

Diplomarbeit

**Untersuchung von flüchtigen organischen Verbindungen bei  
Kindern im Alter von 6-16 Jahren mit angeborener Zwerchfell-  
hernie im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe**

Eingereicht von

**Lukas Schabl**

Zur Erlangung des akademischen Grades

**Doktor der gesamten Heilkunde  
(Dr. med. univ.)**

an der

**Medizinischen Universität Graz**

ausgeführt an der

**Universitätsklinik für Kinder- und Jugendchirurgie**

unter der Anleitung von

**Dr. Gert Warncke**

**Assoz. Prof. PD. Dr. Georg Singer**

**Graz, 11. Februar 2020**

## Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, 11.02.2020

Lukas Schabl eh

# Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung .....	5
Abstract.....	6
Glossar und Abkürzungen .....	7
Abbildungsverzeichnis .....	8
Tabellenverzeichnis .....	8
1 Definition .....	9
2 Klassifikation .....	9
3 Anatomie .....	11
4 Funktion .....	12
5 Epidemiologie .....	12
6 Ätiologie.....	13
6.1 Syndrome .....	13
6.2 Chromosomale Anomalien .....	14
6.3 Biologische Wege .....	14
6.4 Familiäre Häufung .....	15
6.5 Umweltfaktoren .....	15
7 Embryologie .....	15
8 Pathogenese.....	16
8.1 Herz.....	18
8.2 Lunge .....	18
8.3 Abdomen.....	18
9 Therapie.....	19
9.1 Pränatale operative Behandlung .....	19
9.2 Geburtstermin .....	20
9.3 Postnatale nichtoperative Therapiemaßnahmen .....	21
9.4 Postnatale operative Behandlung.....	24
10 Prognose .....	26
11 Spätkomplikationen.....	29
11.1 Pulmonal .....	29
11.2 Kardiovaskulär.....	32
11.3 Gastrointestinal .....	32
11.4 Somatische Anomalien .....	33
11.5 Hernienrezidiv .....	34

11.6	Neurologisch .....	35
11.7	Verhalten, soziale und emotionale Kompetenz .....	35
12	Flüchtige organische Verbindungen/Volatile organic compounds (VOCs).....	36
12.1	Pulmonale Erkrankungen.....	37
12.2	Onkologische Erkrankungen.....	39
12.3	Extrapulmonale Erkrankungen .....	40
13	ProbandInnen und Methodik .....	42
13.1	ProbandInnen .....	42
13.2	Pulmonale VOCs .....	42
13.3	Fäkale VOCs.....	46
13.4	Gaschromatographie .....	47
13.5	Massenspektrometrie .....	48
13.6	Statistische Auswertung.....	48
13.7	Ethikantrag.....	49
14	Resultate .....	50
14.1	Pulmonale VOCs .....	52
14.2	Fäkale VOCs.....	54
15	Diskussion .....	56
16	Anhang .....	71

## Zusammenfassung

### Einleitung

Nach wie vor steht die angeborene Zwerchfellhernie (CDH) im Fokus der Forschung, da Ätiologie und Pathogenese weiterhin nicht endgültig geklärt sind. Während der primäre Verschluss des Zwerchfelldefekts in vielen Fällen erfolgreich ist, sind PatientInnen meist ein Leben lang von Komorbiditäten wie pulmonaler Hypoplasie, gastroösophagealem Reflux, rezidivierenden Infekten und Weiterem betroffen. Flüchtige organische Verbindungen (volatile organic compounds, VOCs) werden in unterschiedlichen Erkrankungen, wie etwa zystischer Fibrose, Asthma bronchiale und Tumorerkrankungen, erforscht und zeigen vielversprechende Ergebnisse im Hinblick auf Pathogenese, Diagnostik und Therapie. Ziel der Studie war der Vergleich von exhalativen VOCs in CDH-PatientInnen mit einer gesunden Kontrollgruppe.

### Methodik

In einer prospektiven Single-Center-Studie wurden volatile organische Verbindungen in der Ausatemluft und Stuhl in Überlebenden einer CDH gemessen. Wir rekrutierten 9 ProbandInnen nach CDH im Alter von 6 bis 16 Jahren und eine vergleichbare Kontrollgruppe gesunder Kinder. Die Ausatemluft wurden mittels automatischem alveolar-getriggerten Probenahmegefäß gesammelt. VOCs aus den Stuhlproben wurden mittels „solid phase micro-extraction“ (SPME) gesammelt. Die Analyse der pulmonalen und fäkalen VOCs wurde mittels gekoppelter Gaschromatographie-Massenspektrometrie durchgeführt.

### Ergebnisse

Körpergröße, -gewicht und BMI waren vergleichbar in beiden Gruppen. In der analysierten Ausatemluft lag bei CDH-PatientInnen eine signifikante Verringerung von Aceton ( $p=0.002$ ) und 2-Methylbutan ( $p=0.038$ ) und eine signifikante Erhöhung von Cyclohexan ( $p=0.004$ ) vor. Es bestanden keine signifikanten Unterschiede im VOCs-Profil der Stuhlproben.

### Diskussion

In dieser Studie wurde erstmals eine Analyse von fäkalen und pulmonalen VOCs bei CDH-PatientInnen durchgeführt. Die pulmonalen VOCs zeigen einen Anstieg an Cyclohexan, welcher bereits im Zusammenhang mit Lungenkrebszellen und infiziertem Lungengewebe beschrieben wurde. Eine Verringerung von Aceton wurde bisher nur selten beobachtet, unter anderem in Fällen von Ventilator-assoziiertes Pneumonie. Größer angelegte und multizentrische Studien werden benötigt, um die vorliegenden Ergebnisse zu bestätigen.

## Abstract

### Objective

Congenital diaphragmatic hernia (CDH) is a rare malformation and aetiology, pathogenesis and therapy still remain in the focus of research. While the defect of the diaphragm can be successfully repaired in many cases, patients are often affected by long-term comorbidities such as pulmonary hypoplasia, respiratory infections, failure to thrive and gastroesophageal reflux. Volatile organic compounds (VOCs) have been studied in other diseases such as asthma and cystic fibrosis and have shown promising results in diagnostics and therapy monitoring. The objective of this study was to compare VOCs of CDH-patients to a healthy age- and sex-matched control group.

### Methods

In a prospective single-center-study pulmonary and fecal VOCs were measured in 9 CDH-survivors at the age of 6-16 years. Results were compared to a healthy sex- and age-matched control group. Exhaled breath VOCs were sampled applying needle-trap microextraction and automatic alveolar-triggered sampling. Fecal VOCs were examined in stool samples using “solid phase microextraction”. Samples were then analysed using gas chromatography and mass spectrometry.

### Results

Size, bodyweight and BMI were not statistically different in both groups. Exhaled breath analysis revealed a significant decrease in acetone ( $p=0.002$ ) and 2-methylbutane ( $p=0.038$ ) and significantly increased levels of cyclohexane ( $p=0.004$ ) in the CDH group. No significant differences were found in fecal VOCs profile.

### Discussion

This study represents the first analysis of fecal and pulmonary VOCs-profile in CDH-survivors. Findings of elevated cyclohexane have already been described with lung cancer cells and infected lung tissue. A decrease in acetone was also found in ventilator-associated pneumonia. Further large scale and multicentric studies will be needed to confirm these findings.

## Glossar und Abkürzungen

Abb	Abbildung
CDH	congenital diaphragmatic hernia; angeborene Zwerchfellhernie
CMV	conventional mechanical ventilation; konventionelle mechanische Beatmung
ECMO	extracorporeal membrane oxygenation, Extrakorporale Membranoxygenierung
FETO	fetal tracheal occlusion
FiO <sub>2</sub>	inspiratorische Sauerstofffraktion
HFOV	Hochfrequenz-Oszillations-Ventilation
VOC	volatile organic compound; flüchtige organische Substanz
MIS	minimal invasive surgery; minimal-invasive Operation
NO	Stickstoffmonoxid
NTD	needle trap device
ORS	open repair surgery; offene Operation
o/e-LHR	observed/expected-lung-to-head-ratio
o/e-TFLV	observed/expected-total-fetal-lung-volume

## Abbildungsverzeichnis

Abb. 1.: Schema der Messstation, pulmonale VOCs.....	45
Abb. 2.: Messstation, pulmonale VOCs/Probenabnahmekoffer.....	45
Abb. 3.: Schema Gaschromatographie.....	47
Abb. 4: ProbandInnenrekrutierung.....	50
Abb. 5: Heatmap, Dendrogramm und Boxplot der pulmonalen VOCs.....	53
Abb. 6: Heatmap, Dendrogramm und Boxplot der fäkalen VOCs.....	55

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: CDH-PatientInnen Charakteristika präsentiert als Median (IQR).....	51
Tabelle 2: Anthropometrische Daten der CDH- und Kontrollgruppe als Median präsentiert (IQR).....	51

## Anhang

Anhang 1: Nachweis- (LOD) und Bestimmungsgrenze (LOQ) der Referenzsubstanzen, gemessen in der Ausatemluft durch „needle-trap micro-extraction“ (NTME) .....	71
Anhang 2: Nachweis- (LOD) und Bestimmungsgrenze (LOQ) der Referenzsubstanzen, gemessen in den Stuhlproben durch “solid phase micro-extraction” (SPME).....	72

## 1 Definition

Die angeborene Zwerchfellhernie (engl. congenital diaphragmatic hernia; CDH) beschreibt eine pränatale Fehlbildung, bei der eine Diskontinuität (Öffnung) des Zwerchfells durch inkompletten Verschluss oder seltener einer verminderten Muskularisierung während der Embryonalphase entsteht. Durch diese Öffnung können abdominelle Organe in den Thoraxraum prolabieren. Die Lungenentwicklung kann behindert werden und Komplikationen wie eine Lungenhypoplasie oder eine persistierende pulmonale Hypertonie können auftreten (1). Die CDH kann als eigenes Krankheitsbild oder assoziiert mit anderen Fehlbildungen auftreten (2, 3).

## 2 Klassifikation

Je nach Lokalisation werden verschiedene Untergruppen der CDH beschrieben. Grob werden anteriore von posterioren Zwerchfeldefekten unterschieden.

Die linksseitigen Hernien treten mit einer Häufigkeit von 80-90% viel häufiger als die rechtsseitigen auf (4, 5). Dieser Häufigkeitsverschiebung liegt die embryologische Entwicklung zugrunde, bei der sich der posteriore und linke später als der anteriore und rechte Anteil des Zwerchfells vervollständigt (6, 7). Häufigkeitsangaben sind mit Vorsicht zu betrachten, weil die hohe Variabilität der Defekte und oft fehlende Lageangabe gegebenenfalls schwer mit der starren Klassifikation in Einklang zu bringen sind (5). Zusätzlich ist zu beachten, dass sehr selten bilaterale Defekte aber auch Kombinationen von unterschiedlichen Zwerchfellhernientypen ipsilateral beschrieben werden (1, 8). Trotzdem hat sich die nachfolgende Einteilung etabliert (1, 9).

### 2.1 Posterolaterale Zwerchfellhernie

#### Bochdalek-Hernie

Tritt die Fehlbildung im posterioren, meist posterolateralen Bereich des Zwerchfells auf, handelt es sich, ob links oder rechts, um eine Bochdalek-Hernie. In einzelnen Fällen ist der muskuläre Streifen, welcher das Verbindungsstück zwischen Bindegewebe und Thoraxwand darstellen sollte, nur minimal ausgeprägt oder nicht vorhanden. Findet sich zusätzlich zur fehlenden posterioren Muskulatur noch ein starker Verlust des Hemi-Diaphragmas, ist von einer Zwerchfellagenesie als Maximalform der Bochdalek-Hernie die Rede.

Die Bochdalek-Hernie ist mit einem Anteil von 90-98% (15-20% rechtsseitig) die häufigste Art der angeborenen Zwerchfellhernien (1, 5, 9).

## 2.2 Non-posterolaterale Zwerchfellhernien

Aus einer Meta-Analyse von 12 Studien, die pränatal diagnostizierte CDH betrachteten, ließ sich ein 2%iger Anteil der non-posterolateralen und bilateralen Hernien nachweisen (5).

### Retrosternale/kostosternale Hernien

Die Morgagni-Hernie, welche im Bereich des gleichnamigen Foramens im vordersten Teil des Zwerchfells auftritt, befindet sich rechtsseitig. Das Foramen Morgagni stellt normalerweise die physiologische Durchtrittsstelle für die superiores Arteria und Vena epigastrica dar (7, 10). Da es sich in den meisten Fällen um keinen vollständigen Defekt handelt, sondern um eine Schwachstelle, welche erst bei erhöhtem abdominellen Druck nachgibt, wird die Morgagni-Hernie öfter im Erwachsenen- als im Kindesalter entdeckt. Prolabieren Bauchorgane durch das muskelfreie linksseitige Areal, bezeichnet man den Defekt als Larrey-Hernie. Beide Defekte treten meist, und zwar in 95% der Fälle, in Zusammenhang mit einem Prolaps im Herniensack auf (7, 9, 11).

### Zentrale Hernien

Zentrale Hernien sind eine Rarität unter den angeborenen Zwerchfellhernien, wodurch sich in der Literatur bisher nur 17 Fallberichte finden. Das Centrum tendineum diaphragmatis liegt unter dem Pericardium und ist mit diesem über das Ligamentum pericardiophrenicum verwachsen. Zentrale Hernien entstehen durch einen Defekt an der Stelle des Centrum tendineum (12).

### Zwerchfelleventration

Das Zwerchfell fehlt nicht immer zur Gänze, sondern kann sich ebenfalls in seinem muskulären Aufbau nur verdünnt darstellen, beziehungsweise kann die normale Muskelschicht durch ein dünnes membranöses Blatt ersetzt sein. Es wird vermutet, dass dem ein verringerter Einwuchs von Myoblasten von der Thoraxwand während der embryologischen Entwicklungsphase zu Grunde liegt. Dies hat zur Folge, dass sich Teile des Zwerchfells, vom Bauchdruck gezwungen, stark nach kranial verschieben und sich mit Bauchorganen gefüllte Ausstülpungen im Brustraum bilden (6, 7).

Da es sich mehr um eine Schwachstelle als eine Lücke handelt, manifestieren sich Symptome meist erst im Verlauf der ersten zwei Lebensjahrzehnte oder unter Umständen gar nicht. Zu beachten ist allerdings, dass sich auch ohne Prolaps von abdominellen Organen

Lungenhypoplasie und pulmonale Hypertonie entwickeln können (13).

Da sich bisher keine konkreten Unterscheidungskriterien zwischen einer Zwerchfellausdünnung und einer Zwerchfellhernie mit Herniensack etabliert haben, besteht die Möglichkeit, dass sich diese Krankheitsbilder überlappend präsentieren (9). Ebenfalls müssen diese von kongenitalen Zwerchfellparenen, meist geburtstraumatisch, unterschieden werden (6, 7).

### Hiatushernie

Die zu 90% auftretende axiale Gleithernie wird diagnostiziert, wenn der untere Ösophagussphinkter nach kranial gleitet und dabei den Magenfundus mitzieht. Weniger häufig bleibt der untere Ösophagussphinkter fixiert, während der Magen teilweise oder komplett am Ösophagus vorbeiprolabiert. Dies wird als paraösophageale Gleithernie bezeichnet (7). Auch wenn es zu einem Prolaps von Bauchorganen in den Thoraxraum kommen kann, zählen sie nicht per se zu den angeborenen Zwerchfellhernien. Da den Hiatushernien ein zu großer Hiatus (= Passagestelle der Speiseröhre durch das Zwerchfell) zu Grunde liegt und damit auch eine andere Pathogenese als bei den CDH, spricht man von „angeborenen Hiatushernien“. Hiatushernien können jedoch auch im Erwachsenenalter auftreten. Dann werden sie als „erworben“ bezeichnet (6).

## 3 Anatomie

Das Zwerchfell (lat. Diaphragma; engl. diaphragm) ist eine horizontal im Körper liegende zweikuppelige Platte mit zentraler Einkerbung. Seine lateralen muskulären Anteile sind rund um das sehnige Zentrum, das so genannten „Centrum tendineum“, aufgefächert. Es stellt eine Barriere zwischen Brust- und Bauchraum dar und enthält 3 große und mehrere kleinere Öffnungen, durch die wichtige Strukturen verlaufen.

Der *Hiatus aorticus*, eine Öffnung, durch welche die Aorta in den Bauchraum eintritt, findet sich leicht links und ventral des 12. Brustwirbelkörpers. Zusammen mit der Aorta passieren hier der Ductus thoracicus und manchmal auch die Vena azygos und die Vena hemiazygos das Zwerchfell.

Der *Hiatus oesophageus* ist ventral der Aorta auf Höhe des 10. Brustwirbelkörpers angelegt. Durch ihn passieren die Speiseröhre, der Plexus oesophageus als Verbindung des linken und des rechten Nervus vagus, lymphatische Gefäße und Abschnitte der ösophagealen Blutversorgung.

Das *Foramen venae cavae* befindet sich rechts der beiden und weiter ventral auf Höhe der 8. und 9. Brustwirbelkörper. Zusammen mit der Vena cava inferior passiert ein Teil des

rechten Nervus phrenicus das Zwerchfell.

Entwicklungsbedingt treten beidseitig Areale auf, in denen die Muskulatur durch lockeres Bindegewebe ersetzt wurde. Diese Areale befinden sich retrosternal zwischen den Muskelzügen und sind die Passagelassen von Lymphgefäßen und den Arteriae epigastricae superiores. Sie werden Foramina Morgagni genannt (10, 14).

## 4 Funktion

### Atmung

Das Zwerchfell ist der wichtigste Muskel des Atemmechanismus. Gleichzeitig helfen die Bauchwandmuskulatur und die externe Zwischenrippenmuskulatur bei der Inspiration und die interne interkostale Muskulatur bei der Expiration. Während der Inspiration sind die untersten Rippen fixiert und erlauben eine Kontraktion des Zwerchfells. Während sich dieses abflacht, sinkt das Centrum tendineum am tiefsten und stößt auf abdominelle Organe. Dort wirkt es als Fixpunkt und ermöglicht die weitere Kontraktion der Zwerchfellfasern. Die 2. bis 10. Rippe werden angehoben und die unteren Rippenanteile drehen sich nach außen.

Während der Expiration erschlafft das Zwerchfell, wird kopfwärts verschoben und nähert sich durch die elastischen Rückstellkräfte des Brustkorbs und der Lunge und dem Bauchraumdruck seiner Ausgangsposition an. Ebenfalls weichen die Rippen zurück und verringern die Ausdehnung des Brustkorbdurchmessers (10).

## 5 Epidemiologie

Die CDH wird mit einer Inzidenz von 2,4-4,9 pro 10.000 Geburten beschrieben (4, 9, 15, 16).

Unterschiede in den Angaben könnten auf abweichende Einschlusskriterien beruhen, durch die Schwangerschaftsabbrüche oder Totgeburten bei CDH nicht berücksichtigt werden. Ebenfalls bezogen sich einige Studien ausschließlich auf posterolaterale Hernien (15, 16), wohingegen andere auch non-posterolaterale (4) einschlossen. Eine weitere Einschränkung liegt vor, da das Risiko besteht, dass Todesfälle außerhalb von Geburtzentren nicht in wissenschaftliche Register aufgenommen werden (4, 16). Ein erhöhtes Risiko für den Erwerb von sowohl isolierten als auch komplexen (s. u.) CDH für das männliche Geschlecht lässt sich bei einer M:F Ratio von 1:0,69-0,77 erkennen (4, 15, 16).

Auffällig sind starke geographische Abweichungen in der Prävalenz. So zeigten sich in einer Auswertung von 12.155.491 Geburten von 1980 bis 2009 in Europa Unterschiede von bis zu 2,71 Geburten pro 10.000. Dies mag dem bereits langen Bestehen der Register in den Regionen hoher Prävalenz und einer damit einhergehenden besseren Registrierung zugeschrieben werden. Es könnte allerdings auch ein Zeichen für eine erhöhte Exposition eines unbekanntes Risikofaktors sprechen (15).

Die Inzidenz sollte auch in Bezug auf den Phänotypen der Zwerchfellhernie bewertet werden. Dabei wird die isolierte von der komplexen CDH unterschiedlich betrachtet.

### Isolierte CDH

Ist neben der vorhandenen CDH keine weitere Anomalie erkennbar, handelt es sich um eine isolierte Zwerchfellhernie. Nicht betrachtet werden Anomalien, die aufgrund der Zwerchfellhernie entstanden sind oder denen man eine pathogenetische Assoziation nachsagt (z.B. pulmonale Hypoplasie, intestinale Malrotation) (9, 17).

### Komplexe CDH

Bestehen neben der vorhandenen CDH weitere Anomalien, wird eine komplexe CDH diagnostiziert. Diese Anomalien bilden mit der CDH anerkannte Syndrome (Fryn's Syndrom), beruhen auf chromosomalen Abnormalitäten (Trisomie 18) oder koexistieren ohne bekannten Zusammenhang. Bei einer Meta-Analyse aus dem Jahr 2000 zeigten sich diese mit einer Frequenz von 23,3-39,0% (5, 15). Die hohen Unterschiede in der Frequenz der Anomalien lassen sich teilweise auf unterschiedliche Ein-/Ausschlusskriterien, Beobachtungszeiträume, klinische Definitionen oder Ausprägungsformen von Anomalien zurückführen (18).

## 6 Ätiologie

### 6.1 Syndrome

Eine Anzahl an Anomalien, welche sich nicht als sekundär der CDH anrechnen lassen, bilden Muster, welche spezifischen genetischen Syndromen entsprechen. Die CDH selbst kann dabei Teil der Definition des Syndroms (Fryn's Syndrom) oder nur aufgrund erhöhter Prävalenz dem Syndrom (Cornelia de Lange Syndrom) zugeschrieben sein. Das am häufigsten dokumentierte Syndrom ist das Fryn's Syndrom (17).

## 6.2 Chromosomale Anomalien

Anomalien im Chromosomensatz zählen zu den Verdächtigen in der Ätiologie der CDH. Sowohl aneuploide Anomalien, vor allem Trisomie 13, 18, 21 und 45X, als auch strukturelle Anomalien, darunter Deletionen, Duplikationen, Translokationen und Inversionen, sind beschrieben (9, 17, 19). Eine ausführliche Liste struktureller Anomalien, bei denen mindestens drei PatientInnen mit CDH beschrieben worden sind, haben Holder et al. veröffentlicht (17). Da nur bei einem Bruchteil der mit Chromosomenanomalien oder Syndromen diagnostizierten PatientInnen eine CDH auftritt, liegt es nahe, dass auch hier Umweltfaktoren, genetische Prädisposition und stochastische Ereignisse eine Rolle in einer multifaktoriellen Genese spielen (17).

## 6.3 Biologische Wege

Tiermodelle und Gene in von Deletionen und/oder Duplikation betroffenen Loci sprechen auch für eine Beteiligung spezifischer Prozesse (17).

Die Vitamin A-Säure spielt besonders in der Lungen- und Zwerchfellentwicklung eine entscheidende Rolle. Dies wurde in mehreren Tiermodellstudien untersucht (20-22).

In Ratten, welche während ihrer Trächtigkeit Vitamin A-Säure-arm ernährt wurden, entwickelten sich Babys, bei denen in 25-40% der Fälle eine CDH beobachtet werden konnte (23). Anschließend konnte bei Ratten nachgewiesen werden, dass sich eine externe Zufuhr von Vitamin A-Säure reduzierend auf die Inzidenz von Nitrofen-induzierten CDH und positiv auf das Überleben auswirkt. Nitrofen wird als teratogener Stoff zur Induktion von CDH in Studien eingesetzt (20, 24). In einer kleinen Studie aus dem Jahr 1998 konnten Major et al. bei Neugeborenen mit CDH einen bis auf 50% erniedrigten Vitamin A-Säure-Spiegel erheben (25).

In der Studie von Andersen et al. war fast nie der ganze Wurf, der auf Vitamin A-Säure-Restriktion gesetzten Rattenmutter, betroffen. Es liegt daher nahe, dass die Vitamin A-Säure nicht allein zur Ausprägung der CDH, sondern eher zur Verstärkung oder Unterdrückung eines noch unbekanntes Prozesses führt (23).

Neben der Entwicklungsstörung durch Vitamin A-Säure werden noch weitere pathologisch veränderte Prozesse, wie COUP-TFII (Steroid/Thyroid-Hormonrezeptorfamilie) oder WT1 (spezifischer Zinkfinger in der Zwerchfellentwicklung) diskutiert (17, 22, 24, 26).

## 6.4 Familiäre Häufung

Während man nicht von einer Erbkrankheit sprechen kann, sind in der Literatur doch Familien beschrieben, bei denen zwei oder mehrere Verwandte von CDH betroffen sind. In diesen Fällen werden noch unbekannt genetische Zusammenhänge vermutet. Da die Gruppen von Betroffenen sehr heterogen auftreten, scheinen unterschiedliche Prozesse verantwortlich zu sein. Es könnten X-chromosomale, autosomal-dominante und -rezessive Muster sowie Konsanguinität involviert sein (9, 18).

## 6.5 Umweltfaktoren

Aufgrund der heterogenen Phänotypen von CDH-PatientInnen scheinen äußere Einflüsse während der Schwangerschaft zumindest bei einem Bruchteil der Betroffenen eine Rolle zu spielen. McAteer et al. sprechen sich in ihrer Studie aus dem Jahr 2014 für eine Rolle von Alkoholkonsum in der Schwangerschaft und präkonzeptionellen Diabetes aus. Alkohol modelliert Stoffwechselprozesse sowie den Vitamin A-Stoffwechsel und könnte somit zur Ätiologie der CDH beitragen (27).

## 7 Embryologie

Das Zwerchfell entwickelt sich im Laufe der 4.-12. Schwangerschaftswoche (SSW) und trennt damit den Brust- vom Bauchraum. Laut derzeitigem Wissensstand bildet es sich aus vier Hauptstrukturen: 1. Septum transversum, 2. pleuroperitonealen Membran, 3. dorsalem Mesenterium des Ösophagus, 4. muskulärem Einwuchs der lateralen Körperwände (6, 17).

### Septum transversum

Es tritt im Zuge der embryonalen Faltung etwas vor der 4. SSW hervor. Aus mesodermalem Gewebe gebildet, zeigt es sich anfangs der 4. SSW als der Körperhöhle ventrolateral anliegende Furche. Von dort ausgehend breitet es sich halbkreisförmig nach dorsal aus, um sich mit dem Mesenterium des Ösophagus zu verbinden. Es bildet sich eine Scheidewand zwischen Ösophagus und ventraler Körperwand. Beidseitig des Ösophagus bestehen dabei zwei Kanäle (Canalis pericardioperitonealis), welche Verbindungen zwischen Brust- und Bauchraum darstellen. Das Septum transversum wird später das Centrum tendineum bilden (6).

### Pleuroperitoneale Membran

Die rudimentären Lungenanlagen wachsen verdrängend in die pericardioperitonealen Kanäle ein. Bei diesem Vorgang kommt es durch die Verdrängung zur Furchenbildung an den Körperwänden. Die kaudalen Furchen dehnen sich von der dorsolateralen Körperwand nach ventral aus und verbinden sich mit dem Mesenterium des Ösophagus und dem entgegenkommenden Septum transversum. Dabei verschließt sich die rechte Seite vor der linken Seite. Es hat sich nun eine komplette Trennung der Bauch- von der Brusthöhle vollzogen. Beide Furchen werden als pleuroperitoneale Membran bezeichnet (6).

### Dorsales Mesenterium des Ösophagus

Das Mesenterium ist eine Bauchwandduplikatur, die eine Verbindung zwischen Ösophagus und Bauchwand herstellt und andere Strukturen, wie in diesem Fall Aorta und Vena cava inferior, führt. Sowohl Septum transversum als auch pleuroperitoneale Membran verbinden sich mit dem Mesenterium und bilden zusammen eine komplette Scheidewand. Durch einwachsende Myoblasten entstehen im späteren Verlauf ventral der Aorta die muskulären Zwerchfellschenkel (6).

### Muskulärer Einwuchs

Während der 9.-12. SSW wächst die Lunge weiter und drängt gegen die laterale Körperwand. Bei diesem Prozess verlagern sich Abschnitte der Körperwand und Myoblasten in die membranösen Anteile des zukünftigen Zwerchfells und es beginnt eine Muskularisierung der lateralen Zwerchfellränder (6).

Aktuelle Studien an Ratten zeigen, dass sich vorwiegend Muskelzellen in der pleuroperitonealen Membran bilden und dass das der Hauptgrund für die Muskularisierung sein könnte (28).

Mit Beginn der 10. SSW verlagern sich die bisher extraembryonal gelegenen Darmanteile in die neu entstandene, von der Brusthöhle getrennte, Bauchhöhle (6).

## 8 Pathogenese

Mehrere Theorien sind als Erklärungsmodell für die CDH entwickelt worden.

1. Die klassische Verdrängungstheorie begründet die mangelhafte Lungenentwicklung durch die vorzeitige Verlagerung der Darmrudimente (<10. SSW) in den Bauchraum (6). Hat sich das Zwerchfell bis zu diesem Zeitpunkt noch nicht lückenlos ausgebildet, kann es

zu einer Herniation der Bauchorgane in den Brustraum und dadurch zu einer Verdrängung der sich ausbildenden Lunge kommen (6, 28, 29).

2. Zu gleichem Resultat käme es, wenn ein verspäteter Verschluss der paarig angelegten pleuroperitonealen Kanäle angenommen wird. Diese sind posterolateral liegende Öffnungen, welche durch die Verbindung der dorsalen pleuroperitonealen Membran mit dem ventralen Septum transversum als letzte Stelle verschlossen werden (30).

3. Eine weitere Theorie besagt, dass dem Defekt im Zwerchfell eine pulmonale Hypoplasie vorangeht (31). Diese Theorie sieht sich durch zwei Argumente bestätigt:

a) Bei vorliegendem Zwerchfelldefekt zeigt sich nicht nur der Lungenflügel der betroffenen Seite hypoplastisch, sondern auch der kontralaterale Lungenanteil, wenn auch in geringerem Ausmaß. Die Hypoplasie der Gegenseite könnte allerdings auch durch die Verschiebung des Mediastinums und die folgende Kompression der Lunge entstehen (31).

b) In einer Studie wurde in Ratten nach einer Behandlung mit dem teratogenen Nitrofen in frühen Entwicklungsstadien eine hypoplastische Lunge ohne vorangehenden Zwerchfelldefekt provoziert. Die AutorInnen erwähnen allerdings, dass zu Studienzwecken exzessive Nitrofendosen verwendet wurden, welche nicht mit der normalen Alltagsexposition vergleichbar sind (31).

4. Der Nervus phrenicus innerviert das Zwerchfell. Aktuelle Studien haben gezeigt, dass der Nerv sich bei fehlerhafter Zwerchfellentwicklung verändert darstellt. Zum einen ist sein Durchmesser auf der betroffenen Seite verringert, zum anderen finden sich weniger phrenische Motorneuronen im ventralen Horn des Spinalkanals. Der Erklärungsansatz besagt, dass ein mangelhafter Nervus phrenicus für die fehlerhafte Zwerchfellentwicklung verantwortlich sein könnte (28, 29).

5. Im Rattenmodell konnten Nitrofen-induzierte Zwerchfelldefekte auf Bildungsstörungen innerhalb der pleuroperitonealen Membran als ein weiterer möglicher Grund identifiziert werden (22, 29, 32, 33).

## 8.1 Herz

Das Gesamt-, linksventrikuläre, septale und atriale Herzgewicht ist gegenüber der gesunden Vergleichsgruppe häufig signifikant verringert. Die Hypoplasie wurde durch eine identische „DNA-zu-Totalprotein-Ratio“ des linken Ventrikels zwischen CDH und einer vergleichbaren Kontrollgruppe bestätigt. Die linksventrikuläre Hypoplasie scheint eine Erhöhung des linksatrialen Drucks zu verursachen, was zu einem verringerten Rechts-Links-Shunt durch das Foramen ovale, weiter zu einem erhöhten Volumen im rechten Ventrikel und pulmonaler Hypertonie führt. Darauf folgt eine Erhöhung des Durchmessers des Ductus arteriosus und der Pulmonalarterie. Beide Durchmesseränderungen konnten sowohl im Tiermodell als auch im Vergleich bei Menschen nachgewiesen werden (34).

Das Ergebnis sind eine sekundäre Herzinsuffizienz und eine pulmonale Hypertonie, welche in erniedrigtem kardialen Auswurf, systemischem Blutdruck, erhöhtem Rechts-Links-Shunt, Hypoxie und Zyanose resultieren (34).

## 8.2 Lunge

Krankheitsbestimmend ist die pulmonale Hypoplasie, vor allem in Kombination mit einer pulmonalen Hypertonie (24). Bis jetzt ist ihre Pathogenese noch unklar, da sich zu der Theorie, dass sie rein durch die Raumforderung nach Herniation der Bauchorgane entsteht, auch andere Theorien, eine der Herniation vorangehenden Hypoplasie, entwickelt haben (siehe unter Pathogenese) (35). Die pulmonale Hypoplasie zeigt sich durch eine reduzierte Anzahl an Alveoli, Bronchi, eine inkomplette Auftrennung der Bronchien, eine verzögerte Alveolenentwicklung und eine abnormale Lungengefäßarchitektur (24, 36). Neben der pulmonalen Hypoplasie entsteht eine pulmonale Hypertension. Diese scheint sich nicht nur aufgrund einer generellen Verminderung der pulmonalen Gefäße, sondern vor allem wegen einer Verdickung der Adventitia und der Media der pulmonalarteriellen Gefäße zu entwickeln (24, 37).

## 8.3 Abdomen

Unter physiologischen Verhältnissen kommen die vorerst extraembryonal gelegenen Darmanlagen um die 10. SSW im Bauchraum zu liegen. Dort platzieren sie sich und üben durch ihr Volumen Druck auf die Bauchwände aus, wodurch diese zu Wachstum angeregt werden. Hernieren die Bauchorgane durch einen Zwerchfelldefekt, entsteht ein verminderter Druck

im Bauchraum, einhergehend mit einem verminderten Wachstumsreiz. Im Rahmen von großen Zwerchfelldefekten liegt ein ausgeprägter Enterothorax (Organe im Thorax) und eine leere Bauchhöhle vor. Dies hat zur Folge, dass sich postnatal auch Früh- bzw. Neugeborene mit einer eingefallenen Bauchdecke und kleinem Abdomen präsentieren.

Eine Reposition der Bauchorgane in die zu kleine Bauchhöhle im Rahmen der operativen Korrektur kann durch eine zu große, resultierende Spannung zu Komplikationen führen. Aufgrund von erhöhtem intraabdominellen Druck und damit verursachten, verringerten Blutfluss in der Vena cava inferior und den mesenterialen darmversorgenden Gefäßen besteht die Gefahr eines abdominellen Kompartmentsyndroms (1, 7). Zusätzlich können sich Wundheilungsstörungen und respiratorische Beeinträchtigungen entwickeln (7, 38).

Der Magen ist mit vier Bändern (gastrosplenisch, gastrophrenisch, gastrokolisch, gastrohepatisch) fixiert. Bei PatientInnen mit Zwerchfelldefekten können diese Bänder verlängert sein oder gar fehlen. Die verringerte Fixierung erhöht die Wahrscheinlichkeit einer Verdrehung von Darmabschnitten um ihre mesenteriale Achse (=Volvulus). Durchblutungsstörungen sind die Folge (7, 39).

## 9 Therapie

### 9.1 Pränatale operative Behandlung

In schwerwiegenden Fällen besteht die Möglichkeit einer „fetal tracheal occlusion“ (FETO). Dieser minimal invasive Eingriff hat zum Ziel, das Lungenwachstum zu fördern und einer Hypoplasie entgegenzuwirken. Während der Fetalphase sezerniert die Lunge Flüssigkeit in die zukünftigen Atemwege. Diese Flüssigkeit wird über fetale Atembewegungen in die Amnionhöhle drainiert (40). Die FETO verhindert diese Drainage, wodurch sich die Flüssigkeit aufstaut, Druck ausübt und somit das Lungenwachstum und Gefäßveränderungen anregen soll (37, 41).

Zwischen der 26. und der 29. SSW wird ein aufblasbares Okklusionssystem in die Trachea des Fetus eingebracht und mit isotoner Lösung insuffliert. Um die 39. SSW wird das System entweder ultraschallgezielt punktiert oder während eines zweiten Eingriffs entfernt. In einzelnen Fällen wurde die Entfernung auch erst im Rahmen der Sectio durchgeführt (1, 42, 43).

Studien zeigten, dass sich auch eine okkludierte Lunge nicht ident einer physiologischen Lunge entwickelt. So sind die Media und die Adventitia pulmonaler Gefäße verdickt, was zur postnatalen pulmonalen Hypertonie führt (24, 37). Ebenfalls scheint ein qualitatives und quantitatives Defizit des Surfactants, eine die Oberflächenspannung erhaltenden Substanz in den Alveolen, zu bestehen (41, 44). Zusätzlich wird die FETO nur bei PatientInnen in Betracht gezogen, welche anhand unterschiedlicher Kriterien, wie etwa der o/e-LHR (observed/expected-lung-to-head-ratio) oder dem liver up/down-Status ausgewählt werden. Die Überlebensrate liegt je nach Einschlusskriterien zwischen 37,9 und 49,4% (42, 45). Der CDH Euro Consortium Consensus spricht sich derzeit gegen einen Therapieversuch mittels FETO aus, solange Ergebnisse weiterer randomisierter Studien eindeutige positive Erkenntnisse vermissen lassen (46).

## 9.2 Geburtstermin

Eine fortgeschrittene Schwangerschaftsdauer in Richtung errechnetem Geburtstermin ist einerseits mit einer Senkung der Mortalität aber andererseits mit einer häufigeren Benutzung der ECMO (extrakorporale Membranoxygenierung) vergesellschaftet (46). Andere Studien zeigen keinen Unterschied zwischen einer Geburt zum Zeitpunkt <37. SSW (Schwangerschaftswoche), 37.-38. SSW, 39. SSW oder >39. SSW (46). Bisher konnte kein Vorteil der vaginalen Geburt oder des Kaiserschnitts gezeigt werden (46).

In Ermangelung eindeutiger Daten spricht sich der CDH EURO Consortium Consensus für eine Geburt nach der 39. SSW unter bestmöglichen klinischen Voraussetzungen aus (46).

Die physiologische Lungenreife wird durch körpereigene Steroide induziert und sollte um die 34. SSW abgeschlossen sein (47). Im Falle einer drohenden Geburt vor der 34. SSW sollte eine Lungenreifeinduktionstherapie durchgeführt werden. Diese beinhaltet eine pränatale Verabreichung von Steroiden, um den physiologischen Prozess der Lungenreifung zu unterstützen (46).

## 9.3 Postnatale nichtoperative Therapiemaßnahmen

### 9.3.1. Strategien zur Stabilisierung der Atmung

#### Konservative Beatmung

Derzeit wird eine sofortige Intubation nach der Geburt bei pränatal diagnostizierter CDH empfohlen, um eine Azidose und eine Hypoxie und damit das Risiko einer pulmonalen Hypertonie zu vermeiden (43, 46, 48-50). Durch Maskenbeatmung bestünde zudem die Gefahr durch Magenüberblähung die Lunge zu komprimieren und eine Ventilation zusätzlich zu erschweren (43). Auf eine Intubation kann verzichtet werden, sofern der Verzicht durch äußerst gute prognostische Werte (liver down, o/e-LHR >50%, etc.) und ExpertInnenmeinung begründet ist (46). Die Überblähung des Magens und die damit einhergehende Kompression der ipsilateralen Lunge sollten durch eine initiale Platzierung einer naso- oder orogastralen Sonde verhindert werden (46). Das Hauptziel besteht darin, eine adäquate Perfusion und Ventilation bei gleichzeitig niedrigem Atemwegsdruck zu etablieren. Das „CDH EURO Consortium“ aus dem Jahr 2015 und die „Canadian Congenital Diaphragmatic Hernia Collaborative“ aus 2018 sprechen sich für einen präduktalen Sauerstoffpartialdruck ( $SpO_2$ ) zwischen 80-95% aus (46, 48). In den ersten zwei Lebensstunden kann eine permissive Hyperkapnie mit Werten bis 70% toleriert werden, sofern sich eine Verbesserung ohne Beatmungsänderungen zeigt, die Perfusion ( $pH > 7,2$ ) und die Ventilation ( $PaCO_2 < 65$  mmHg, 8,6 kPa) suffizient sind (46). Der postduktale Sauerstoffpartialdruck sollte bei >70% liegen (46, 48). Der Sauerstoffanteil im Inspirationsvolumen ( $FiO_2$ ) sollte, wenn möglich, nicht bei 100% liegen, da sich Raumlufte ( $21\% FiO_2$ ) besser auf das Überleben auszuwirken scheint. Es sollte demnach, um eine ausreichende Ventilation zu gewährleisten, sich von unten an die minimal notwendige  $FiO_2$  herangetastet werden (46).

Die initiale konventionelle maschinelle Ventilation (CMV) erfolgt dabei vornehmlich druckkontrolliert, um beatmungsassoziierte Lungenschäden durch zu hohe Spitzendrücke zu vermeiden (46). Der inspiratorische Spitzendruck (peak inspiratory pressure = PIP) sollte wenn möglich unter 25 cmH<sub>2</sub>O, der positive endexpiratorische Druck (PEEP) mindestens 3-5 cmH<sub>2</sub>O und der Kohlenstoffdioxidpartialdruck ( $PaCO_2$ ) zwischen 50-70 mmHg liegen (46). Ist eine Stabilisierung der respiratorischen Situation der PatientInnen durch eine konventionelle Beatmung nicht möglich, sollte der Einsatz einer ECMO oder der Hochfrequenzventilation (HFOV) in Betracht gezogen werden. (46)

### Hochfrequenz-Oszillations-Ventilation (HFOV)

Durch die Verabreichung von Volumen können trotz druckkontrollierter Beatmung sogenannte Barotraumen (Schädigungen durch zu hohen Druck) oder Volutraumen (durch zu hohes Volumen) entstehen. Die HFOV kann u. a. diese Komplikationen reduzieren und gleichzeitig die Oxygenierung/Ventilation gegenüber der CMV verbessern. Der eingebaute Oszillator befördert Volumina, die ein Vielfaches unter dem physiologischen Totraumvolumen liegen, mit einer Frequenz von 10-15 Hz. Das entspricht in etwa 600-900 Atemzügen pro Minute. Durch die Oszillationen entsteht ein kontinuierlicher Gasaustausch auf allen Ebenen der Atemwege bei gleichzeitig verringertem Volumentransport. Durch diesen Gasaustausch sinkt die Höhe des benötigten Drucks zum Volumenaustausch (51).

### ECMO (Extrakorporale Membranoxygenierung)

Die bei der CDH eingesetzte ECMO besteht aus einer arteriellen und einer venösen Kanüle, einer Rollenpumpe, einem Oxygenator und einem Wärmeaustauscher (1). Die arterielle Kanüle wird im Zuge eines operativen Eingriffes in der Arteria carotis und die venöse Kanüle in der Vena jugularis oder dem rechten Vorhof platziert. Nach Aktivierung der ECMO sorgt die Rollenpumpe für einen kontinuierlichen Blutfluss zum Oxygenator. In diesem erfolgt die Sauerstoffanreicherung und die Kohlenstoffdioxidelimination an einer Silikonmembran. Das aufbereitete Blut wird anschließend über den Wärmeaustauscher auf die Körpertemperatur der PatientInnen adaptiert. Sobald die ECMO etabliert wurde, können Ventilation und Kreislaufunterstützung reduziert werden (1). Das Ziel ist unter anderem der Belastung der Lunge durch positiven Druck und Hyperoxie entgegenzuwirken. Thibeault et al. verglichen die Lunge von mit ECMO und ohne ECMO behandelten PatientInnen wobei sich eine verringerte Gefäßgesamtdicke nach ECMO Therapie zeigte. Dadurch hypothesisierten sie, dass sich eine ECMO Therapie positiv auf die pulmonale Hypertension auswirken könnte (52). Häufige Komplikationen, welche während der Therapie auftreten können, sind Dissektionen (7,5%), Embolien und Infarkte in der Lunge oder dem ZNS, intrazerebrale (9%) oder intrapulmonale Blutungen (14%) oder Konvulsionen (16%) (1, 51).

#### 9.3.2. Hämodynamik

Die Hämodynamik wird primär über den Blutdruck, das Urinvolumen und den Laktatgehalt überwacht. Sinkt der gemessene Blutdruck unter die alterstypische Untergrenze, das Urinvolumen unter 1 ml/kg/h, die kapilläre Füllungszeit unter drei Sekunden und steigt das Serumlaktat auf über 3 mmol/l, so sollten Diagnostika zur Beurteilung der kardialen Funktion

genutzt werden (48). Echokardiographie ist das bevorzugte Mittel, um Herzfehlbildungen, pulmonale Hypertension, Insuffizienzen von Rechts- und Linksherz sowie duktile oder intrakardiale Shunts zu detektieren und eine gezielte Therapie zu initiieren (46, 48).

Sinkt der präduktale SpO<sub>2</sub> auf <85% und/oder zeigt sich eine verringerte Organdurchblutung, dann sollte rasch eine Therapie der pulmonalen Hypertension eingeleitet werden (46), beispielsweise durch Stickstoffmonoxid (NO). NO wirkt an der glatten Muskulatur der Lungengefäße gefäßerweiternd (51). NO führt zu einer verbesserten Oxygenierung und verringertem Bedarf einer ECMO. Der Einsatz der ECMO steigt allerdings wieder mit Dauer der NO-Anwendung (46). Zusätzlich konnte kein Vorteil im Langzeitüberleben durch den Einsatz von NO nachgewiesen werden (53).

Bei Versagen des primären Therapieversuchs mit NO können Prostaglandine, Phosphodiesterase-5-Inhibitoren oder Endothelin-Antagonisten eingesetzt werden (46, 48).

*Prostaglandine* (PGE) binden an membranständige Prostaglandinrezeptoren und bewirken somit eine Vasodilatation, welche der Hypertonie entgegenwirkt. Kendall et al. konnten in ihrer Studie Verbesserungen in der Echokardiographie und des BNPs nach der Gabe von PGE nachweisen (54). Das „Brain Natriuretic Protein“ (BNP) wird für die Evaluation der Druckverhältnisse in den Ventrikel und somit auch der pulmonalen Hypertension verwendet. Mittels der Echokardiographie kann das Herz dargestellt werden und nach Anzeichen pulmonaler Hypertension gesucht werden. Dazu zählen etwa ein Reflux über der Trikuspidalklappe, ein gewölbtes Ventrikelseptum und ausgeprägter „Rechts-Links-Shunt“.

*Phosphodiesterase-5-Hemmer* (PDE5-Hemmer) verlangsamen den Abbau von NO und verstärken somit den vasodilatierenden Effekt. Cohen et al. zeigten in ihrer Studie (55) einen drucksenkenden Effekt von Sildenafil, dem bekanntesten PDE5-Hemmer, bei Kindern mit pulmonaler Hypertonie, darunter auch CDH-PatientInnen.

*Endothelin-Antagonisten* entfalten ihre Wirkung durch die Blockade der Rezeptoren des vasostringierenden Endothelins und verursachen dadurch eine Vasodilatation. Sie haben sich bei persistierender, pulmonaler Hypertonie bei Neugeborenen gegenüber Placebos überlegen gezeigt, indem nach der Applikation der Oxygenierungsindex und der Bedarf an mechanischer Ventilation sanken (56).

## 9.4 Postnatale operative Behandlung

### 9.4.1. Operationszeitpunkt

Wurde der Eingriff früher im Rahmen eines Notfalls durchgeführt, wird heute sehr viel Wert auf eine primäre Stabilisation des Neugeborenen gelegt. Ein signifikanter Unterschied im Hinblick auf das Überleben konnte im Vergleich der Operation unter 24 Stunden und über 24 Stunden nach Aufnahme am chirurgischen Zentrum nicht nachgewiesen werden (57). Ebenfalls konnten keinerlei Kriterien erhoben werden, die für den besten Zeitpunkt der Operation sprechen (48). Die American Pediatric Surgery Association zieht in ihrem Review den Schluss, dass der Operationszeitpunkt keine Auswirkungen auf das Überleben hat (53).

### 9.4.2. Operationstechniken

#### Laparotomie

Der abdominale Zugang wird am häufigsten durchgeführt. Hierbei wird auf der Seite des Defekts ein Oberbauchquerschnitt oder ein Oberbauchmittelschnitt mit ipsilateraler Umschneidung des Nabels durchgeführt. Die unterschiedlichen Zugangsarten erlauben den eventuellen Einsatz von unterschiedlichen Muskeln als Plastik.

Anschließend erfolgt die Präparation bis zur Sicht auf den Defekt. In dem die prolabierte Organe (Darm, Magen, Leber, Milz) vorsichtig in den Bauchraum zurückverlagert werden, wird die Hernie reduziert und es bietet sich der Blick auf die Brusthöhle. Nach Beurteilung der Lunge wird die dorsale Zwerchfelleiste freipräpariert und angefrischt, was eine bessere narbige Verheilung ergeben soll. Die Naht selbst erfolgt mit nicht-resorbierbarem Material. Liegt keinerlei dorsale Zwerchfelleiste vor, erfolgt die Naht an die dorsalen Rippen bzw. ihre Muskulatur. Gelingt es nicht, die beiden Zwerchfellränder spannungsfrei zu adaptieren wird der Einsatz eines Patches empfohlen. Dabei handelt es sich um ein konisch geformtes, resistentes und verträgliches Material, das in den Defekt eingenäht wird und so eine spannungsfreie Adaptierung ermöglicht. Ebenfalls sind der Einsatz von prärenal Faszie, Muskelplastiken vom M. latissimus dorsi, M. transversus abdominis oder M. obliquus internus beschrieben (1, 58).

#### Thorakotomie

Der thorakale Zugang erlaubt die sanfte Reposition der Bauchorgane durch kraniales Schieben in Fällen, in denen der Defekt klein und die Leber nicht prolabiert sind. Das Dehnen der Bauchdecke und die Anwendung eines abdominalen Patches sind nicht möglich (1).

### Thorakoskopie und Laparoskopie

Der minimal invasive Zugang erlaubt die Korrektur kleiner Defekte bei orthotoper Leberlage. Obwohl die Einlage eines Patches endoskopisch durchgeführt wird, ist die Umsetzung anspruchsvoll und zeitintensiv. Dies kann zu einer intraoperativen Änderung des Operationsverfahrens führen. Andere Gründe hierfür sind etwa ein zu großer Defekt oder die Unmöglichkeit der Organreposition. Vijfhuize et al. beschreiben nach einer Auswertung von 13 Studien für die Änderung des Operationsverfahrens eine durchschnittliche Wahrscheinlichkeit von 30% (59).

### Minimal-invasiv Operation (MIS) vs. offene Operation (ORS)

Weltweit werden aufgrund unterschiedlicher Faktoren sowohl die MIS als auch die ORS für die Behandlung der CDH gewählt.

Die Mortalität fällt in Studien für die MIS geringer aus als für die ORS. Dies kann allerdings nicht direkt der chirurgischen Technik zugeschrieben werden, da PatientInnen, welche für die MIS ausgewählt werden, sich mit kleineren Defekten und weniger Komorbiditäten präsentieren (59, 60).

Die Rezidivrate ist bei der MIS 3-4fach erhöht. Eine Verbesserung der Technik und der technischen Mittel könnten in Zukunft hier eventuell eine Verringerung der Differenz bewirken. Des Weiteren werden Patches, welche die Rezidivrate positiv beeinflussen, häufiger bei ORS verwendet (48, 59-62).

Die mediane Operationsdauer liegt bei der MIS um etwa 63 Minuten über der der ORS (59). MIS führt zu einer erhöhten Rate an Hyperkapnie. Diese steigert vor allem bei moderater oder schwerer pulmonaler Hypertension das Risiko für einen pulmonalen Vasospasmus, welcher zu intraoperativen Instabilität führen kann (43, 63).

MIS verringern das Risiko von sekundären, operationsbedürftigen Darmobstruktionen, während sie gleichzeitig mit einer höheren Rate an Wundinfektionen assoziiert sind. Ansonsten ließen sich keine Unterschiede in den operativen Komplikationen nachweisen (59, 64). Sowohl die postoperative Ventilation und die Dauer des gesamten Krankenhausaufenthaltes als auch der Zeitpunkt bis zur zufriedenstellenden enteralen Ernährung zeigen sich bei MIS verringert (59, 65).

In Zusammenschau mit den oben genannten Gründen wird derzeit mehrheitlich für eine offene Korrektur plädiert (48).

## Patch

Kleinere Defekte mit ausreichend vorliegenden Zwerchfellresten können primär spannungsfrei verschlossen werden. In ausgeprägteren Fällen oder gar Agenesien ist ein primärer Verschluss nicht möglich, weshalb die Anwendung eines Patch notwendig wird (66). Dabei handelt es sich um biologische (synthetische oder natürliche) oder nicht biologische Materialien, die die Öffnung zwischen nicht frei adaptierbaren Zwerchfellresten überbrücken (66). Zahlreiche Studien dokumentierten unterschiedlichste Ergebnisse bezüglich der Materialart, welche wahrscheinlich auf den Mangel von anerkannten Leitlinien bezüglich der Rezidivdokumentation, Einsatzzeitpunkt sowie Form des Patch und Operationsart zurückzuführen sind (66).

Das Canadian Congenital Diaphragmatic Hernia Collaborative überlassen die Anwendungsentscheidung der individuellen Expertenmeinung und empfehlen den Einsatz von Gore-Tex oder Polytetrafluoroethylen als Patchmaterial der Wahl. Beide sollten spannungsfrei in Form eines Kegels implantiert werden (48).

Weiters scheint der Einsatz von Patches sich generell negativ auf den Langzeitverlauf auszuwirken. Valfre et al. beobachteten ein höheres Risiko für Wachstumsrestriktion, gastrointestinalen Reflux und schlechtere Ergebnisse in Lungenfunktionstests (67, 68). Der schlechtere Langzeitverlauf darf allerdings nicht unkritisch auf die Anwendung eines Patches zurückgeführt werden, da Patches erst angewendet werden, wenn ein primärer Verschluss nicht möglich ist. Ein Patch spricht also für einen ausgeprägteren Defekt, der sehr wahrscheinlich die Ergebnisse des Langzeitverlaufs beeinflusst (67).

## 10 Prognose

Das Langzeitüberleben liegt trotz Errungenschaften in der Früherkennung und Therapie nach wie vor bei nur 60-80% (5, 16, 48, 69-71). Des Weiteren geht man von einem hohen Anteil an nicht erkannten Fällen (hidden mortality) aus. Diese entstehen durch Abruptio (3,8%), pränatale Mortalität (7,9%) und postnatale Mortalität (34,9%) in Einrichtungen, in denen kein Register geführt wird und die Daten somit nicht vermerkt werden (5).

Der Anteil der pränatalen Diagnosen liegt bei 46% für isolierte und bei 68% für komplexe Zwerchfellhernien (70). Um in diesen Fällen mit Eltern eine Abruptio, pränatale Intervention und generell die Prognose zu besprechen, werden prognostische Werte angewendet. Bis jetzt

hat sich jedoch noch kein Wert gezeigt, der allein die Prognose bestimmt. Aus diesem Grund wird aktuell eine Zusammenschau der zur Verfügung stehenden Werte empfohlen (72-74).

#### Lung-to-head-ratio (LHR)

Die LHR ist ein errechneter Parameter, welcher mittels 2-dimensionalem Ultraschall erhoben wird. Die Messung erfolgt nach zwei möglichen Modellen. Die „long axis method“ nach Metkus et al. (71) errechnet sich durch die Multiplikation des größten Längendiameters mit dem größten Breitendiameter der Lunge. Eine andere Möglichkeit wäre es, das Areal zu umfahren, um dadurch auf die Lunge zu schließen, was sich als genauer und daher aussagekräftiger gegenüber der ersten Methode herausstellte (72, 75). Bei beiden Methoden wird das Ergebnis dem Kopfdurchmesser gegenübergestellt.

Da sich die LHR im Laufe der Schwangerschaft verändert, wurde nachträglich die observed/expected-LHR (o/e-LHR) eingeführt, welche die gemessene LHR mittels Datenbanken mit dem Gestationsalter in Einklang bringt (76). In einer Meta-Analyse von Oluyomi-Obi T. et al. (73) zeigt sich ein signifikanter Unterschied der o/e-LHR im Vergleich der Überlebenden mit den Verstorbenen. Eine o/e-LHR <25% ist assoziiert mit einer Überlebenschance von 12,5-30%, eine o/e-LHR >35% mit einer Überlebenschance von 65-88% (73, 77).

#### Liver up/down

Durch den entstandenen Defekt im Zwerchfell kommt es in einer Vielzahl der Fälle zu einer Herniation der Bauchorgane. Ein vermehrter Anteil an Bauchorganen im Brustraum spricht für einen größeren Defekt und eine größere Raumforderung im Thorax. Die Position der Leber wird als prognostisches Mittel eingesetzt. Die Bildgebung geschieht über Ultraschall oder Magnetresonanztomographie (MRT). Hier trennt man eine abdominelle (liver down) von einer thorakalen Lage (liver up) der Leber. Der Status „liver up“ ist mit einer signifikant geringeren Überlebenschance (50%) im Vergleich zum Status „liver down“ (83,4%) assoziiert (74, 77). Weiters wurde versucht, einen Grenzwert festzulegen, ab welchem Anteil hernierter Leber die Mortalitätsrate steigt. Für die Herniation von über 20% der Leber wurde eine Spezifität von 82% und eine Sensitivität von 63% festgelegt (78).

Je größer der hernierte Leberanteil, desto höher ist die Mortalitäts- und Morbiditätsrate, der Sauerstoffbedarf am 30. Lebenstag und der Medikamentenbedarf nach Krankenhausentlassung zur pulmonalen Unterstützung (78).

### Observed/expected-total-fetal-lung-volume (o/e-TFLV)

Neben Ultraschall erfolgt auch der Einsatz der Magnetresonanztomographie. Mittels einer speziellen Anwendungsmethode, der Fastspinecho-Sequenz, werden aneinandergereihte Bilder gewonnen, auf denen sich das Volumen von Organen errechnen lässt. Dieser Vorgang wird für beide Lungenflügel durchgeführt und die Summe anschließend mit gesammelten Vergleichswerten aus einer Datenbank abgeglichen.

Eine signifikant schlechtere Prognose besteht, wenn die gemessenen Werte unter 35% der gesunden Vergleichswerte liegen. Ein o/e-TFLV unter 35% ist assoziiert mit erhöhter Mortalität (36% vs. 10%), erhöhtem Risiko für pulmonale Hypertension (72% vs. 47%), erhöhtem Bedarf an NO, ECMO, Sauerstoff und mechanischer Ventilation am 30. Lebenstag. (78) Für ein o/e-TFLV unter 35% wurden in anderen Studien auch höhere Mortalitätsraten angegeben (69, 74, 79).

### Zeitpunkt der Diagnosestellung

Pränatal diagnostizierte Zwerchfellhernien zeigen eine schlechtere Prognose als nicht erkannte CDH (70). Ein frühzeitiges Erkennen der Fehlbildung geht mit einem größeren Defekt und einem erhöhten Schweregrad der pulmonalen Hypertonie einher (70).

Gemäß Gallot et al. scheint eine pränatale Diagnose mit einer geringen Überlebenswahrscheinlichkeit einherzugehen. Dies wird vor allem auf assoziierte Morbidität zurückgeführt, welche zwar in vielen Fällen die Diagnosestellung erleichtern aber die Prognose verschlechtern (70). Metkus et al. führen speziell die 25. Schwangerschaftswoche als Grenzwert an, ab welchem sich die Prognose verbessert zeigt (71).

### Lateralität

Bisher besteht noch kein Konsens, ob der Seitenunterschied auch zu einem Unterschied im Langzeitüberleben führt. Einige Studien sprechen sich für eine erhöhte Mortalität der rechtsseitigen Hernie aus (79). Andere Studienergebnisse sprechen eher für eine gleichwertige Überlebenszeit, wodurch sich zum jetzigen Zeitpunkt noch keine konkrete Aussage treffen lässt (74, 80-82).

## Begleit anomalies

Zusätzliche Anomalien (siehe komplexe CDH) bestimmen den Verlauf ganz entscheidend. Sie werden mit einer Prävalenz von 23,3-39,5% erfasst (5, 15). Einzelne Studien beschreiben auch Zahlen bis 61,2% (18).

a. Anomalien im Rahmen von chromosomalen Syndromen: Trisomie 18, 13 oder 21 oder Tetrasomie 12p (15, 18).

b. Anomalie als Teil eines nicht chromosomalen Syndroms: Fryn's-Syndrom (1,3%), CHARGE-Syndrom, Fraser-Syndrom, de Lange-Syndrom oder dem Fetalen Alkoholsyndrom (83).

c. Anomalien ohne konkretes Syndrom oder chromosomaler Genese: **kardiale Anomalien** wie Ventrikel-/Vorhofseptumdefekt, Aortenisthmusstenose, hypoplastisches Linksherz; **urogenitale Anomalien** wie Hydronephrose; **Extremitätenanomalien** wie Klumpfuß, Polydaktylie oder Teilamputationen oder **zentralnervöse Anomalien** wie Spina bifida, Neuralrohrdefekte oder Hydrozephalus (15, 18, 84).

Die Meta-Analyse von Skari et al. zeigt eine bis zu 4-fach erhöhte Mortalität für PatientInnen mit assoziierten Anomalien gegenüber PatientInnen mit isolierter CDH (5).

## 11 Spätkomplikationen

Die Langzeitmorbidity und die Lebensqualität treten zunehmend in den Mittelpunkt des Interesses. Um bestmögliche Strategien für eine optimale Betreuung dieser PatientInnen über den Operationszeitpunkt hinaus zu entwickeln, werden zeitlich definierte Langzeitkontrollen empfohlen (48, 85-88).

### 11.1 Pulmonal

#### Pulmonale Hypoplasie

Die Lungenfunktion von CDH-PatientInnen wird stark von der pulmonalen Hypoplasie bestimmt (85). Im Zuge der physiologischen Entwicklung vermehrt sich die Anzahl der Alveolen und führt damit zu einem Lungenwachstum (89). Untersuchungen, welche mit CDH-PatientInnen in den ersten drei Lebensjahren durchgeführt wurden, erhoben eine normale totale Lungenkapazität bei gleichzeitig erhöhtem Residualvolumen und erhöhter funktionel-

ler Residualkapazität. Hingegen ist das forcierte expiratorische Volumen gegenüber der gesunden Kontrollgruppe unverändert. Die AutorInnen vermuten daher ein postnatal gestörtes Lungenwachstum, welches sich durch eine verminderte Anzahl an Alveolen und eine Überblähung der Atemwege manifestiert (90).

Diese Annahme wird durch ein Mismatch aus Ventilation und Perfusion, das in 23-61% besteht, unterstützt (91-93). Die Überblähung persistiert meist bis ins Erwachsenenalter (90), die Perfusion und somit das Mismatch scheinen sich allerdings schon in den ersten fünf Lebensjahren zu verbessern (93-95). Risikofaktoren für eine schlechte Lungenperfusion scheinen die Verwendung von Patches, hernierte Leber, pulmonale Hypertension, HFOV oder eine künstliche Beatmung von über zehn Tagen zu sein (85). Obwohl bei der CDH die Lunge stark betroffen ist, zeigte eine Studie von Spoel et al., dass zwischen der Lungenperfusion von CDH-PatientInnen und PatientInnen, welche wegen anderer frühkindlicher Erkrankungen ähnlichen Behandlungen ausgesetzt waren, kein großer Unterschied erkennbar ist (96).

### Respiratorische Infekte

Eine erhöhte Anfälligkeit des Respirationstrakts zeigt sich durch wiederholte respiratorische Infektionen im Kleinkindalter in 6-39% (85, 86, 92, 93). Laut einer Studie von Kim et al. ist das Risiko für CDH-PatientInnen gegenüber Gleichaltrigen ohne Risikofaktoren um das Vierfache erhöht (97). In den Vereinigten Staaten von Amerika ist das „Respiratory Syncytial Virus“ (RSV) für über 90% der respiratorischen Infektionen unter zwei Jahren verantwortlich, weshalb dort versucht wurde, die Infektionsrate mit einer RSV-Prophylaxe zu verringern (98). Unter der Prophylaxe war in 36% der Studienpopulation eine akute Untersuchung und Behandlung aufgrund von respiratorischem Distress nötig. Im Vergleich dazu lag der Anteil vor der Prophylaxe bei 24%, jedoch war in 6% eine Aufnahme auf die Intensivstation notwendig (98).

Muratore et al. empfehlen daher eine systematische RSV-Prophylaxe für alle CDH-PatientInnen unter zwei Jahren (98). Diese Empfehlung wird auch von Kim et al. unterstützt, welche in ihrer Studie eine Reduktion von 94,5% der RSV-Infektionen nach einer Prophylaxe mit Palivizumab beschreiben (97). Trachsel et al. (99) fanden bei 35% und Okuyama et al. bei 32% Pneumonien (99, 100).

Als Risikofaktoren für rezidivierende Infektionen werden eine mangelhafte Lungenperfusion (<50%) und Gedeihstörungen angenommen (85, 93).

Keine erhöhte Anfälligkeit für respiratorische Infektionen beschrieben Arena et al. (95).

## Ventilationsstörungen

Eine Vielzahl von Studien berichtet über das Bestehen von *obstruktiven Ventilationsstörungen*. Die Prävalenz scheint zwischen 13,6 und 53% zu liegen (92, 95, 98, 101, 102). In jüngeren Jahren dürfte dieser Prozentsatz mit 70% sogar noch höher sein (68). Diese Zahlen führen weiterhin zur Überlegung, ob und wie sich die obstruktiven Symptome im Alter verändern. Obstruktive Symptome können sich verbessern, persistieren aber womöglich bei bis zu 50% der Betroffenen bis ins Erwachsenenalter (86, 103).

Die Prävalenz von *restriktiven Ventilationsstörungen* liegt bei 6,7-27% (68, 92, 95, 102). Ein Mischbild aus *obstruktiven und restriktiven Ventilationsstörungen* findet sich in 4,5-25% (92, 95, 102).

## Asthma bronchiale

Bis zu 50% beklagten in einer Studie von Trachsel et al. schon einmal Asthma bronchiale-Symptome gehabt zu haben. Zum Zeitpunkt der Studie waren es 22% gegenüber 13% in der Kontrollgruppe (99). Rocha et al. und Vanamo et al. berichten von 10% und 12% asthmatischer Symptome (86, 92). Spoel et al. beschreiben eine Prävalenz von 27,6% bei CDH-PatientInnen und 30% bei PatientInnen mit ähnlicher Betreuung auf einer Intensivstation gegenüber einer Prävalenz von 4,5% in der Normalbevölkerung (96).

Bei 48% der CDH-PatientInnen im Vergleich zu 4% in der gesunden ProbandInnengruppe konnte eine Verbesserung des FEV<sub>1</sub> (Maximales Ausatemvolumen in 1 Sekunde) nach der Gabe von Bronchodilatoren herbeigeführt werden (99). Verbesserungen auf Bronchodilatoren sind ein Diagnosekriterium für Asthma bronchiale und werden auch in der Therapie eingesetzt.

Pathologische Atemgeräusche wie Giemen können Anzeichen für eine Obstruktion in den unteren Atemwegen sein. Typischerweise ist eine Verengung der intrathorakalen Atemwege (Bronchioli, Bronchien) ursächlich. Am häufigsten ist Giemen bei Asthma oder chronisch obstruktiver Lungenerkrankung (COPD), aber auch bei respiratorischen Infektionen zu finden.

In den ersten 24 Monaten nach der Entlassung aus dem Krankenhaus lag die Wiedervorstellung bei einem Arzt/einer Ärztin aufgrund von Giemen bei 58%. Eine Hospitalisierung war aufgrund einer Exazerbation der respiratorischen Symptome in 26% notwendig versus 3,6% in der gesunden Vergleichsgruppe (104). Trachsel et al. beschrieben bei 65% der untersuchten Pubertierenden das mindestens einmalige Vorkommen von abnormen Atemgeräuschen

(99). Das häufige Vorkommen von pathologischen Atemgeräuschen lässt eine erhöhte Prävalenz von obstruktiven Ventilationsstörungen vermuten. Da die Obstruktion von Geburt an besteht, vermuten Trachsel et al., dass Betroffene sich der krankheitsbedingten Einschränkungen und der Verbesserungsmöglichkeiten gar nicht bewusst sind. ÄrztInnen wie auch PatientInnen würden das Auftreten von obstruktiven Ventilationsstörungen in Zusammenhang mit CDH unterschätzen (99).

## 11.2 Kardiovaskulär

Wie schon zuvor erwähnt, unterliegen nicht nur die Alveolen und Atemwege strukturellen Veränderungen, sondern ebenfalls pulmonale Gefäße, bei denen sich eine Verdickung der Gefäßwand zeigen (24, 37). Die Folge ist u. a. eine pulmonale Hypertension. Wong et al. beschreiben eine Prävalenz von 5,1% zwischen sechs Monaten und fünf Jahren mit einer Verringerung über die Zeit (94). Dem widersprechen Peetsold et al. mit ihrer Beobachtung von 13% in einer Population mit mittlerem Alter bei 11,9 Jahren (105).

## 11.3 Gastrointestinal

### Gastroösophagealer Reflux

Der Gastroösophageale Reflux (engl. GER) beschreibt das unfreiwillige Aufsteigen von Mageninhalt in den Ösophagus. Es kann zu Erbrechen oder auch nur zu Sodbrennen führen. Da der Ösophagus nicht an die sauren Bedingungen des Magens und seine Säure adaptiert ist, können entlang der ösophagealen Schleimhaut Entzündungen und Läsionen entstehen. In gesunden Säuglingen bestehen in 12% Anzeichen für einen GER, welche sich unter physiologischen Verhältnissen in 88% bereits im ersten Lebensjahr bessern (106). In CDH-PatientInnen scheint die Prävalenz des GER gesteigert zu sein. In der Literatur finden sich Werte von 15,3-37% (85, 86, 99, 101, 107-110). Caruso et al. beschreiben höhere Werte mit 83% in den ersten sechs Monaten und eine Reduktion auf 61% innerhalb der ersten fünf Lebensjahre (111). Morandi et al. ließen ihre ProbandInnen (mittleres Alter 14,5 J.) Fragebögen ausfüllen und fanden eine 25%ige Prävalenz von subjektiven GER-Symptomen. Diesen stellten sie endoskopische Befunde unter Verwendung der Hetzel-Dent-Klassifikation gegenüber. Die Klassifikation umfasst Grade von 0-4, wobei bei Grad 0 keinerlei Mukosaabnormalitäten bestehen und Grad 4 mit tiefen Ulzerationen und ausgeprägten Erosionen die Maximalform darstellt. Folgende Ergebnisse wurden beschrieben: Hetzel-Dent-Grad 1: 25%; Grad 2: 50%, Grad 3: 17%, Grad 4: 8% (112).

Als Risikofaktoren für einen GER werden ösophageale Dysmotilität, der Einsatz von Patches und ECMO sowie die intrathorakale Lage des Abdomens vor CDH-Operation benannt (107, 110, 111).

Diskutiert werden verschiedene mögliche Ursachen, wie eine abnormale hiatale Anatomie, ein fehlender Winkel von His, erhöhter abdomineller Druck nach Operation, verringerte ösophageale Motilität, Ektasie oder intestinale Verdrehung (113).

#### Adhäsionen

Durch Reize am Peritoneum, peritoneale Ischämie, Manipulation und Zug an abdominellem Gewebe kommt es postoperativ zur Ausbildung von Adhäsionen. Adhäsionen sind abnormale fibröse Strukturen, die sich innerhalb der Bauchhöhle zwischen Organen und Bauchwand ausbilden (114). Sie sind unter anderem verantwortlich für postoperative Darmobstruktionen (114).

Darmobstruktionen sind auch bei CDH-PatientInnen eine häufige Komplikation und führen in 8-17% zu einem weiteren operativen Eingriff (93, 102, 107, 109, 110, 115). Yokota et al. beobachteten bei CDH- PatientInnen ein 17,6%iges Risiko für Obstruktionen. PatientInnen der Vergleichsgruppe, welche unter ähnlichen Bedingungen aber aufgrund einer anderen Erkrankung einer Laparotomie unterzogen wurden, wiesen ein 6,7%iges Risiko aus (110).

### 11.4 Somatische Anomalien

Das Wachstum des Brustkorbs ist eng mit dem des Zwerchfells und der Lunge verknüpft. Dementsprechend werden im Rahmen der CDH Deformitäten und Asymmetrien des Brustkorbs beobachtet.

Das Auftreten einer Skoliose wird mit einer Häufigkeit von 3-27% beschrieben (85, 86, 88, 92, 93, 99, 101, 102, 115). Die Differenz der Prävalenz lässt sich teilweise durch die unterschiedlichen Einschlusskriterien der PatientInnen und Schweregrade erklären. Die Prävalenz einer Trichterbrust liegt zwischen 4-52% (86, 93, 99, 107, 116, 117). Auch hier dürfte die Differenz durch die uneinheitliche Einbeziehung der Schweregrade teilweise zu erklären sein. Rippenanomalien wurden mit 14% in einer Studie von Koziarkiewicz et al. beobachtet (85).

Gedeihstörungen scheinen ein häufiges Problem bei CDH-PatientInnen darzustellen. Rocha et al. und Muratore et al. sprechen beide von 30% und 33% an CDH-PatientInnen, die in den ersten Lebensjahren unter der 5. Perzentile liegen. Bei Kamata et al. und Koziarkiewicz et

al. lagen 21% und 20% unter der 3. Perzentile (85, 93). Im Teenageralter konnten Trachsel et al. nur mehr in 13,5% eine Gedeihstörung feststellen (99). In einer Studie stellte sich heraus, dass die wöchentliche Gewichtszunahme von CDH-PatientInnen im Vergleich zu PatientInnen, bei denen eine ähnliche intensivmedizinische Betreuung nötig war, signifikant geringer war (89g vs. 141g) (118). Im Gegenteil zu den erwähnten Studien berichteten Arena et al. nicht von vermehrt auftretenden Gedeihstörungen im Vergleich mit Kontrollgruppen (95). Eine verminderte Körpergröße wurde in drei Studien diskutiert: 12% (<3. Perzentile) (85), 18% (<5. Perzentile) (88), 22% aber mit stetiger Verminderung über 1.5, 3 und 6 Jahre (119). Die Risikofaktoren für Gedeihstörungen sind noch nicht gänzlich geklärt, allerdings scheinen Lungenhypoplasie, die Notwendigkeit eines Patch und die HFOV eine Rolle zu spielen (85). Kamiyama et al. fanden keinerlei Hinweis, dass GER zu einer Gedeihstörung innerhalb des 1. Lebensjahres führt (120).

Die Langzeitfolgen von Malnutrition und Gedeihstörungen stehen schon in der gesunden Population in Assoziation mit Verhaltens- und Kommunikationsstörungen, höheren Infektionsraten, häufigeren Hospitalisierungen und verlängerten Krankenhausaufenthalten. Diese dürften auch bei CDH-PatientInnen, bei welchen zusätzlich pulmonale und kardiovaskuläre Risikofaktoren bestehen, erwartet werden (121). Neben der erhöhten Wahrscheinlichkeit für eine Gedeihstörung beschrieben Koziarkiewicz et al. in 4% der PatientInnen auch Übergewicht (>97. Perzentile) (85).

### 11.5 Hernienrezidiv

Die Rezidivfrequenz der Hernie ist mit Zahlen von 8-50% beschrieben (86, 103, 107, 115). 70% der Hernienrezidive treten innerhalb der ersten 2 Jahre auf. Die mittlere Dauer bis zu einem Rezidiv liegt bei 0,7 Jahren (115). Die bisher angenommenen prädiktorischen Faktoren sind die Größe des Defekts, das Einsetzen eines Patches und die minimal invasive Operationstechnik (48, 61, 64, 103, 107). Tsao et al. berichteten allerdings in einer großen retrospektiven Studie auch Gegenteiliges, bei der sich der offene Patchverschluss gegenüber dem offenen primären Verschluss mit einer niedrigeren Rezidivrate zeigte (61).

## 11.6 Neurologisch

Eine Entwicklungsverzögerung wurde in 7-21% beobachtet (87, 88). Wynn et al. fanden eine Korrelation der Entwicklungsverzögerung mit Faktoren, die für einen erhöhten Schweregrad der Erkrankung sprechen, wie ECMO, pränataler Diagnosestellung und Rehospitalisierungen (87). Für neurologische Entwicklungsstörungen beschreiben Rocha et al. eine erhöhte Wahrscheinlichkeit in Zusammenhang mit ECMO, verlängerten Hospitalisierungsdauer und geringerem sozioökonomischen Status der Familie. Zumindest die ersten zwei Faktoren sind hierbei aber auch in diesem Fall eher als Zeichen eines erhöhten Schweregrads der Zwerchfellhernie anstatt als Ursachen zu interpretieren (86).

In 4% wurde eine spastische Zerebralparese diagnostiziert (86, 88). Sowohl Grob- als auch Feinmotorik scheinen in 52-77% schlechter ausgeprägt zu sein als in der gesunden Vergleichsgruppe (101, 122, 123).

Eine Hörstörung wird in 2-3,8% (101, 109) beschrieben, wohingegen auch Populationen mit Inzidenzen von über 60% (124) und ohne Hörstörungen (88) beobachtet werden. Sowohl die Schwere der initialen Erkrankung als auch die Therapie mit ototoxischen Medikamenten setzen CDH-PatientInnen einem erhöhten Risiko einer Schalleitungsschwerhörigkeit aus (86). Zu den möglichen ototoxischen Medikamenten zählen etwa Muskelrelaxantien wie Pancuroniumbromid, welches zur Intubation und mechanischen Beatmung verwendet wird (124). Für Schleifendiuretika wurde in manchen Studien ein ototoxischer Effekt beschrieben, (125) während dieser in anderen nicht bestätigt werden konnte (124).

## 11.7 Verhalten, soziale und emotionale Kompetenz

Ost et al. erhoben mithilfe ihres Fragebogens, dass sich bei CDH-PatientInnen keine erhöhte Rate an Verhaltensauffälligkeiten oder emotionalen Auffälligkeiten nachweisen lässt. Die soziale wie auch schulische Kompetenz scheint altersentsprechend zu sein. Der subjektive Aktivitätslevel war jedoch erniedrigt (126).

Ebenso lag die subjektive gesundheitsbezogene Lebensqualität sowohl der Eltern als auch der Kinder unter dem Durchschnitt der gesunden Vergleichsgruppe (127).

## 12 Flüchtige organische Verbindungen/Volatile organic compounds (VOCs)

Die normale Atemluft besteht zum größten Teil aus Sauerstoff, Kohlendioxid, Stickstoff, Wasserdampf und inerten Gasen. Durch den Austausch von Sauerstoff und Kohlendioxid zwischen Blut und Alveolen entsteht ein Konzentrationsgradient über den tausende, schwach konzentrierte, flüchtige organische Verbindungen mitgezogen werden (128). Die rasch an Interesse gewinnenden VOCs werden u. a. als Spiegel des körpereigenen Metabolismus gesehen

Der Name selbst beschreibt zum einen den schon bei niedrigen Temperaturen eingenommen gasförmigen Aggregatzustand und zum anderen die kohlenstoffhaltige Basis. Sie entstehen bei unzähligen metabolischen Vorgängen im Körper und können an unterschiedlichen Stellen wie Haut, Fäzes, Atemluft, Blut und Urin nachgewiesen werden (129, 130). Ihre Größenordnung liegt im ppb-Bereich (parts per billion) und sogar im ppt-Bereich (parts per trillion) des gesamten Atemvolumens (128).

VOCs werden den Bereichen *lokal*, *systemisch* und *exogen* zugeordnet. Die eingangs schon erwähnten *systemischen* VOCs haben ihren Ursprung fern der Atemwege und gelangen zu diesen über das Blut und die Perfusion der Lungen. Je mehr VOCs sich dabei in der Blutlaufbahn befinden, desto mehr sind auch in der Atemluft nachweisbar (131). Die einzelnen Metabolismen der jeweiligen Verbindungen sind komplex und noch nicht allumfänglich verstanden, ja oft sogar unbekannt (131).

*Lokale* VOCs sind körpereigen und entstehen an Orten, an denen sie anschließend auch gemessen werden, verglichen den pulmonalen VOCs in der Ausatemluft (129). *Systemische* VOCs hingegen lösen sich in der Blutbahn auf und können anschließend an anderen Stellen wieder gemessen werden (129).

*Exogene* lassen sich nochmals in drei Gruppen unterteilen (129), in:

1. Verbindungen, die den menschlichen Organismus passieren ohne gegenseitige Auswirkung
2. Verbindungen, die mit dem menschlichen Organismus interagieren, verstoffwechselt und ausgeschieden werden oder auch verbleiben
3. Verbindungen, die ihren Ursprung in Mikroorganismen, Bakterien, Pilze und Viren, haben, die den menschlichen Organismus bewohnen (129, 132).

## 12.1 Pulmonale Erkrankungen

Die Alveolen stehen im ständigen Gasaustausch mit dem Blut, weshalb die Atemluft besonders interessant für VOCs systemischer Herkunft ist. Aus den leitenden Atemwegen entnommene VOCs können u. a. Auskunft über respiratorische Erkrankungen geben (133).

### Asthma

Durch eine Kombination aus 8 VOCs gelang es Dallinga et al. zwischen asthmatischen und gesunden Kindern mit einer Sensitivität von 89% und einer Spezifität von 95% zu unterscheiden (134). Unter den gemessenen VOCs fanden sich Kohlenwasserstoffe, Kohlenstoffdisulfit, 1-Penten-2-on, Butansäure, Benzoesäure, p-Xylene und 3-(1-methylethyl)-benzen (134). Die Auswertung der VOCs scheint eine sicherere Diagnosestellung zu ermöglichen als die sonst in der Asthmadiagnostik übliche Lungenfunktion oder die Messung des ausgeatmeten Stickstoffgehalts (135).

Erfolgreich konnte die klinische Differenzierung zwischen Asthma mit fixierter Obstruktion und COPD („chronic obstructive pulmonary disease“) durchgeführt werden, zwei Differenzialdiagnosen, deren Unterscheidung oft Schwierigkeiten bereitet (136). Die Inflammation bei Asthma bronchiale wird vor allem durch eosinophile Granulozyten, Mastzellen, CD4<sup>+</sup>-Zellen und einen Anstieg der Th2-Zyanide charakterisiert. COPD weist durch die Atemwegsentzündung vor allem neutrophile Granulozyten, Makrophagen und CD<sup>+</sup>8-Zellen auf. Die unterschiedlichen Entzündungsprofile sind wahrscheinlich verantwortlich für die ungleichen VOCs-Profile (136).

Unterschiedlich hoch gemessene Ethan-Werte bei Steroid-pflichtigen und nicht-Steroid-pflichtigen AsthmapatientInnen sowie AsthmapatientInnen mit unterschiedlichem Schweregrad zeigen Potential für die Therapiewahl und die Verlaufskontrolle (137). Erhöhte Pentan-Werte konnten bei laufender Exazerbation gemessen werden, welche sich nach Abklingen derselben normalisierten (138). Ibrahim et al. konnten in ihrer Studie einen Zusammenhang zwischen ausgeprägter Eosinophilie im Sputum und schlechter Krankheitskontrolle assoziieren und diese PatientInnen erfolgreich identifizieren (139). Die AutorInnen sehen daher in der Analyse von VOCs in Asthma-PatientInnen eine Chance, durch eine personalisierte Therapie eine bessere Krankheitskontrolle zu erreichen (139).

### Zystische Fibrose (CF)

Robroeks et al. gelang es mit einer Auswahl von 22 VOCs zwischen CF-PatientInnen und der gesunden Kontrollgruppe zu unterscheiden. Die Differenzierung stützte sich vorwiegend

auf C5-C16 Kohlenstoffe und N-Methyl-2-Methylpropylamin (140).

Anschließend gingen sie noch einen Schritt weiter und filterten diejenigen CF-PatientInnen heraus, welche mit dem Keim *Pseudomonas aeruginosa* besiedelt waren. Dieser Keim führt im Rahmen der Erkrankung häufig zu Exazerbationen und einer erhöhten Mortalität und Morbidität. Der Nachweis der Besiedelung gelang ihnen mit Hilfe eines Profils von 14 VOCs (140).

In einer anderen Studie konnte gezeigt werden, dass eine akute Exazerbation mit einer verminderten Konzentration an Isopren einhergeht und deren Normalisierung nach antibiotischer Therapie beobachtet wird (141).

### Pneumonie

In intubierten und mechanisch-ventilierten PatientInnen scheint die Unterscheidung zwischen an Pneumonie-Erkrankten und Gesunden möglich zu sein. In diesen zwei Gruppen zeigten sich signifikante Unterschiede in der Konzentration von Aceton, Cyclohexen, 1-Propanol, Methylisobutylketon, 2-Ethoxy-2-methyl-propan, Hexafluoroisopropanol, Kohlenstoffdisulfid und Sevoflurane (142). Ein interessanter Aspekt der Studie von van Oort et al. ist, dass sich alle genannten Verbindungen bei Pneumonie-Erkrankten in verringerter Konzentration zeigten. Die AutorInnen hypothetisieren, dass dem eine Verminderung des Gasaustausches an der Lungen-Blut-Schranke oder ein unterdrücktes oder verändertes pulmonales Mikrobiom durch den Erreger oder die Therapie zu Grunde liegt. Eine andere Erklärung wäre auch, dass Erreger für ihren Stoffwechsel von VOCs Gebrauch machen und ihre Konzentration deshalb niedriger erscheint (142).

Insbesondere 1-Propanol zeigt nicht nur hohe Unterschiede zwischen Pneumonie- und Vergleichsgruppe, sondern auch zwischen PatientInnen mit kolonisierten und nicht-kolonisierten Atemwegen. Die AutorInnen sehen daher 1-Propanol als einen möglichen Biomarker für die Erregerkolonisation der Atemwege (142).

### Pulmonale arterielle Hypertonus (PAH)

Unterschiedliche Ätiologien können zu einem Anstieg des pulmonalarteriellen Drucks führen. Eine Drucksteigerung im Lungenkreislauf bewirkt eine rechtskardiale Volumenbelastung und folgend eine Dilatation und Hypertrophie des rechten Ventrikels. Die Folgen sind etwa ein Cor pulmonale und Herzrhythmusstörungen. Im Vergleich von PatientInnen mit einem pulmonalarteriellen Hypertonus und einer gesunden Kontrollgruppe wurden in der Ausatemluft unterschiedliche Konzentrationen von 2-Propanol, Acetaldehyd, Ammoniak,

Ethanol, Pentan, 1-Octen, 1-Decen und 2-Nonen gefunden. Die AutorInnen vermuten metabolische Dysfunktionen, welche in Assoziation mit der PAH auftreten, als Ursache für die unterschiedlichen Acetaldehyd- und Ethanol-Konzentrationen. Ammoniak hingegen entsteht unter anderem als Abbauprodukt aus Glutamin, welches neben Muskelgewebe im Lungengewebe die höchste Konzentration aufweist. Die AutorInnen sehen einen eventuellen Zusammenhang zwischen vermehrten Zellen in PAH, einem erhöhten Verbrauch von Glutamin in der Glutaminolyse und dem erhöhten Auftreten von Ammoniak. (143)

### Pneumokoniose

Die Pneumokoniose ist eine chronische Lungenerkrankung, ausgelöst durch die Inhalation von anorganischen Stäuben wie Asbest, Aluminium-, Eisen- oder Baumwollstaub. Nach der Inhalation der Stäube werden die einzelnen Partikel in den Alveolen phagozytiert, führen zur Entstehung von Sauerstoffradikalen und Lipidperoxidation. Da sowohl Pentane als auch methylierte Kohlenwasserstoffgruppen in Zusammenhang mit der Lipidoxidation vermehrt auftreten, konnten auch in der Studie von Yang et al. bei Pneumokoniose-PatientInnen vermehrte Konzentrationen nachgewiesen werden. Neben Pentan konnten Unterschiede in der Konzentration von methyliertem Cyclohexan, methyliertem Heptan, methyliertem Chlorid und Aceton zwischen Gesunden und Pneumokoniose-Erkrankten gefunden werden (144).

## 12.2 Onkologische Erkrankungen

Krebszellen und deren reagierende Umgebung produzieren VOCs, welche sich über den Blutkreislauf und anschließend die Atemluft messen lassen (128). In unterschiedlichen Krebserkrankungen konnte das Potential der VOCs nachgewiesen werden. An Lungenkrebs erkrankte PatientInnen konnten bereits erfolgreich von der gesunden Vergleichsgruppe unterschieden werden. Zellen von Lungenkarzinom emittieren vermehrt Alkohole wie 2-Ethyl-1-Hexanol, 2,4-Decadien-1-ol und Cyclohexanol als normale Atemwegsepithelzellen (145).

1,3-Dimethylbenzen, 1,2-Pentadien, Cyclohexan, Methylcyclohexan und 4-Methyloctan liegen in erhöhter Konzentration bei PatientInnen mit kolorektalem Karzinom vor als in gesunden ProbandInnen (146).

## 12.3 Extrapulmonale Erkrankungen

### Morbus Alzheimer

In einer Pilotstudie konnte gezeigt werden, dass VOCs in der Ausatemluft das Potenzial haben, zwischen gesunden ProbandInnen, Morbus Alzheimer-PatientInnen und PatientInnen mit „Mild Cognitive Impairment“ zu unterscheiden. Dies könnte in Zukunft eine Möglichkeit zur frühzeitigen Diagnose darstellen (147).

Ebenfalls ist es möglich Alzheimer-PatientInnen von Parkinson-PatientInnen und einer gesunden Kontrollgruppe zu differenzieren (148). Signifikante Unterschiede zeigten sich im Vergleich von Acetamiden, Siloxanen, Triphenyl-Phosphat, 1-Phenanthrenol und Ethyl 3-cyano-2,3-bis (2,5-dimethyl-3-thienyl)-Acrylat (148).

### Akutes Nierenversagen

Hüppe et al. identifizierten 45 VOCs, welche bei PatientInnen mit akutem Nierenversagen signifikant angestiegen waren. Für 30 unter ihnen konnte während der Dialyse ein progressiver Rückgang in den Normbereich gemessen werden. Die AutorInnen sehen darin Potenzial, das akute Nierenversagen in seiner Frühphase zu diagnostizieren und den Therapieerfolg individuell einzuschätzen (149). Durch Oxidation entsteht aus Cyclohexan Cyclohexanon und Cyclohexanol. Einen besonderen Anstieg konnte für die drei Verbindungen Cyclohexanol, 3-Hydroxy-2-Butanon und 3-Methylbutanal gemessen werden. Alle drei zeigten unter kontinuierlicher venovenöser Hämodialyse einen Rückgang (149).

### Barrett-Ösophagus

Mit einer Sensitivität von 82% und einer Spezifität von 80% gelang es in 127 PatientInnen mit einem Barrett-Ösophagus in der Anamnese das aktuelle Vorhandensein einer Barrett-Mukosa vorherzusagen. Diese Ergebnisse deuten auf eine nicht-invasive Alternative gegenüber der gastroösophagealen Endoskopie mit Biopsieentnahme hin (150).

### Nicht-alkoholische-Fettleber (NAFLD)

Unterschiedliche VOCs-Profile wurden zwischen Kindern mit und ohne „Nicht-alkoholischer-Fettleber“ beschrieben. Erhöhte Konzentrationen von Isopren, Aceton, Trimethylamin, Acetaldehyd und Pentan zeigten sich in an NAFLD-erkrankten Kindern. Die identifizierten VOCs könnten für das Screening von übergewichtigen Kindern nach einer Fettleber verwendet werden (151).

### Herzinsuffizienz

Herzinsuffizienz-PatientInnen konnten erfolgreich von der gesunden Kontrollgruppe unterschieden werden. Weiters war es möglich, die Ejektionsfraktion und den systolischen Pulmonalarteriendruck näherungsweise zu bestimmen (152). Ein Anstieg von Aceton in der Ausatemluft scheint mit Exazerbationen in Herzinsuffizienz-PatientInnen zu korrelieren. Eine mögliche Erklärung könnte eine Veränderung der Fettsäureoxidation in der akuten Phase sein, welche mit einem Anstieg an Ketonkörpern und somit auch Aceton einhergeht (153). Hohe Acetonkonzentrationen scheinen auch mit einer reduzierten Ejektionsfraktion und einer schlechteren Prognose über 12 Monate, gemessen an Mortalität und Herztransplantation, assoziiert zu sein (154).

### Chronisch entzündliche Darmerkrankungen

Bakterielle Dysbiosis und oxidativer Stress sind wahrscheinlich verantwortlich für die Ausbildung von unterschiedlichen VOCs-Profilen in PatientInnen mit einer chronisch entzündlichen Darmerkrankung. Diese Profile können genutzt werden, um Morbus Crohn und Colitis ulcerosa untereinander und diese auch jeweils von den gesunden Kontrollgruppen zu unterscheiden (155). Morbus Crohn-PatientInnen zeigten signifikant unterschiedliche Konzentrationen an Dimethylsulfid, Dihydrogensulfid, Nonanal und Butanal gegenüber der gesunden Kontrollgruppe. Die Colitis ulcerosa zeigte vor allem eine erhöhte Konzentration von Ammoniak. Unterschiede zwischen Morbus Crohn und Colitis ulcerosa fanden sich in Cyanwasserstoffen, Butanal und Dihydrogensulfid (155).

## 13 ProbandInnen und Methodik

### 13.1 ProbandInnen

Die Suche nach ProbandInnen erfolgte über das Computersystem „Medocs“ des Landeskrankenhauses Graz. Anhand der Begriffe „Zwerchfellhernie“, „CDH“, den ICD10-Codes Q79.0 (congenital diaphragmatic hernia), K44.0, (diaphragmatic hernia with obstruction, without gangrene) K44.1 (diaphragmatic hernia with gangrene), K44.9 (diaphragmatic hernia without obstruction and gangrene) und dem festgelegten zeitlichen Rahmen der Geburtsjahre 2002-2012 wurden ehemalige PatientInnen rekrutiert. Die PatientInnenakten wurden einzeln kontrolliert und mögliche ProbandInnen initial postalisch und anschließend telefonisch und per E-Mail kontaktiert. Die ProbandInnen für die Vergleichsgruppe wurden anhand ihres Alters und des Geschlechts aus den Familien des Krankenhauspersonals rekrutiert. Von allen ProbandInnen der CDH- und der Kontrollgruppe beziehungsweise von deren rechtlichen VertreterInnen wurde eine Einverständniserklärung eingeholt. Ausschlusskriterien waren Alter <6 oder >16 Jahre, akute oder chronische gastrointestinale Erkrankung, akuter oder chronischer Infekt, eine anti- oder probiotische Therapie in den vergangenen 4 Wochen und eine fehlende Einverständniserklärung.

### 13.2 Pulmonale VOCs

Die Probenabnahme wurde über den automatischen Alveolarphasen-getriggerten Probenahmekoffer (SC-B) der Firma PAS Technology durchgeführt. Die Nadeln (needle trap device; NTD) wurden von Shinwa Chemical Industries LTD.; Kyoto, Japan bereitgestellt. Die NTDs hatten einen inneren Durchmesser von 0,4 mm und waren gefüllt mit 1 cm Divinylbenzene (80-100 mesh, ~0,15-0,18 mm), Carboxen 1000 (60-100 mesh, ~0,18-0,25 mm).

Das schnell reagierende (<38 ms) Kapnometer Goldwei C500 maß, wie schon in anderen Studien beschrieben (156), durchgehend den CO<sub>2</sub>-Gehalt, sodass sich während der Alveolarphase eine Klappe öffnete und Atemgase in das NTD gezogen wurden. Der CO<sub>2</sub>-Grenzwert für die Klappenöffnung lag zwischen 25-30 mmHg.

Vor der erstmaligen Benutzung der NTDs wurden diese im NTD-Konditionierer (PAS Technology, Germany) über 6 Stunden bei 250°C konditioniert. Die Konditionierung ist eine thermale Reinigung der NTD zur Beseitigung etwaiger unerwünschter Verunreinigungen.

Die Temperatur wurde über den Gefran 400/401 Temperaturregler geregelt. Während der gesamten Konditionierung durchfloss 100%iger Stickstoff die NTDs. Vor der Anwendung selbst wurden sie ein weiteres Mal für 30 Minuten konditioniert.

Die Abnahme fand für alle ProbandInnen im selben Raum statt. Für jede/n Proband/Probandin wurden zwei NTDs abgenommen. Die NTDs wurden, wie in der Abbildung 1 dargestellt, über das Silikonseptum in die Vorrichtung eingeführt. Um während der Messung die Nasenatmung zu verhindern, wurde den ProbandInnen vor Beginn eine Nasenklammer aufgesetzt. Die ProbandInnen umschlossen anschließend mit ihren Lippen das Mundstück und atmeten, ohne abzusetzen, bis das Zielvolumen erreicht war.

Zusätzlich wurde pro ProbandIn ein NTD abgenommen, bei dem Mundstück (Abb.1; h) und Kapnometer (Abb.1; f) vom NTD (Abb.1; b) auf Höhe des großen Winkels (Abb.1; e) getrennt wurden. Dadurch wurde das NTD den aktuellen Konditionen der Raumluft ausgesetzt, um etwaige Kontaminationen bei der Analyse erkennen zu können. Der Volumenstrom betrug 30 ml/min, was vor allem bei Kindern der empfohlenen Dauer zum Erhalt der Sensitivität entspricht (156). Das abgenommene Volumen betrug bei allen ProbandInnen 30 ml. Nach dem Erreichen des Zielvolumens wurden sowohl die Spitze als auch der Luer-Anschluss der NTDs mit einer Teflon-Kappe (Shinawa LTD. Japan/PAS Technology Deutschland GmbH, Magdala, Germany) verschlossen. Anschließend wurden die NTDs in Glascontainern mit Si/PTFE Septum aufbewahrt, welche kurz vor der Aufnahme der NTDs mit 100% Stickstoff ausgespült worden waren.

Die Auswertung wurde am Institut für Atemgasanalytik der Universitätsmedizin Rostock in Deutschland durchgeführt. Für den Transport wurden die NTDs der Atemgase gekühlt zusammen mit den Stuhlproben verschickt. Zusätzlich wurden zu den Proben der ProbandInnen noch zwei leere NTDs hinzugefügt, um auf eventuelle Verunreinigungen durch den Transport schließen zu können und diese bei der Analyse zu berücksichtigen. Die Transportzeit betrug weniger als 48 Stunden.

Die Präkonzentrierung der VOCs erfolgte nach Oertel et al. (157) mittels der NeedleTrap-Microextraction (NTME). Die Analyse der VOCs wurde mit der Gaschromatographie (GC Agilent 7890 A)–Massenspektrometrie (MS Agilent 5975 C inert XL)-Koppelung durchgeführt. Vor der Injektion der NTDs wurden die Teflon-Kappen automatisch durch den NTD-Auto-Sampler (Concept, PAS Technology, Magdala, Germany) entfernt. Die Freisetzung der VOCs des NTD erfolgte mittels Thermodesorption (250°C) Durch den plötzlichen und hohen Temperaturanstieg, durch das Einführen der NTDs in den Injektor, lösen sich die

VOCs von den Adsorptionsmaterialien und werden von einem inerten Gasstrom (Helium) über die GC-Säule mitgetragen. Eine optimale Auftrennung der VOCs wurde bei folgendem Temperaturprogramm der Säule erreicht: 40°C für 5 min, 8°C/min bis 120°C für 2 min, 10°C/min bis 220°C für 0 min, 20°C/min bis 240°C für 4,5 min. Die anschließende Ionisation erfolgte mittels Elektronenstoßes (70 eV). Der zu scannende Massenbereich lag bei 35-250 Th, die Scanrate bei 3,31 Scans/min, die Temperatur der Ionenquelle bei 150°C und die Temperatur der Transferlinie bei 200°C. Die Auswertung der GC-MS-Daten erfolgte mit der Agilent MSD Chemstation Software.

Detektierte Substanzen wurden mittels einer Massenspektrum-Bibliothek identifiziert. Potentielle Marker-Verbindungen wurden mit Referenzsubstanzen anhand ihrer Retentionszeit und ihres Massenspektrums verifiziert. Aceton, Acetaldehyd, Ethanol, Isopren, 2-Butanon, Benzen, Toluol und Alpha-Pinen wurden von Ionicon Analytik GmbH (Innsbruck, Österreich) erworben; Butan, Pentan und Hexan von Supelco (Bellefonte, USA); 1-Propanol, Styren, 2-Heptanon, Heptan, 2-Pentanon, 2-Hexanon, 3-Methyl-2-Butanon und Benzaldehyd von Fluka/Sigma-Aldrich (Steinheim, Deutschland), 2-Methylbutanal von Abbott GmbH und Co KG (Wiesbaden, Deutschland), Ethylbenzen von Merck (Darmstadt, Deutschland).

Unterschiedliche Konzentrationen der Referenzsubstanzen wurden gemessen, um die Kalibrierung, die Bestimmung des Detektionslimits (=limit of detection=LOD, signal-to-noise ratio 3:1) und des Quantifizierungslimits (=limit of quantification=LOQ, signal-to-noise ratio 10:1) zu ermöglichen. Die LOD und LOQ der Referenzsubstanzen sind im Anhang 1 aufgelistet.

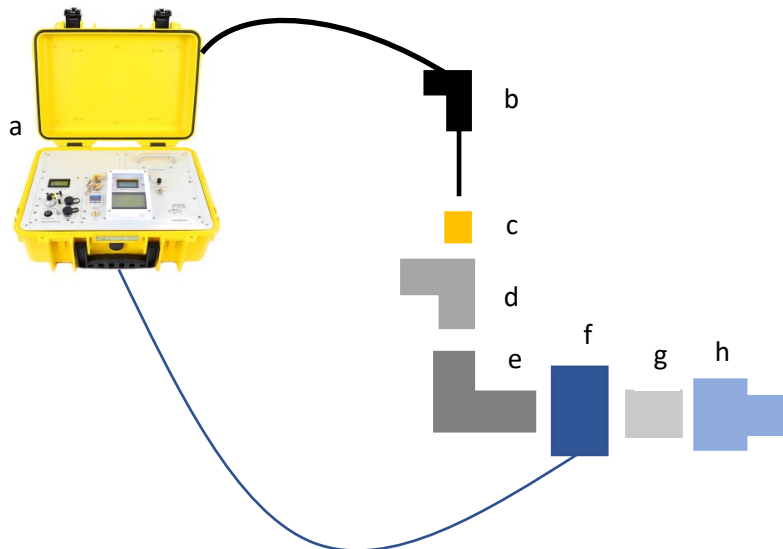


Abb. 1: Schema der Messstation

Quelle: In Anlehnung an *PAS Technology*;

<https://www.pas-tec.com/probenahme-und-analyse>

- |   |                  |
|---|------------------|
| a) Probenabnahmegesät                         | e) Großer Winkel |
| b) Needle-Trap-Device                         | f) Kapnometer    |
| c) Verbindungsstück mit Silikoneinstichstelle | g) Filter        |
| d) Kleiner Winkel                             | h) Mundstück     |

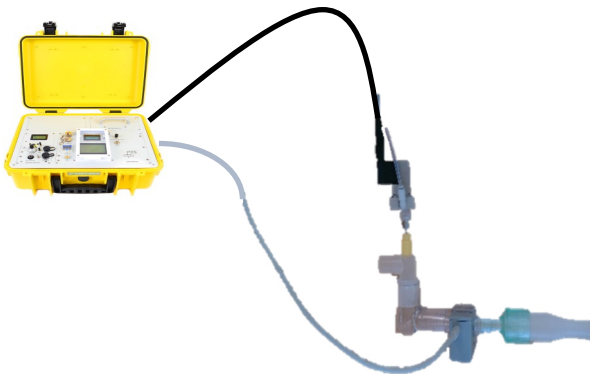


Abb. 2: Messstation/ Probenahmekoffer

Quelle: In Anlehnung an *PAS Technology*;

<https://www.pas-tec.com/probenahme-und-analyse>

### 13.3 Fäkale VOCs

Die Stuhlproben wurden von den ProbandInnen selbst innerhalb von 24 Stunden vor dem Termin entnommen und kühl ( $\sim 4^{\circ}\text{C}$ ) und trocken gelagert. Die Behältnisse wurden von den örtlichen Apotheken zur Verfügung gestellt. Während der Untersuchung wurde die Probe entgegengenommen und im klinikeigenen Labor auf zwei Glascontainer zu je 0,1 g Inhalt aufgeteilt. Zur Analyse wurde die Stuhlprobe zusammen mit den abgenommenen VOCs-Atemgasproben an das Institut für Atemgasanalytik der Universitätsmedizin Rostock versendet.

Die Proben wurden dort innerhalb von 48 Stunden folgendermaßen gemessen und analysiert: Die VOCs in den Glascontainern der Stuhlproben wurden mittels SPME präkonzentriert. Die Gasproben wurden dafür 3 Minuten lang auf  $42^{\circ}\text{C}$  erhitzt, bevor die SPME-Faser (Supelco, Bellefonte, USA) durch das Septum des Behälters gestochen wurde und dem Milieu für 7 Minuten lang unter konstant bleibenden  $42^{\circ}\text{C}$  ausgesetzt war. Die SPME-Faser bestand aus Polydimethylsiloxan und Carboxen ( $75\ \mu\text{m}$ ) und wurde vor der ersten Benutzung in einem GC-Injektor bei  $300^{\circ}\text{C}$  eine Stunde lang zur thermalen Beseitigung von Verunreinigungen konditioniert. Vor jeder erneuten Benutzung wurde die SPME Faser für weitere 30 Minuten konditioniert. Vor und nach jeder Messreihe wurde der interne Standard gemessen, um die Performance der Faser zu prüfen. Der interne Standard wird durch die Messung einer Probe mit bekannter Konzentration verifiziert.

Die Desorption der SPME-Fasern erfolgte wie bereits von Trefz et al. beschrieben (158). Die Thermodesorption der VOCs von der Faser fand im GC-Injektor bei  $230^{\circ}\text{C}$  statt. Es wurde ein 0.8 mm inlet-liner der Firma Bellefonte, PA, USA angewendet. Die Injektion wurde im splitlos-Modus für 60 Sekunden bei einem Fluss von 1.7 ml/min des Trägergases (Helium) durchgeführt. Ein Teilungsverhältnis (split ratio) von 30 wurde anschließend an die Injektionsphase appliziert, worauf sich eine Einflussrate (inlet flow rate) von 50 ml/min ergab. Für die Analyse der aus den SPME-Fasern desorbierten VOCs wurde der Agilent 7890 A Gaschromatograph und das Agilent 5975 C inert XL Massenspektrometer verwendet. Das Temperaturprogramm lief wie folgt ab:  $90^{\circ}\text{C}$  für 6 min,  $15^{\circ}\text{C}/\text{min}$  bis  $120^{\circ}\text{C}$  für 1 min,  $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$  bis  $140^{\circ}\text{C}$  für 7 min,  $15^{\circ}\text{C}/\text{min}$  bis  $260^{\circ}\text{C}$  für 6 min. Die Ionisation erfolgte durch Elektronenstoß ( $70\ \text{eV}$ ). Der Scanbereich für das Massenspektrum lag bei 35-250 Th und die Scan-Rate bei 3,31 Scans/min. Die Temperatur der Ionenquelle lag bei  $230^{\circ}\text{C}$ , die Temperatur der Transferlinie bei  $280^{\circ}\text{C}$ . Die Identifizierung der potenziellen VOCs-Markersubstanzen, die Bestimmung und die Kalibrierung der Mess- und Nachweisgrenze

wurde, wie unter „pulmonale VOCs“ bereits beschrieben, durchgeführt. Die LOD und LOQ der Substanzen sind im Anhang 2 angeführt.

### 13.4 Gaschromatographie

Die Gaschromatographie ist ein chemisches Hilfsmittel, mit welchem sich die einzelnen Stoffe getrennt aus einem Gemisch identifizieren lassen. Das Gemisch selbst muss zu diesem Zwecke gasförmig vorliegen.

Schematisch besteht der Apparat aus einem Behälter, in welchem sich das Gasgemisch befindet. Das Gasgemisch wird zusammen über den Einstrom eines inerten Gases, meist Helium oder Stickstoff in Bewegung gebracht. Das inerte Gas wird daher als die mobile Phase bezeichnet.

An den Behälter schließt die stabile Phase an, eine Säule, die durch eine Beschichtung innen ausgekleidet ist. Die unterschiedlichen Stoffe im in Bewegung gesetzten Gasgemisch üben aufgrund ihrer chemischen Zusammensetzung eine unterschiedliche Anziehungskraft auf die stabile Phase aus. Diese führt dazu, dass sich ungleiche Stoffe unterschiedlich schnell und gleiche Stoffe ähnlich schnell durch die stabile Phase fortbewegen und am Ende ankommen. Am Ende der Säule befindet sich ein Detektor, welcher sowohl die Menge als auch die Ankunftszeit misst.

Die einzelnen Stoffe werden mittels ihrer unterschiedlichen Ankunftszeiten anhand einer Datenbank identifiziert (159).

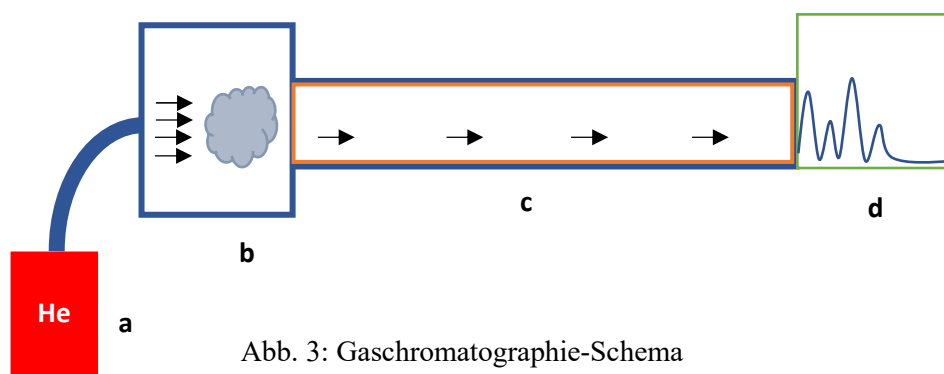


Abb. 3: Gaschromatographie-Schema

Quelle: Eigene Darstellung

- a. Inertes Gas; z.B. Helium (=mobile Phase)
- b. Gasgemisch
- c. Trennsäule mit Innenbeschichtung (=stabile Phase)
- d. Detektor

## 13.5 Massenspektrometrie

Durch die Massenspektrometrie können Substanzen anhand ihres „Massen-zu-Ladungsverhältnisses“ identifiziert werden.

Der Aufbau eines Massenspektrometers beinhaltet, vereinfacht dargestellt, eine Ionenquelle, einen Analysator und einen Detektor.

In der Ionenquelle wird die zu untersuchende gasförmige Substanz, der Analyt, ionisiert. Dabei werden aus einem Atom oder einem Molekül Elektronen entfernt, sodass ein positives Ion zurückbleibt. Diese Ionisation kann durch unterschiedliche Methoden stattfinden. Die in dieser Studie verwendete Methode ist die Elektronenstoßionisation, bei der die zu ionisierenden Moleküle mit Elektronen „beschossen“ werden, woraufhin sich Elektronen herauslösen und die Moleküle zu instabilen Kationen werden. Diese Kationen zerbrechen meist in einzelne Massenfragmente, von denen eines geladen bleibt. (160)

Die geladenen Fragmente werden anschließend im Analysator getrennt, um anschließend durch den Detektor registriert zu werden. Die Methode der Trennung hängt von der Art des Analysators ab, ist aber stets abhängig vom Verhältnis der Masse zur Ladung des Ions.

Flugzeit-Massenanalysatoren machen sich die von der Ionengröße abhängige Geschwindigkeit bei gleicher Nettoladung und konstanter elektrischer Spannung zu Nutze, um auf die Massen rückzuschließen. Je schneller die angelegte Kammer durchquert wird, desto kleiner ist die Masse des Ions (160).

Detektoren registrieren den Ionenstrom entweder zeit- oder ortsabhängig. Bei der zeitlichen Detektion erreichen die Ionen zu unterschiedlichen Zeiten denselben Ort. Ortsabhängig wird detektiert, wenn die Ionen durch den Analysator abgelenkt werden und an unterschiedlichen Orten gemessen werden.

Sowohl zeit- als auch ortsabhängig können die Unterschiede des Verhaltens der Ionen für die Identifizierung der Substanzen genutzt werden. (161)

## 13.6 Statistische Auswertung

Die Datenerfassung erfolgte mittels Microsoft Excel 2016<sup>®</sup> (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA) Tabellen. Die Daten wurden anschließend für die statistische Analyse in SPSS 25.0<sup>®</sup> (IBM Austria, Wien, Österreich) transferiert. Die Grafiken wurden in Prism<sup>®</sup> Version 8.3.0 (GraphPad, San Diego, CA, USA) erstellt. Die Daten werden in Kastengrafiken dargestellt, wobei die Box jeweils den Median und die Antenne den Interquartilsabstand

(IQR) symbolisieren. Gruppenvergleiche wurden mittels nicht-parametrischem Mann-Whitney-U-Test erstellt, wobei  $p < 0.05$  als statistisch signifikant definiert ist. Sowohl Heatmap als auch Dendrogramm wurden mit dem Programm R Studio 1.2.1335<sup>®</sup> (RStudio Inc., Boston, MA, USA) unter Verwendung der heatmap.2 library erstellt.

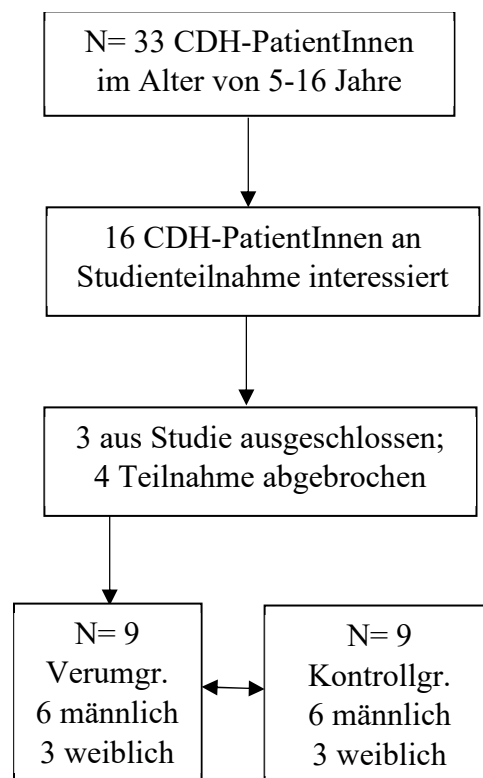
### 13.7 Ethikantrag

Die Studie wurde von der Ethikkommission der Medizinischen Universität Graz (Protokoll: 28- 528 ex 15/16) überprüft und freigegeben. Alle Beteiligten und Erziehungsberechtigten hatten mehrere Wochen Zeit, über ihre Teilnahme zu entscheiden und die informierte Einwilligung wurde ausnahmslos eingeholt.

## 14 Resultate

33 mögliche ProbandInnen mit einer rechts-, links- oder beidseitigen angeborenen Zwerchfellhernie konnten über das Krankenhausinformationssystem gefunden werden. 16 CDH-ProbandInnen wurden für eine Teilnahme gewonnen. Von diesen verweigerten 4 die weitere Teilnahme und 3 wurden aufgrund höhergradiger Behinderungen ausgeschlossen. Unter den verbliebenen 9 ProbandInnen waren 6 männlich und 3 weiblich.

Abb. 4:  
ProbandInnenrekrutierung



Das Alter betrug im Median 10 (IQR 5) Jahre. Die Seitenverteilung der Zwerchfellhernie war wie folgt: 5 links, 3 rechts, 1 beidseitig. Im Median fand die Operation nach 6,5 Lebens- tagen statt. Eine Probandin erhielt eine Patch-Implantation, während die Hernien der restli- chen 8 ProbandInnen direkt verschlossen wurden.

Da sich bei einem Probanden eine beidseitige Hernie zeigte und diese zweizeitig operiert wurde, beruht die Operationsstatistik (siehe Tabelle 1) trotz 9 ProbandInnen auf 10 Operati- onen. Bei einem einzigen Probanden wurde das Verfahren intraoperativ von Thorakoskopie auf Thorakotomie geändert, da die hernierten abdominalen Organe thorakoskopisch nicht im Bauchraum fixierbar waren. Tabelle 1 gibt einen gesammelten Überblick über die CDH- Gruppe.

Tabelle 1

CDH-PatientInnen Charakteristika präsentiert als Median (IQR)

Charakteristikum	Anzahl
Gestationsalter in Wochen	39 (3,8)
Geburtsgewicht in g	3400 (0,7)
Seitenverteilung (li./re./bds.)	5/3/1
liver up/down (up/down)	2/6
<b>Operative Technik</b>	
Thorakoskopie	2 (20%)
Thorakotomie	3 (30%)
Laparotomie	5 (50%)
Änderung der operativen Technik	1 (10%)
Patch-Implantation	1 (10%)
Operationszeitpunkt in Lebensstage	4 (6)
<b>postoperative Komplikationen</b>	
Pleuraerguss	3 (30%)
Gastrointestinale Obstruktion	3 (30%)
Gastroösophagealer Reflux	2 (20%)
Rezidiv	0

In der Kontrollgruppe befanden sich 6 männliche und 3 weibliche, altersgleiche ProbandInnen. Die ProbandInnen der CDH- und der Kontrollgruppe waren in ihren anthropometrischen Daten nicht statistisch unterschiedlich (siehe Tabelle 2). Weder zeigten die ProbandInnen der CDH- oder der Kontrollgruppe zum Zeitpunkt der Untersuchung eine Erkrankung oder einen Infekt, noch wurden Antibiotika oder Probiotika eingenommen.

Tabelle 2

Anthropometrische Daten der CDH-PatientInnen und Kontrollgruppe als Median präsentiert (IQR)

Parameter	CDH-Gruppe	CDHK-Gruppe	p-Wert
Größe (cm)	142.5 (36.5)	137.0 (39.5)	0.673
Körpergewicht (kg)	36.4 (30.5)	30.0 (28.4)	0.673
BMI <sup>a</sup> (kg/m <sup>2</sup> )	18.0 (4.7)	16.0 (5.0)	0.888
Extremitätenmuskelmass (kg/m <sup>2</sup> )	5.3 (2.8)	5.6 (3.6)	0.805
Körperfett (%)	6.0 (15.0)	5.3 (2.8)	0.442

<sup>a</sup>Body Mass Index

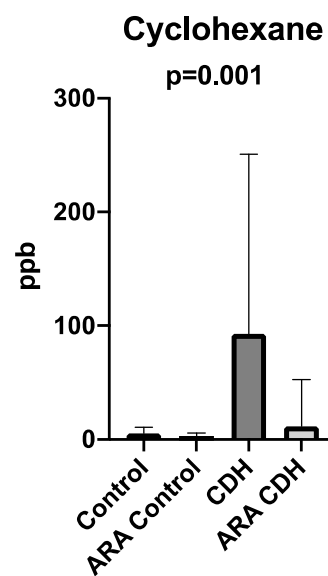
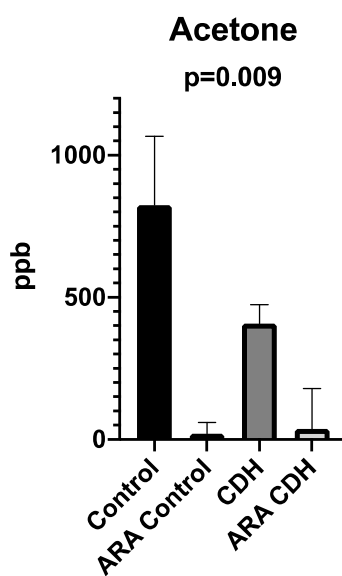
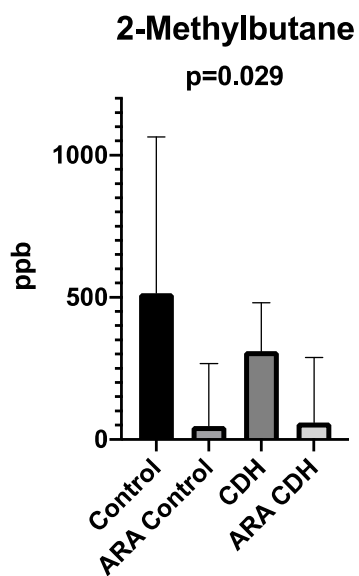
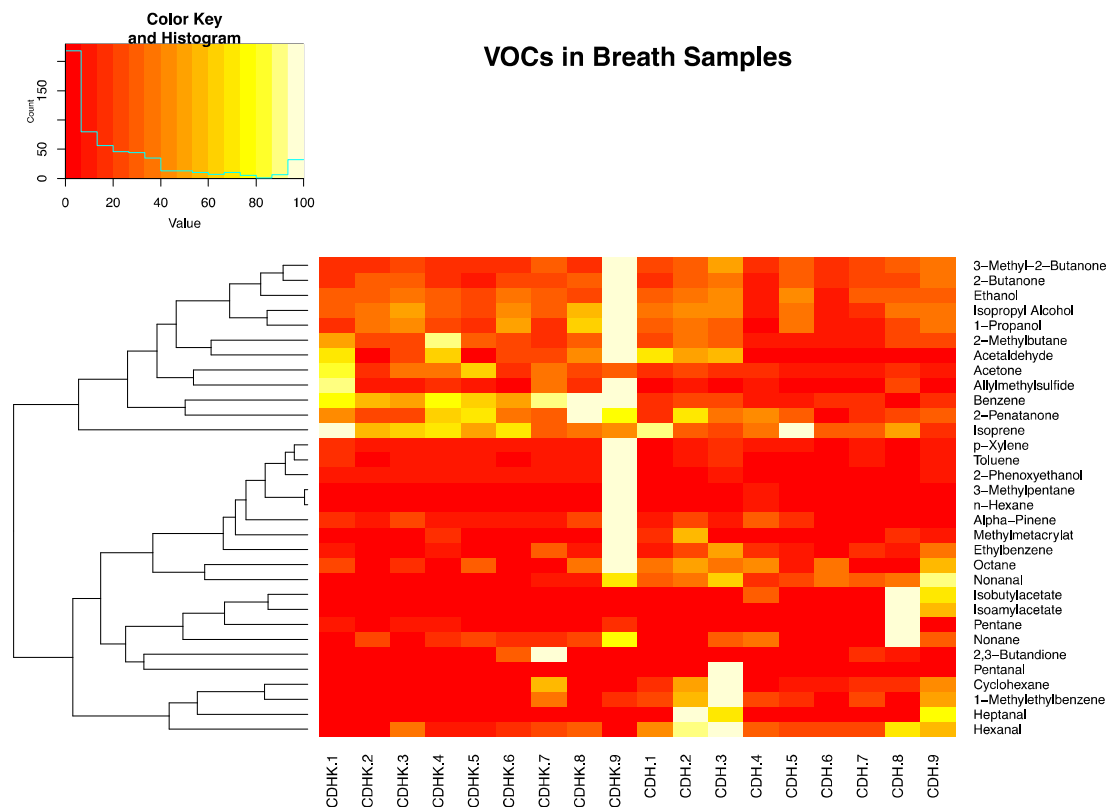
## 14.1 Pulmonale VOCs

Insgesamt konnten 67 unterschiedliche VOCs aus der Ausatemluft identifiziert werden, wovon die 32 häufigsten für den Vergleich weiterbearbeitet wurden. In der weiteren Analyse mittels Heatmap und Dendrogramm stellten sich unterschiedliche, unspezifische Substanzgruppen dar. Da diese durch die Kontamination in der Raumluft erklärbar waren, wurden sie ausgeschlossen. Anschließend zeigten sich signifikante Unterschiede von 1-Methylbenzen, 1-Propanol, 2-Methylbutan, Aceton und Cyclohexan. 1-Methylbenzen und 1-Propanol konnten ebenfalls auf eine Kontamination in der Raumluft zurückgeführt werden und wurden für die weitere Analyse ausgeschlossen.

Verglichen mit der Kontrollgruppe waren bei CDH-PatientInnen 2-Methylbutan ( $p=0.038$ ) und Aceton ( $p=0.002$ ) statistisch signifikant verringert und Cyclohexan ( $p=0.004$ ) statistisch signifikant erhöht.

Abb. 4: Heatmap, Dendrogramm und Boxplot der pulmonalen VOCs

Quelle: Gert Warncke et al. „Bacterial Airway Microbiome, Volatile Organic Compounds and Exercise Performance of Patients after Surgical Repair of Congenital Diaphragmatic Hernia“

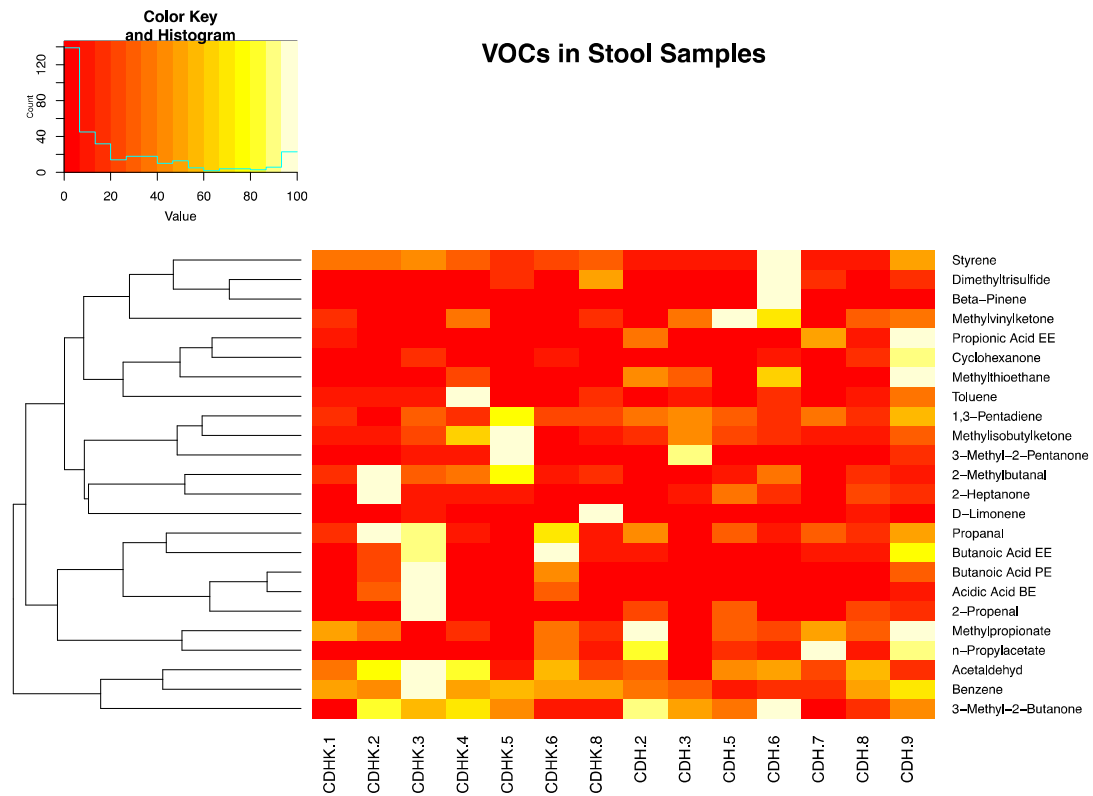


## 14.2 Fäkale VOCs

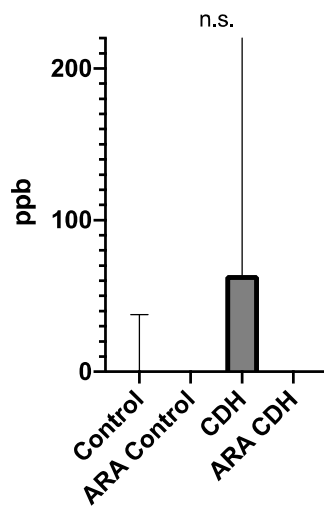
Insgesamt konnten bei 7 alters- und geschlechts-gematchten Paaren 193 unterschiedliche VOCs aus den Stuhlproben identifiziert werden. VOCs, welche sich bei weniger als 5 ProbandInnen fanden, wurden von der weiteren Analyse ausgeschlossen. Die 24 häufigsten VOCs wurden anschließend in einer Heatmap und Dendrogramm dargestellt, wobei sich hier unterschiedliche, unspezifische Substanzengruppen zeigten. Obwohl keine signifikanten Unterschiede zwischen CDH-PatientInnen und Kontrollgruppe vorlagen, ließen sich eine erhöhte Konzentration von n-Propylacetat und Propionsäureethylester und eine verringerte Konzentration von 2-Methylbutanal nachweisen.

Abb. 5: Heatmap, Dendrogramm und Boxplot der fäkalen VOCs

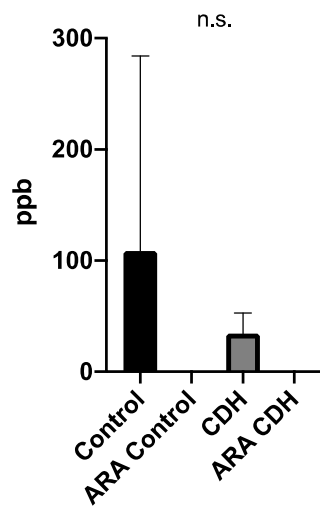
Quelle: Gert Warnke et al. „Bacterial Airway Microbiome, Volatile Organic Compounds and Exercise Performance of Patients after Surgical Repair of Congenital Diaphragmatic Hernia“



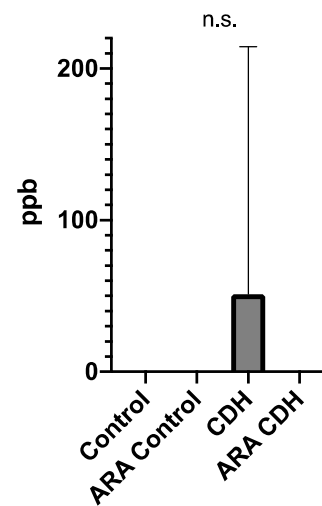
**n-Propylacetate**



**2-Methylbutanal**



**Propionic Acid EE**



## 15 Diskussion

Zur Energiebereitstellung in Hungerperioden betreibt die Leber Lipolyse, wodurch in den Hepatozyten über Zwischenschritte vermehrt Ketonkörper, also Acetoacetat,  $\beta$ -Hydroxybutyrat und Aceton anfallen. Durch die Elimination von  $\text{CO}_2$  (Decarboxylase) von Acetoacetat entsteht schließlich Aceton. Die enzymatische Konversion durch die Acetoacetat-Decarboxylase wird durch eine erhöhte Acetoacetat-Blutkonzentration forciert und durch Aceton inhibiert (162, 163). Der Acetonanteil in der Ausatemluft spiegelt demnach einen ketotischen Zustand wider, wobei der in Hungerperioden vermerkte Anstieg nach Nahrungszufuhr rasch wieder rückläufig ist (162). Um VOCs-Unterschiede aufgrund unterschiedlicher Hungerslagen ausschließen zu können, verzichteten sowohl die ProbandInnen aus der CDH- als auch aus der Kontrollgruppe zwei Stunden vor der VOCs-Messung auf jegliche Nahrungs- oder Flüssigkeitsaufnahme (ausgenommen Wasser).

Auch bei körperlicher Aktivität wird ein Anstieg von Aceton beobachtet. Dies ist wahrscheinlich auf die Lipolyse und Aceton als ihr Nebenprodukt zurückzuführen (162). Vor der VOCs-Messung war bei keinem der ProbandInnen eine erhöhte körperliche Aktivität auffällig.

Diabetes mellitus stellt eine Stoffwechselerkrankung dar, bei der aufgrund des Insulinmangels (v.a. Typ 1) und der Insulinresistenz (v.a. Typ 2) die zelluläre Glukoseaufnahme gestört ist. Als Konsequenz greift der Körper zur Energiebereitstellung auf Lipolyse und die Bildung von Ketonkörpern zurück. An Diabetes Mellitus-Erkrankte weisen im Blut daher eine erhöhte Konzentration an Ketonkörpern auf, welche sowohl bei Typ 1 als auch Typ 2 mit Aceton in der Ausatemluft zu korrelieren scheint (164). Sowohl in der CDH- als auch in der Kontrollgruppe lag kein diagnostizierter Diabetes mellitus vor.

Alkhoury et al. beschreiben bei Kindern mit einer Nicht-alkoholischen-Fettleber eine Erhöhung von Aceton (neben anderen VOCs) gegenüber der gesunden Kontrollgruppe. Die AutorInnen vermuten auch hier einen Zusammenhang mit einem veränderten Fettstoffwechsel (151). Wir erhoben in unserer Studie keine Laborparameter (z.B. AST, ALT,  $\gamma$ -GT, Ferritin) und keine bildgebende Diagnostik hinsichtlich Lebererkrankungen, weshalb eine Nicht-alkoholische-Fettleber nicht ausgeschlossen werden kann. Der BMI zeigte allerdings keine Unterschiede im Vergleich der Gruppen und der klinische Zustand der ProbandInnen ließ keine Lebererkrankung vermuten.

In Zusammenhang mit exazerbierter Herzinsuffizienz sind ebenfalls erhöhte Acetonwerte dokumentiert. Die AutorInnen erklären dies durch einen möglichen Anstieg an Ketonkörpern im Rahmen der Akuten-Phase-Reaktion der Exazerbation (153). Symptomatische, akute Infekte des Respirationstrakts, des urogenitalen Systems oder des Gastrointestinaltrakts lagen nicht vor. Zusätzlich gaben 8 von 9 CDH-ProbandInnen und alle ProbandInnen der Kontrollgruppe zum Zeitpunkt der VOCs-Messung an, sich fit zu fühlen. Daher sehen wir die Acetondifferenz zwischen den Gruppen nicht durch eine Akute-Phase-Reaktion ausgelöst.

In den genannten Studien ist ausschließlich ein Anstieg von Aceton gegenüber den jeweiligen Kontrollgruppen beschrieben. In unserer Studie zeigte sich der Acetongehalt in der CDH-Gruppe allerdings erniedrigt. Weiters beschrieben Van Oort et al. einen erniedrigten Acetongehalt. Sie identifizierten in intubierten und mechanisch-ventilierten PatientInnen VOCs, die die Bestätigung einer Pneumonie zuließen. Bei PatientInnen mit Pneumonie zeigte sich Aceton (neben anderen VOCs) signifikant verringert (142).

Die Ursache für die Erniedrigung bestimmter VOCs, speziell auch bei CDH-PatientInnen, ist unklar. Ein möglicher Erklärungsansatz wäre ein veränderter Gasaustausch an der Blut-Lunge-Schranke, welcher zur Erhöhung oder Erniedrigung bestimmter VOCs führt. Denkbar wäre ebenfalls ein unterschiedliches pulmonales Mikrobiom, welches zu VOCs-Unterschieden in der Ausatemluft führt. Zukünftige Studien sollten denkbare Ursachen weiter beleuchten.

Generell ist bei Betrachtung der VOCs miteinzuberechnen, dass weitere Faktoren wie zum Beispiel die Einnahme von Knoblauch, Koffein und Grünteeextrakt sowie hohe Temperaturen (z.B. Saunabesuch) den Acetongehalt in der Ausatemluft verändern (165). Die Vermutung besteht daher, dass noch weitere Faktoren vorliegen, welche in noch unbekannter Weise auf den Acetongehalt Einfluss nehmen.

2-Methylbutanal ist ein Nebenprodukt des Isoleucin-Stoffwechsels. Zum jetzigen Zeitpunkt besteht keine wissenschaftliche Information über die in vivo Rolle dieser Aminosäure. Isoleucin wird zum einen für den körpereigenen Proteinaufbau und zum anderen als Energieressource der Muskelzellen verwendet. In Hungerperioden greift der Körper auf den Isoleucinabbau zurück, wodurch eine Verbindung mit dem in ketotischen Zustand erhöhten Acetongehalt besteht. Die genaue Rolle dieser VOC muss noch in weiteren Studien erschlossen werden.

Cyclohexan ist ein organisches Lösungsmittel, welches bisher vor allem in Rohöl beschrieben wurde. Ein vermehrter Kontakt mit organischen Lösungsmitteln oder mit Kraftstoffen wurde in keinem/keiner Probanden/Probandin erhoben und die Passivrauchbelastung war in beiden Gruppen vergleichbar. Ein möglicher Ursprung im menschlichen Körper ist bisher unbekannt.

Trotzdem finden sich in der Literatur Vermerke auf einen möglichen Zusammenhang mit pulmonalen Erkrankungen. Oguma et al. beschreiben in der Ausatemluft von Lungenkrebs-PatientInnen nicht nur eine erhöhte Cyclohexankonzentration, sondern konnten auch einen Anstieg mit Tumorprogression und einen Rückgang mit erfolgreicher Therapie beobachten (166). In Zellkulturen menschlichen Lungengewebes, infiziert mit *E. coli*, *P. aeruginosae* und *S. aureus*, wurde ebenfalls vermehrt Cyclohexan festgestellt (167).

Ähnliches diskutieren Jia et al., die vermehrt Cyclohexanol (neben anderen VOCs) in PatientInnen mit Lungenkrebs nachwies (145). Bei Cyclohexanol handelt es sich um einen sekundären Alkohol, welcher bei der Oxidation von Cyclohexan anfällt.

In einer weiteren Studie konnte durch eine erhöhte Konzentration an methyliertem Cyclohexan (und anderen VOCs), Pneumokoniose in einer Risikogruppe nachgewiesen werden (144).

Obwohl der genaue Zusammenhang noch unbekannt ist, besteht aufgrund der Beschreibungen von Cyclohexan in Verbindung mit pulmonalen Erkrankungen der Verdacht einer gegenseitigen Abhängigkeit.

Neben pulmonalen Erkrankungen sind ein Anstieg von Methylcyclohexan und Cyclohexanol bei PatientInnen mit kolorektalem Karzinom und ein Anstieg von Cyclohexanol in PatientInnen mit akutem Nierenversagen beschrieben (146, 149).

Die genaue Ursache der Erhöhung an Cyclohexan in der CDH-Gruppe bleibt ungeklärt und sollte in zukünftigen Studien weiter untersucht werden.

In unserer Studie zeigten sich keine signifikanten Unterschiede im VOCs-Profil der Stuhlproben der CDH- gegenüber der Kontrollgruppe, weshalb die fäkalen VOCs an dieser Stelle weniger ausführlich behandelt werden sollen. Dennoch ließen sich eine nicht-signifikante Verringerung von 2-Methylbutanal und Erhöhungen von Propionsäureethylester und n-Propylacetat nachweisen.

Sponring et al. beschreiben VOCs-Profile von in vitro kultivierten Lungenkrebszellen. Bei der Analyse zeigt sich eine signifikante Verringerung von 2-Methylbutanal (neben anderen VOCs) in Zusammenhang mit Krebszellen. Die AutorInnen spekulieren, dass es sich bei 2-Methylbutanal um eine von Lungenkrebszellen konsumierte VOC handelt (168).

Eine Verringerung von 2-Methylbutanal (neben anderen VOCs) beschreiben ebenfalls Mochalski et al. nach Kultivierung von Endothelzellen einer menschlichen Vena umbilicalis. Eine mögliche Erklärung hierfür sehen die AutorInnen in der enzymatischen Oxidation durch die Aldehyddehydrogenase, welche in den Endothelzellen exprimiert ist (169). Die Verringerung der fäkalen VOCs in der CDH-Gruppe kann nicht auf eine spezifische enzymatische Reaktion zurückgeführt werden. Verglichen mit der Studie von Mochalski et al. könnten aber Enzyme auch in CDH-PatientInnen für eine Veränderung des VOCs-Profiles führen.

n-Propylacetat wurde in erhöhter Konzentration in Kulturen von humanen Fibroblasten nachgewiesen (170). Mögliche Ursachen hierfür und für die Erhöhung der CDH-Gruppe bleiben ungeklärt.

Zum Zeitpunkt des Studienabschluss ist uns keine wissenschaftliche Dokumentation von Propionsäureethylester als VOC bekannt. Zukünftige Studien werden zeigen, welche Rolle Propionsäureethylester zuzuschreiben ist.

Zu den Limitationen der Studie gehören eine geringe ProbandInnenanzahl. Diese ist unter anderem auf die geringe Prävalenz der CDH, den ausschließlichen Einschluss von ProbandInnen eines Krankenhauses und den durch die Studie vorgegebenen Altersrahmen zurückzuführen. Weiters stellte der Untersuchungstermin für viele Familien aufgrund einer langen Anreise und einer unvergüteten Aufenthaltsdauer im Krankenhaus ein Hindernis dar. In der vorliegenden Studie wurden sowohl Bochdalek- als auch Morgagni-Hernien eingeschlossen. Eine gänzlich unterschiedliche Ätiologie scheint zum jetzigen Zeitpunkt unwahrscheinlich, trotzdem könnten Abweichungen zwischen den zwei Typen bestehen, welche Einfluss auf das VOCs-Profil nehmen.

Mögliche Kontaminationen der VOCs durch Raumluft und Transport sind durch die identische Analyse und Transportweise der gemessenen Raumluft äußerst unwahrscheinlich. Trotz sorgfältiger Aufklärung und identischer Vorbereitung in der CDH- und Kontrollgruppe können unbekannte Einflussfaktoren nicht gänzlich ausgeschlossen werden. Insbe-

sondere wurden keine metabolischen Laborparameter (z.B. Ketonkörper im Urin, Blutglukose, HbA1c) erhoben, weshalb sich keine Aussagen über mögliche zugrundeliegende Komorbiditäten des Stoffwechsels treffen lassen. Zukünftige Studien sollten metabolische Parameter einschließen, um den Zusammenhang zwischen CDH und Metabolismus genauer zu beleuchten. Vier ProbandInnen verweigerten die Abgabe einer Stuhlprobe, wodurch die Aussagekraft der fäkalen VOCs weiter verringert wurde.

Zusammenfassend ist zu erwähnen, dass es sich hierbei um die erste Studie einer pulmonalen und fäkalen VOCs-Analyse bei CDH-PatientInnen handelt. Die pulmonalen VOCs der CDH-PatientInnen ergaben einen Anstieg von Cyclohexan, welche bereits bei Lungenkrebszellen und in vitro mit *E.coli*, *S. aureus* und *P. aeruginosa* infiziertem Lungengewebe festgestellt wurden. Ein verringerter Acetongehalt wurde bereits in Ventilator-assoziierten Pneumonien beschrieben. Weitere ausführlichere und multizentrische Studien werden benötigt, um die gefundenen Resultate zu bestätigen.

## Literaturverzeichnis

1. Wessel LM, Lange B, Waag KL. Zwerchfellhernie. In: Von Schweinitz D, Ure B, editors. *Kinderchirurgie: Viszerale und allgemeine Chirurgie des Kindes*. 2. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2013. p. 253-72.
2. Chandrasekharan PK, Rawat M, Madappa R, Rothstein DH, Lakshminrusimha S. Congenital Diaphragmatic hernia - a review. *Matern Health Neonatol Perinatol*. 2017;3:6.
3. Dingeldein M. Congenital Diaphragmatic Hernia: Management & Outcomes. *Adv Pediatr*. 2018;65(1):241-7.
4. Yang W, Carmichael SL, Harris JA, Shaw GM. Epidemiologic characteristics of congenital diaphragmatic hernia among 2.5 million California births, 1989-1997. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*. 2006;76(3):170-4.
5. Skari H, Bjornland K, Haugen G, Egeland T, Emblem R. Congenital diaphragmatic hernia: a meta-analysis of mortality factors. *J Pediatr Surg*. 2000;35(8):1187-97.
6. Moore K, Persaud T, Torchia M. The developing human; clinically oriented embryology 2016. 141-51 p.
7. von Mutius E, Gappa M, Eber E, Frey U. *Pädiatrische Pneumologie*: SpringerVerlag; 2014. 129- 48; 383-9 p.
8. Akel S, Nasr W. Multiple ipsilateral congenital diaphragmatic pathologies: rarities to consider. *Eur J Pediatr Surg*. 2001;11:200-3.
9. Pober BR. Overview of epidemiology, genetics, birth defects, and chromosome abnormalities associated with CDH. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2007;145C(2):158-71.
10. Standring S. *Gray's Anatomy; The Anatomical Basis of clinical Practice*. Standring S, editor: Elsevier Health Sciences; 2016. 1562 p.
11. Loong TP, Kocher HM. Clinical presentation and operative repair of hernia of Morgagni. *Postgrad Med J*. 2005;81(951):41-4.
12. Lima M, Al-Taher R, Gargano T, Maffi M. Thoracoscopic diagnosis and repair of central congenital diaphragmatic hernia in a neonate: A case report of a rare entity. *Journal of Pediatric Surgery Case Reports*. 2017;21:26-8.
13. Rais-Bahrami K, Gilbert JC, Hartman GE, Chandra RS, Short BL. Right diaphragmatic eventration simulating a congenital diaphragmatic hernia. *Am J Perinatol*. 1996;13(4):241-3.
14. Thiel W. *Lehrbuch der topographischen Anatomie*: Springer-Verlag; 1969. 971 p.
15. McGivern MR, Best KE, Rankin J, Wellesley D, Greenlees R, Addor MC, et al. Epidemiology of congenital diaphragmatic hernia in Europe: a register-based study. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2015;100(2):F137-44.
16. Wright JC, Budd JL, Field DJ, Draper ES. Epidemiology and outcome of congenital diaphragmatic hernia: a 9-year experience. *Paediatr Perinat Epidemiol*. 2011;25(2):144-9.
17. Holder AM, Klaassens M, Tibboel D, de Klein A, Lee B, Scott DA. Genetic factors in congenital diaphragmatic hernia. *Am J Hum Genet*. 2007;80(5):825-45.
18. Stoll C, Alembik Y, Dott B, Roth M-P. Associated non Diaphragmatic Anomalies among cases with congenital diaphragmatic hernia. *Genet Couns*. 2015.
19. Enns GM, Cox VA, Goldstein RB, Gibbs DL, Harrison M, Golabi M. Congenital Diaphragmatic Defects and Associated Syndromes, Malformations, and Chromosome Anomalies: A Retrospective Study of 60 Patients and Literature Review. *Am J Med Genet*. 1998;79:215-25.
20. Thébaud B, Tibboel D, Rambaud C, Mercier J-C, Borubon JR, Dinh-Xuan AT, et al. Vitamin A decreases the incidence and severity of nitrofen-induced congenital diaphragmatic hernia in rats. *The American journal of physiology*. 1999.

21. Kling DE, Schnitzer JJ. Vitamin A deficiency (VAD), teratogenic, and surgical models of congenital diaphragmatic hernia (CDH). *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 2007;145C(2):139-57.
22. Clugston RD, Klattig J, Englert C, Clagett-Dame M, Martinovic J, Benachi A, et al. Teratogen-induced, dietary and genetic models of congenital diaphragmatic hernia share a common mechanism of pathogenesis. *Am J Pathol.* 2006;169(5):1541-9.
23. Andersen DH. Effect of diet during pregnancy upon the incidence of congenital hereditary diaphragmatic hernia in the rat; failure to produce cystic fibrosis of the pancreas by maternal vitamin A deficiency. *The American journal of pathology.* 1949.
24. Chinoy MR. Pulmonary Hypoplasia and Congenital Diaphragmatic Hernia: Advances in the Pathogenetics and Regulation of Lung Development. *J Surg Res.* 2002;106(1):209-23.
25. Major D, Cadenas M, Fournier L, Leclerc S, Lefebvre M, Cloutier R. Retinol status of newborn infants with congenital diaphragmatic hernia. *Pediatr Surg Int.* 1998.
26. Carmona R, Canete A, Cano E, Ariza L, Rojas A, Munoz-Chapuli R. Conditional deletion of WT1 in the septum transversum mesenchyme causes congenital diaphragmatic hernia in mice. *Elife.* 2016;5.
27. McAteer JP, Hecht A, De Roos AJ, Goldin AB. Maternal medical and behavioral risk factors for congenital diaphragmatic hernia. *J Pediatr Surg.* 2014;49(1):34-8; discussion 8.
28. Rottier R, Tibboel D. Fetal Lung and Diaphragm Development in Congenital Diaphragmatic Hernia. *Semin Perinatol.* 2005;29(2):86-93.
29. Greer JL, Allan DW, Babiuk RP, Lemke RP. Recent Advances in Understanding the Pathogenesis of Nitrofen-Induced Congenital Diaphragmatic Hernia. *Pediatr Pulmonol.* 2000;29:394-9.
30. Greer JJ, Cote D, Allan DW, Zhang W, Babiuk RP, Ly L, et al. Structure of the primordial diaphragm and defects associated with nitrofen-induced CDH. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md : 1985).* 2000;89(6):2123-9.
31. Jesudason EC. Challenging embryological theories on congenital diaphragmatic hernia: future therapeutic implications for paediatric surgery. *Ann R Coll Surg Engl.* 2002;84:252-9.
32. Allan DW, Green JL. Embryogenesis of the Phrenic Nerve and Diaphragm in the Fetal Rat. *THE JOURNAL OF COMPARATIVE NEUROLOGY.* 1997;382:459-68.
33. Babiuk RP, Greer JJ. Diaphragm defects occur in a CDH hernia model independently of myogenesis and lung formation. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2002;283(6):L1310-4.
34. Karamanoukian HL, Glick PL, Wilcox DT, O'Toole SJ, Rossman JE, Azizkhan RG. Pathophysiology of congenital diaphragmatic hernia. XI: Anatomic and biochemical characterization of the heart in the fetal lamb CDH model. *J Pediatr Surg.* 1995;30(7):925-8; discussion 9.
35. Jesudason EC, Connell MG, Fernig DG, Lloyd DA, Losty PD. Early lung malformations in congenital diaphragmatic hernia. *J Pediatr Surg.* 2000.
36. Peetsold MG, Heij HA, Kneepkens CM, Nagelkerke AF, Huisman J, Gemke RJ. The long-term follow-up of patients with a congenital diaphragmatic hernia: a broad spectrum of morbidity. *Pediatr Surg Int.* 2009;25(1):1-17.
37. Bratu I, Flageole H, Laberge JM, Chen MF, Piedboeuf B. Pulmonary structural maturation and pulmonary artery remodeling after reversible fetal ovine tracheal occlusion in diaphragmatic hernia. *J Pediatr Surg.* 2001;36(5):739-44.
38. Kotecha S, Barbato A, Bush A, Claus F, Davenport M, Delacourt C, et al. Congenital diaphragmatic hernia. *Eur Respir J.* 2012;39(4):820-9.

39. Pérez-Egido L, Parente A, Cerdá JA. Acute gastric volvulus and congenital diaphragmatic hernia, case report and review. *Afr J Paediatr Surg.* 2015;12(3):200-2.
40. Harding R, Hooper SB. Regulation of lung expansion and lung growth before birth. *J Appl Physiol.* 1996;81(1):209-24.
41. Flageole H, Evrard V, Deprest J. The Plug-Unplug Sequence: An important step to achieve Type II Pneumocyte Maturation in the Fetal Lamb Model. *J Pediatr Surg.* 1998;33(2):299-303.
42. Deprest J, Gratacos E, Nicolaidis KH, Group FT. Fetoscopic tracheal occlusion (FETO) for severe congenital diaphragmatic hernia: evolution of a technique and preliminary results. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2004;24(2):121-6.
43. Badillo A, Gingalewski C. Congenital diaphragmatic hernia: treatment and outcomes. *Semin Perinatol.* 2014;38(2):92-6.
44. O'Toole S, Sharma A, Glick PL. Tracheal Ligation Does Not Correct the Surfactant Deficiency Associated With Congenital Diaphragmatic Hernia. *J Pediatr Surg.* 1996;31(4):546-50.
45. Jani JC, Nicolaidis KH, Gratacos E, Valencia CM, Done E, Martinez JM, et al. Severe diaphragmatic hernia treated by fetal endoscopic tracheal occlusion. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2009;34(3):304-10.
46. Snoek KG, Reiss IK, Greenough A, Capolupo I, Urlesberger B, Wessel L, et al. Standardized Postnatal Management of Infants with Congenital Diaphragmatic Hernia in Europe: The CDH EURO Consortium Consensus - 2015 Update. *Neonatology.* 2016;110(1):66-74.
47. Flemmer AW. Lungenreifeinduktion. In: Toth B, editor. *Fehlgeburten Totgeburten Frühgeburten: Ursachen, Prävention und Therapie.* Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2017. p. 271-5.
48. Canadian Congenital Diaphragmatic Hernia C, Puligandla PS, Skarsgard ED, Offringa M, Adatia I, Baird R, et al. Diagnosis and management of congenital diaphragmatic hernia: a clinical practice guideline. *CMAJ.* 2018;190(4):E103-E12.
49. McHoney M. Congenital diaphragmatic hernia, management in the newborn. *Pediatr Surg Int.* 2015;31(11):1005-13.
50. Reiss I, Schaible T, van den Hout L, Capolupo I, Allegaert K, van Heijst A, et al. Standardized postnatal management of infants with congenital diaphragmatic hernia in Europe: the CDH EURO Consortium consensus. *Neonatology.* 2010;98(4):354-64.
51. Gardner LS, Carter SB, Enzman Hines M, Hernández AJ. *Neonatal Intensive Care.* St. Louis, Missouri: Elsevier; 2016. 591-5 p.
52. Thibeault DW, Hanley B. Lung Volume, Pulmonary Vasculature, and Factors Affecting Survival in Congenital Diaphragmatic Hernia. *Pediatrics.* 1998;101(2):289-95.
53. Puligandla PS, Grabowski J, Austin M, Hedrick H, Renaud E, Arnold M, et al. Management of congenital diaphragmatic hernia: A systematic review from the APSA outcomes and evidence based practice committee. *J Pediatr Surg.* 2015;50(11):1958-70.
54. Lawrence KM, Berger K, Herkert L, Franciscovich C, O'Dea CLH, Waqar LN, et al. Use of prostaglandin E1 to treat pulmonary hypertension in congenital diaphragmatic hernia. *J Pediatr Surg.* 2019;54(1):55-9.
55. Cohen JL, Nees SN, Valencia GA, Rosenzweig EB, Krishnan US. Sildenafil Use in Children with Pulmonary Hypertension. *J Pediatr.* 2019;205:29-34 e1.
56. Mohamed WA, Ismail M. A randomized, double-blind, placebo-controlled, prospective study of bosentan for the treatment of persistent pulmonary hypertension of the newborn. *J Perinatol.* 2012;32(8):608-13.

57. de la Hunt MN, Madden N, Scott JES, Wagget J. Is Delayed Surgery Really Better for Congenital Diaphragmatic Hernia?: A Prospective Randomized Clinical Trial. *J Pediatr Surg.* 1996;31(11):1554-6.
58. Puri P, Nakazawa N. Congenital Diaphragmatic Hernia. In: Puri P, Höllwarth M, editors. *Pediatric Surgery.* Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2009. p. 307-13.
59. Vijfhuize S, Deden AC, Costerus SA, Sloots CE, Wijnen RM. Minimal access surgery for repair of congenital diaphragmatic hernia: is it advantageous?--An open review. *Eur J Pediatr Surg.* 2012;22(5):364-73.
60. Zhu Y, Wu Y, Pu Q, Ma L, Liao H, Liu L. Minimally invasive surgery for congenital diaphragmatic hernia: a meta-analysis. *Hernia.* 2016;20(2):297-302.
61. Tsao K, Lally PA, Lally KP, Congenital Diaphragmatic Hernia Study G. Minimally invasive repair of congenital diaphragmatic hernia. *J Pediatr Surg.* 2011;46(6):1158-64.
62. Lansdale N, Alam S, Losty PD, Jesudason EC. Neonatal endosurgical congenital diaphragmatic hernia repair: a systematic review and meta-analysis. *Ann Surg.* 2010;252(1):20-6.
63. Bishay M, Giacomello L, Retrosi G, Thyoka M, Garriboli M, Brierley J, et al. Hypercapnia and acidosis during open and thoracoscopic repair of congenital diaphragmatic hernia and esophageal atresia: results of a pilot randomized controlled trial. *Ann Surg.* 2013;258(6):895-900.
64. Putnam LR, Tsao K, Lally KP, Blakely ML, Jancelewicz T, Lally PA, et al. Minimally Invasive vs Open Congenital Diaphragmatic Hernia Repair: Is There a Superior Approach? *J Am Coll Surg.* 2017;224(4):416-22.
65. Criss CN, Coughlin MA, Matusko N, Gadepalli SK. Outcomes for thoracoscopic versus open repair of small to moderate congenital diaphragmatic hernias. *J Pediatr Surg.* 2018;53(4):635-9.
66. Saxena AK. Surgical perspectives regarding application of biomaterials for the management of large congenital diaphragmatic hernia defects. *Pediatr Surg Int.* 2018;34(5):475-89.
67. Valfre L, Braguglia A, Conforti A, Morini F, Trucchi A, Iacobelli BD, et al. Long term follow-up in high-risk congenital diaphragmatic hernia survivors: patching the diaphragm affects the outcome. *J Pediatr Surg.* 2011;46(1):52-6.
68. Rygl M, Rounova P, Sulc J, Slaby K, Stranak Z, Pycha K, et al. Abnormalities in pulmonary function in infants with high-risk congenital diaphragmatic hernia. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2015;159(3):497-502.
69. Alfaraj MA, Shah PS, Bohn D, Pantazi S, O'Brien K, Chiu PP, et al. Congenital diaphragmatic hernia: lung-to-head ratio and lung volume for prediction of outcome. *Am J Obstet Gynecol.* 2011;205(1):43 e1-8.
70. Gallot D, Boda C, Ughetto S, Perthus I, Robert-Gnansia E, Francannet C, et al. Prenatal detection and outcome of congenital diaphragmatic hernia: a French registry-based study. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2007;29(3):276-83.
71. Metkus AP, Filly RA, Stringer MD, Harrison M, Adzick NS. Sonographic Predictors of Survival in Fetal Diaphragmatic Hernia. *J Pediatr Surg.* 1996;31(1):148-52.
72. Kehl S, Siemer J, Brunnemer S, Weiss C, Eckert S, Schaible T, et al. Prediction of postnatal outcomes in fetuses with isolated congenital diaphragmatic hernias using different lung-to-head ratio measurements. *J Ultrasound Med.* 2014;33(5):759-67.
73. Oluyomi-Obi T, Kuret V, Puligandla P, Lodha A, Lee-Robertson H, Lee K, et al. Antenatal predictors of outcome in prenatally diagnosed congenital diaphragmatic hernia (CDH). *J Pediatr Surg.* 2017;52(5):881-8.

74. Ruano R, Lazar DA, Cass DL, Zamora IJ, Lee TC, Cassady CI, et al. Fetal lung volume and quantification of liver herniation by magnetic resonance imaging in isolated congenital diaphragmatic hernia. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2014;43(6):662-9.
75. Peralta CF, Cavoretto P, Csapo B, Vandecruys H, Nicolaides KH. Assessment of lung area in normal fetuses at 12-32 weeks. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2005;26(7):718-24.
76. Jani J, Nicolaides KH, Keller RL, Benachi A, Peralta CF, Favre R, et al. Observed to expected lung area to head circumference ratio in the prediction of survival in fetuses with isolated diaphragmatic hernia. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2007;30(1):67-71.
77. Mayer S, Klaritsch P, Petersen S, Done E, Sandaite I, Till H, et al. The correlation between lung volume and liver herniation measurements by fetal MRI in isolated congenital diaphragmatic hernia: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Prenat Diagn.* 2011;31(11):1086-96.
78. Zamora IJ, Olutoye OO, Cass DL, Fallon SC, Lazar DA, Cassady CI, et al. Prenatal MRI fetal lung volumes and percent liver herniation predict pulmonary morbidity in congenital diaphragmatic hernia (CDH). *J Pediatr Surg.* 2014;49(5):688-93.
79. Datin-Dorriere V, Rouzies S, Taupin P, Walter-Nicolet E, Benachi A, Sonigo P, et al. Prenatal prognosis in isolated congenital diaphragmatic hernia. *Am J Obstet Gynecol.* 2008;198(1):80 e1-5.
80. Sperling JD, Sparks TN, Berger VK, Farrell JA, Gosnell K, Keller RL, et al. Prenatal Diagnosis of Congenital Diaphragmatic Hernia: Does Laterality Predict Perinatal Outcomes? *Am J Perinatol.* 2018;35(10):919-24.
81. Collin M, Trinder S, Minutillo C, Rao S, Dickinson J, Samnakay N. A modern era comparison of right versus left sided congenital diaphragmatic hernia outcomes. *J Pediatr Surg.* 2016;51(9):1409-13.
82. Partridge EA, Peranteau WH, Herkert L, Rendon N, Smith H, Rintoul NE, et al. Right- versus left-sided congenital diaphragmatic hernia: a comparative outcomes analysis. *J Pediatr Surg.* 2016;51(6):900-2.
83. Neville HL, Jaksic T, Wilson JM, Lally PA, Hardin WD, Jr., Hirschl RB, et al. Fryns syndrome in children with congenital diaphragmatic hernia. *J Pediatr Surg.* 2002;37(12):1685-7.
84. Bagolan P, Casaccia G, Nahom A, Trucchi A, Zangari A, Laviani R, et al. Severe congenital diaphragmatic hernia (CDH): a critical analysis of eight years' experience. *Eur J Pediatr Surg.* 2002;12(2):95-100.
85. Koziarkiewicz M, Taczalska A, Piaseczna-Piotrowska A. Long-term follow-up of children with congenital diaphragmatic hernia--observations from a single institution. *Eur J Pediatr Surg.* 2014;24(6):500-7.
86. Rocha G, Azevedo I, Pinto JC, Guimaraes H. Follow-up of the survivors of congenital diaphragmatic hernia. *Early Hum Dev.* 2012;88(4):255-8.
87. Wynn J, Aspelund G, Zygmunt A, Stolar CJ, Mychaliska G, Butcher J, et al. Developmental outcomes of children with congenital diaphragmatic hernia: a multicenter prospective study. *J Pediatr Surg.* 2013;48(10):1995-2004.
88. Jaillard SM, Pierrat V, Dubois A, Truffert P, Lequien P, Wurtz AJ, et al. Outcome at 2 Years of Infants With Congenital Diaphragmatic Hernia: A Population-Based Study. *Ann Thorac Surg.* 2003;75:250-6.
89. Hislop AA, Wigglesworth JS, Desai R. Alveolar development in the human fetus and infant. *Early Hum Dev.* 1986;13(1):1-11.
90. Panitch HB, Weiner DJ, Feng R, Perez MR, Healy F, McDonough JM, et al. Lung function over the first 3 years of life in children with congenital diaphragmatic hernia. *Pediatr Pulmonol.* 2015;50(9):896-907.

91. Hayward MJ, Kharasch V, Sheils C, Friedman S, Dunleavy MJ, Utter S, et al. Predicting inadequate long-term lung development in children with congenital diaphragmatic hernia: an analysis of longitudinal changes in ventilation and perfusion. *J Pediatr Surg.* 2007;42(1):112-6.
92. Vanamo K, Rintala R, Louhimo I. Long-Term Pulmonary Sequelae in Survivors of Congenital Diaphragmatic Defects. *J Pediatr Surg.* 1996;31(8).
93. Kamata S, Usui N, Kamiyama M, Tazuke Y, Nose K, Sawai T, et al. Long-term follow-up of patients with high-risk congenital diaphragmatic hernia. *J Pediatr Surg.* 2005;40(12):1833-8.
94. Wong M, Reyes J, Lapidus-Krol E, Chiang M, Humpl T, Al-Faraj M, et al. Pulmonary hypertension in congenital diaphragmatic hernia patients: Prognostic markers and long-term outcomes. *J Pediatr Surg.* 2018;53(5):918-24.
95. Arena F, Baldari S, Centorrino A, Calabrò MP, Pajino G, Arena S, et al. Mid- and long-term effects on pulmonary perfusion, anatomy and diaphragmatic motility in survivors of congenital diaphragmatic hernia. *Pediatr Surg Int.* 2005;21(12):954-9.
96. Spoel M, van der Cammen-van Zijp MH, Hop WC, Tibboel D, de Jongste JC, Ijsselstijn H. Lung function in young adults with congenital diaphragmatic hernia; a longitudinal evaluation. *Pediatr Pulmonol.* 2013;48(2):130-7.
97. Kim D, Saleem M, Paes B, Mitchell I, Lanctot KL. Respiratory Syncytial Virus Prophylaxis in Infants With Congenital Diaphragmatic Hernia in the Canadian Respiratory Syncytial Virus Evaluation Study of Palivizumab, 2005-2017. *Clin Infect Dis.* 2019;69(6):980-6.
98. Muratore CS, Kharasch V, Lund DP, Sheils C, Friedman S, Brown C, et al. Pulmonary morbidity in 100 survivors of congenital diaphragmatic hernia monitored in a multidisciplinary clinic. *J Pediatr Surg.* 2001;36(1):133-40.
99. Trachsel D, Selvadurai H, Bohn D, Langer JC, Coates AL. Long-term pulmonary morbidity in survivors of congenital diaphragmatic hernia. *Pediatr Pulmonol.* 2005;39(5):433-9.
100. Okuyama H, Kubota A, Kawahara H, Oue T, Kitayama Y, Yagi M. Correlation between lung scintigraphy and long-term outcome in survivors of congenital diaphragmatic hernia. *Pediatr Pulmonol.* 2006;41(9):882-6.
101. Tureczek I, Caflisch J, Moehrlen U, Natalucci G, Bernet V, Latal B. Long-term motor and cognitive outcome in children with congenital diaphragmatic hernia. *Acta Paediatr.* 2012;101(5):507-12.
102. Stefanutti G, Filippone M, Tommasoni N, Midrio P, Zucchetta P, Moreolo GS, et al. Cardiopulmonary anatomy and function in long-term survivors of mild to moderate congenital diaphragmatic hernia. *J Pediatr Surg.* 2004;39(4):526-31.
103. American Academy of Pediatrics Section on S, American Academy of Pediatrics Committee on F, Newborn, Lally KP, Engle W. Postdischarge follow-up of infants with congenital diaphragmatic hernia. *Pediatrics.* 2008;121(3):627-32.
104. Benoist G, Mokhtari M, Deschildre A, Khen-Dunlop N, Storme L, Benachi A, et al. Risk of Readmission for Wheezing during Infancy in Children with Congenital Diaphragmatic Hernia. *PLoS One.* 2016;11(5):e0155556.
105. Peetsold MG, Heij HA, Nagelkerke AF, Ijsselstijn H, Tibboel D, Quanjer PH, et al. Pulmonary function and exercise capacity in survivors of congenital diaphragmatic hernia. *Eur Respir J.* 2009;34(5):1140-7.
106. Campanozzi A, Boccia G, Pensabene L, Panetta F, Marseglia A, Strisciuglio P, et al. Prevalence and natural history of gastroesophageal reflux: pediatric prospective survey. *Pediatrics.* 2009;123(3):779-83.

107. Janssen S, Heiwegen K, van Rooij IA, Scharbatke H, Roukema J, de Blaauw I, et al. Factors related to long-term surgical morbidity in congenital diaphragmatic hernia survivors. *J Pediatr Surg.* 2018;53(3):508-12.
108. Muratore CS, Utter S, Jaksic T, Lund DP, Wilson JM. Nutritional morbidity in survivors of congenital diaphragmatic hernia. *J Pediatr Surg.* 2001;36(8):1171-6.
109. Takayasu H, Masumoto K, Jimbo T, Sakamoto N, Sasaki T, Uesugi T, et al. Analysis of risk factors of long-term complications in congenital diaphragmatic hernia: A single institution's experience. *Asian J Surg.* 2017;40(1):1-5.
110. Yokota K, Uchida H, Kaneko K, Ono Y, Murase N, Makita S, et al. Surgical complications, especially gastroesophageal reflux disease, intestinal adhesion obstruction, and diaphragmatic hernia recurrence, are major sequelae in survivors of congenital diaphragmatic hernia. *Pediatr Surg Int.* 2014;30(9):895-9.
111. Caruso AM, Di Pace MR, Catalano P, Farina F, Casuccio A, Cimador M, et al. Gastroesophageal reflux in patients treated for congenital diaphragmatic hernia: short- and long-term evaluation with multichannel intraluminal impedance. *Pediatr Surg Int.* 2013;29(6):553-9.
112. Morandi A, Macchini F, Zanini A, Pasqua N, Farris G, Canazza L, et al. Endoscopic Surveillance for Congenital Diaphragmatic Hernia: Unexpected Prevalence of Silent Esophagitis. *Eur J Pediatr Surg.* 2016;26(3):291-5.
113. Su W, Berry M, Puligandla PS, Aspirot A, Flageole H, Laberge JM. Predictors of gastroesophageal reflux in neonates with congenital diaphragmatic hernia. *J Pediatr Surg.* 2007;42(10):1639-43.
114. Vrijland WW, Jeekel J, van Geldorp HJ, Swank DJ, Bonjer HJ. Abdominal adhesions: intestinal obstruction, pain, and infertility. *Surg Endosc.* 2003;17(7):1017-22.
115. Jancelewicz T, Chiang M, Oliveira C, Chiu PP. Late surgical outcomes among congenital diaphragmatic hernia (CDH) patients: why long-term follow-up with surgeons is recommended. *J Pediatr Surg.* 2013;48(5):935-41.
116. Bojanic K, Grizelj R, Dilber D, Saric D, Vukovic J, Pianosi PT, et al. Cardiopulmonary exercise performance is reduced in congenital diaphragmatic hernia survivors. *Pediatr Pulmonol.* 2016;51(12):1320-9.
117. Marven SS, Smith CM, Powell CVE. Pulmonary function, exercise performance, and growth in survivors of congenital diaphragmatic hernia. *Arch Dis Child.* 1998;78:137-42.
118. Roehr CC, Proquitte H, Jung A, Ackert U, Bamberg C, Degenhardt P, et al. Impaired somatic growth and delayed lung development in infants with congenital diaphragmatic hernia--evidence from a 10-year, single center prospective follow-up study. *J Pediatr Surg.* 2009;44(7):1309-14.
119. Terui K, Nagata K, Hayakawa M, Okuyama H, Goishi K, Yokoi A, et al. Growth Assessment and the Risk of Growth Retardation in Congenital Diaphragmatic Hernia: A Long-Term Follow-Up Study from the Japanese Congenital Diaphragmatic Hernia Study Group. *Eur J Pediatr Surg.* 2016;26(1):60-6.
120. Kamiyama M, Kawahara H, Okuyama H, Oue T, Kuroda S, Kubota A, et al. Gastroesophageal reflux after repair of congenital diaphragmatic hernia. *J Pediatr Surg.* 2002;37(12):1681-4.
121. Haliburton B, Mouzaki M, Chiang M, Scaini V, Marcon M, Moraes TJ, et al. Long-term nutritional morbidity for congenital diaphragmatic hernia survivors: Failure to thrive extends well into childhood and adolescence. *J Pediatr Surg.* 2015;50(5):734-8.
122. Chen C, Friedman S, Butler S, Jeruss S, Terrin N, Tighiouart H, et al. Approaches to neurodevelopmental assessment in congenital diaphragmatic hernia survivors. *J Pediatr Surg.* 2007;42(6):1052-6.

123. Church JT, Mon R, Wright T, Coughlin MA, Ladino-Torres M, Tapley C, et al. Neurodevelopmental outcomes in CDH survivors: A single institution's experience. *J Pediatr Surg.* 2018;53(6):1087-91.
124. Cheung PY TJ, Peliowski A, Ainsworth W, Robertson CMT. Prolonged use of pancuronium bromide and sensorineural hearing loss in childhood survivors of congenital diaphragmatic hernia. *The Journal of Pediatrics.* 1999;135(2):Pages 233-9.
125. Rasheed A, Tindall S, Cueny DL, Klein MD, Delaney-Black V. Neurodevelopmental outcome after congenital diaphragmatic hernia: Extracorporeal membrane oxygenation before and after surgery. *J Pediatr Surg.* 2001;36(4):539-44.
126. Ost E, Nisell M, Burgos CM, Frenckner B, Ojmyr-Joelsson M. Behavioral, emotional and social functioning in children born with congenital diaphragmatic hernia. *Pediatr Surg Int.* 2018;34(6):653-61.
127. Bojanic K, Grizelj R, Vukovic J, Omerza L, Grubic M, Caleta T, et al. Health-related quality of life in children and adolescents with congenital diaphragmatic hernia: a cross-sectional study. *Health Qual Life Outcomes.* 2018;16(1):50.
128. Pereira J, Porto-Figueira P, Cavaco C, Taunk K, Rapole S, Dhakne R, et al. Breath analysis as a potential and non-invasive frontier in disease diagnosis: an overview. *Metabolites.* 2015;5(1):3-55.
129. van der Schee MP, Paff T, Brinkman P, van Aalderen WMC, Haarman EG, Sterk PJ. Breathomics in lung disease. *Chest.* 2015;147(1):224-31.
130. Amann A, Costello Bde L, Miekisch W, Schubert J, Buszewski B, Pleil J, et al. The human volatilome: volatile organic compounds (VOCs) in exhaled breath, skin emanations, urine, feces and saliva. *J Breath Res.* 2014;8(3):034001.
131. Pleil JD, Stiegel MA, Risby TH. Clinical breath analysis: discriminating between human endogenous compounds and exogenous (environmental) chemical confounders. *J Breath Res.* 2013;7(1):017107.
132. van de Kant KD, van der Sande LJ, Jobsis Q, van Schayck OC, Dompeling E. Clinical use of exhaled volatile organic compounds in pulmonary diseases: a systematic review. *Respir Res.* 2012;13:117.
133. van Mastrigt E, de Jongste JC, Pijnenburg MW. The analysis of volatile organic compounds in exhaled breath and biomarkers in exhaled breath condensate in children - clinical tools or scientific toys? *Clin Exp Allergy.* 2015;45(7):1170-88.
134. Dallinga JW, Robroeks CM, van Berkel JJ, Moonen EJ, Godschalk RW, Jobsis Q, et al. Volatile organic compounds in exhaled breath as a diagnostic tool for asthma in children. *Clin Exp Allergy.* 2010;40(1):68-76.
135. Montuschi P, Santonico M, Mondino C, Pennazza G, Mantini G, Martinelli E, et al. Diagnostic performance of an electronic nose, fractional exhaled nitric oxide, and lung function testing in asthma. *Chest.* 2010;137(4):790-6.
136. Fens N, Roldaan AC, van der Schee MP, Boksem RJ, Zwinderman AH, Bel EH, et al. External validation of exhaled breath profiling using an electronic nose in the discrimination of asthma with fixed airways obstruction and chronic obstructive pulmonary disease. *Clin Exp Allergy.* 2011;41(10):1371-8.
137. Paredi P, Kharitonov SA, Barnes PJ. Elevation of exhaled ethane concentration in asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000;162(4 Pt 1):1450-4.
138. Olopade CO, Zakkar M, Swedler WI, Rubinstein I. Exhaled pentane levels in acute asthma. *Chest.* 1997;111(4):862-5.
139. Ibrahim B, Basanta M, Cadden P, Singh D, Douce D, Woodcock A, et al. Non-invasive phenotyping using exhaled volatile organic compounds in asthma. *Thorax.* 2011;66(9):804-9.

140. Robroeks CMHHT, van Berkel JJBN, Dallinga JW, Jöbsis Q, Zimmermann LJI, Hendriks HJE, et al. Metabolomics of Volatile Organic Compounds in Cystic Fibrosis Patients and Controls. *Pediatr Res*. 2010;68(1):75-80.
141. McGrath LT, Patrick R, Mallon P, Dowey L, Silke B, Norwood W, et al. Breath isoprene during acute respiratory exacerbation in cystic fibrosis. *The European Respiratory Journal*. 2000;16(6):1065-9.
142. van Oort PM, de Bruin S, Weda H, Knobel HH, Schultz MJ, Bos LD, et al. Exhaled Breath Metabolomics for the Diagnosis of Pneumonia in Intubated and Mechanically-Ventilated Intensive Care Unit (ICU)-Patients. *Int J Mol Sci*. 2017;18(2).
143. Cikach FS, Jr., Tonelli AR, Barnes J, Paschke K, Newman J, Grove D, et al. Breath analysis in pulmonary arterial hypertension. *Chest*. 2014;145(3):551-8.
144. Yang HY, Shie RH, Chang CJ, Chen PC. Development of breath test for pneumoconiosis: a case-control study. *Respir Res*. 2017;18(1):178.
145. Jia Z, Zhang H, Ong CN, Patra A, Lu Y, Lim CT, et al. Detection of Lung Cancer: Concomitant Volatile Organic Compounds and Metabolomic Profiling of Six Cancer Cell Lines of Different Histological Origins. *ACS Omega*. 2018;3(5):5131-40.
146. Altomare DF, Di Lena M, Porcelli F, Trizio L, Travaglio E, Tutino M, et al. Exhaled volatile organic compounds identify patients with colorectal cancer. *Br J Surg*. 2013;100(1):144-50.
147. Akira T, Alfian W, Emma D, Emmanuel I, Victoria E, Sophie C, et al. Breath-based non-invasive diagnosis of Alzheimer's disease: A pilot study. *Journal of Breath Research*. 2019.
148. Lau HC, Yu JB, Lee HW, Huh JS, Lim JO. Investigation of Exhaled Breath Samples from Patients with Alzheimer's Disease Using Gas Chromatography-Mass Spectrometry and an Exhaled Breath Sensor System. *Sensors (Basel)*. 2017;17(8).
149. Huppe T, Klasen R, Maurer F, Meiser A, Groesdonk HV, Sessler DI, et al. Volatile Organic Compounds in Patients With Acute Kidney Injury and Changes During Dialysis. *Crit Care Med*. 2019;47(2):239-46.
150. Chan DK, Zakko L, Visrodia KH, Leggett CL, Lutzke LS, Clemens MA, et al. Breath Testing for Barrett's Esophagus Using Exhaled Volatile Organic Compound Profiling With an Electronic Nose Device. *Gastroenterology*. 2017;152(1):24-6.
151. Alkhouri N, Cikach F, Eng K, Moses J, Patel N, Yan C, et al. Analysis of breath volatile organic compounds as a noninvasive tool to diagnose nonalcoholic fatty liver disease in children. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2014;26(1):82-7.
152. Finamore P, Pedone C, Lelli D, Costanzo L, Bartoli IR, De Vincentis A, et al. Analysis of volatile organic compounds: an innovative approach to heart failure characterization in older patients. *J Breath Res*. 2018;12(2):026007.
153. Biagini D, Lomonaco T, Ghimenti S, Bellagambi FG, Onor M, Scali MC, et al. Determination of volatile organic compounds in exhaled breath of heart failure patients by needle trap micro-extraction coupled with gas chromatography-tandem mass spectrometry. *J Breath Res*. 2017;11(4):047110.
154. Marcondes-Braga FG, Batista GL, Gutz IG, Saldiva PH, Mangini S, Issa VS, et al. Impact of Exhaled Breath Acetone in the Prognosis of Patients with Heart Failure with Reduced Ejection Fraction (HFrEF). One Year of Clinical Follow-up. *PLoS One*. 2016;11(12):e0168790.
155. Hicks LC, Huang J, Kumar S, Powles ST, Orchard TR, Hanna GB, et al. Analysis of Exhaled Breath Volatile Organic Compounds in Inflammatory Bowel Disease: A Pilot Study. *J Crohns Colitis*. 2015;9(9):731-7.

156. Trefz P, Rosner L, Hein D, Schubert JK, Miekisch W. Evaluation of needle trap micro-extraction and automatic alveolar sampling for point-of-care breath analysis. *Anal Bioanal Chem.* 2013;405(10):3105-15.
157. Oertel P, Bergmann A, Fischer S, Trefz P, Kuntzel A, Reinhold P, et al. Evaluation of needle trap micro-extraction and solid-phase micro-extraction: Obtaining comprehensive information on volatile emissions from in vitro cultures. *Biomed Chromatogr.* 2018;32(10):e4285.
158. Trefz P, Koehler H, Klepik K, Moebius P, Reinhold P, Schubert JK, et al. Volatile emissions from *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* mirror bacterial growth and enable distinction of different strains. *PLoS One.* 2013;8(10):e76868.
159. McNair HM, Miller JM, Snow NH. *Basic Gas Chromatography*: Wiley; 2019.
160. Berg JM, Tymoczko JL, Gatto jr. GJ, Stryer L. *Erforschung der Proteine und Proteome*. Stryer Biochemie. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2018. p. 79-126.
161. Jocelyn Paré JR, Yaylayan V. Chapter 7 Mass spectrometry: Principles and applications. In: Paré JRJ, Bélanger JMR, editors. *Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry*. 18: Elsevier; 1997. p. 239-66.
162. King J, Kupferthaler A, Unterkofler K, Koc H, Teschl S, Teschl G, et al. Isoprene and acetone concentration profiles during exercise on an ergometer. *J Breath Res.* 2009;3(2):027006.
163. Miekisch W, Schubert JK, Noeldge-Schomburg GF. Diagnostic potential of breath analysis--focus on volatile organic compounds. *Clin Chim Acta.* 2004;347(1-2):25-39.
164. Saasa V, Beukes M, Lemmer Y, Mwakikunga B. Blood Ketone Bodies and Breath Acetone Analysis and Their Correlations in Type 2 Diabetes Mellitus. *Diagnostics (Basel).* 2019;9(4).
165. Anderson JC. Measuring breath acetone for monitoring fat loss: Review. *Obesity (Silver Spring).* 2015;23(12):2327-34.
166. Oguma T, Nagaoka T, Kurahashi M, Kobayashi N, Yamamori S, Tsuji C, et al. Clinical contributions of exhaled volatile organic compounds in the diagnosis of lung cancer. *PLoS One.* 2017;12(4):e0174802.
167. Zhou Y, Chen E, Wu X, Hu Y, Ge H, Xu P, et al. Rational lung tissue and animal models for rapid breath tests to determine pneumonia and pathogens. *Am J Transl Res.* 2017;9(11):5116-26.
168. Sponring A, Filipiak A, Mikoviny T, Ager C, Schubert J, Miekisch W, et al. Release of Volatile Organic Compounds from the Lung Cancer Cell Line NCI-H2087 In Vitro. *Anticancer Res.* 2009;29(1):419-26.
169. Mochalski P, Theurl M, Sponring A, Unterkofler K, Kirchmair R, Amann A. Analysis of volatile organic compounds liberated and metabolised by human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) in vitro. *Cell Biochem Biophys.* 2015;71(1):323-9.
170. Filipiak W, Sponring A, Filipiak A, Ager C, Schubert J, Miekisch W, et al. TD-GC-MS analysis of volatile metabolites of human lung cancer and normal cells in vitro. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2010;19(1):182-95.

## 16 Anhang

**Anhang 1:** Nachweis- (LOD) und Bestimmungsgrenze (LOQ) der Referenzsubstanzen, gemessen in der Ausatemluft durch „needle-trap micro-extraction“ (NTME)

Substanz	LOD	LOQ
1-Methylethylbenzen	0.0038909	0.0065351
1-Propanol	7.90646207	15.4854557
2,3-Butandion	0.35845356	0.74217443
2-Butanon	0.03726077	0.06122939
2-Methylbutan	25.9322351	46.5077243
2-Pentanon	0.03925686	0.0725037
2-Phenoxyethanol	0.02174383	0.038938
3-Methyl-2-Butanon	0.02525264	0.04637659
3-Methylpentan	0.00847224	0.01404628
Acetaldehyd	15.1730819	29.7423492
Aceton	0.42506144	0.85720413
Allylmethylsulfid	0.03713433	0.06732362
Alpha-Pinen	0.00851884	0.01624908
Benzen	0.0614385	0.11342343
Cyclohexan	0.02078572	0.04198381
Ethanol	1.88332307	3.96353989
Ethylbenzen	0.00505196	0.00889471
Heptanal	0.06647786	0.11657131
Hexanal	0.08280475	0.16556582
Isoamylacetat	0.01548356	0.02807131
Isobutylacetat	0.02344257	0.03555346
Isopren	0.02636233	0.04862696
2-Propanol	0.20511651	0.43051679
Methylmetacrylat	0.40019721	0.84548267
n-Hexan	0.00760239	0.0127555
Nonanal	0.26102699	0.5026855
Nonan	0.00759415	0.01444413

Octan	0.00716215	0.01328731
Pentanal	0.09849236	0.18558678
Pentan	0.06402325	0.09944103
p-Xylen	0.00900729	0.01822989
Toluol	0.02612998	0.0497357

**Anhang 2:** Nachweis- (LOD) und Bestimmungsgrenze (LOQ) der Referenzsubstanzen, gemessen in den Stuhlproben durch "solid phase micro-extraction" (SPME)

Substanz	LOD	LOQ
Acetaldehyd	37,4008	68,2547
2-Propenal	0,2399	0,5006
Propanal	0,4238	0,7885
1,3-Pentadien	0,0829	0,1651
Methylvinylketon	0,2253	0,4377
Methylthioethan	0,0269	0,0469
Methylpropionat	0,0941	0,1734
Benzen	0,3008	0,4417
3-Methyl-2-Butanon	0,1172	0,2075
2-Methylbutanal	0,5230	1,1536
Propionsäure EE	0,4437	0,7144
n-Propylacetat	0,2969	0,4989
Toluol	3,8791	7,8509
Methylisobutylketon	0,3599	0,6206
3-Methyl-2-Pentanon	0,4207	0,7039
Butansäure EE	0,8410	1,8139
Essigsäure BE	2,7066	4,1764
Styrol	6,7548	13,1388
Butansäure PE	17,0290	31,9278
Dimethyltrisulfid	43,8669	73,5075
Beta-Pinen	0,6342	1,2621
D-Limonen	7,9650	14,9970
2-Heptanon	2,9363	5,0929
Cyclohexanon	2,4850	8,2833

