationen am Skelettmuskel, die mit einer Muskelatrophie, einer gestörten muskulären Regeneration und einer verringerten Muskelkraft einhergehen⁶⁵. Da die Muskulatur als ein Produktionsort für Isopren beschrieben wurde⁴⁴, bietet die Tatsache, dass der Diabetes mellitus Typ 1 Skelettmuskelveränderungen verursacht⁶⁵, eine weitere mögliche Erklärung für den in der vorliegenden Studie festgestellten signifikanten Unterschied in der Isoprenexpiration zwischen Diabetikern und Kontrollen.

Die hier detektierten signifikant höheren Isoprenkonzentrationen im Atem der Diabetiker können somit aus einer veränderten Cholesterinsynthese, einer vermehrten Zellmembranschädigung und konsekutiven Gewebsschäden sowie diabetischen Myopathien resultieren^{28,29,39,54-57}. Anhand der erhobenen Daten dieser Studie ist es momentan nicht

möglich zu beurteilen, ob die vermehrte Isoprenabatmung der Diabetiker konkret auf einen dieser pathologischen Vorgänge oder auf eine Co-Prävalenz mehrerer Pathologien zurückzuführen ist.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit erbrachten im Gruppenvergleich zwischen Diabetikern und Kontrollen einen statistisch signifikanten Konzentrationsunterschied von Pentanal im Atemgas. Die Diabetiker expirierten signifikant höhere Pentanalkonzentrationen als die Kontrollen, was in Korrespondenz mit den Ergebnissen von Phillips *et al.* steht, die ebenfalls eine vermehrte Abatmung von Biomarkern für oxidativen Stress bei Diabetes mellitus beschrieben⁶³.

Ethan, Pentan und Aldehyde wie zum Beispiel Pentanal, welche Atemgasmarker für oxidativen Stress darstellen, entstehen während der Lipidperoxidation von Omega-3- und Omega-6-Fettsäuren in Zellmembranen, wodurch Gewebeschäden verursacht werden^{1,66}. Eine gesteigerte Generierung reaktiver Sauerstoffspezies und verminderte antioxidative Schutzmechanismen wurden beim Diabetes mellitus bereits in mehreren Studien postuliert. Der dadurch initiierte oxidative Stress ist ein bedeutender Trigger für die Manifestation und das Fortschreiten des Diabetes mellitus sowie dessen Komplikationen^{33,34,63}.

Fuchs *et al.* wiesen erhöhte Pentanalkonzentrationen im Atemgas von Patienten mit Lungenkarzinom nach. Diese sind aufgrund ihrer Tumorerkrankung vermehrt oxidativem Stress ausgesetzt, der sowohl durch die erhöhte oxidative Aktivität im Tumorgewebe selbst als auch durch die lokale inflammatorische Reaktion des Organismus auf den Tumor bedingt ist⁶⁷.

Oxidativer Stress kann durch zahlreiche pathologische Prozesse im Organismus bedingt sein³². Jedoch ist für die signifikant höhere Exhalation eines Biomarkers für oxidativen Stress in einem großen Kollektiv von Typ-1-Diabetikern, deren Stoffwechselerkrankung als ursächlich anzunehmen. Mithilfe der Pentanalkonzentration in der expirierten Atemluft lässt sich objektivieren, dass Patienten mit Diabetes mellitus stärkerem oxidativen Stress ausgesetzt sind als gesunde Probanden.

Verschiedene Autoren assoziierten den oxidativen Stress mit der Manifestation und dem Fortschreiten des Diabetes mellitus durch Apoptose pankreatischer β -Zellen beim Typ-1-Diabetes und Insulinresistenz beim Typ-2-Diabetes^{63,68}. Weiterhin besteht eine Verbindung zwischen der Imbalance oxidativer und antioxidativer Mechanismen und der Entstehung vaskulärer sowie neurologischer Komplikationen des Diabetes mellitus. Nachweislich ist das Gefäßendothel ein bedeutender Entstehungsort reaktiver Sauerstoffspezies, die zu Zell- und Gewebsschäden führen^{34,66}. Somit bergen die atemgasanalytischen Messungen von Pentanal das Potenzial für eine nicht invasive Methode, um oxidativen Stress bei Diabetes mellitus

nachzuweisen und zu überwachen, woraus sich ein mögliches Risiko für diabetische Komplikationen abschätzen ließe.

In der DCCT/EDIC Studie konnte bei Typ-1-Diabetikern mit einer intensivierten Insulintherapie eine geringere Inzidenz vaskulärer Folgeerkrankungen nachgewiesen werden als bei denen mit einer konventionellen Insulintherapie²¹. In der Annahme, dass der oxidative Stress zur Entstehung dieser diabetischen Komplikationen beiträgt, stellen die atemgasanalytischen Untersuchungen von Pentanal als Marker der Imbalance zwischen oxidativen und antioxidativen Prozessen eine Methode dar, um verschiedene Therapieregime bezüglich ihrer Effektivität, oxidativen Stress abzuwenden, zu vergleichen.

Neben der herkömmlichen Therapie mit Insulin vorrangig bei Typ-1-Diabetes und oralen Antidiabetika bei Typ-2-Diabetes geht aus einigen Publikationen ein neuer Therapieansatz zur Behandlung des Diabetes mellitus und seinen Komplikationen hervor. Durch die Substitution von Antioxidantien lässt sich der oxidative Stress reduzieren^{34,68} und möglicherweise die Entstehung und das Fortschreiten von Komplikationen verzögern oder verhindern. Die atemgasanalytische Detektion von Pentanal als Marker für oxidativen Stress könnte eine Methode darstellen, um die Effizienz dieser neuen Therapieoption zu überprüfen.

Im Rahmen der atemgasanalytischen Untersuchungen der vorliegenden Studie ließen sich statistisch signifikant höhere Ethanol- und Isopropanolkonzentrationen im Atemgas der Diabetiker als im Atemgas der Kontrollen nachweisen.

Diese Alkohole sind im medizinisch-klinischen Umfeld klassische Vertreter der exogenen VOCs, da sie ein Bestandteil von Desinfektionsmitteln sind und deshalb häufig in hohen Konzentrationen in der Umgebungsluft auftreten⁴⁸. Nach Inhalation aus der Raumluft und Verteilung im Körper sind sie in der alveolaren Atemphase oft in hohen Konzentrationen nachweisbar. Durch ihre Stoffwechselerkrankung haben die Diabetiker häufiger Kontakt mit Desinfektionsmitteln beispielweise bei Klinikaufenthalten während der Diabetessprechstunde in der UKJ Rostock und durch Desinfektionsmaßnahmen im Rahmen der Insulinapplikation. Die vermehrte Exposition gegenüber diesen volatilen Substanzen liefert eine Erklärung für den erhöhten Ethanol- sowie Isopropanolgehalt in der Ausatemluft der Diabetiker im Vergleich zu den gesunden Probanden.

Neben seiner exogenen Herkunft wurde für Isopropanol auch ein endogener Ursprung beschrieben. Die volatile Verbindung ist ein Metabolit der Acetonsynthese und wird vermehrt in ketoazidotischer Stoffwechsellage bei Diabetes mellitus durch die Hydrierung von Aceton generiert. Die β -Oxidation ungesättigter Fettsäuren führt zu einem veränderten Redoxstatus hepatischer Zellen mit einem erhöhten $\text{NADH}+\text{H}^+/\text{NAD}^+$ -Verhältnis. Dadurch bedingt wird Aceton vermehrt zu Isopropanol reduziert und NAD^+ generiert, was zur Aufrechterhaltung der metabolischen Stabilität beiträgt³⁵.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie weisen jedoch keine Korrelation von Isopropanol mit Aceton auf, woraus sich schlussfolgern lässt, dass die Isopropanolkonzentrationen der alveolaren Atemphase der Probanden nicht ausschließlich endogenen Ursprung sein können, sondern dass die Substanz zusätzlich aus der Umgebungsluft inhaliert wurde.

Die in der vorliegenden Studie erhobenen Daten erbrachten signifikant höhere Phenol- und Dimethylsulfidkonzentrationen in der Ausatemluft der Diabetiker im Vergleich zu den Kontrollen.

Verschiedene Publikationen beschreiben eine Produktion von Phenol und schwefelhaltigen Verbindungen wie Dimethylsulfid durch Bakterien der Mundflora^{69,70}. Diverse Umstände wie Stress und Angst können Veränderungen der oralen Mikrobiota induzieren und zu einer gesteigerten oralen VOC-Produktion führen⁷¹. Pinducciu *et al.* schilderten eine Verminderung des antibakteriellen Enzyms Lysozym im Speichel und gewisse Veränderungen der oralen mikrobiellen Flora bei Diabetes mellitus Typ 1, insbesondere bei schlecht kontrollierter Stoffwechsellage⁷², wodurch auch Konzentrationsänderungen der von diesen Mikroorganismen synthetisierten volatilen Verbindungen denkbar sind.

In Anbetracht dessen lässt sich vermuten, dass die vermehrte Abatmung von Phenol und Dimethylsulfid in kausalem Zusammenhang mit einer veränderten Mundflora der Diabetiker steht.

Erhöhte Konzentrationen von Dimethylsulfid in der Exhalationsluft werden bereits seit längerer Zeit mit einer gestörter Leberfunktion assoziiert und sind für den charakteristischen Geruch des Atems von Patienten mit Leberzirrhose verantwortlich⁷³. Alle im Rahmen der vorliegenden Studie rekrutierten Probanden hatten jedoch keine Nebendiagnosen, sodass erhöhte Dimethylsulfidkonzentrationen in der Ausatemluft der Diabetiker nicht durch eine gestörte Leberfunktion verursacht waren.

Phenol gehört zu den aromatischen Kohlenwasserstoffen und wird auch als Ausgangsstoff zur Kunststoffherstellung verwendet. Außerdem ist es in verschiedenen Nahrungsmitteln wie in Obst⁷⁴ und geräuchertem Fleisch⁷⁵ enthalten, wodurch der Substanz neben ihrer Synthese durch die Mundflora⁶⁹ auch ein exogener Ursprung zugeschrieben werden kann.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit wiesen signifikant höhere Trimethylbenzolkonzentrationen in der alveolaren Atemluft der Diabetiker im Vergleich zu den Kontrollen auf.

Dieser aromatische Kohlenwasserstoff kommt natürlich im Erdöl vor und ist im Benzin enthalten. Außerdem wird es als Lösungsmittel beispielsweise in Oberflächenbeschichtungen, Klebstoffen und Kautschuk verwendet⁷⁶. Expositionsanalysen am Arbeitsplatz zeigten erhöhte TMB-Konzentrationen in der alveolaren Atemphase beim exponierten Personal nach einer

Fußbodenneuverlegung in einer Abteilung⁷⁷ und nach Verwendung von Scheibenreinigern in einer Druckerfirma⁷⁶.

Die vermehrte TMB-Abatmung der Diabetiker ist möglicherweise auf eine vorausgegangene Exposition dieser Probandengruppe gegenüber exogenen Substanzen im klinischen Umfeld zurückzuführen. Anders als die Probanden der Kontrollgruppe nahmen die Diabetiker vor den Atemgasmessungen an der ambulanten Sprechstunde der Diabetologie der UKJ Rostock teil. Weiterhin wurde TMB in einigen Studien als ein Atemgasmarker für Lungenkrebs⁷⁸ sowie als Indikator der Alveolarphase für eine aktive Tuberkulose⁷⁹ diskutiert. Jedoch waren bei keinem der rekrutierten Probanden Nebendiagnosen bekannt, sodass diese Erkrankungen nicht ursächlich für die erhöhte TMB-Exhalation waren.

Im Rahmen der atemgasanalytischen Untersuchungen der vorliegenden Studie ließ sich ein signifikant höherer Cyclohexanongehalt im Atemgas der Diabetiker im Vergleich zu den Kontrollen nachweisen. Auch Dalton *et al.* beschrieben Cyclohexanon als charakteristische volatile Substanz bei Typ-1-Diabetes, die sie in deren Urinproben detektierten²⁴.

Cyclohexanon ist ein organisches Lösungsmittel, das in der Produktion von Polyvinylchlorid (PVC) verwendet wird und ist demnach auch Bestandteil von medizinischem Equipment mit PVC-Anteil, wie Infusionssysteme und extrakorporale Zirkulationssysteme⁸⁰. Die vermehrte Cyclohexanonabatmung der Diabetiker könnte aus der häufigeren Exposition dieser Probandengruppe gegenüber medizinischem Equipment resultieren.

Die in der vorliegenden Studie erhobenen Daten erbrachten eine vermehrte Abatmung von Limonen durch die Diabetiker verglichen mit den Gesunden, jedoch zeigte sich kein signifikanter Unterschied.

Der Naturstoff Limonen ist ein zyklisches Terpen und zu einem beträchtlichen Anteil in Zitrusfrüchten enthalten. Er wird in der Lebensmittel- und Pharmaindustrie als Geschmacksstoff verwendet⁸¹. Außerdem fungiert Limonen als Geruchsstoff in Kosmetikprodukten und Reinigungsmitteln und in Seifen zusätzlich als Lösungsmittel. Die stark lipophile Substanz ist als Kontaminationsstoff oft in hohen Konzentrationen in der Raumluft enthalten⁸².

Alle rekrutierten Probanden scheinen der volatilen Verbindung gegenüber exponiert gewesen zu sein, wodurch sich deren konsekutive Exhalation während der Atemgasmessung detektieren ließ.

Andere Autoren schlugen Limonen als einen Atemgasmarker für Lebererkrankungen vor⁸³, da jedoch keiner der rekrutierten Probanden Nebendiagnosen aufwies, kann hier nicht die Ursache für die erhöhte Limonenabatmung aller Probanden liegen.

Neben der Betrachtung signifikanter Unterschiede zwischen VOCs in der alveolaren Atemphase der Diabetiker und Kontrollen wurden weitere statistische Untersuchungen durchgeführt, um die Zusammenhänge zwischen den Serumparametern Glukose und HbA1c sowie den patientenspezifischen Charakteristika SDS BMI, Alter, Geschlecht, Erkrankungsdauer und Insulintherapie mittels Insulinspritze oder -pumpe und den Konzentrationen der Alveolarphase von Aceton, Isopren, Pentanal, Ethanol, Isopropanol, Dimethylsulfid, Cyclohexanon, Trimethylbenzol, Limonen und Phenol zu beschreiben.

Die untersuchten VOCs in der Ausatemluft der Diabetiker zeigten keine Zusammenhänge mit den Serumparametern Glukose und HbA1c. Von den untersuchten klinischen Parametern hatte das Lebensalter Einfluss auf die Isoprenabatmung.

Verschiedene Studien beschäftigten sich bereits mit dem Zusammenhang zwischen der Acetonkonzentration der Ausatemluft und glykämischen Serumparametern. So behaupten Guo *et al.* durch die Acetondetektion im Atem mittels eines Atemgasanalyseystems den Blutglukosespiegel bei Diabetikern messen und überwachen zu können⁵⁷.

Turner *et al.* untersuchten die Beziehung zwischen der Blutglukose und dem Aceton im Atemgas bei Typ-1-Diabetikern, die im Rahmen der Studie Insulin und Glukose infundiert bekamen, um den Blutglukosespiegel kontrolliert zu senken. Dabei stellten sie fest, dass die absolute Acetonkonzentration der Expirationsluft eine starke interindividuelle Variabilität aufzeigt und nicht erhöht ist im Vergleich zu gesunden Probanden⁸⁴, was in Übereinstimmung mit den hier erhobenen Daten steht. Weiterhin berichteten sie von einem linearen Abfall der expiratorischen Acetonkonzentration mit der Blutglukose und schlossen daraus auf eine positive Korrelation dieser beiden Parameter⁸⁴, was von den Untersuchungsergebnissen der vorliegenden Studie abweicht. Hier zeigte sich ein sehr schwacher Zusammenhang der Acetonkonzentrationen in der Alveolarphase zur Blutglukose und ebenfalls eine geringe Korrelation zum HbA1c.

Auch Wang *et al.* schildern in ihrer Publikation einen linearen Zusammenhang zwischen der Blutglukose sowie dem HbA1c und der expiratorischen Acetonkonzentration. Jedoch legten sie für diese drei Parameter Messwertbereiche fest und berechneten die Mittelwerte aller Messdaten innerhalb eines jeden Bereichs, woraufhin sie eine lineare Abhängigkeit zwischen den mittleren Acetonkonzentrationen und den mittleren Blutglukose- sowie den mittleren HbA1c-Werten feststellten. Entsprechend den hier erhobenen Daten ließ sich jedoch bei der Korrelation der Einzelmesswerte der drei Parameter kein starker Zusammenhang beobachten⁸⁵.

In Übereinstimmung mit den Untersuchungen von Nelson *et al.* ließ sich mit den hier erhobenen Daten keine starke Beeinflussung des Acetongehalts im Atemgas durch das

Lebensalter nachweisen. Es können geringfügig abfallende Acetonkonzentrationen mit steigendem Alter beobachtet werden⁵⁶.

SDS-BMI, Geschlecht, Erkrankungsdauer und Insulintherapie hatten keinen bedeutenden Einfluss auf die Acetonabatmung der an Diabetes mellitus Typ 1 erkrankten Patienten. Jedoch fiel bei den Diabetikern mit Insulinpumpe eine geringere Messwertstreuung der expiratorischen Acetonkonzentrationen auf als bei denen mit Insulinspritze, da die kontinuierliche Insulinsubstitution eine beständige Lipolysehemmung erwirkt⁴, woraus eine geringere Schwankungsbreite des Acetongehalts im Atemgas resultiert.

Auch hinterfragten Nelson *et al.* die Beziehung zwischen dem Isoprengehalt im Atemgas und der Blutglukose und stellten keine signifikant unterschiedlichen Isoprenkonzentrationen bei Diabetikern im nüchternen Zustand, nach Nahrungsaufnahme oder nach Insulinsubstitution fest⁵⁶. Die hier durchgeführten Regressionsanalysen deuten ebenfalls darauf hin, dass kein Zusammenhang zwischen der Isoprenabatmung der Diabetiker und deren glykämischer Stoffwechsellage besteht. Es zeigt sich eine geringe Korrelation der Isoprenkonzentrationen der Alveolarphase mit der Blutglukose und ebenso mit dem HbA1c.

Weiterhin verglichen Nelson *et al.* im Rahmen ihrer Studie die Isoprenkonzentrationen in der Ausatemluft von gesunden Neugeborenen, Vorschulkindern sowie Schulkindern und konnten aufzeigen, dass die Abatmung von Isopren mit dem Alter der Kinder ansteigt⁵⁶.

Die Untersuchungen von Smith *et al.* an 200 gesunden Schülern im Alter von 7 bis 18 Jahren lieferten ähnliche Ergebnisse. Sie konnten herausstellen, dass Kinder und Jugendliche wesentlich geringere Isoprenkonzentrationen als Erwachsene expirieren, jedoch steigen diese mit dem Alter deutlich an und verdoppeln sich etwa alle 5 bis 6 Jahre bis sie die altersinvarianten medianen Konzentrationen von Erwachsenen erreichen³⁹.

Auch Lechner *et al.* wiesen einen Einfluss des Alters auf den Isoprengehalt im Atemgas nach. Probanden im Alter von 19 bis 29 Jahren exhalierten signifikant geringere Isoprenkonzentrationen als ältere Probanden⁸⁶.

In Korrespondenz mit den drei zuvor genannten Quellen zeigten die in der vorliegenden Studie erhobenen Daten bei den gesunden Probanden ebenfalls eine Abhängigkeit der expiratorischen Isoprenkonzentrationen vom Lebensalter, die bei den Diabetikern jedoch geringer ausfällt. Ursächlich für einen schwächeren Zusammenhang dieser beiden Parameter bei den Erkrankten im Vergleich zu den Gesunden könnten durch den Diabetes mellitus bedingte bereits angeführte Beeinflussungen der endogenen Isoprengenerierung sein, die eine Korrelation der alveolaren Isoprenkonzentrationen mit dem Alter maskieren.

Zwischen der Isoprenexhalation und dem SDS-BMI der Patienten ließ sich in Übereinstimmung mit Kushch *et al.* kein Zusammenhang herausstellen⁸⁷, was aufgrund der

Isoprenproduktion im Muskel⁴⁴ und während der Cholesterinsynthese⁴¹ anders vermutet werden konnte.

In Korrespondenz mit den Publikationen von Smith *et al.*³⁹ zeigten sich keine signifikant unterschiedlichen alveolaren Isoprenkonzentrationen zwischen männlichen und weiblichen Probanden, was jedoch von den Untersuchungen von Lechner *et al.* abweicht. Sie detektierten signifikant höhere Isoprenkonzentrationen im Atemgas von männlichen Probanden, was sie auf unterschiedliche Cholesterinspiegel bei Männern und Frauen sowie auf die größere Muskelmasse der Männer zurückführten⁸⁶. Die hier dargelegten Ergebnisse weisen jedoch keine signifikant unterschiedliche Isoprenabatmung zwischen männlichen und weiblichen Patienten auf. Vermutlich weisen der Cholesterinspiegel und der Muskelmassenanteil im Kindes- und Jugendalter noch keine erheblichen Unterschiede zwischen den Geschlechtern auf.

Ebenfalls konnte kein Einfluss der Erkrankungsdauer oder der Insulintherapie mittels Insulinspritze oder -pumpe auf die Isoprenexhalation festgestellt werden. Da Isopren als Marker für Zellmembranschäden aufgrund von oxidativem Stress vermutet wird⁶² und die Diabetiker signifikant höhere Isoprenkonzentrationen abatmeten als die Kontrollen, lässt sich schlussfolgern, dass bei Diabetes mellitus Typ 1 häufiger Zell- und Gewebsschädigungen auftreten, unabhängig davon, wie lange die Stoffwechselerkrankung schon vorliegt oder wie die Insulinapplikation erfolgt.

Auch für Pentanal in der Alveolarphase, als ein weiterer Biomarker für oxidativen Stress⁶⁷, zeigte sich eine geringe Korrelation mit der Blutglukose und dem HbA1c, was sich mit den Ergebnissen von Phillips *et al.* deckt⁶³.

Verschiedene Mechanismen wurden bereits beschrieben, die den erhöhten oxidativen Stress bei Diabetikern erklären könnten. Grundlegend kommt es zu einer erhöhten ROS-Produktion und einer verminderten antioxidativen Abwehr. Als ursächlich dafür wurden sowohl hyperglykämische als auch nicht-hyperglykämische Vorgänge geschildert⁶³.

Langanhaltende Hyperglykämien führen durch Glukoseautooxidation zu einer vermehrten Bildung freier Radikale und durch Enzymglykosylierung zu einer verminderten antioxidativen Aktivität dieser Enzyme, wie beispielsweise der Glutathionreduktase und der Superoxiddismutase^{33,88}.

Jedoch auch nicht-hyperglykämische Prozesse, wie die vermehrte Freisetzung des Superoxid generierenden Enzyms Xanthinoxidase aus der Leber⁸⁹, verringerte Serumkonzentrationen der antioxidativ wirksamen Paraoxonase⁶⁴ und eine Verminderung der totalen antioxidativen Kapazität im Plasma⁹⁰ wurden angeführt, bei Diabetes mellitus zum oxidativen Stress beizutragen, wodurch dessen Unabhängigkeit vom momentanen glykämischen Status plausibel erscheint.

Demnach kann postuliert werden, dass der oxidative Stress bei Diabetespatienten in keinem Zusammenhang mit der glykämischen Stoffwechsellage steht, anders als von einigen Autoren beschrieben, die der guten glykämischen Kontrolle einen bedeutenden Einfluss auf das Gleichgewicht zwischen oxidativen und antioxidativen Mechanismen zuschreiben⁶⁸.

Schon seit einiger Zeit ist bekannt, dass die Menschen mit fortschreitendem Alter vermehrt oxidativem Stress ausgesetzt sind, welcher auch als Ursache für den Alterungsprozess angenommen wird⁹¹. Nachweislich nimmt die Produktion nicht invasiver Marker für Lipidperoxidationsprozesse mit steigendem Alter zu³². Deshalb liegt die Vermutung nahe, dass die Pentanalkonzentrationen in der Expirationsluft der Diabetiker positiv mit deren Lebensalter korrelieren. Jedoch ging aus den Daten der vorliegenden Arbeit keinerlei Abhängigkeit dieser beiden Parameter hervor, was mit den von Fuchs *et al.* erbrachten Ergebnissen übereinstimmt⁶⁷. Die Unabhängigkeit der alveolaren Pentanalkonzentrationen vom Alter der Patienten kann durch die relativ geringe Altersspanne der rekrutierten Probanden, die zwischen 6 und 18 Jahren alt waren, begründet sein, wodurch eine Altersabhängigkeit maskiert wird.

Es war keine Beeinflussung der Pentanalabatemung durch den SDS-BMI nachweisbar und in Übereinstimmung mit den Untersuchungen von Fuchs *et al.*⁶⁷ zeigte sich kein Einfluss des Geschlechts auf die Pentanalexpiration der Diabetiker. Die dargelegten Ergebnisse bilden keine signifikant unterschiedlichen Pentanalkonzentrationen der alveolaren Atemphase zwischen männlichen und weiblichen Diabetikern ab.

Auch die Erkrankungsdauer und das Insulinregime mittels Insulinspritze oder -pumpe nahmen keinen Einfluss auf den Pentanalgehalt im Atemgas. Da Pentanal als Biomarker für oxidativen Stress angenommen wird⁶⁷ und die Diabetiker signifikant höhere Pentanalkonzentrationen exhalierten als die Kontrollen, lässt sich schlussfolgern, dass an Diabetes mellitus Typ 1 erkrankte Patienten vermehrt oxidativem Stress ausgesetzt sind, unabhängig davon, wie lange sie schon an der Stoffwechselerkrankung leiden oder wie die Insulintherapie erfolgt.

Weiterhin wurde Ethanol diskutiert, mit der Blutglukose und dem Diabetes mellitus zu korrelieren^{46,47}. Zwar produzieren humane Zellen selbst kein Ethanol, nach Kohlenhydratingestion wird Glukose jedoch durch die Darmflora alkoholisch fermentiert, wodurch die Ethanolkonzentration im Blut und Atem ansteigt. So konnte in einer Studie von Galassetti *et al.* demonstriert werden, dass bei gesunden Probanden nach einem oralen Glukosetoleranztest die Konzentrationsänderungen von Blutglukose und Atemethanol ähnliche Muster zeigten⁴⁶. In einer weiteren Studie von Lee *et al.* wurde gesunden Probanden intravenös ein Glukosebolus appliziert. Auch hier konnten erhöhte Atemethanolkonzentrationen bei Hyperglykämie gemessen werden, die auf eine verstärkte

Fermentation der Darmflora durch den Glukoseanstieg in den gastrointestinalen Kapillaren und eine daraus resultierende vermehrte Ethanolabgabe zurückgeführt wurden⁴⁷.

Alle rekrutierten Probanden der vorliegenden Studie wurden im Vorfeld jedoch gebeten, zwei Stunden vor Beginn der atemgasanalytischen Untersuchungen keine Nahrung zu sich zu nehmen und lediglich Wasser zu trinken, sodass sich eine alkoholische Glukosefermentation durch die Darmflora nicht als Ursache für die erhöhten Ethanolkonzentrationen in der Alveolarphase vermuten lässt.

Diese Vermutung konnte mithilfe von Regressionsanalysen bekräftigt werden. Im Gegensatz zu den erwähnten Untersuchungen von Galassetti *et al.* sowie Lee *et al.*^{46,47} zeigte sich hier keine Korrelation der Ethanolkonzentrationen im Atemgas mit der Blutglukose und dem HbA1c. Somit erfolgte die Ethanolexhalation der Diabetiker unabhängig von der glykämischen Stoffwechselsituation, was gegen die von Galassetti *et al.* und Lee *et al.*^{46,47} beschriebene endogene Herkunft dieser volatilen Substanz spricht. Vielmehr lässt sich für Ethanol als Bestandteil von Desinfektionsmittel im klinischen Umfeld ein exogener Ursprung vermuten⁴⁸.

Auch für die Isopropanolkonzentrationen im Atemgasgemisch der Diabetiker stellte sich eine geringe Abhängigkeit von der Blutglukose und dem HbA1c heraus. Wie bereits angeführt, wird Isopropanol zwar endogen im Organismus generiert³⁵, ist jedoch ebenfalls Bestandteil von Desinfektionsmitteln⁴⁸ und somit im klinischen Umfeld in viel höheren Konzentrationen in der Umgebungsluft und im Patientenatem als Kontaminationsstoff enthalten, wodurch sich erschließt, dass die Substanz in keiner Beziehung zu Stoffwechselprozessen und Serumparametern des Patienten steht.

Es ließ sich nur eine schwache Beeinflussung der Ethanol- und Isopropanolexpiration der Diabetiker durch deren Lebensalter, SDS-BMI, Geschlecht und Erkrankungsdauer feststellen. In Anbetracht der exogenen Aufnahme dieser beiden Substanzen scheinen patientenspezifische Charakteristika keinen bedeutenden Einfluss auf die Konzentrationen der alveolaren Atemphase zu nehmen, sondern vielmehr ihr Anteil in der Umgebungsluft. Zwischen Diabetikern mit Insulinspritze und Diabetikern mit Insulinpumpe stellten sich keine signifikant unterschiedlichen expiratorischen Ethanol- und Isopropanolkonzentrationen dar, anders als es bei verschiedenen Therapieregimen mit variierenden Desinfektionsmaßnahmen vermutet werden konnte.

Anhand der erhobenen Daten konnte gezeigt werden, dass die Exhalation von Phenol sowie Dimethylsulfid bei den Diabetikern unabhängig von der glykämischen Stoffwechselsituation erfolgt. Es zeigte sich eine sehr geringe Korrelation dieser beiden VOCs mit der simultan gemessenen Blutglukose und ebenfalls eine schwache Abhängigkeit vom HbA1c.

Unter Berücksichtigung der Annahme, dass erhöhte expiratorische Phenol- und Dimethylsulfidkonzentrationen durch eine veränderte Mundflora der Diabetiker begründet sind, kann die Hypothese von Pinducciu *et al.*, dass der Status der Mundhöhle insbesondere bei schlecht eingestelltem Diabetes mellitus beeinflusst ist⁷², durch diese Ergebnisse widerlegt werden. Diabetiker scheinen grundsätzlich eine veränderte Mundflora zu haben, unabhängig davon, ob ihre Stoffwechselerkrankung gut oder schlecht kontrolliert ist.

Weiterhin zeigte sich, dass kein bedeutender Zusammenhang zwischen den Phenol- sowie DMS-Konzentrationen im Atemgas und dem Alter, dem SDS-BMI, dem Geschlecht, der Erkrankungsdauer und der Insulintherapie der Diabetiker besteht. Somit lässt sich schlussfolgern, dass aus dem fortschreitenden Patientenalter, den unterschiedlichen Körperkonstitutionen, dem Geschlecht und der steigenden Erkrankungsdauer der Diabetiker sowie der Insulintherapie mit Insulinspritze oder -pumpe, keine Veränderungen ihrer Mundflora resultieren.

Die lipophile Substanz Trimethylbenzol gilt als VOC exogenen Ursprungs. Ihre expiratorischen Konzentrationen geben Aufschluss über eine vorangegangene Exposition gegenüber dieser Substanz in einem gewissen Umfeld wie dem Krankenhaus^{76,77}. Jedoch liefern sie keine Informationen über Stoffwechselforgänge im Körper. So ist es nicht verwunderlich, dass sich kein bedeutender Zusammenhang zwischen den Serumparametern Glukose beziehungsweise HbA1c und den TMB-Konzentrationen im Atem der Diabetiker herausstellte.

Es erwies sich ebenfalls eine geringe Abhängigkeit der TMB-Expiration vom Alter, SDS-BMI, Geschlecht, Erkrankungsdauer und Insulintherapie der Diabetespatienten.

Eine Korrelation der TMB-Konzentrationen der Alveolarphase mit dem SDS-BMI hätte aufgrund der stark lipophilen Eigenschaften vermutet werden können. Verschiedene Körperkonstitutionen bedingen eine unterschiedlich starke Kumulation lipophiler Substanzen im Organismus, woraus spezifische Exhalationsprofile resultieren⁷⁷.

Cyclohexanon gehört zu den exogenen VOCs und wird vermutlich durch den häufigen Kontakt der Patienten mit medizinischem Equipment in den Organismus aufgenommen⁸⁰, wo es aufgrund seiner lipophilen Eigenschaften im Fettgewebe kumuliert.

Mittels Regressionsanalysen ließ sich nachweisen, dass die Elimination dieser volatilen Substanz über die Lunge von der glykämischen Stoffwechselsituation der Diabetespatienten unbeeinflusst bleibt. Die alveolaren Cyclohexanonkonzentrationen der Diabetiker korrelierten kaum mit der simultan gemessenen Blutglukose und standen in keinem Zusammenhang mit dem HbA1c.

Anders als in Studien behauptet wurde²⁴, ist diese volatile Verbindung keineswegs für den Diabetes mellitus Typ 1 charakteristisch, sondern expositionsbedingt vermehrt nachweisbar⁸⁰, und somit für Diagnostik und Monitoring dieser Stoffwechselerkrankung ungeeignet.

Weiterhin konnte gezeigt werden, dass das Lebensalter, das Geschlecht, die Erkrankungsdauer und die Insulintherapie der Diabetespatienten in geringem Zusammenhang mit der Cyclohexanonexhalation stehen. Nicht patientenspezifische Charakteristika scheinen Einfluss auf den Cyclohexanongehalt im Atemgas zu nehmen, sondern die Exposition gegenüber dieser Substanz, was der signifikante Unterschied der Cyclohexanonkonzentrationen im Atemgas der Diabetiker und Kontrollen verdeutlichte.

Auch zeigte sich keine Korrelation der expiratorischen Cyclohexanonkonzentrationen der Diabetiker mit ihrem SDS-BMI, was aufgrund der Lipophilie der Verbindung und einer vermehrten Kumulation im Organismus bei erhöhtem Fettgewebsanteil⁷⁷ hätte anders erwartet werden können.

Die stark lipophile Verbindung Limonen zählt zu den VOCs exogener Herkunft, die bei exponierten Probanden in den Körper aufgenommen und nach Umverteilung letztlich über die Lunge wieder abgegeben wird, wodurch sie im Atemgasgemisch detektierbar ist⁸². Jedoch kann mithilfe der Limonenkonzentrationen in der Ausatemluft der Diabetiker keine Aussage über metabolische Prozesse im Organismus getroffen werden. So konnte mittels Regressionsanalysen auch kein Zusammenhang zwischen den expiratorischen Limonenkonzentrationen und der Blutglukose oder dem HbA1c nachgewiesen werden. Die Limonenabatmung erfolgt unabhängig von der glykämischen Stoffwechselsituation der Diabetiker.

Weiterhin ließ sich keine Beeinflussung der Limonenexhalation durch das Alter, das Geschlecht, die Erkrankungsdauer und die Insulintherapie der Diabetespatienten aufzeigen. Entgegen der Erwartungen zeigten die Ergebnisse der Regressionsanalysen keine Korrelation der alveolaren Limonenkonzentrationen mit dem SDS-BMI. Wie bereits für die lipophilen VOCs TMB und Cyclohexanon angeführt, wäre ein Einfluss der Körperkonstitution auf die Exhalation stark lipophiler Substanzen aufgrund unterschiedlich starker Kumulation⁷⁷ denkbar gewesen.

Außerdem schilderten Novak *et al.* in ihrer Studie mit Diabetes-mellitus-Typ-1-Kindern eine gute Korrelation der Blutglukosekonzentration mit der Methylnitratkonzentration in der Ausatemluft erkannt zu haben. Diesen Zusammenhang führten sie darauf zurück, dass hyperglykämische Stoffwechsellagen bei Typ-1-Diabetikern durch die Hypoinsulinämie eine verstärkte Lipolyse und folglich ein erhöhtes Angebot freier Fettsäuren bedingen. Der mit dieser Stoffwechselsituation verstärkt einhergehende oxidative Stress bedingt eine Mehrproduktion an Methylnitrat als Nebenprodukt oxidativer Prozesse⁴⁵. Jedoch deklarieren

andere Autoren Methylnitrat als ungeeigneten Biomarker für Diabetes mellitus, da die Substanz in nur sehr geringen Konzentrationen im Atemgas auftritt (ca. 30 pptV bei hyperglykämischen Typ-1-Diabetikern), was die Detektion bedeutend erschwert⁴.

Auch im Rahmen der atemgasanalytischen Messungen der vorliegenden Studie konnte Methylnitrat nicht detektiert werden.

Die im Atemgas von Kindern und Jugendlichen mit Diabetes mellitus Typ 1 detektierten volatilen Substanzen eignen sich nicht zur Diagnostik der Erkrankung, bieten aber Potential für Therapie- und Verlaufskontrolle.

Es ließ sich kein Diabetes mellitus Typ 1 spezifischer Atemgasmarker aufzeigen, der die klassischen Serumparameter Glukose und HbA1c zu ersetzen vermag.

Die in verschiedenen Publikationen angeführte volatile organische Substanz Aceton^{56,57,60} konnte durch die Ergebnisse der vorliegenden Studie als diabetesspezifischer Biomarker im Atemgas widerlegt werden. Abweichend von bisherigen Studien^{56,57,60,84,85} ließ sich kein signifikanter Unterschied der expiratorischen Acetonkonzentrationen im Gruppenvergleich zwischen Diabetikern und Kontrollen detektieren und keine Korrelation des Acetongehalts im Atemgas mit den simultan gemessenen Serumparametern Glukose oder HbA1c nachweisen. Signifikanz und Korrelation sind das Resultat statistischer Berechnungen, die durch Messwertstreuungen leicht verfälscht werden können. Deshalb sollten signifikante Unterschiede oder Korrelationen zwischen Messdaten nicht mit der Entdeckung von krankheitsspezifischen Atemgasmarkern gleichgesetzt werden. Unter Berücksichtigung der biochemischen Wirkung des Insulins, die eine sofortige Lipolysehemmung bewirkt und folglich die Acetonsynthese unterdrückt⁴, erschließt sich, dass Aceton, anders als bereits publiziert, als Biomarker für den insulinbehandelten Diabetes mellitus ausgeschlossen ist.

Vielmehr lässt die Atemgasanalyse endogener VOCs bei pädiatrischen Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 Rückschlüsse auf biochemische Vorgänge und pathologische Effekte zu, die mutmaßlich mit der Stoffwechselerkrankung einhergehen. Die Echtzeitmessung expiratorischer VOC-Konzentrationen ist eine geeignete Methode, um dynamische Veränderungen sowohl der Atemgas- als auch der Blutkonzentrationen³ atemzug aufgelöst abzubilden. Allerdings ist zu betonen, dass verschiedene Einflussfaktoren auf die Abatmung volatiler Verbindungen berücksichtigt werden müssen, um deren Herkunft und Entstehung im Stoffwechsel beurteilen zu können.

Von großer Bedeutung ist, die Umverteilung volatiler Substanzen auf die verschiedenen Körperkompartimente zu berücksichtigen. VOCs endogener Herkunft als potentielle Biomarker müssen von VOCs exogener Herkunft als Kontaminationen der Expirationsluft durch die

Umgebungsluft unterschieden werden. Ausschließlich Verbindungen endogenen Ursprungs spiegeln durch ihre Konzentrationen in der alveolaren Expirationsluft ihre Blutkonzentrationen wider und lassen somit Rückschlüsse auf physiologische oder pathologische biochemische Prozesse zu³.

Deshalb können Substanzen, die in der inspiratorischen Atemphase in höheren Konzentrationen als in der alveolaren Atemphase auftreten, als endogene VOCs ausgeschlossen werden⁵¹.

Aufgrund der Lipophilie vieler exogener volatiler Substanzen kommt es jedoch nach deren Inhalation oder Ingestion durch die Nahrung und Übertritt in die Blutphase zur Kumulation in fetthaltigen Geweben. Durch sukzessive Umverteilung auf die verschiedenen Körperkompartimente treten diese VOCs nach Rückdiffusion aus den fettreichen Geweben und Elimination über die Lunge in teils hohen Konzentrationen in der Expirationsluft auf⁷⁷.

Aufgrund dieser Tatsache erklärt sich, weshalb die stark lipophilen volatilen Substanzen Limonen, Trimethylbenzol⁹², Cyclohexanon und Phenol in teilweise hohen Konzentrationen im alveolaren Atemgas der Probanden nachweisbar sind, obwohl sie exogenen Ursprungs sind.

Hervorzuheben ist die Wichtigkeit, exogene VOCs nicht als endogene Biomarker zu verkennen und fälschlicherweise als erkrankungsspezifische Marker zu deklarieren, sondern die potentielle exogene Herkunft und Exposition gegenüber diesen Substanzen zu hinterfragen.

Weiterhin ist zu berücksichtigen, dass die Exhalation endogener VOCs eine Abhängigkeit vom Herzzeitvolumen aufweist. Dies wurde bereits für Isoprenkonzentrationen im Atemgas nachgewiesen, welche bei Erhöhung des Herzzeitvolumens ansteigen^{93,94}. Inwiefern das Herzzeitvolumen neben den hier angenommenen ursächlichen biochemischen Prozessen Einfluss auf die endogenen VOC-Konzentrationen nahm, bleibt abschließend nicht beurteilbar.

Aus den Ergebnissen dieser Studie eines großen Probandenkollektivs von Typ-1-Diabetikern und gesunden Kontrollen wird ersichtlich, dass die Atemgasanalyse perspektivisch eine nicht invasive Methode darstellt, um biochemische Vorgänge und pathologische Effekte, die mutmaßlich mit der Stoffwechselerkrankung einhergehen, nachzuvollziehen.

Der Einfluss veränderter Stoffwechselprozesse auf VOC-Profile und deren Veränderung im Lauf eines Tages konnte bei pädiatrischen Patienten demonstriert werden. Die Ergebnisse liefern neue Erkenntnisse bezüglich metabolischer und ernährungsspezifischer Einflüsse.

5. Zusammenfassung

Die Untersuchung der Atemluft mittels adaptierter Echtzeit-Massenspektrometrie ermöglicht eine schnelle Charakterisierung des Atemgasmetaboloms pädiatrischer Patienten für punktuelle Messungen und im zeitlichen Verlauf.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie erbrachten charakteristische Exhalationsprofile volatiler organischer Verbindungen bei pädiatrischen Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1, die Rückschlüsse auf pathologische Effekte in deren Organismus ermöglichen.

Die VOC-Profile von Kindern und Jugendlichen mit Diabetes mellitus Typ 1 und von gesunden Kindern und Jugendlichen wiesen zahlreiche unterschiedliche Atemgasmarkerkonzentrationen auf, wodurch Erkenntnisse über Glukose- und Cholesterinstoffwechsel, Lipolyse, oxidativen Stress sowie Mund- und Darmflora bei Diabetes mellitus Typ 1 gewonnen werden können.

Die Exhalation der untersuchten VOCs erfolgte unabhängig von den Serumparametern Glukose und HbA1c. Von den betrachteten klinischen Parametern der Probanden hatte das Lebensalter Einfluss auf die Isoprenexpiration. Mit zunehmendem Alter stiegen die alveolaren Isoprenkonzentrationen an, wobei sich bei den gesunden Kontrollen ein stärkerer Zusammenhang abbildete als bei den Diabetikern. Scheinbar wird die altersabhängige Isoprenabatmung durch die veränderte endogene Isoprengenerierung bei Diabetes mellitus maskiert.

Durch die Bestimmung von VOCs der alveolaren Atemphase bei pädiatrischen Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 mittels nicht invasiver Atemgasanalyse lässt sich kein für die Stoffwechselerkrankung spezifischer Atemgasmarker aufzeigen, der die klassischen Serumparameter Glukose und HbA1c zu ersetzen vermag. Insbesondere kann Aceton als diabetesspezifischer Atemgasbiomarker ausgeschlossen werden, da sich kein signifikanter Unterschied der Acetonabatmung im Vergleich beider Probandengruppen und keine Korrelation der expiratorischen Acetonkonzentrationen mit den simultan gemessenen Serumparametern Glukose oder HbA1c zeigte.

Die schnelle Erfassung und Beobachtung des Atemgasmetaboloms mittels Echtzeit-Massenspektrometrie könnte perspektivisch dazu beitragen grundlegende pathologische Prozesse des Diabetes mellitus Typ 1 bei pädiatrischen Patienten zu entschlüsseln und zu charakterisieren.

6. Literaturverzeichnis

1. Miekisch, W., Schubert, J. K. & Noeldge-Schomburg, G. F. E. Diagnostic potential of breath analysis—focus on volatile organic compounds. *Clin. Chim. Acta* **347**, 25–39 (2004).
2. Iain, R. W. et al. Real-time multi-marker measurement of organic compounds in human breath: towards fingerprinting breath. *J. Breath Res.* **7**, 017112 (2013).
3. Birken, T., Schubert, J., Miekisch, W. & Nöldge-Schomburg, G. A novel visually CO₂ controlled alveolar breath sampling technique. *Technol. Health Care* **14**, 499–506 (2006).
4. David, S., Patrik, Š., Anthony, A. F., Fahmy, H. & Gordon, A. A. F. Can volatile compounds in exhaled breath be used to monitor control in diabetes mellitus? *J. Breath Res.* **5**, 022001 (2011).
5. Obermeier, J. et al. Exhaled volatile substances mirror clinical conditions in pediatric chronic kidney disease. *PLOS ONE* **12**, e0178745 (2017).
6. Danne, T. Diabetes bei Kindern und Jugendlichen. *Dtsch. Gesundheitsbericht* 96 (2011).
7. Müller-Wielan, D., Kröger, J., Rathmann, W. & Jacobs, E. Deutscher Gesundheitsbericht Diabetes 2018. 294 (2018).
8. Alberti, K. G. M. M. & Zimmet, P. Z. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Provisional report of a WHO Consultation. *Diabet. Med.* **15**, 539–553 (1998).
9. Schlosser, M. et al. The Karlsburg Type 1 Diabetes Risk Study of a Normal Schoolchild Population: Association of β -Cell Autoantibodies and Human Leukocyte Antigen-DQB1 Alleles in Antibody-Positive Individuals. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **87**, 2254–2261 (2002).
10. Association, A. D. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* **37**, S81–S90 (2014).
11. Fox, C. S., Coady, S., Sorlie, P. D. & et al. Trends in cardiovascular complications of diabetes. *JAMA* **292**, 2495–2499 (2004).
12. Hink, U., Tsilimingas, N., Wendt, M. & Münzel, T. Mechanisms Underlying Endothelial Dysfunction in Diabetes Mellitus. *Treat. Endocrinol.* **2**, 293–304 (2003).
13. Antonetti, D. A. et al. Diabetic Retinopathy: Seeing Beyond Glucose-Induced Microvascular Disease. *Diabetes* **55**, 2401–2411 (2006).
14. Schena, F. P. & Gesualdo, L. Pathogenetic Mechanisms of Diabetic Nephropathy. *J. Am. Soc. Nephrol.* **16**, S30–S33 (2005).
15. Tesfaye, S. et al. Diabetic Neuropathies: Update on Definitions, Diagnostic Criteria, Estimation of Severity, and Treatments. *Diabetes Care* **33**, 2285–2293 (2010).
16. Rogers, L. C. et al. The Charcot Foot in Diabetes. *Diabetes Care* **34**, 2123–2129 (2011).
17. Tschöpe, D., am Herz, D. des D. & Nordrhein-Westfalen, D. Diabetes mellitus und Herzerkrankungen. *Dtsch. Gesundheitsbericht* 58 (2014).

18. Lee, M. et al. Effect of pre-diabetes on future risk of stroke: meta-analysis. *BMJ* **344**, (2012).
19. Schaper, N. C. et al. Diagnosis and treatment of peripheral arterial disease in diabetic patients with a foot ulcer. A progress report of the International Working Group on the Diabetic Foot. *Diabetes Metab. Res. Rev.* **28**, 218–224 (2012).
20. Beneficial effects of intensive therapy of diabetes during adolescence: Outcomes after the conclusion of the Diabetes Control and Complications Trial (DCCT). *J. Pediatr.* **139**, 804–812 (2001).
21. Nathan, D. M. et al. Modern-Day Clinical Course of Type 1 Diabetes Mellitus After 30 Years' Duration: The Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications and Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications Experience (1983-2005). *Arch. Intern. Med.* **169**, 1307–1316 (2009).
22. Berlin, I. et al. Phobic Symptoms, Particularly the Fear of Blood and Injury, Are Associated With Poor Glycemic Control in Type I Diabetic Adults. *Diabetes Care* **20**, 176–178 (1997).
23. Zambanini, A. & Feher, M. D. Needle Phobia in Type 1 Diabetes Mellitus. *Diabet. Med.* **14**, 321–323 (1997).
24. Dalton, P., Gelperin, A. & Preti, G. Volatile Metabolic Monitoring of Glycemic Status in Diabetes Using Electronic Olfaction. *Diabetes Technol. Ther.* **6**, 534–544 (2004).
25. Miekisch, W. & Schubert, J. K. From highly sophisticated analytical techniques to life-saving diagnostics: Technical developments in breath analysis. *TrAC Trends Anal. Chem.* **25**, 665–673 (2006).
26. Vautz, W., Nolte, J., Fobbe, R. & Baumbach, J. I. Breath analysis—performance and potential of ion mobility spectrometry. *J. Breath Res.* **3**, 036004 (2009).
27. Obermeier, J. et al. Electrochemical sensor system for breath analysis of aldehydes, CO and NO. *J. Breath Res.* **9**, 016008 (2015).
28. Tisch, U. & Haick, H. Chemical sensors for breath gas analysis: the latest developments at the Breath Analysis Summit 2013. *J. Breath Res.* **8**, 027103 (2014).
29. Smith, D., Španěl, P., Herbig, J. & Beauchamp, J. Mass spectrometry for real-time quantitative breath analysis. *J. Breath Res.* **8**, 027101 (2014).
30. Jens, H. et al. On-line breath analysis with PTR-TOF. *J. Breath Res.* **3**, 027004 (2009).
31. Herold, G. *Innere Medizin: eine vorlesungsorientierte Darstellung; unter Berücksichtigung des Gegenstandskataloges für die ärztliche Prüfung; mit ICD 10-Schlüssel im Text und Stichwortverzeichnis.* (Eigenverl., 2012).
32. Frank Kneepkens, C. M., Lepage, G. & Roy, C. C. The potential of the hydrocarbon breath test as a measure of lipid peroxidation. *Free Radic. Biol. Med.* **17**, 127–160 (1994).

33. Shih, C.-C., Wu, Y.-W. & Lin, W.-C. Antihyperglycaemic And Anti-Oxidant Properties Of Anoectochilus Formosanus in Diabetic Rats. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* **29**, 684–688 (2002).
34. Rösen, P. et al. The role of oxidative stress in the onset and progression of diabetes and its complications: a summary of a Congress Series sponsored by UNESCO-MCBN, the American Diabetes Association and the German Diabetes Society. *Diabetes Metab. Res. Rev.* **17**, 189–212 (2001).
35. Kalapos, M. P. On the mammalian acetone metabolism: from chemistry to clinical implications. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Gen. Subj.* **1621**, 122–139 (2003).
36. Smith, D. & Španěl, P. Selected ion flow tube mass spectrometry (SIFT-MS) for on-line trace gas analysis. *Mass Spectrom. Rev.* **24**, 661–700 (2005).
37. Smith, D., Španěl, P. & Davies, S. Trace gases in breath of healthy volunteers when fasting and after a protein-calorie meal: a preliminary study. *J. Appl. Physiol.* **87**, 1584–1588 (1999).
38. Yamai, K., Ohkuwa, T., Itoh, H., Yamazaki, Y. & Tsuda, T. Influence of cycle exercise on acetone in expired air and skin gas. *Redox Rep.* **14**, 285–289 (2009).
39. David, S. et al. Isoprene levels in the exhaled breath of 200 healthy pupils within the age range 7–18 years studied using SIFT-MS. *J. Breath Res.* **4**, 017101 (2010).
40. DeMaster, E. G. & Nagasawa, H. T. Isoprene, an endogenous constituent of human alveolar air with a diurnal pattern of excretion. *Life Sci.* **22**, 91–97 (1978).
41. Deneris, E. S., Stein, R. A. & Mead, J. F. In vitro biosynthesis of isoprene from mevalonate utilizing a rat liver cytosolic fraction. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **123**, 691–696 (1984).
42. Stone, B. G., Besse, T. J., Duane, W. C., Evans, C. D. & DeMaster, E. G. Effect of regulating cholesterol biosynthesis on breath isoprene excretion in men. *Lipids* **28**, 705–708 (1993).
43. Scholpp, J., Schubert, J. K., Miekisch, W. & Geiger, K. Breath markers and soluble lipid peroxidation markers in critically ill patients. *Clin. Chem. Lab. Med.* **40**, 587–594 (2002).
44. King, J. et al. Physiological modeling of isoprene dynamics in exhaled breath. *J. Theor. Biol.* **267**, 626–637 (2010).
45. Novak, B. J. et al. Exhaled methyl nitrate as a noninvasive marker of hyperglycemia in type 1 diabetes. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **104**, 15613–15618 (2007).
46. Galassetti, P. R. et al. Breath ethanol and acetone as indicators of serum glucose levels: an initial report. *Diabetes Technol. Ther.* **7**, 115–123 (2005).
47. Lee, J. et al. Improved predictive models for plasma glucose estimation from multi-linear regression analysis of exhaled volatile organic compounds. *J. Appl. Physiol.* **107**, 155–160 (2009).

48. Bessonneau, V. et al. VOC contamination in hospital, from stationary sampling of a large panel of compounds, in view of healthcare workers and patients exposure assessment. *PLoS One* **8**, e55535 (2013).
49. Kromeyer-Hauschild, K. et al. Perzentile für den Body-mass-Index für das Kindes- und Jugendalter unter Heranziehung verschiedener deutscher Stichproben. *Monatsschr. Kinderheilkd.* **149**, 807–818.
50. Jordan, A. et al. A high resolution and high sensitivity proton-transfer-reaction time-of-flight mass spectrometer (PTR-TOF-MS). *Int. J. Mass Spectrom.* **286**, 122–128 (2009).
51. Trefz, P. et al. Continuous real time breath gas monitoring in the clinical environment by proton-transfer-reaction-time-of-flight-mass spectrometry. *Anal. Chem.* **85**, 10321–10329 (2013).
52. IONICON. PTR-TOF 8000 product factsheet. in.
53. Hansel, A. et al. Proton transfer reaction mass spectrometry: on-line trace gas analysis at the ppb level. *Int. J. Mass Spectrom. Ion Process.* **149–150**, 609–619 (1995).
54. Cappellin, L. et al. On Quantitative Determination of Volatile Organic Compound Concentrations Using Proton Transfer Reaction Time-of-Flight Mass Spectrometry. *Environ. Sci. Technol.* **46**, 2283–2290 (2012).
55. Sukul, P., Trefz, P., Kamysek, S., Schubert, J. K. & Miekisch, W. Instant effects of changing body positions on compositions of exhaled breath. *J. Breath Res.* **9**, 047105 (2015).
56. Nelson, N., Lagesson, V., Nosratabadi, A. R., Ludvigsson, J. & Tagesson, C. Exhaled Isoprene and Acetone in Newborn Infants and in Children with Diabetes Mellitus. *Pediatr Res* **44**, 363–367 (1998).
57. Guo, D., Zhang, D., Li, N., Zhang, L. & Yang, J. Diabetes Identification and Classification by Means of a Breath Analysis System. in *Medical Biometrics* (eds. Zhang, D. & Sonka, M.) vol. 6165 52–63 (Springer Berlin Heidelberg, 2010).
58. Goerl, T. et al. Volatile breath biomarkers for patient monitoring during haemodialysis. *J. Breath Res.* **7**, 017116 (2013).
59. Laffel, L. Ketone bodies: a review of physiology, pathophysiology and application of monitoring to diabetes. *Diabetes Metab. Res. Rev.* **15**, 412–426 (1999).
60. Deng, C., Zhang, J., Yu, X., Zhang, W. & Zhang, X. Determination of acetone in human breath by gas chromatography–mass spectrometry and solid-phase microextraction with on-fiber derivatization. *J. Chromatogr. B* **810**, 269–275 (2004).
61. Winder, W. W. & Hardie, D. G. AMP-activated protein kinase, a metabolic master switch: possible roles in Type 2 diabetes. *Am. J. Physiol. - Endocrinol. Metab.* **277**, E1–E10 (1999).
62. Foster, W. M., Jiang, L., Stetkiewicz, P. T. & Risby, T. H. Breath isoprene: temporal changes in respiratory output after exposure to ozone. *J. Appl. Physiol.* **80**, 706–710 (1996).

63. Phillips, M., Cataneo, R. N., Cheema, T. & Greenberg, J. Increased breath biomarkers of oxidative stress in diabetes mellitus. *Clin. Chim. Acta* **344**, 189–194 (2004).
64. Boemi, M. et al. Serum paraoxonase is reduced in type 1 diabetic patients compared to non-diabetic, first degree relatives; influence on the ability of HDL to protect LDL from oxidation. *Atherosclerosis* **155**, 229–235 (2001).
65. Krause, M. P., Riddell, M. C. & Hawke, T. J. Effects of type 1 diabetes mellitus on skeletal muscle: clinical observations and physiological mechanisms. *Pediatr. Diabetes* **12**, 345–364 (2011).
66. Kinter, M. Analytical technologies for lipid oxidation products analysis. *J. Chromatogr. B. Biomed. Sci. App.* **671**, 223–236 (1995).
67. Fuchs, P., Loeseken, C., Schubert, J. K. & Miekisch, W. Breath gas aldehydes as biomarkers of lung cancer. *Int. J. Cancer* **126**, 2663–2670 (2010).
68. Bonnefont-Rousselot, D., Bastard, J., Jaudon, M. & Delattre, J. Consequences of the diabetic status on the oxidant/antioxidant balance. *Diabetes Metab.* **26**, 163–177 (2000).
69. Huda, A. L. K., Benjamin de Lacy, C. & Norman, R. An investigation of volatile organic compounds from the saliva of healthy individuals using headspace-trap/GC-MS. *J. Breath Res.* **7**, 036004 (2013).
70. Volozhin, A., Filatova, E., Petrovich, I., Il'in, V. & Fomina, O. [The evaluation of periodontal status by the chemical composition of the oral media]. *Stomatologija (Sofia)* **79**, 13–16 (1999).
71. Calil, C. M. & Marcondes, F. K. Influence of anxiety on the production of oral volatile sulfur compounds. *Life Sci.* **79**, 660–664 (2006).
72. Pinducciu, G. et al. Periodontal disease, oral microbial flora and salivary antibacterial factors in diabetes mellitus type 1 patients. *Eur. J. Epidemiol.* **12**, 631–636.
73. Chen, S., Zieve, L. & Mahadevan, V. Mercaptans and dimethyl sulfide in the breath of patients with cirrhosis of the liver. *J. Lab. Clin. Med.* **75**, 628–635.
74. Vinson, J. A., Su, X., Zubik, L. & Bose, P. Phenol Antioxidant Quantity and Quality in Foods: Fruits. *J. Agric. Food Chem.* **49**, 5315–5321 (2001).
75. Toth, L. & Potthast, K. Chemical aspects of the smoking of meat and meat products. *Adv. Food Res.* **29**, 87–158 (1984).
76. Jones, K. et al. Biological monitoring for trimethylbenzene exposure: a human volunteer study and a practical example in the workplace. *Ann. Occup. Hyg.* **50**, 593–598 (2006).
77. Wilson, P. F. et al. In situ analysis of solvents on breath and blood: a selected ion flow tube mass spectrometric study. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **16**, 427–432 (2002).
78. Peter, J. M. Exhaled breath volatile organic compound biomarkers in lung cancer. *J. Breath Res.* **6**, 027106 (2012).

79. Phillips, M. et al. Breath biomarkers of active pulmonary tuberculosis. *Tuberculosis* **90**, 145–151 (2010).
80. Thompson-Torgerson, C. S., Champion, H. C., Santhanam, L., Harris, Z. L. & Shoukas, A. A. Cyclohexanone contamination from extracorporeal circuits impairs cardiovascular function. *Am. J. Physiol. - Heart Circ. Physiol.* **296**, H1926–H1932 (2009).
81. Fahlbusch, K.-G. et al. Flavors and Fragrances. in *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry* (Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2000).
82. Bajtarevic, A. et al. Noninvasive detection of lung cancer by analysis of exhaled breath. *BMC Cancer* **9**, 1 (2009).
83. Friedman, M. I. et al. Limonene in expired lung air of patients with liver disease. *Dig. Dis. Sci.* **39**, 1672–1676 (1994).
84. Claire, T., Christopher, W., Shu, H. & Mark, E. Breath acetone concentration decreases with blood glucose concentration in type I diabetes mellitus patients during hypoglycaemic clamps. *J. Breath Res.* **3**, 046004 (2009).
85. Wang, C., Mbi, A. & Shepherd, M. A study on breath acetone in diabetic patients using a cavity ringdown breath analyzer: exploring correlations of breath acetone with blood glucose and glycohemoglobin A1C. *Sens. J. IEEE* **10**, 54–63 (2010).
86. Lechner, M. et al. Gender and age specific differences in exhaled isoprene levels. *Respir. Physiol. Neurobiol.* **154**, 478–483 (2006).
87. Kushch, I. et al. Breath isoprene—aspects of normal physiology related to age, gender and cholesterol profile as determined in a proton transfer reaction mass spectrometry study. *Clin. Chem. Lab. Med.* **46**, 1011–1018 (2008).
88. West, I. C. Radicals and oxidative stress in diabetes. *Diabet. Med.* **17**, 171–180 (2000).
89. Desco, M.-C. et al. Xanthine oxidase is involved in free radical production in type 1 diabetes protection by allopurinol. *Diabetes* **51**, 1118–1124 (2002).
90. Vessby, J., Basu, S., Mohsen, R., Berne, C. & Vessby, B. Oxidative stress and antioxidant status in type 1 diabetes mellitus. *J. Intern. Med.* **251**, 69–76 (2002).
91. Ashok, B. T. & Ali, R. The aging paradox: free radical theory of aging. *Exp. Gerontol.* **34**, 293–303 (1999).
92. Emond, C. & Krishnan, K. A physiological pharmacokinetic model based on tissue lipid content for simulating inhalation pharmacokinetics of highly lipophilic volatile organic chemicals. *Toxicol. Mech. Methods* **16**, 395–403 (2006).
93. Pabst, F., Miekisch, W., Fuchs, P., Kischkel, S. & Schubert, J. K. Monitoring of oxidative and metabolic stress during cardiac surgery by means of breath biomarkers: an observational study. *J. Cardiothorac. Surg.* **2**, 37 (2007).
94. Karl, T. et al. Human breath isoprene and its relation to blood cholesterol levels: new measurements and modeling. *J. Appl. Physiol.* **91**, 762–770 (2001).

7. Thesen

1. Die Untersuchung der Atemluft mittels adaptierter Echtzeit-Massenspektrometrie erlaubt eine schnelle Charakterisierung des Atemgasmetaboloms pädiatrischer Patienten für punktuelle Messungen und im zeitlichen Verlauf.
2. Endogene VOCs aus der Alveolarphase des Atemzyklus sind schnell verfügbar und bilden deren momentane Blutkonzentrationen ab, wodurch Rückschlüsse auf die augenblickliche Stoffwechsellage gezogen werden können.
3. Pädiatrische Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 weisen charakteristische Exhalationsprofile volatiler organischer Verbindungen auf, welche sich von denen gesunder Kinder und Jugendlicher gleicher Alters- und Geschlechterverteilung unterscheiden.
4. Von den 10 näher betrachteten VOCs weisen Isopren, Pentanal, Ethanol, Isopropanol, Dimethylsulfid, Cyclohexanon, Trimethylbenzol und Phenol signifikant unterschiedliche Konzentrationen zwischen Patienten- und Kontrollgruppe auf. Die Aceton- und Limonenkonzentrationen zeigten keinen signifikanten Unterschied.
5. Die Abatmung der 10 genauer untersuchten VOCs Aceton, Isopren, Pentanal, Ethanol, Isopropanol, Dimethylsulfid, Cyclohexanon, Trimethylbenzol, Limonen und Phenol erfolgt unabhängig von den Serumparametern Glukose und HbA1c.
6. Unter Einbezug der klinischen Parameter der Probanden weist die Isoprenabatmung eine Abhängigkeit vom Lebensalter auf. Mit steigendem Alter nehmen die Isoprenkonzentrationen der alveolaren Atemphase zu, wobei sich bei den gesunden Kontrollen ein stärkerer Zusammenhang zeigt als bei den Diabetikern.
7. Die Bestimmung von VOCs der Alveolarphase bei pädiatrischen Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 mittels nicht invasiver Atemgasanalyse erbringt keinen für die Stoffwechselerkrankung spezifischen Atemgasmarker, der die klassischen Serumparameter Glukose und HbA1c zu ersetzen vermag. Vor allem kann Aceton als diabetesspezifischer Atemgasbiomarker ausgeschlossen werden.
8. Die Exhalationsprofile volatiler organischer Verbindungen erlauben Rückschlüsse auf pathologische Effekte im Organismus, die mutmaßlich mit Diabetes mellitus Typ 1 einhergehen.

9. Die im Atemgas von Kindern und Jugendlichen mit Diabetes mellitus Typ 1 identifizierten VOCs eignen sich nicht zur Diagnostik der Stoffwechselerkrankung, bieten aber Potential für Therapie- und Verlaufskontrolle.

8. Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
AMPK	Adenosinmonophosphat-aktivierte Proteinkinase
BMI	Body Mass Index
bzw.	beziehungsweise
DAG	Diacylglycerol
DCCT/EDIC	Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications
DMS	Dimethylsulfid
DMT1	Diabetes mellitus Typ 1
EDTA	ethylene diamine tetraacetic acid (Ethyldiamintetraessigsäure)
et al.	et alii
GC-MS	Gaschromatographie-Massenspektrometrie
GFR	glomeruläre Filtrationsrate
GmbH	Gesellschaft mit beschränkter Haftung
HbA1c	glykiertes Hämoglobin
HLA	Humanes Leukozyten-Antigen
HMG-CoA	β -Hydroxy- β -Methylglutaryl-Coenzym-A
IMS	Ionen-Mobilitätsspektrometrie
k	Reaktionsratenkonstante
LCU	liquid calibration unit
LDL	Low-density Lipoprotein
LOD	limit of detection (Erfassungsgrenze)
LOQ	limit of quantitation (Bestimmungsgrenze)
m	Masse
M	männlich
min	Minute
mmol/l	Millimol/Liter
ml	Milliliter
ms	Millisekunde
n	Anzahl
NAD ⁺	Nicotinamidadenindinukleotid
nmol/l	Nanomol/Liter
p	Signifikanz
PKC	Proteinkinase C
pmol/l	picomol/Liter

PON	Paraoxonase
ppbV	parts per billion by volume (Teile pro Volumenmilliarde)
pptV	parts per trillion by volume (Teile pro Volumenbillion)
PTR-MS	Proton-Transfer-Reaktion-Massenspektrometrie
PTR-TOF-MS	PTR-Time-of-Flight-Massenspektrometrie
PVC	Polyvinylchlorid
r	Korrelationskoeffizient
ROS	reactive oxygen species (reaktive Sauerstoffspezies)
SDS-BMI	standard deviation scores Body Mass Index (standardisierter Body Mass Index)
SIFT	Selected-Ion-Flow-Tube-Massenspektrometrie
Tab.	Tabelle
TMB	Trimethylbenzol
UKJ	Universitätsmedizin Kinder- und Jugendklinik
VOC	volatile organic compound (flüchtige organische Verbindung)
W	weiblich
X	Atemgasmolekül
z	Betrag der Ladungszahl des Teilchens
z.B.	zum Beispiel

9. Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Schematische Darstellung eines PTR-TOF-MS modifiziert nach ⁵²	13
Abb. 2: Atemgasmessung bei einem Probanden	14
Abb. 3: Aceton-basierte Unterscheidung beider Atemphasen zur Datenauswertung (Expiration = rot, Inspiration = blau).....	15
Abb. 4: Exemplarische Ergebnisse der Messung mittels Echtzeitmassenspektrometrie an einem gesunden Probanden. Die in der Atemluft vorhandenen VOCs werden im PTR ionisiert und alle 200 ms im ToF-Massenspektrometer als komplettes Massespektrum erfasst (mittlere Grafik). Über das protonierte Masse zu Ladung Verhältnis (m/q) können einzelne VOCs zugeordnet und im zeitlichen Verlauf der Messung abgebildet werden (untere Grafik). Mit der gewählten Zeitauflösung lassen sich so Expirations- und Inspirationsphasen identifizieren, zuordnen (z.B. alveolare Phase für exhalierte und inspiratorische Phase für inhalierte VOC Konzentrationen) und anschließend auswerten.	18
Abb. 5: Normierte Acetonkonzentrationen eines Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 und eines gesunden Probanden im zeitlichen Verlauf über 9 Stunden. Alle 5 Minuten wurden die Echtzeitmessungen für je eine Minute durchgeführt und über diesen Zeitraum gemittelt. Die Fehlerbalken zeigen die Variabilität der einzelnen Messwerte in diesem Zeitbereich an.....	19
Abb. 6: VOC-Profil im Vergleich zwischen Diabetikern (links) und Kontrollen (rechts); Die Messdaten sind auf die Maximalwerte normiert;	22
Abb. 7: Aceton- (links) und Isoprenkonzentrationen (rechts) im Atemgas in ppbV im Vergleich zwischen Diabetikern und Kontrollen; Median, 25- und 75-Perzentil; * signifikanter Unterschied ($p < 0,05$);	23
Abb. 8: Pentanal- (links) und Ethanolkonzentrationen (rechts) im Atemgas in ppbV im Vergleich zwischen Diabetikern und Kontrollen; Median, 25- und 75-Perzentil; * signifikanter Unterschied ($p < 0,05$);	23
Abb. 9: Isopropanol- (links) und Dimethylsulfidkonzentrationen (rechts) im Atemgas in ppbV im Vergleich zwischen Diabetikern und Kontrollen; Median, 25- und 75-Perzentil; * signifikanter Unterschied ($p < 0,05$);.....	24
Abb. 10: Phenol- (links) und Cyclohexanonkonzentrationen (rechts) im Atemgas in ppbV im Vergleich zwischen Diabetikern und Kontrollen; Median, 25- und 75-Perzentil; * signifikanter Unterschied ($p < 0,05$);	24
Abb. 11: Trimethylbenzol- (links) und Limonenkonzentrationen (rechts) im Atemgas in ppbV im Vergleich zwischen Diabetikern und Kontrollen; Median, 25- und 75-Perzentil; * signifikanter Unterschied ($p < 0,05$);.....	24

Abb. 12: Regressionsanalyse von Acetonkonzentration der Alveolarphase und
Blutglukosekonzentration 25

Abb. 13: Regressionsanalyse von Acetonkonzentration der Alveolarphase und HbA1c..... 26

Abb. 14: Regressionsanalysen von Isoprenkonzentration der Alveolarphase der Diabetiker,
der Kontrollen sowie beider Probandengruppen und deren Alter 28

10. Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Epidemiologische Daten der Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1; SDS BMI – Standard-Deviation-Score Body-Mass-Index; HbA1c – glykiertes Hämoglobin;	10
Tab. 2: Epidemiologische Daten der gesunden Probanden; SDS BMI – Standard-Deviation-Score Body-Mass-Index;	11
Tab. 3: VOC- Intensitäten in Counts [Median (25-Perzentil; 75-Perzentil)]; p bezieht sich auf den Vergleich zwischen Diabetikern und Kontrollen (Mann-Whitney);	21
Tab. 4: VOC- Konzentrationen in ppbV [Median (25-Perzentil; 75-Perzentil)]; p bezieht sich auf den Vergleich zwischen Diabetikern und Kontrollen (Mann-Whitney);	23
Tab. 5: Spearman Korrelationskoeffizient von Blutglukose und VOC-Konzentrationen im Atemgas der Diabetiker	25
Tab. 6: Spearman Korrelationskoeffizient von HbA1c und VOC-Konzentrationen im Atemgas der Diabetiker	26
Tab. 7: Spearman Korrelationskoeffizient vom Alter und VOC-Konzentrationen im Atemgas der Diabetiker	27
Tab. 8: Spearman Korrelationskoeffizient vom Alter und alveolaren Isoprenkonzentrationen der Diabetiker, der Kontrollen sowie beider Probandengruppen	28
Tab. 9: Spearman Korrelationskoeffizient von SDS BMI und VOC-Konzentrationen im Atemgas der Diabetiker	29
Tab. 10: Spearman Korrelationskoeffizient von Erkrankungsdauer und VOC-Konzentrationen im Atemgas der Diabetiker	30
Tab. 11: VOC-Konzentrationen in ppbV [Median (25-Perzentil; 75-Perzentil)] bzw. [Mittelwert (Standardabweichung)]; p bezieht sich auf den Vergleich zwischen männlichen und weiblichen Diabetikern (Mann-Whitney- bzw. t-Test);	30
Tab. 12: VOC-Konzentrationen in ppbV [Median (25-Perzentil; 75-Perzentil)] bzw. [Mittelwert (Standardabweichung)]; p bezieht sich auf den Vergleich zwischen Diabetikern mit Insulinspritze und Diabetikern mit Insulinpumpe (Mann-Whitney- bzw. t-Test);	31

11. Eidesstattliche Erklärung

Ich versichere eidesstattlich durch eigenhändige Unterschrift, dass ich die Arbeit selbstständig und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Alle Stellen, die wörtlich oder sinngemäß aus Veröffentlichungen entnommen sind, habe ich als solche kenntlich gemacht. Die Arbeit ist noch nicht veröffentlicht und wurde auch keiner anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Bergisch Gladbach, 21.12.2020

Josephine Happ

12. Danksagung

Hiermit danke ich Herrn Prof. Dr. Jochen Schubert für die Vergabe des Promotionsthemas an mich, die Betreuung meiner Dissertation und die stetige Unterstützung durch viele anregende Kommentare.

Ebenfalls geht mein Dank an Frau Prof. Dr. Dagmar-Christiane Fischer für die Kooperation mit der Kinder- und Jugendklinik der Universitätsmedizin Rostock.

Des Weiteren danke ich der „Arbeitsgruppe RomBAT“ der Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und Intensivtherapie der Universität Rostock für die gute Zusammenarbeit und Unterstützung während der gesamten Promotion.

Insbesondere gilt mein Dank hierbei Herrn Dr. Wolfram Miekisch für die produktive Betreuung während der gesamten Dissertation, Frau Dr. Patricia Fuchs für die außerordentliche Hilfsbereitschaft, Herrn Dr. Phillip Trefz und Frau Dr. Juliane Obermeier für die gute Zusammenarbeit während der Atemgasmessungen und der Datenauswertung.

Im Weiteren danke ich Sophie von Keyserling und Leokadia Fötisch für die Hilfe bei der Probandenrekrutierung und der Blutprobengewinnung.

Außerdem geht mein Dank an meine Eltern, die mich in jeder Lebenslage stets motiviert und unterstützt haben sowie an meinen Freund Johann und unsere Kinder Aaron und Linus, die immer für mich da sind und mir jeden Tag aufs Neue große Freude bereiten.

13. Lebenslauf

Persönliche Daten

Name Josephine Happ
Geburtsdatum/ -ort geb. am 03.11.1989 in Frankfurt (Oder)
Staatsangehörigkeit deutsch

Schulische Ausbildung

2002 bis 2009: Carl-Friedrich-Gauß-Gymnasium Frankfurt (Oder)
Juli bis September 2008: Au Pair in Oxford, England
Juni 2009 Abitur

Hochschulausbildung

2009 bis 2015 Humanmedizinstudium, Universität Rostock
September 2011 1. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
Oktober 2014 2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
Dezember 2015 3. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
und Approbation als Ärztin

Promotion

Seit Juni 2012 Universität Rostock
Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und Intensivtherapie
Prof. Dr. med. Dipl. chem. Jochen Schubert
„Untersuchung des Atemgasmetaboloms bei pädiatrischen
Patienten mittels Echtzeit-Massenspektrometrie“

Pflegepraktika

Juli bis September 2009 Klinikum Frankfurt (Oder) GmbH
Neurologie, Pädiatrie, Geburtshilfe

Famulaturen

Februar/März 2012	Klinikum Frankfurt (Oder) GmbH – Dr. med. Gunkel Kardiologie und Angiologie
Juli/August 2012	Universitätsklinikum Rostock – Prof. Dr. med. Klar Allgemein- und Viszeralchirurgiechirurgie
September 2012	Praxis für Allgemeinmedizin, Frankfurt (Oder) - Drs. med. Gerecke & Hellwig
März 2013	Broadgreen Hospital, Liverpool – Dr Sharpe Dermatologie
Juli 2013	Praxis für Gynäkologie, Rostock - Dr. med. M. Rüting & Frau S. Rüting
August 2013	Broadgreen Hospital, Liverpool – Mr Panarese Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde

Praktisches Jahr

November 2014 bis	Klinikum Südstadt Rostock – PD Dr. med. Rösner
März 2015	Anästhesiologie und Intensivmedizin
März bis Mai 2015	Mater Die Hospital, Malta – Mr Darmanin Plastische Chirurgie
Mai bis Juni 2015	Klinikum Südstadt Rostock – Prof. Dr. med. Ludwig Allgemein-, Viszeral-, Thorax- und Gefäßchirurgie
Juni bis Oktober 2015	Klinikum Südstadt Rostock – Prof. Dr. med. Kneitz Rheumatologie und Immunologie

Berufliche Tätigkeit

Seit August 2016	Ärztin in Weiterbildung Ev. Krankenhaus Bergisch Gladbach – Prof. Dr. med. Hermann Innere Medizin
------------------	---