

**Aus der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin  
der Universität zu Lübeck  
Direktor: Prof. Dr. med. Herting**

---

Induktion der pulmonalen Inflammation durch längerdauernde  
Beatmung bei Frühgeborenen

Inauguraldissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde  
der Universität zu Lübeck  
– **aus der Medizinischen Fakultät** –

vorgelegt von  
Juliane Tautz  
aus Reutlingen

Lübeck 2005

1. Berichtstatter: Prof. Dr. med. Jens Möller
  2. Berichtstatter: Prof. Dr. med. Klaus Dalhoff
- Tag der mündlichen Prüfung: 26.01.2007
- Zum Druck genehmigt. Lübeck, den 26.01.2007



# INHALTSVERZEICHNIS

<b>1 Einleitung</b> .....	<b>1</b>
1.1 Frühgeburtlichkeit.....	1
1.2 Neonatale Erkrankungen in Assoziation mit einer erhöhten Zytokinproduktion	3
1.2.1 Das Atemnotsyndrom .....	3
1.2.2 Bronchopulmonale Dysplasie .....	4
1.2.3 Mekoniumaspirationssyndrom.....	6
1.2.4 Intraventrikuläre Hirnblutung und periventrikuläre Leukomalazie.....	7
1.2.5 Sepsis .....	8
1.3 Chemokine, Zytokine und Interleukine .....	9
1.3.1 Interleukin 8 .....	9
1.3.2 Interleukin 10 .....	10
1.3.3 Elastase und Alpha-1-Antitrypsin.....	10
1.3.4 Epitheliales Neutrophiles Aktivierungsprotein 78.....	11
1.4 Fragestellung.....	12
<b>2 Patienten und Methoden .....</b>	<b>13</b>
2.1 Patienten und Methoden .....	13
2.2 Trachealsekretgewinnung und –aufbereitung.....	14
2.3 Methoden der immunologischen und biochemischen Analyse .....	15
2.3.1 Nephelometrie.....	15
2.3.2 Immono-Assay für IL 8, IL 10 und ENA 78 .....	15
2.3.3 Immunoluminometrischer Assay für Elastase .....	16
<b>3 Material.....</b>	<b>19</b>
3.1 Reagenzien und Chemikalien .....	19
3.2 Geräte.....	20
3.3 Laborbedarf und Verbrauchskemikalien.....	21
3.4 Statistische Auswertung.....	22
<b>4 Ergebnisse.....</b>	<b>23</b>
4.1 Atemnotsyndrom .....	25
4.2 Neonatale Infektion.....	28
4.3 Surfactanttherapie .....	34
4.4 Pränatale Steroidtherapie .....	36
<b>5 Diskussion .....</b>	<b>37</b>
5.1 Einteilung der Beatmungstage.....	37

5.2	Einteilung der biochemischen und der klinischen Daten und des Patientenkollektivs .....	38
5.3	Menge und Verdünnungsgrad des Trachealsekret.....	39
5.4	Diskussion der biochemischen Daten .....	40
5.4.1	Elastase .....	40
5.4.2	Interleukin 8 .....	41
5.4.3	Interleukin 10 .....	42
5.4.4	ENA 78 .....	44
5.5	Medikamente und ihr Einfluss auf die Kinetik der Zytokine .....	46
5.5.1	Steroide in prä-und postnataler Behandlung.....	46
5.5.2	Surfactantbehandlung .....	47
5.5.3	Einfluss der Beatmung auf die Kinetik der Zytokine .....	49
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung .....</b>	<b>52</b>
<b>7</b>	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>54</b>

## **Abkürzungsverzeichnis:**

AK	Antikörper
ALI	Acute lung injury
ANS	Atemnotsyndrom
APGAR	Atmung, Puls, Grundtonus, Aussehen, Reflexe
ARDS	Acute respiratory distress syndrom
BAL	Bronchoalveoläre Lavage
BPD	Bronchopulmonale Dysplasie
CLD	Chronic lung disease
COPD	Chronisch obstruktive Lungenerkrankung
CRP	C-Reaktives Protein
CSF	Colony stimulating factor
ELISA	Enzym linked immuno sorbent assay
ENA 78	Epitheliales Neutrophiles Protein
Fi O <sub>2</sub>	Fraction of inspiratory oxygen
HFOV	High frequency oscillatory ventilation
HMD	Hyaline membrane disease
IL	Interleukin
ILMA	Immuno luminometric assay
IPPV	Intermitted positive pressure ventilation
IVH	Intraventrikuläre Hämorrhagie
LTB 4	Leukotrien B4
MAS	Mekoniumaspirationssyndrom
NEC	Nekrotisierende Enterokolitis
PDA	Persistierender ductus arteriosus
PEEP	Positive endexpiratory pressure
PI	Protein Inhibitor
PMNL	Polymorphkernige Granulozyten
RDS	Respiratory distress syndrom
SF	Surfactant
SP-A	Surfactant Protein A
SS	Schwangerschaft
SSW	Schwangerschaftswoche

TH	T-Helfer Zellen/Lymphozyten
TNF	Tumornekrosefaktor
TS	Trachealsekret

# 1 Einleitung

Durch gemeinsame Anstrengungen ist es Neonatologen und Geburtshelfern in den letzten Jahren gelungen, die Mortalität und Morbidität der Frühgeborenen (Fg) und besonders die der sehr unreifen Frühgeborenen deutlich zu senken (Doyle **23,24,25**). Es gelingt immer besser, den sehr unreifen Frühgeborenen nicht nur das Überleben sondern ein Überleben ohne Folgeschäden und Einschränkungen der Lebensqualität zu ermöglichen! Dennoch führen diese Bemühungen, trotz des Einsatzes von hoch entwickelter Technik und Anwendung von potenten Medikamenten, nicht immer zum Erfolg, so dass die Perinatalperiode der frühen Frühgeborenen weiterhin mit einer nicht unerheblichen Mortalität, Akutmorbidität und Spätmorbidität belastet ist. Faktoren und Risiken, welche die Akut- und Spätmorbidität beeinflussen, sollen im Folgenden dargestellt werden.

## 1.1 Frühgeburtlichkeit

Definitionsgemäß wird von einer Frühgeburt gesprochen, wenn die Schwangerschaft (SS) vor der 37. Schwangerschaftswoche (SSW) endet; damit ist eine Frühgeburtlichkeit unabhängig vom Geburtsgewicht. Von sehr frühen Frühgeborenen sprechen wir bei einer Dauer der Schwangerschaft von <32. SSW. Die Häufigkeit der Frühgeburtlichkeit liegt bei 5-6%, wobei der Anteil der sehr frühen Frühgeborenen 1% beträgt. Die Frühgeburtlichkeitsrate blieb während der letzten Jahre konstant, wobei jedoch ein Anstieg der sehr frühen Frühgeborenen zu beobachten ist. Dies ist zum einen auf den Fortschritt der Neonatologie und der Geburtshilfe zurückzuführen und zum anderen auf eine Zunahme der Mehrlingsschwangerschaften (Ancel,**4**). Da die Frühgeburtlichkeit mit einem hohen Risiko an Morbidität in der Perinatalperiode behaftet ist, besteht für die weitere kindliche Entwicklung die Gefahr von bleibenden gesundheitlichen Beeinträchtigungen und Behinderungen. Die Mortalitätsrate sinkt mit zunehmendem Gestationsalter, sie liegt bei 64,5% in der 23. SSW und bei 4% in der 28. SSW. Bei Frühgeborenen > 31. SSW liegt die Mortalitätsrate bei der von Reifgeborenen (Doyle,**23,24,25**).

Das Risikospektrum für eine Frühgeburt ist multifaktoriell: durch bestimmte sozioökonomische Ursachen, internistische Erkrankungen der Mutter, spezielle gynäkologische Leiden, wie Uteruserkrankungen (Myome, Zervixinsuffizienz, Fehlbildungen), schwangerschaftsbedingte Erkrankungen (hypertensive Erkrankungen, Anämie, etc), Mehr-



lingsschwangerschaften, aufsteigende Infektionen verbunden mit einem vorzeitigen Blasensprung und kindliche Fehlbildungen (Wachstumsretardierung, chromosomale Defekte) (Ancel,**4**; Pfeleiderer,**72**).

Um zu einer Beurteilung des Outcome der Frühgeborenen zu kommen, muss die Akutmorbidität in der Neonatalperiode und die Spätmorbidität der Kindheit, Jugend und des Erwachsenenalter erfasst werden. Zu den Akutmorbiditäten in der Neonatalperiode zählen Atemnotsyndrom (ANS), intraventrikuläre Blutungen (IVH), periventrikuläre Leu-  
komalazie (PVL), persistierender Ductus Arteriosus (PDA), nekrotisierende Enterokoli-  
tis (NEC), Pneumothorax, neonatale Infektionen. In Langzeitstudien von Doyle et al. (**23,24,25**) wurden multiple neurologische Spätschäden (visuell, intellektuell, auditiv) beschrieben, eingeschränktes und verlangsamtes Wachstum, ein anfälliges und ge-  
schwächtes Immunsystem, sowie pulmonale und respiratorische Beeinträchtigung der Frühgeborenen im Vergleich zu den Reifgeborenen.

Im Folgenden sollen die genannten Erkrankungen im Einzelnen unter klinischen und pathophysiologischen Aspekten dargestellt und näher erläutert werden. Dabei soll ins-  
besondere das Augenmerk auf einen möglichen Zusammenhang zwischen den geschilderten Krankheitsbildern und dem Nachweis von Zytokinen gelegt werden.

## **1.2 Neonatale Erkrankungen in Assoziation mit einer erhöhten Zytokinproduktion**

### **1.2.1 Das Atemnotsyndrom**

Das Atemnotsyndrom (ANS; Synonym: RDS: Respiratory distress syndrom; HMD: Hyaline membrane disease) ist eine pulmonale Erkrankung, die fast ausschließlich bei Frühgeborenen mit einem Gestationsalter <35 Wochen und einem Geburtsgewicht <2000g auftritt. Die Inzidenz liegt bei 10% aller Frühgeburten und bei 50-70% der Frühgeburten <30. SSW (Wauer,**102**).

Mit Einführung der Surfactant-Therapie konnten Morbidität und Mortalität von Frühgeborenen deutlich gesenkt werden, dennoch stellt das Atemnotsyndrom eine der Haupttodesursachen in der Neonatalperiode dar. Es wird ausgelöst durch einen Surfactant-Mangel in einer strukturell und funktionell unreifen Lunge. Beim Surfactant (SF) handelt es sich um ein Gemisch aus Lipiden (90%), Proteinen (8%) und Kohlehydraten (2%) (Wauer,**102**). Als oberflächenaktiver Faktor senkt Surfactant die Oberflächenspannung und die Retraktionskräfte, welche an der Grenzfläche des Alveolarepithels zur umgebenden Luft herrschen. Surfactant verhindert somit einen expiratorischen Kollaps der terminalen Alveolen und baut somit gleichzeitig eine funktionelle Residualkapazität auf.

Es werden ein primärer und sekundärer Surfactant-Mangel unterschieden:

Der primäre Surfactant-Mangel zeichnet sich durch einen für das Gestationsalter verminderten Gehalt an Surfactant aus, welche durch die strukturelle und funktionelle Unreife der Lunge des Frühgeborenen bedingt ist. Dies hat zur Folge, dass die Stabilität der Alveolen nicht aufrechterhalten werden kann. Es kommt zum Kollaps der Bronchiolelen und Alveolen und somit zur Atelektasenbildung und einer daraus resultierenden Hypoventilation mit Hypoxie und Azidose. Hypoxie und Azidose führen zu einer pulmonalen Vasokonstriktion mit verminderter pulmonaler Durchblutung (Euler-Liljestrand-Effekt) und einer daraus folgenden pulmonalen Hypertonie mit Ausbildung eines Rechts-Links-Shunts (Wauer,**102**).

Der sekundäre Surfactant-Mangel kann zum einen durch eine mangelhafte und unreife Biosynthese von Surfactant bedingt sein, zum anderen führen die noch unreif ausgebildeten alveolokapillären Membranen zu einer pulmonalen Leckage. Die alveolokapillären Membranen werden durchlässig für größere Molekülbestandteile und es kommt zum Einstrom von proteinhaltiger Ödemflüssigkeit, welche wiederum rückwirkend die Syn-

these von Surfactant und den bereits vorhandenen Surfactant inhibieren bzw. inaktivieren kann. Ebenso kann durch eine schwere perinatale Asphyxie und die damit verbundene Hypoxie und Azidose diese Pathogenese des ANS in Gang gesetzt, bzw. weiter unterhalten werden (Wauer,**102**).

Als weitere pathophysiologische Faktoren des ANS werden Infektionen und Entzündung diskutiert. Insbesondere wird die pulmonale Inflammation, primär oder sekundär durch Barotrauma und Sauerstofftoxizität bedingt, als ein wichtiger pathophysiologischer Faktor in der Entwicklung eines ANS oder einer bronchopulmonalen Dyplasie gesehen. Die klinische Symptomatik der Kinder mit ANS äußert sich durch respiratorische Insuffizienz mit Tachypnoe und Dyspnoe, jugulären, sternalen und interkostalen Einziehungen, Nasenflügeln, paradoxer Atmung, abgeschwächtem Atemgeräusch, blass-grauem Hautkolorit und expiratorischem Stöhnen (Auto PEEP) (von Stockhausen,**97**).

Als weitere diagnostische Kriterien werden radiologische und laborchemische Parameter hinzugezogen. Mit diesen klinischen Erscheinungen ist eine Vielzahl von immunologischen Vorgängen verbunden. So konnten z.B. bei Frühgeborenen mit ANS, im Gegensatz zu einer Kontrollgruppe, hohe Konzentrationen von IL 8 als proinflammatorischem Faktor nachgewiesen werden (Gähler,**29**). Ebenso konnte gezeigt werden, dass das unreif ausgebildete Immunsystem des Frühgeborenen nicht in der Lage ist, im ausreichenden Masse gegenregulatorisch zu wirken, durch Produktion des antiinflammatorischen Faktors IL 10 (Kwong,**58**). Als therapeutische Maßnahme wird den Kindern natürlicher Surfactant endotracheal appliziert, wodurch die Beatmungsdauer drastisch verkürzt werden konnte. Nebenwirkungen wie Barotrauma, Pneumothorax und Emphysem traten damit seltener auf und die Inzidenz einer BPD konnte gesenkt werden. Andere Komplikationen wie intraventrikuläre Hämorrhagien, persistierender Ductus Arteriosus und nekrotisierende Enterokolitis waren dem gegenüber erwartungsgemäß nicht zu beeinflussen (Gortner,**33**).

### **1.2.2 Bronchopulmonale Dysplasie**

Die Bronchopulmonale Dysplasie (BPD) ist eine chronische, potentiell reversible Lungenerkrankung beatmeter Frühgeborener (Fg), die nach der NIH Konsensuskonferenz folgendermaßen definiert wird:

1. Milde BPD: erhöhter FiO<sub>2</sub> am 28. Lebenstag

Kein erhöhter  $\text{FiO}_2$  mit 36 Wochen postmenstruellen Alters (PMA).

Bei  $\text{Fg} > 32$ . SSW erhöhter  $\text{FiO}_2$  mit postnatalem Alter von  $> 56$  Tagen.

2. Moderate BPD:  $< 30\%$  Sauerstoffbedarf mit 36 Wochen PMA.

Bei  $\text{Fg} > 32$ . SSW erhöhter  $\text{FiO}_2$  mit postnatalem Alter von  $> 56$  Tagen.

3. Schwere BPD:  $> 30\%$  Sauerstoffbedarf und oder Beatmung/CPAP mit 36 Wochen PMA.

Bei  $\text{Fg} > 32$ . SSW erhöhter  $\text{FiO}_2$  mit postnatalem Alter von  $> 56$  Tagen.

Früher gebräuchliche Definitionen, wie erhöhter  $\text{FiO}_2$  im Alter von 28 Lebenstagen, persistierende Atemnotsymptomatik und charakteristische radiologische Veränderung wurden durch die o.g. Definition abgelöst. Die früher als Synonym eingesetzten Begriffe Chronic Lung Disease (CLD) und Bronchopulmonale Dysplasie (BPD) wurden jetzt wieder vollständig durch den Terminus BPD ersetzt. Die Schwierigkeit einer endgültigen Diagnosestellung der BPD besteht darin, dass sie faktisch erst retrospektiv gestellt werden kann. Klinische Frühzeichen einer sich möglicherweise entwickelnden BPD können allerdings bereits nach der ersten Lebenswoche erkennbar sein. Es zeigen sich eine persistierende Atemnotsymptomatik, Sauerstoffabhängigkeit und radiologische Veränderungen (AWMF,6).

Die Inzidenz der BPD korreliert eng mit der Unreife der Frühgeborenen. Bei Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht  $< 1000\text{g}$  oder  $< 28$ . SSW kommt es in ca. 15-30% zum Auftreten einer BPD (AWMF,6). Yoon et al. (108) präsentiert in seiner Studie sogar noch deutlich höhere Inzidenzen: Bei Frühgeborenen, die eine mechanische Beatmung mit hohen Konzentrationen von Sauerstoff erhalten, entwickeln 20% eine BPD und sehr unreife Frühgeborene ( $< 1500\text{g}$ ) sogar bis zu 50%. Die Genese der BPD ist multifaktoriell. Als die beiden Hauptfaktoren gelten zum einen ein niedriges Gestationsalter, verbunden mit einer funktionellen und strukturellen pulmonalen Unreife sowie die Beatmung mit erhöhten  $\text{O}_2$ - Konzentrationen und hohen Spitzendrücken. Hyperoxie ( $\text{O}_2$ -Radikale) und hohe Spitzendrücke schädigen das unreife pulmonale Epithel, woraus eine erhöhte mikrovaskuläre Permeabilität resultiert, mit Einstrom von Entzündungszellen. Bei Fortbestehen dieser pulmonalen Entzündungsreaktion, die durch die Untersuchung von Entzündungszellen im Trachealsekret nachgewiesen werden kann, kommt es zum emphysematösen und fibrotischen Umbau der Lunge (Speer,83).

Auch Rojas et al.(76) konnte in seiner Studie zeigen, dass die Inflammation als Risikofaktor für die Entwicklung einer BPD anzusehen ist. Kinder mit nosokomialen Infektio-

nen entwickeln häufiger eine BPD, als Kinder ohne einen nosokomialen Infekt. Ebenso erhöhen intrauterine Infektionen das Risiko für die Entwicklung einer BPD (Watterberg,**100**).

Als therapeutische Maßnahmen gelten in erster Linie die Reduktion der auslösenden Faktoren (Beatmung und O<sub>2</sub>-Toxizität), sowie die Behandlung mit Kortikosteroiden, um den fortlaufenden inflammatorischen Prozess zu hemmen.

### **1.2.3 Mekoniumaspirationssyndrom (MAS)**

Das Mekoniumaspirationssyndrom (MAS) ist zum einen durch eine mechanische Obstruktion der Luftwege durch Mekonium gekennzeichnet und zum anderen durch eine pulmonale Inflammationsreaktion, als Folge einer durch Mekonium ausgelösten Pneumonitis. Die Inzidenz des MAS liegt bei 0,1% bis 1,0%, wobei es entweder in utero oder intrapartal zu einem MAS kommen kann. Ca. 30% dieser Patienten benötigen eine mechanische Beatmung, aus der wiederum mögliche Komplikationen wie Pneumothorax, bronchopulmonale Dysplasie und persistierender pulmonaler Hochdruck resultieren können (Wiswell,**105**). Neben entzündlichen Reaktionen kommt es zu einer Veränderung der alveolokapillären Membran, im Sinne einer Erhöhung der Durchlässigkeit. Es erfolgt ein Einstrom von Plasmaproteinen mit sekundärer Hemmung von Surfactant, wie auch eine direkte Hemmung von Surfactant durch Mekonium (Moses,**66**).

In weiteren Studien konnte gezeigt werden, dass die Bronchien und Alveolen betroffener Kinder Mekonium, inflammatorische Mediatoren sowie Ödemflüssigkeit enthielten (Hitti, **41**). Ebenso konnte de Beaufort (**18**) nachweisen, dass IL 8 im Mekonium enthalten ist. Dies führt dazu, dass IL 8 chemotaktisch auf polymorphkernige Leukozyten wirkt, welche dann ihre elastasehaltigen Granula freisetzen. Die freigesetzte Elastase, wie auch IL 8 könnten die Pathogenese der Pneumonitis und Gewebsschädigung erklären. Mit den oben beschriebenen pathogenetischen Veränderungen ist das klinische Krankheitsbild von respiratorischen Versagen und Beatmungspflichtigkeit verbunden.

#### **1.2.4 Intraventrikuläre Hirnblutung (IVH) und periventrikuläre Leukomalazie (PVL)**

Die intraventrikuläre Hirnblutung (IVH) und die periventrikuläre Leukomalazie (PVL) sind intrazerebrale Veränderungen, die im Vergleich zu zeitgerechten Geburten häufiger im Rahmen einer Frühgeburt auftreten und die Prognose und das Outcome des Frühgeborenen wesentlich beeinflussen. Die Ätiologie für die IVH ist multifaktoriell und beinhaltet prä-, intra- und postnatale Faktoren. Hierzu zählen die intrauterine und perinatale Infektion, hypoxisch-ischämische Insulte, Asphyxie, Hyperkapnie, genetische Faktoren, lokale Zytokinproduktion, lokale Produktion freier Radikale, lokale hirntrophische Insuffizienzen, wobei die intrauterine Infektion die führende Rolle spielt (Saliba,**77**). Die Inzidenz der IVH liegt bei 60-70% der Frühgeborenen zwischen 500-700g und bei 10-20% der Frühgeborenen zwischen 1000-1500g. Zu 80-90% tritt die IVH in der ersten Lebenswoche auf und findet auch nur dort ihre Progredienz (Nelson, **68**). Die Prognose der IVH ist abhängig vom Grad der IVH. 10-15% der Frühgeborenen mit IVH entwickeln einen Hydrozephalus, ca. 5% eine Zerebralparese (Damann,**16**).

Die Verletzung der weißen Substanz wird in die periventrikuläre Leukomalazie (PVL) und in periventrikuläre hämorrhagische Infarkte unterteilt. Beide zählen zu pathologischen Ereignissen in der Frühgeborenenperiode und weisen eine gleiche Ätiologie wie die intraventrikuläre Hirnblutung auf, wobei auch wieder die intrauterine Inflammation eine entscheidende Rolle spielt. Die intrauterine Inflammation weist ein 60-70% Risiko auf, für die Ausbildung einer PVL oder Ventrikulomegalie (Damman,**17**). Bei einer nachgewiesenen Chorioamnionitis oder einem positiven plazentaren Abstrich traten bei der Mehrheit der Frühgeborenen sonographisch nachweisbare Veränderungen in der weißen Substanz auf. Diese Veränderungen können Hinweise auf die spätere Entwicklung einer PVL geben. Die PVL birgt ein höheres Risiko in sich, als die IVH, im späteren Verlauf der kindlichen Entwicklung zu einer Zerebralparese zu führen. Frühgeborene mit einer PVL entwickeln in 60% bis 100% der Fälle eine Zerebralparese (Damman,**16**; Damman,**17**).

In mehreren Studien konnte belegt werden, dass eine Elevation der Zytokine IL 6, TNF alpha und IL 1 bei intrauteriner Infektion in enger Assoziation mit dem Auftreten einer PVL und IVH stehen. Die Zytokine konnten in allen drei Komponenten nachgewiesen werden, d.h. im Uterus, im fetalen Kreislauf und im Gehirn. Nach Überwindung der Blut-Hirn-Schranke können diese Zytokine durch Induktion von Entzündungskaskaden,

durch Vasokonstriktion, durch Veränderung der Gerinnung und durch Ausbildung von Thrombosen zu einer Verletzung und Zerstörung der weißen Substanz führen (Damman,**16**; Damman,**17**). So zeigt sich, dass proinflammatorisch wirkende Zytokine in der Pathogenese der bronchopulmonalen Dysplasie, des Atemnotsyndroms, der intraventrikulären Hirnblutung und periventrikulären Leukomalazie eine zentrale Rolle zu spielen scheinen. Möglicherweise ergibt sich hieraus ein therapeutischer Ansatz, durch Unterdrückung der Zytokinproduktion.

### **1.2.5 Sepsis**

Die Sepsis ist nach wie vor eine häufige Ursache für Mortalität und Morbidität in der Neonatalperiode. Die Inzidenz liegt bei 1-10/1000 Lebendgeburten. Bei Frühgeborenen ist die Inzidenz mit bis zu 10% deutlich höher. Die Mortalität liegt zwischen 15-50% in Abhängigkeit vom Gestationsalter (Martinot,**61**; Küster,**57**). Daher ist eine frühe Diagnosestellung und frühe Einleitung einer adäquaten Therapie von ausschlaggebender Bedeutung. Da die klinischen Symptome einer Sepsis eher unspezifisch und bakteriologische Nachweisverfahren nicht zeitnah verfügbar sind und laborchemische Befunde meist nur hinweisenden Charakter besitzen, zumal nur 20-30% der Säuglinge bzw. Frühgeborene mit einer Bakteriämie das Vollbild einer Sepsis entwickeln, (Martinot,**61**) wird immer wieder nach Verfahren gesucht, die eine frühe und spezifische Diagnosestellung ermöglichen.

In diesem Zusammenhang scheinen immunologische Parameter mit hoher Sensitivität und Spezifität von besonderem Interesse. Der Nachweis von erhöhten Spiegeln der Zytokine (IL 1, IL 6) haben sich bereits als geeignete Parameter erwiesen, da sie in erhöhter Konzentration nachgewiesen werden können, bevor die Diagnose Sepsis klinisch manifest wird. Auch die Kombination aus Zytokinen mit CRP haben sich als sensitiver Marker für die frühzeitige Diagnose einer neonatalen Sepsis erwiesen (Buck,**11**).

### **1.3 Chemokine, Zytokine und Interleukine**

Chemokine, d.h. chemotaktisch wirkende Zytokine, werden als Modulatoren und Mediatoren von Entzündungsreaktionen bezeichnet. Unter dem Begriff Chemokine wird eine ganze Gruppe biochemisch und strukturell verwandter nichtglykosilierter Peptide mit einem Molekulargewicht von 6 bis 12 kD subsumiert. Die von Chemokinen regulierten Entzündungsreaktionen stellen einen Schutzmechanismus des Körpers dar. Bei Störungen dieser Regulationsmechanismen kann es zu schweren lokalen und systemischen Erkrankungen kommen. Bei der eigentlichen Entzündungsreaktion können verschiedene Schritte beschrieben werden. Zunächst kommt es zu einer Anlockung von spezifischen Mediatoren, dann erfolgt die Wanderung und schließlich die Aktivierung von ortständigen und zirkulierenden Zellen. Dieser Ablauf kann als eine Reaktionskaskade von sich positiv und negativ beeinflussenden Faktoren verstanden werden.

In dieser Reaktionskaskade werden Lymphozyten, das Monozyten-Makrophagen-System und Granulozyten aktiviert. Diese Aktivierung wird durch verschiedene Mediatoren induziert. Diese Mediatoren werden in Lipid- und Proteinmediatoren unterteilt, wozu als endogene Proteinmediatoren auch die Zytokine zählen. Zytokine wirken in ihrer Funktion als „Kommunikator“ zwischen den einzelnen Zellverbänden und regulieren somit positiv und negativ eine Vielzahl verschiedener biochemischer Prozesse in der Entzündungskaskade. Die Gruppe der Zytokine umfasst Interferone, Interleukine, Wachstumsfaktoren und Tumornekrosefaktoren. Die Funktionen der Zytokine sind demzufolge vielfältig, sie umfassen Wachstumsregulation, Hämatopoese, Angiogenese, Wundheilung, Reifung des Lymphgewebes und der Lymphozyten, Chemotaxis und Aktivierung (Sticherling,85).

#### **1.3.1 Interleukin 8**

Interleukin 8 (IL 8) ist ein proinflammatorisch wirkendes Zytokin. Es wird zu den Hauptmediatoren des akuten Inflammationsgeschehen gezählt. IL 8 ist ein proteinhaltiger Mediator, mit einem Molekulargewicht von 8 kD. Die IL 8 Produktion wird durch Viren, Endotoxine und Bakterien und andere proinflammatorische Zytokine stimuliert. Die biologische Aktivität und Funktion von IL 8 ist vielfältig. (Dies spiegelt sich auch in der unterschiedlichen Nomenklaturen wider: Monocyte derived neutrophil chemotactic factor; Granulocyte chemotactic peptide; Neutrophil activating peptide/factor). Die



biologische Aktivität besteht in der Induktion der Chemotaxis und der transendothelialen Migration von neutrophilen Leukozyten, in der Induktion der T- und B-Zellen, der Induktion der Degranulation von unterschiedlichen Enzymen (Elastase, Histamin), der Induktion der Expression von Adhäsionsmolekülen, der Stimulation der Adhäsion von Entzündungszellen- und Mediatoren, der Stimulation der Angiogenese, wie auch in der Induktion der Kollagensynthese von Fibroblasten.

Die klinische Relevanz von IL 8 ist dadurch gekennzeichnet, dass bei verschiedenen entzündlichen Erkrankungen, wie M. Crohn, Kolitis ulcerosa, Rheumatoide Arthritis, Meningitis, ARDS, BPD und andere, die Schwere des Krankheitsverlaufs als auch die Prognose mit der Höhe der Serum- Konzentration von IL 8 korreliert (Mukaida,**67**).

### **1.3.2 Interleukin 10**

Interleukin 10 (IL 10) gehört zu der Klasse der antiinflammatorisch wirkenden Zytokine, d.h. in seinen Eigenschaften immunstimulierend und immunsupprimierend. IL 10 ist ein säuresensitives Protein von 35-40 kD, welches von immunstimulierten TH2-Zellen und Monozyten produziert wird. IL 10 supprimiert diverse proinflammatorisch wirkende Zytokine, wie IL 2, IL 6, IL 8, TNF alpha, CSF, wobei es auch die reaktiven intrazellulären Metaboliten von Entzündungsmediatoren inhibiert. Zum anderen unterdrückt IL 10 die Proliferation des Monozyten-Makrophagen-Systems, der TH1-Zellen und wirkt immunstimulierend auf B-Zellen. IL 10 reguliert sich selbst über einen negativen Feedback-Mechanismus. IL 10 besitzt einen protektiven Effekt, im Besonderen in Bezug auf überschießende Entzündungsreaktionen (Leon **60**; Howard **42**). So konnte gezeigt werden, dass niedrige Serumspiegel von IL 10 mit einem progredienten Krankheitsverlauf assoziiert sind (Donnelly,**21**;Takanashi,**89**).

### **1.3.3 Elastase und Alpha-1-Antitrypsin**

Die Elastase gehört zu der Gruppe der Hydrolasen. Sie ist ein vor allem in den polymorphkernigen Leukozyten, Makrophagen und Endothelzellen vorkommendes proteolytisch wirkendes Enzym. Die Elastase zeigt herkunftsspezifische Unterschiede im Molekulargewicht, Substratspektrum und Aktivierungsmodus. Diese lysozymale Proteinase besitzt Abräumfunktion für nekrotisches und entzündliches Gewebe. Bei überschüssigen-

der oder fehlgerichteter Freisetzung, kommt es zu einer Gewebe destruierenden Wirkung, als Beispiel sei der Abbau des elastinhaltigen Lungengerüsts erwähnt. Der physiologische Gegenspieler der Elastase ist Alpha-1-Antitrypsin/Proteinaseinhibitor, welcher die systemische Wirkung von Elastase durch Komplexbildung inhibieren kann. Diese Elastase-Proteinaseinhibitor-Komplexe quantifizieren das Ausmaß einer entzündlichen Reaktion.

Für die Pathogenese der Bronchopulmonalen Dysplasie spielt das Ungleichgewicht zwischen Elastase und Proteinaseinhibitor eine wichtige Rolle. Dabei liegen ein Mangel an protektiven Faktoren vor, sowie niedrige Serumspiegel von Proteinaseinhibitor und eine nachweisbare oxidative Inaktivierung von Proteinaseinhibitor, mit der Folge deutlich zu hoher Konzentrationsspiegel von Elastase (Merritt,**64**; Ogden,**70**).

#### **1.3.4 Epitheliales Neutrophiles Aktivierungsprotein 78**

Epitheliales Neutrophiles Aktivierungsprotein 78 (ENA 78) ist wie IL 8 ein proinflammatorisch wirkendes Chemokin und wird zu den Hauptmediatoren des akuten inflammatorischen Geschehens gezählt. Die DNS von ENA 78 codiert für ein Protein von 114 Aminosäuren. ENA 78 wird von Monozyten, Alveolarmakrophagen und diversen Gewebezellen exprimiert. Die Produktion wird sowohl durch proinflammatorische Zytokine (IL 1 beta, TNF alpha), als auch durch Lipopolysaccharide (LPS) stimuliert. In seiner biologischen Funktion ist ENA 78 dem proinflammatorisch wirkenden Zytokin IL 8 sehr ähnlich. ENA 78 induziert die Chemotaxis der neutrophilen Granulozyten, fördert die Enzymfreisetzung und provoziert die Oxidation von Enzymen.

Hohe Spiegel von ENA 78 konnten bei mehreren inflammatorischen Krankheiten nachgewiesen werden (Rheumatoide Arthritis, chronisch entzündliche Darmerkrankungen, Pankreatitis, ARDS, ANS, BPD), dies zeigt, dass ENA 78 eine zentrale Rolle in der Ätiologie bei inflammatorischen Krankheitsgeschehen spielt (Walz, **98**).

## 1.4 Fragestellung

Der Zusammenhang zwischen Beatmung, bzw. zwischen längerdauernder Beatmung und pulmonaler Inflammation ist in der Intensivmedizin/Anästhesiologie bei Erwachsenen bereits gut recherchiert und dokumentiert worden. In diversen Studien wurde demonstriert, dass die mechanische Beatmung eine pulmonale Inflammationskaskade auslöst, (Einstrom von polymorphkernigen neutrophilen Leukozyten, Interleukinen, Tumornekrosefaktoren, Proteasen, etc.), welche letztendlich zu einer systemischen Infektion führen kann, welche wiederum die Morbidität und Mortalität bei Patienten mit Akutem Respiratorischen Distress Syndrom (ARDS) deutlich erhöht (Zhang,**109**;Plotz,**73**). Dieser genaue Zusammenhang ist in der Neonatologie bisher noch wenig dokumentiert und demonstriert worden. Daher war es Zielsetzung und Fragestellung dieser Studie herauszufinden, welchen Einfluss die verlängerte Beatmung auf die pulmonale Situation des Neugeborenen hat, im Sinne von inflammatorischen Reaktionen und Veränderungen. Bisher konnte gezeigt werden, dass Faktoren wie Barotrauma, O<sub>2</sub>-Toxizität und pulmonale Unreife die pulmonale Situation verschlechtern und die Entwicklung einer chronischen Lungenerkrankung begünstigen. Neuere Erkenntnisse weisen darauf hin, dass proinflammatorische Zytokine die Entwicklung, das Ausmaß und die Prognose einer BPD entscheidend beeinflussen können. Entgegen der ursprünglichen Annahme, dass bei Frühgeborenen eine verminderte Zytokinproduktion besteht, zeigt sich immer mehr, dass gerade die proinflammatorischen Mediatoren in der Pathogenese der typischen neonatalen Erkrankungen die entscheidende Rolle spielen. Auf der anderen Seite wird jedoch deutlich, dass Frühgeborene eine verminderte Kapazität besitzen, eine Inflammation durch die Synthese von antiinflammatorischen Mediatoren zu regulieren.

Daraus ergeben sich folgende Fragestellungen, die im Rahmen der vorliegenden Arbeit geklärt werden sollen:

- Gibt es einen Zusammenhang zwischen der Dauer der Beatmung und dem Ausmaß der pulmonalen Inflammationsreaktion?
- Besteht ein Gleichgewicht in der Synthese von pro- und antiinflammatorischen Zytokinen?
- Gibt es einen Zusammenhang zwischen den gemessenen pulmonalen Inflammationsmarkern und den systemischen Entzündungsparametern (CRP) ?

## 2 Patienten und Methoden

### 2.1 Patienten und Methoden

In dieser prospektiven Studie wurden Frühgeborene aufgenommen, die sich im Zeitraum von 1999 bis 2001 in der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin der Universität zu Lübeck befanden und dort auf der neonatologischen Intensivstation klinisch behandelt werden mussten. Unter der These, dass eine länger dauernde Beatmung der Auslöser für eine pulmonale Entzündungsreaktion sein kann, wurde das gewonnene Trachealsekret auf pro- und antiinflammatorische Marker mittels eines Immuno-Essays untersucht. (Interleukin 8, Interleukin 10, Elastase, Epithelial Neutrophil Activating Peptid 78). Es konnten 20 Frühgeborene in die Studie aufgenommen werden. Sie stammten aus der 23. bis 31. SSW, bei einem durchschnittlichen Gestationsalter von 27 Wochen und einem Geburtsgewicht von 460g bis 1590g, im Mittel 980g. Als Aufnahmekriterium galten respiratorisches Versagen und Beatmungspflichtigkeit. Ein vorzeitiger Blasensprung fand sich in 7 von 20 Fällen, eine erhöhte CRP Konzentration in 9 von 20 Fällen. Ausschlusskriterium war eine Beatmungszeit kürzer als 5 Tage. Eine Kontrollgruppe aus gesunden Früh- und Reifgeborenen kann aus ethischen Gründen nicht gebildet werden. Die Trachealsekretgewinnung wurde anhand der Richtlinien der bronchoalveoläre Lavage bei Früh- und Neugeborenen durchgeführt. (de Blic,**19**, Reynolds,**75**). Eine Trachealsekretgewinnung wurde nur vorgenommen, wenn die klinische Indikation dazu gegeben war, entweder bei nachfolgender Surfactant-Applikation, oder wenn vermehrt aufgestautes pulmonales Sekret die Beatmung erschwert hat. Die meisten Trachealsekrete konnten innerhalb der ersten Beatmungstage gewonnen werden, da im weiteren Behandlungsverlauf die klinische Indikation zum Absaugen immer seltener gegeben war. Aus diesen Gründen wurde auch die folgende Gruppenbildung gewählt: Beatmungstag 0-1, 2-4 und 5-12.

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Wilcoxon Test (nonparametric, paired data) und dem Mann-Whitney U Test (nonpaired data). Die Korrelationsanalyse wurde mit dem Spearman Rank Test durchgeführt, ein  $p < 0,05$  wurde als statistisch signifikant angesehen. Die statistischen Auswertungen wurden mit einem SPSS Programm erarbeitet. (Version 9.0, Version10,0, Chicago, III, USA).

Für die Studie liegt ein positives Votum der Ethikkommission vor.

## **2.2 Trachealsekretgewinnung und –Aufbereitung**

Eine Trachealsekretgewinnung wurde nur durchgeführt, wenn die klinische Indikation dazu gegeben war. Zuerst wurde 0,9% NaCl Lösung instilliert. Das instillierte Volumen war am Gewicht des Patienten orientiert. Danach folgten zwei manuelle Beatmungshübe und das Trachealsekret (TS) wurde in ein vorgesehene Plastikröhrchen unter sterilen Bedingungen abgesaugt. Das TS wurde bei 4°C aufbewahrt und innerhalb der folgenden 12h aufbereitet. Es wurde in einer Kühlzentrifuge bei 4°C und bei 3000g zentrifugiert. Der Überstand wurde abgehoben und bei -18°C gelagert. Die immunologische Analyse erfolgte zum nächstmöglichen Zeitpunkt spätestens nach 6 Monaten.

Da eine Standardisierung zum Absaugen von TS bislang noch nicht etabliert werden konnte, wurden z.T. unterschiedlich große Mengen mit jeweils unterschiedlichen Mengen von NaCl Verdünnungen abgesaugt. Daraus resultierten z.T. unterschiedliche Konzentrationen. Zudem ist zu berücksichtigen, dass nur TS gewonnen werden konnte, wenn die klinische Indikation dazu bestand, sodass zur immunologischen Analyse Mittelwerte aus den Tagen 0-1d; 2-4d; 5-12d gebildet wurden.

## **2.3 Methoden der immunologischen und biochemischen Analyse**

### **2.3.1 Nephelometrie**

Mittels Streulichtmethode wurde die Menge des Gesamtproteins im Trachealsekret bestimmt. Die Nephelometrie stellt eine sensible Methode dar, die auf der Fällung von Proteinen mit Trichloressigsäure beruht. Das durch die Reaktionsküvette geführte Licht wird konzentrationsabhängig gestreut, wobei die Proteinmenge im Testansatz sich linear proportional zur Intensität des Streulichtsignals verhält. Das Streulichtsignal wird bei einer Wellenlänge von 350-400 nm gemessen. Die Nephelometrie erfasst alle relevanten Proteine.

### **2.3.2 Immono-Assay für IL 8, IL 10 und ENA 78**

Mittels Probenschüttler erfolgte die Homogenisierung des aufgetauten Trachealsekrets. Danach wurde die Erstellung des Assays zur quantitativen Bestimmung von IL 8; IL 10 und ENA 78 durchgeführt, in den Einheiten pg/ml. Die ELISA Kits sind nach dem Prinzip des "doppelten Antikörper (AK) Sandwich" aufgebaut. Die im ELISA Kit enthaltene Mikrotiterplatte ist mit monoklonalen AK gegen das entsprechende Zytokin beschichtet. In die vorgefertigten Vertiefungen der Mikrotiterplatte wurden die Trachealsekret-Proben pipettiert. Dadurch entstand die erste Reaktion mit dem festgebundenen AK. Mittels eines Waschvorgangs wurden alle überschüssigen und ungebundenen Bestandteile entfernt. Als nächstes wurden enzymmarkierte polyklonale AK gegen das entsprechende Zytokin hinzugefügt, sodass sich bei anschließender Inkubation ein Sandwichkomplex aus 1. AK, Zytokin und 2. AK bilden konnte. Durch einen erneuten Waschvorgang werden alle überschüssigen und ungebundenen Bestandteile entfernt.

Um die Bildung eines farbigen Endproduktes zu erhalten, wurde eine chromogene Lösung hinzu gegeben, wobei die Farbintensität des Zytokins im Trachealsekret proportional zur Menge des Zytokins im Testansatz ist. Die Farbreaktion wurde durch eine Stoplösung beendet. Bei 450 nm wurde die Absorption des farbigen Endproduktes gemessen. Nach Erstellen der Standardkurve konnten die unbekanntenen Werte ermittelt werden.

### *Assay-Protokoll*

- Hinzufügen von 200 µl Assay Diluent in jede Vertiefung
- Hinzufügen von 50 µl Probenmaterial in jede Vertiefung
- Inkubation von 2 Stunden
- Dreimaliger Waschvorgang
- Hinzufügen von 200 µl Assay Konjugat in jede Vertiefung
- Inkubation von 2 Stunden
- Dreimaliger Waschvorgang
- Hinzufügen von 200 µl Assay Substratlösung in jede Vertiefung
- Inkubation von 30 Minuten
- Hinzufügen von 50 µl Stopplösung in jede Vertiefung
- Messung der Absorption bei 450 nm innerhalb der nächsten 30 Minuten

### **2.3.3 Immunoluminometrischer Assay ( ILMA ) für Elastase**

#### *Testprinzip*

Im ersten Schritt bindet das zu messende Protein (Einheit µg/l) an einen unmarkierten festphasengekoppelten AK. (Dieser unmarkierte AK befindet sich in seiner Festphase an Polyesterolkugeln). Im zweiten Schritt bindet ein luminoszenzmarkierter 2. AK an das gebundene Protein. Nach Entfernung der nicht gebundenen markierten AK wird mittels Katalase eine Lichtreaktion erzeugt. Die Lichtquanten werden in einem Photomultiplier gegen eine Standardverdünnungsreihe des gebundenen Proteins gemessen.

#### *Antikörperbeschichtung*

- Verdünnung von 0,5 molarem Phosphatpuffer mit Aqua dest. (Verhältnis 1:10 )
- Entgasung des verdünnten Puffers mit einer Wasserstrahlpumpe (20-30 Minuten)
- Einwiegen von 70 g Polyesterolkugeln (Spherotechkugeln) in einem Becherglas
- Zugabe von 100 ml entgastem Puffer und 50 µl Antikörperlösung (Anti-Human- Elastase-Antikörper vom Schaf)
- Abdecken des Becherglas mit Parafilm und 24 stündige Inkubation bei 37°C
- dreimaliges Waschen mit 0,05 molarem Phosphatpuffer
- Lagerung bei 4°C in 0,05 molarem Phosphatpuffer
- Zugabe von 1 ml Natriumazid 10% zur Konservierung

### *Lösungen*

Katalase-Lösung:	0,5 ml Rinderkatalase 100 ml NaCl 0,9%
PBS-Stammlösung:	1 Liter 0,5 M Phosphatpuffer (pH 7,2-8,0) 90 g NaCl 0,9% 5 ml Tween 20
0,33 Mol NaOH-Lösung:	26,7 g NaOH-Tabletten ad 2 l Aqua dest.
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> -Lösung:	200 ml 0,33 Mol NaOH-Lösung 1 Perhydridtablette

### *Testprotokoll*

- Herstellung der PBS-Gebrauchslösung: Mischen von 50 ml PBS-Stammlösung und 450 ml Aqua dest.
- Auftauen und Homogenisierung der TS
- Verdünnung von 20-25 µl TS mit PBS-Gebrauchslösung (Verhältnis 1:2 )
- Einpipettieren von je 10 µl der verdünnten Proben in die Vertiefungen der Mikrotiterplatte
- Hinzufügen von je 200 µl PBS-Gebrauchslösung in die Vertiefungen der Mikrotiterplatte
- Zugabe jeweils einer AK beschichteten Polysterolkugel in die Vertiefungen
- Inkubation von einer Stunde bei Zimmertemperatur, wobei die mit Parafilm abgedeckte Mikrotiterplatte auf dem Horizontalrotierer geschwenkt wird.
- Zweimaliger Waschvorgang des Ansatzes (Penta Wash System)
- Auflösen des gefriergetrockneten ABEN-H-markierten AK gegen Elastase in 12,5 ml PBS-Gebrauchslösung
- Einpipettieren von je 200 µl des in PBS gelösten markierten AK zu den Polysterolkugeln
- Inkubation des Ansatzes von 1 Stunde und 30 Minuten (siehe oben)
- Zweimaliger Waschvorgang des Ansatzes



- Überführen der gewaschenen Kugeln in Reagenzröhrchen und hinzufügen von jeweils 300  $\mu\text{l}$  Katalase-Lösung
- Einsetzen der Reagenzröhrchen in das Luminoszenzgerät (Photomultiplier), hierbei automatisches Einspritzen von 300  $\mu\text{l}$   $\text{H}_2\text{O}_2$ -Lösung in jedes Reagenzröhrchen mit nachfolgender Auslösung einer Lichtreaktion

Es wurde eine Standardverdünnungsreihe mit bekanntem Elastase Gehalt gemessen. Wenn die Messung der Elastase Proben außerhalb des Messbereichs der Standardverdünnungsreihe lag, wiederholten wir die Messung mit einer veränderten TS-Verdünnung. Zur Kontrolle wurde der Elastase Gehalt in jeder Probe dreimal gemessen. Bei einem Variationskoeffizient größer 10% ist die Messung wiederholt worden.

## 3 Material

### 3.1 Reagenzien und Chemikalien

- ABEN-H-markierter Antikörper, gefriergetrocknet
- Anti-Human-Elastase Antikörper vom Schaf (Serotec, Blockthorn, GB)
- Aqua bidest.
- Essigsäure 100% p.a. (Merck, Darmstadt)
- HEPES Pufferlösung 1M (Seromed, Berlin)
- Katalase aus Rinderleber (Boehringer, Mannheim)
- Natriumazid 10% (Merck, Darmstadt)
- NaCl 0,9% (Braun, Melsungen)
- NaOH-Tabletten (Merck, Darmstadt)
- Perhydridtabletten 1 g (Merck, Darmstadt)
- Phosphatpuffer 0,5 M (eigene Herstellung der MUL)
- PMN-Leukozyten Elastase (Protogen, Läfelfingen, CH)
- Protein -Standard -Serum (Behring, Marburg)
- Tween 20 (Merck, Darmstadt)

### **3.2 Geräte**

- Automatisches Luminoszenzgerät LB 925 (Berthold, Wildbad)
- Halbautomatisches Vakuumwaschsystem für Mikrotiterplatten, Penta Wash (Abott, Wiesbaden)
- Horizontal Rotierer Heidolph Typ 170 (Abott, Wiesbaden)
- Immunochemistryanalyser II (Beckman, Fullerton, USA)
- Nunc-Immunowash 12 autoklave (Dyntech)
- Plattenlesegerät
- Probenschüttler, IKA-Vibrofix (IKA Labortechnik, Staufen)
- Zentrifuge Heraeus-Christ, Junior 15000 (Heraeus-Christ, Osterode/Harz)

### **3.3 Laborbedarf und Verbrauchskemikalien**

- Arbeitsplatten
- Parafilm (Greenwich, USA)
- Pipettenspitzen (Eppendorf, Hamburg)
- Reagenzröhrchen (Sarstedt, Nürnberg)
- Spherotech-Kugeln (6,4 mm Durchmesser) (Vertriebs GmbH SKV, Fulda)

### 3.4 Statistische Auswertung

Der zeitliche Verlauf der unterschiedlichen Werte pro- und anti-entzündlichen Parametern (IL 8, IL 10, Elastase und ENA 78) wurde analysiert. Da eine bronchoalveoläre Lavage (BAL) bei den Frühgeborenen nur bei einer entsprechenden Indikation durchgeführt wurde (vor der Surfactant Applikation oder wenn pulmonale Sekrete die Atmung erschwerten), konnte der Zeitpunkt der Entnahme der bronchoalveolären Lavage nicht standardisiert werden. Naturgemäß nahm die Häufigkeit der bronchoalveolären Lavage nach einigen Tagen ab. Aus diesem Grund wurden die gewonnenen Daten in folgende zeitliche Gruppierungen zusammengefasst:

Beatmungstage: 0-1, 2-4 und 5-12.

Aufgrund der geringen Patientenzahl konnte nicht von einer Normalverteilung der gewonnenen Parameter ausgegangen werden, so dass für die statistische Auswertung nicht-parametrische Tests herangezogen wurden. Die Unterschiede in einem Parameter zwischen den drei zeitlichen Gruppierungen wurden mit dem Wilcoxon-Vorzeichentest für gepaarte Daten überprüft. Unterschiede zwischen Subgruppen zum gleichen Zeitpunkt wurden mit dem Mann-Whitney-U-Test quantifiziert. Korrelationsanalysen wurden mit dem Spearman-Rang-Test durchgeführt. Eine Irrtumswahrscheinlichkeit von  $p < 0.05$  wurde als statistisch signifikant bewertet, d.h. die Null-Hypothese der Gleichheit der beiden Gruppen wurde in diesem Fall abgelehnt. Alle statistischen Analysen wurden mit der Statistiksoftware SPSS Version 10.0 (SPSS, Chicago, III, USA) durchgeführt.

## 4 Ergebnisse

Insgesamt wurden N=20 Patienten analysiert. Zur bildlichen Darstellung der statistischen Ergebnisse wurden insgesamt 13 Abbildungen erstellt. Zur Differenzierung der Ergebnisse wurde die gesamte Gruppe nach folgenden Kriterien in Subgruppen aufgeteilt und noch einmal im Hinblick auf die pro- und anti-entzündlichen Parametern (IL 8, IL 10, Elastase und ENA 78) analysiert:

Patienten mit Atemnotsyndrom I-II vs. Patienten Atemnotsyndrom III-IV

Patienten mit Sepsis vs. Patienten ohne Sepsis

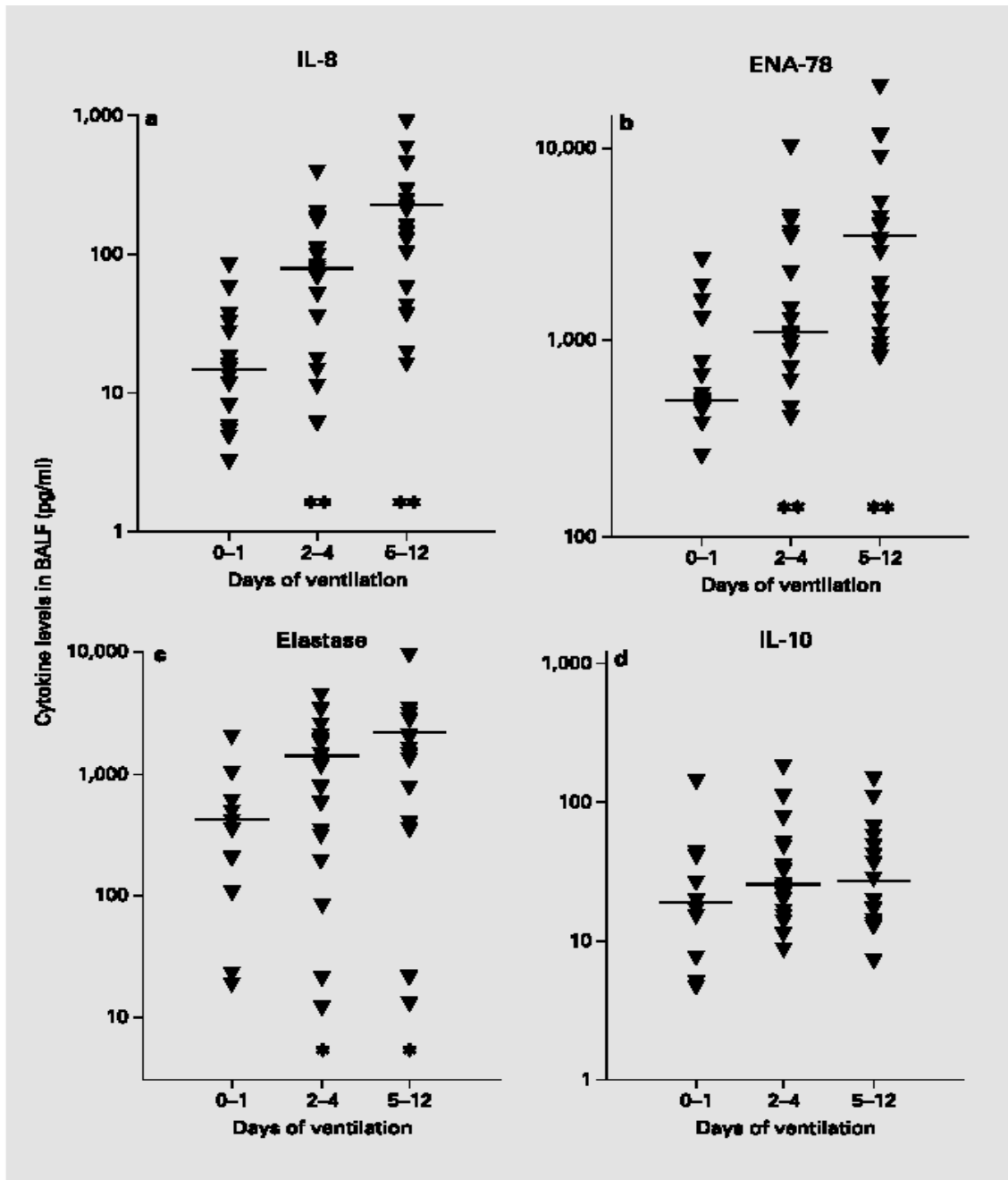
Patienten mit CRP<20mg/l vs. Patienten mit CRP>20mg/l

Patienten mit einmaliger Gabe von Surfactant vs. Patienten mit mehrmaliger Gabe von Surfactant.

Patienten mit präpartal Steroidgabe >48h vs. Patienten mit präpartal Steroidgabe <48h.

Bei diesen Analysen ist zu beachten, dass die Fallzahl N=20 (Tag 0-1 N=18, Tag 2-4 N=20, Tag 5-12 N=19) der analysierten Patienten in den Subgruppen teilweise sehr klein wurde, so dass die Unterschiede im zeitlichen Verlauf und auch zwischen den beiden Subgruppen noch nicht eindeutig ausgeprägt waren. In diesem Fall ist mit einer größeren Patientenzahl ein sichereres Ergebnis zu erwarten.

Im Folgenden werden die statistischen Auswertungen der einzelnen Subgruppen im Diagramm und im Text dargestellt.

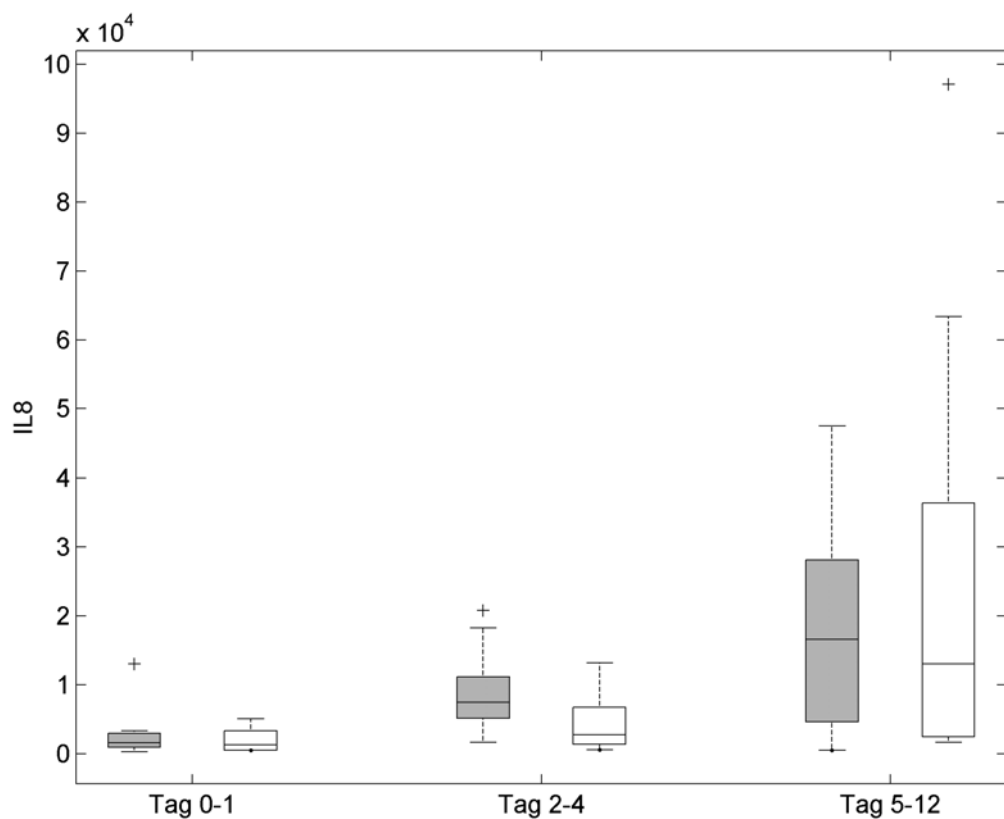


**Abb. 1** Pro- und antiinflammatorische Mediatoren während der mechanischen Beatmung von Frühgeborenen (Fg). Die Konzentration von IL 8 (a), ENA 78 (b) und Elastase (c) in der BAL von Fg steigt während der Beatmungsdauer kontinuierlich an. Dagegen bleibt die Menge von IL 10 (d) während der Beatmungsdauer konstant. Die Anzahl der Fg betrug 18 zwischen Tag 0-1, 20 zwischen Tag 2-4 und 19 zwischen Tag 5-12. Die Daten sind als vertikale „point plot“ auf einer logarithmischen Skala aufgetragen, der Median ist mit einer Linie gekennzeichnet. \* $p < 0,05$  und \*\* $p < 0,001$  bezogen auf die Beatmung zwischen Tag 0-1, dargestellt mit dem Wilcoxon Rank Test.

## 4.1 Atemnotsyndrom

Die Unterteilung nach der Schwere des Atemnotsyndroms (ANS) zeigt im zeitlichen Verlauf für den Parameter IL 8 lediglich in der Gruppe mit ANS III-IV einen signifikanten Anstieg von Tag 0-1 zu Tag 5-12 (von 1363.5 pg/ml auf 13082 pg/ml;  $p < 0.05$ ), vgl. Abbildung 2.

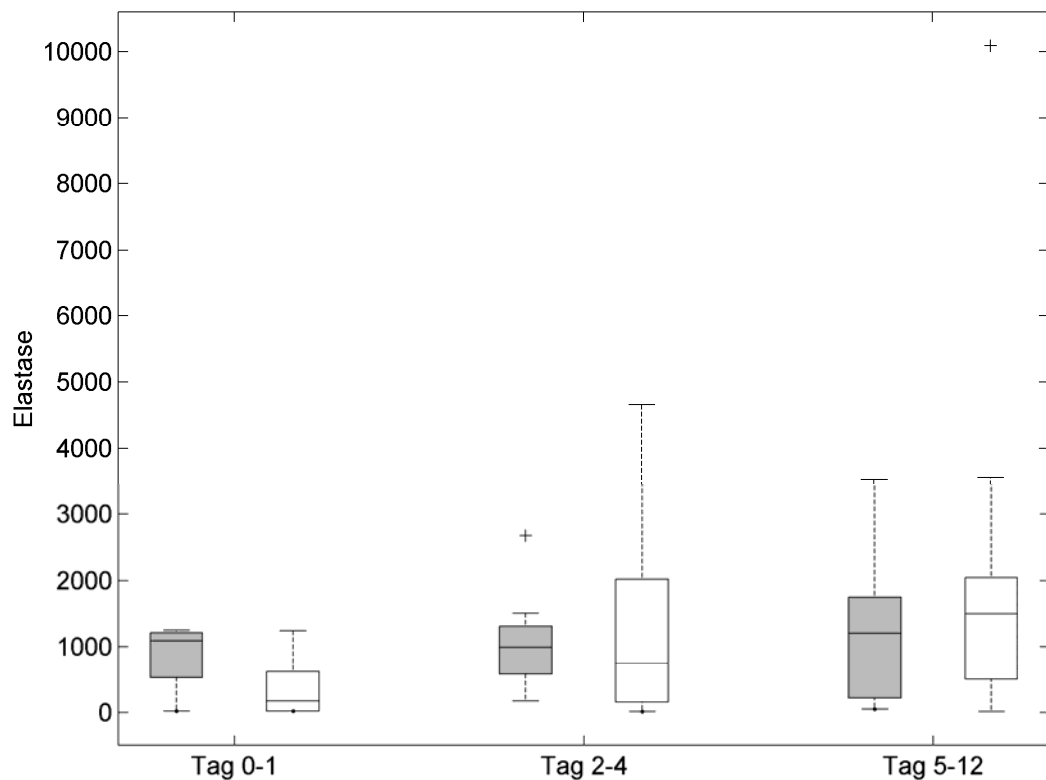
In der Gruppe mit ANS I-II deutet  $p = 0.063$  auf eine deutliche Tendenz zum Anstieg zwischen Tag 0-1 und Tag 2-4 hin. (von 1636 pg/ml auf 7520 pg/ml). In der Zeit 2-4 Tage unterscheiden sich die beiden Gruppen ANS I/II und ANS III/IV signifikant in den Werten (7520.5 zu 2770.5).



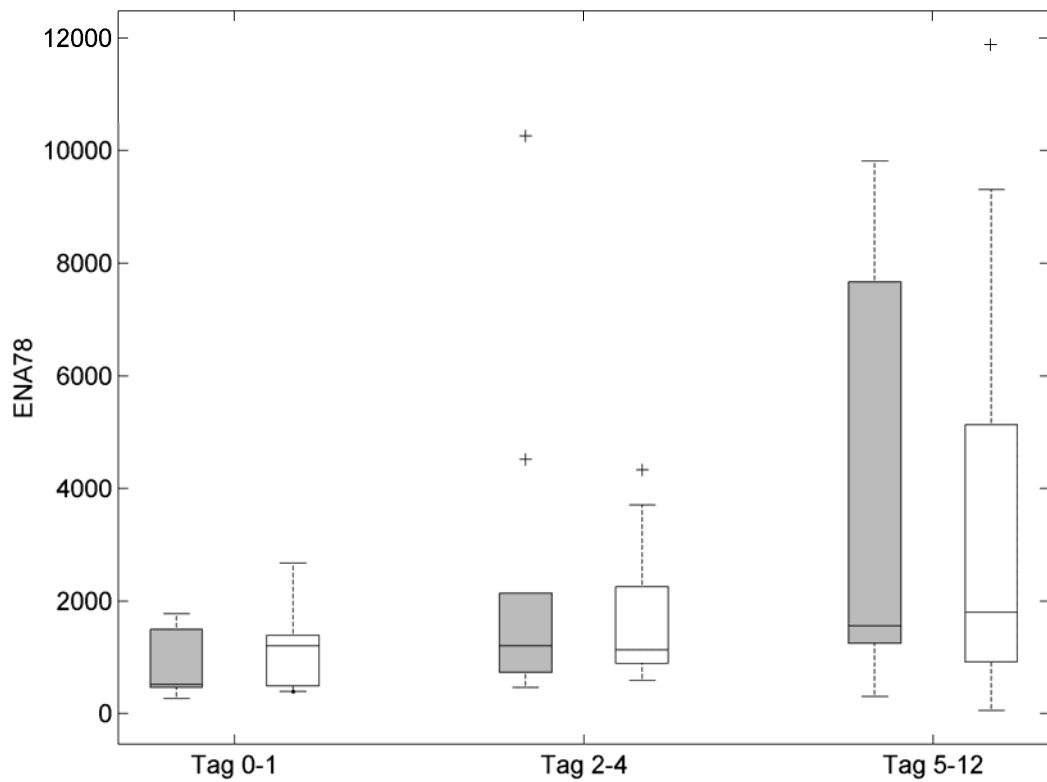
**Abb. 2:** Entwicklung von IL 8 für die Gruppen ANS I/II (grau) und ANS III/IV (weiß). Die ‚Box-und-Whisker-Plots‘ stellen als Box das untere / obere Quartil und den Median dar. Die ‚Whisker‘ zeigen die Spannweite der Daten an, Kreuze markieren die Ausreißer.



Für den Parameter Elastase zeigt sich eine Veränderung in der Gruppe ANS III-IV sowohl zwischen Tag 0-1 und Tag 2-4 (von 177  $\mu\text{g/l}$  auf 739  $\mu\text{g/l}$ ;  $p=0.051$ ), als auch zwischen Tag 0-1 und Tag 5-12 (vom 177  $\mu\text{g/l}$  auf 1501  $\mu\text{g/l}$ ;  $p=0.059$ ), vgl. Abbildung 3. Im Zeitintervall 0-1 Tag unterscheiden sich die beiden Gruppen annähernd signifikant in ihren Werten (ANS I/II: 1090  $\mu\text{g/l}$ , ANS III/IV: 177  $\mu\text{g/l}$ ;  $p=0.051$ ). In der Gruppe ANS III/IV deutet sich für den Parameter ENA-78 eine tendenzielle Änderung zwischen Tag 0-1 und Tag 5-12 ab (von 1204.5  $\text{pg/ml}$  nach 1799  $\text{pg/ml}$ ;  $p=0.093$ ), vgl. Abbildung 4.



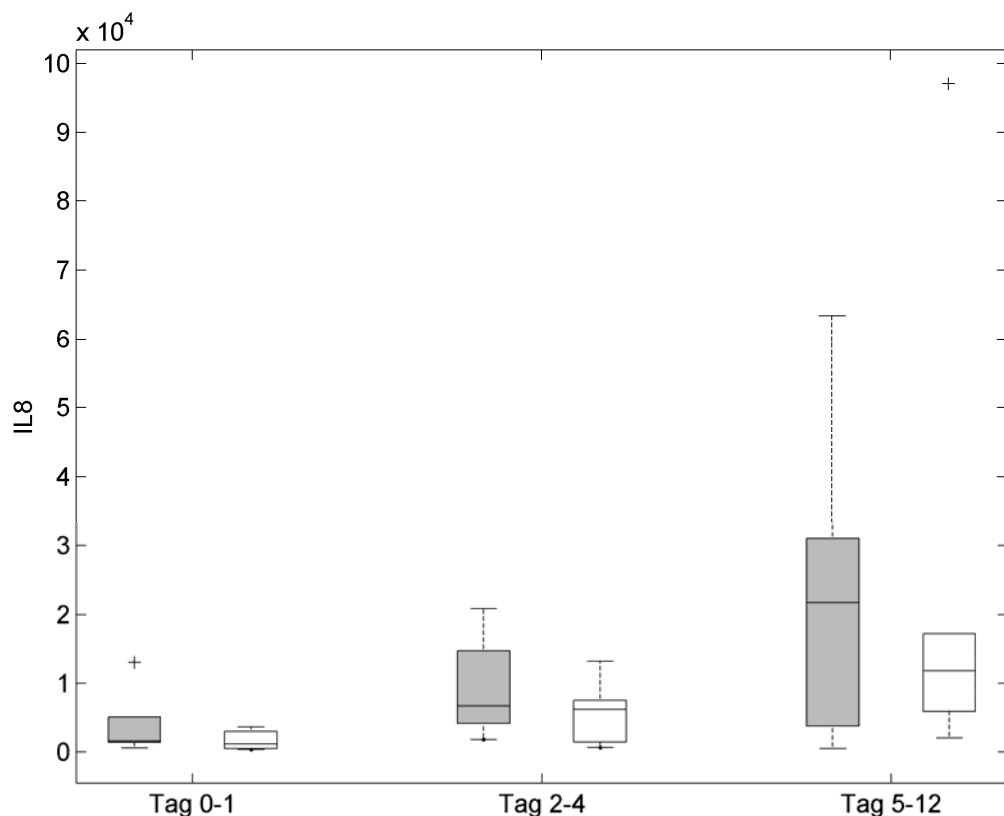
**Abb. 3:** Entwicklung von Elastase für die Gruppen ANS I/II (grau) und ANS I-II/IV (weiß). Die ‚Box-und-Whisker-Plots‘ stellen als Box das untere / obere Quartil und den Median dar. Die ‚Whisker‘ zeigen die Spannweite der Daten an, Kreuze markieren die Ausreißer.



**Abb. 4:** Entwicklung von ENA 78 für die Gruppen ANS I/II (grau) und ANS I-II/IV (weiß). Die ‚Box-und-Whisker-Plots‘ stellen als Box das untere / obere Quartil und den Median dar. Die ‚Whisker‘ zeigen die Spannweite der Daten an, Kreuze markieren die Ausreißer.

## 4.2 Neonatale Infektion

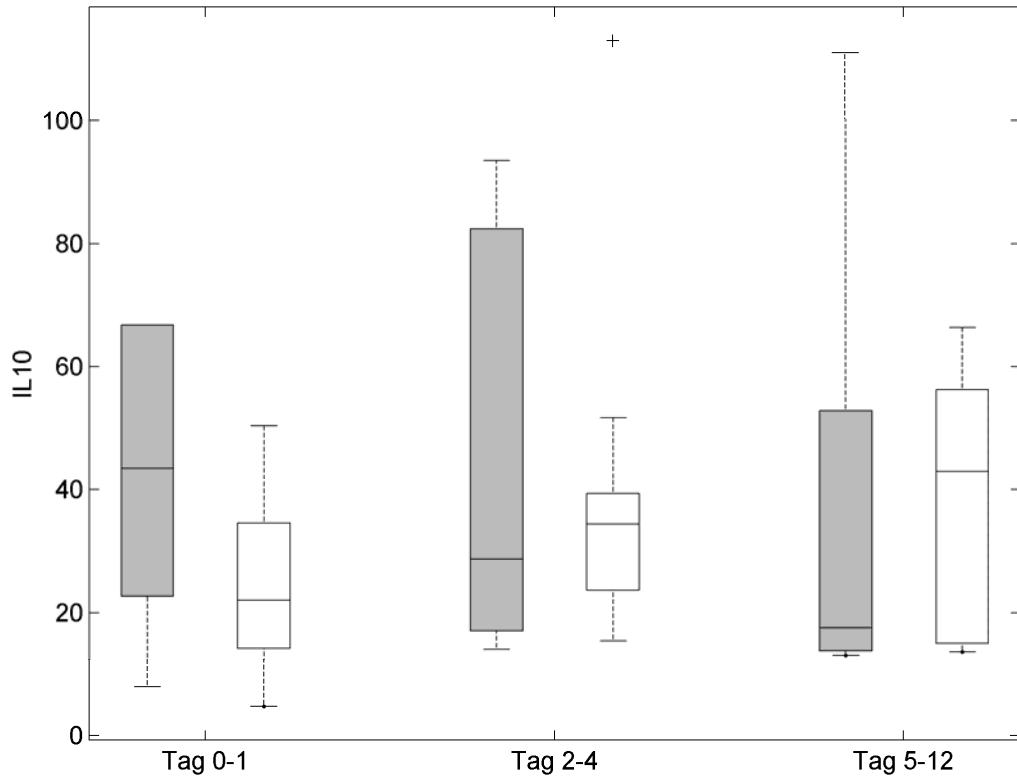
Die Unterscheidung zwischen Patienten mit bzw. ohne Sepsis zeigt, dass sich der Parameter IL 8 für Patienten ohne Sepsis sowohl zwischen Tag 0-1 und Tag 2-4 (von 1636 pg/ml auf 5144 pg/ml;  $p < 0.05$ ) als auch zwischen Tag 0-1 und Tag 5-12 (von 1636 pg/ml auf 21221 pg/ml;  $p < 0.05$ ) signifikant ändert, vgl. Abbildung 5.



**Abb. 5:** Entwicklung von IL 8 für die Gruppen ohne (grau) und mit Sepsis (weiß). Die ‚Box-und-Whisker-Plots‘ stellen als Box das untere / obere Quartil und den Median dar. Die ‚Whisker‘ zeigen die Spannweite der Daten an, Kreuze markieren die Ausreißer.

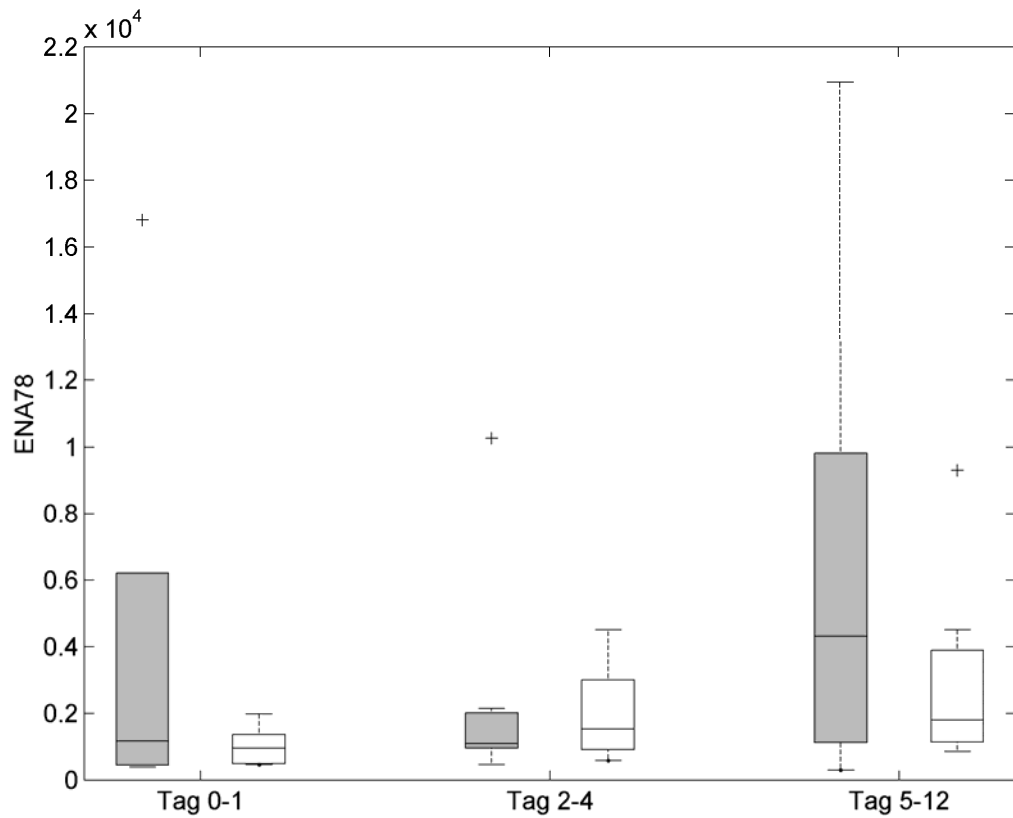
Der Parameter IL 10 hingegen zeigt eine annähernd signifikante Änderung für die Patienten mit Sepsis zwischen Tag 2-4 und Tag 5-12 (34.4 pg/ml auf 43.0 pg/ml;  $p = 0.051$ ), vgl. Abbildung 6. Eine tendenzielle Änderung deutet sich ebenfalls zwischen Tag 0-1 und Tag 5-12 an (von 22.05 pg/ml auf 43.0 pg/ml;  $p = 0.08$ ). Für Patienten ohne Sepsis

deutet sich für diesen Parameter ebenfalls eine tendenzielle Änderung zwischen Tag 0-1 und Tag 2-4 an (von 43.5 pg/ml auf 28.7 pg/ml;  $p=0.093$ ).

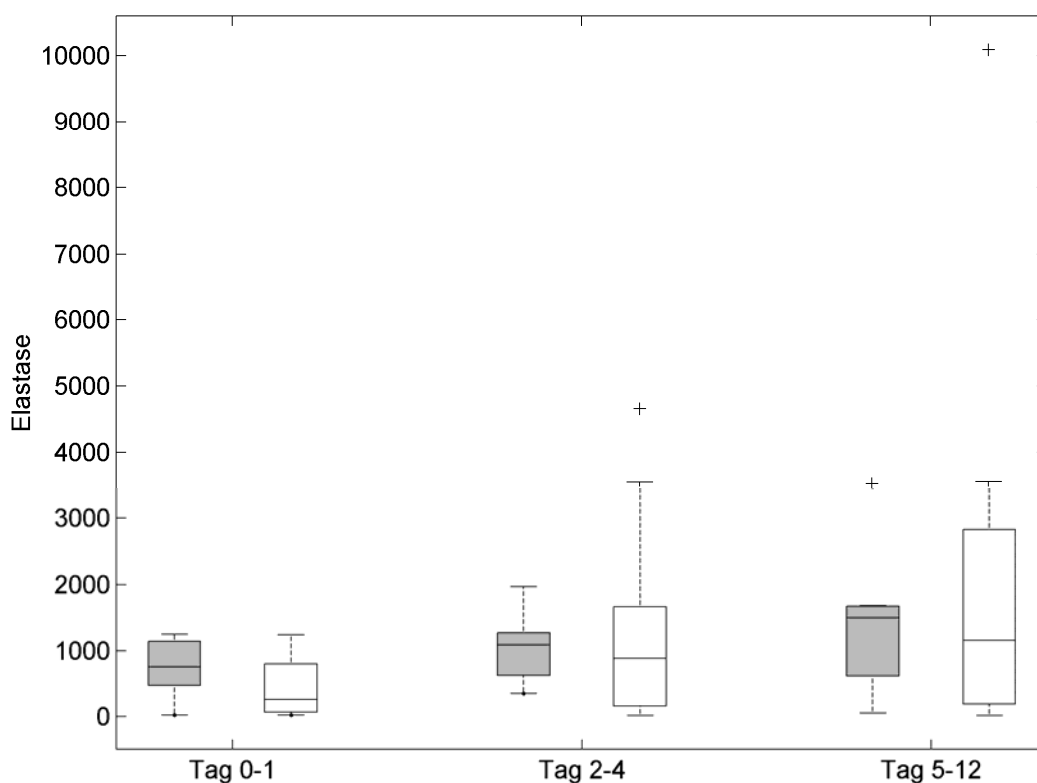


**Abb. 6:** Entwicklung von IL 10 für die Gruppen ohne (grau) und mit Sepsis (weiß). Die ‚Box-und-Whisker-Plots‘ stellen als Box das untere / obere Quartil und den Median dar. Die ‚Whisker‘ zeigen die Spannweite der Daten an, Kreuze markieren die Ausreißer.

Auch für den Parameter ENA 78 deutet sich in der Gruppe ohne Sepsis eine tendenzielle Änderung zwischen Tag 0-1 und Tag 2-4 (von 1169 pg/ml nach 1091 pg/ml;  $p=0.068$ ) sowie zwischen Tag 0-1 und Tag 5-12 (1169 pg/ml nach 4317 pg/ml;  $p=0.08$ ) an, vgl. Abbildung 7. Der Parameter Elastase zeigt wiederum lediglich in der Gruppe ohne Sepsis eine signifikante Änderung zwischen Tag 0-1 und Tag 2-4 (753  $\mu\text{g/l}$  auf 1092  $\mu\text{g/l}$ ;  $p<0.05$ ), vgl. Abbildung 8.



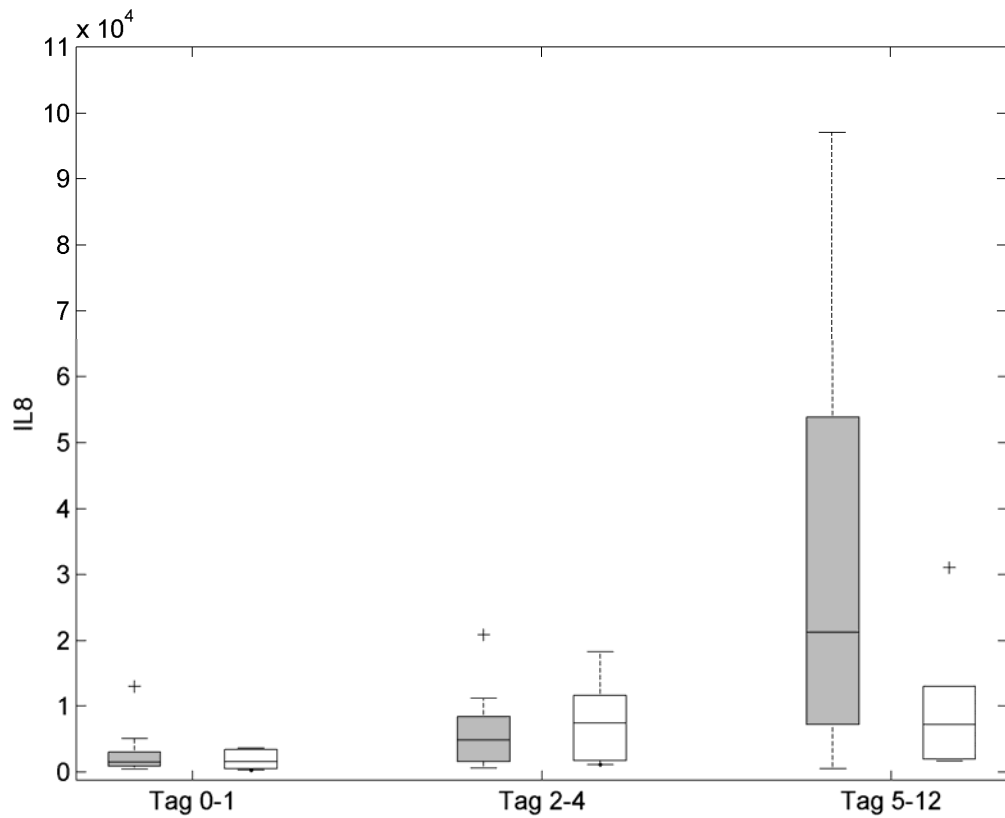
**Abb. 7:** Entwicklung von ENA 78 für die Gruppen ohne (grau) und mit Sepsis (weiß). Die ‚Box-und-Whisker-Plots‘ stellen als Box das untere / obere Quartil und den Median dar. Die ‚Whisker‘ zeigen die Spannweite der Daten an, Kreuze markieren die Ausreißer.



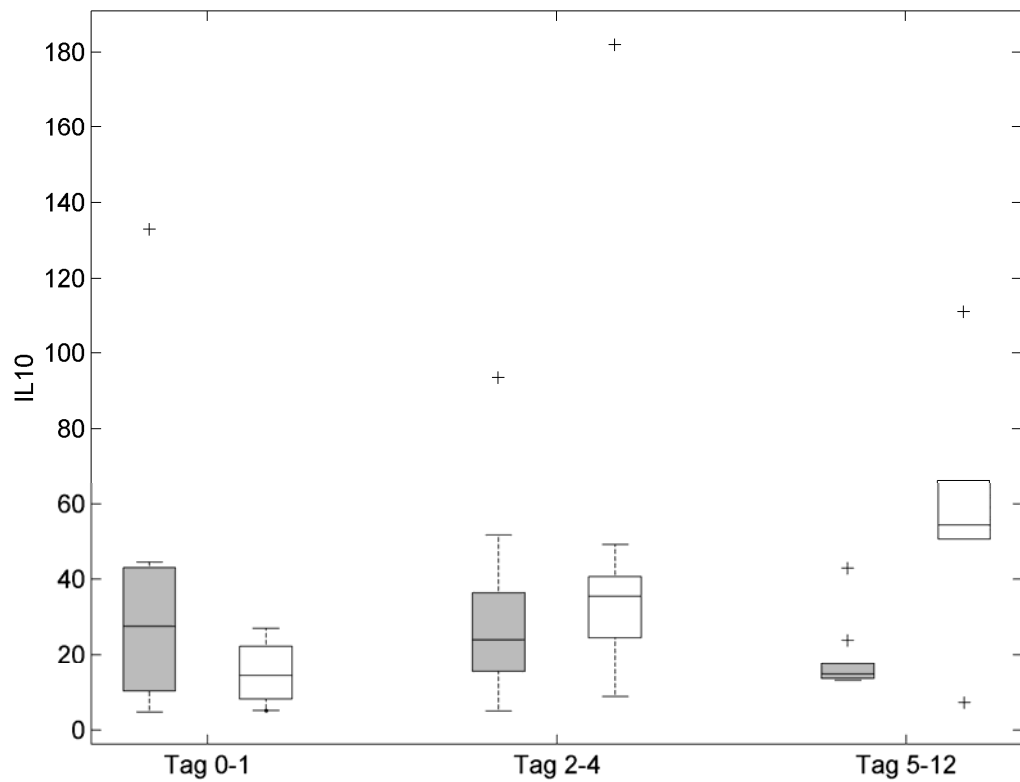
**Abb. 8:** Entwicklung von Elastase für die Gruppen ohne (grau) und mit Sepsis (weiß). Die ‚Box-und-Whisker-Plots‘ stellen als Box das untere / obere Quartil und den Median dar. Die ‚Whisker‘ zeigen die Spannweite der Daten an, Kreuze markieren die Ausreißer.

Patienten mit einem CRP >20mg/l zeigen für den Parameter IL 8 eine signifikante Änderung zwischen Tag 0-1 und Tag 5-12 (1545 pg/ml nach 21221 pg/ml;  $p < 0.05$ ) sowie eine deutliche Tendenz zur Änderung zwischen Tag 2-4 und Tag 5-12 (4852 pg/ml nach 21221 pg/ml;  $p = 0.051$ ), vgl. Abbildung 9.

Der Parameter IL 10 zeigt in dieser Gruppe (CRP >20mg/l) lediglich zwischen Tag 2-4 und Tag 5-12 eine signifikante Änderung (24,05 pg/ml nach 14,8 pg/ml;  $p < 0.05$ ). Für den Parameter IL 10 unterscheiden sich die Gruppen CRP <20mg/l und CRP >20mg/l zum Zeitpunkt 5-12 Tage signifikant (54,4 pg/ml nach 14,8 pg/ml;  $p < 0.05$ ), vgl. Abbildung 10.



**Abb. 9:** Entwicklung von IL 8 für die Gruppen CRP >20mg/l (grau) und CRP <20mg/l (weiß). Die ‚Box-und-Whisker-Plots‘ stellen als Box das untere / obere Quartil und den Median dar. Die ‚Whisker‘ zeigen die Spannweite der Daten an, Kreuze markieren die Ausreißer.

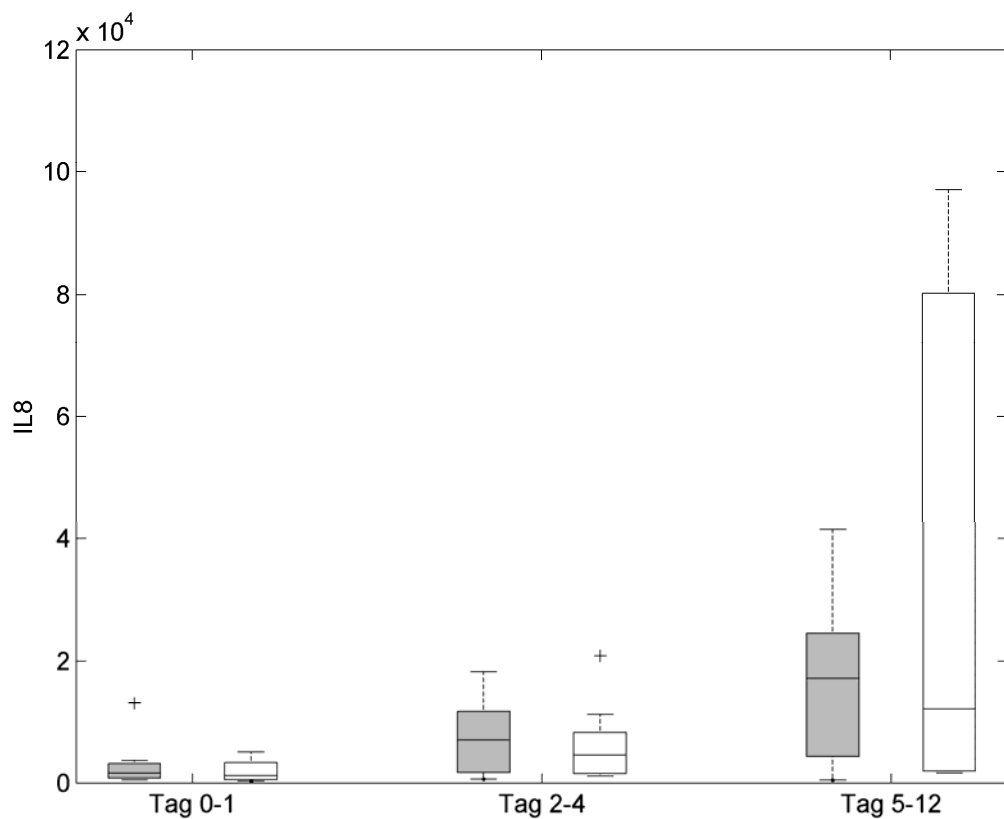


**Abb. 10:** Entwicklung von IL 10 für die Gruppen CRP >20mg/l (grau) und CRP <20mg/l (weiß). Die ‚Box-und-Whisker-Plots‘ stellen als Box das untere / obere Quartil und den Median dar. Die ‚Whisker‘ zeigen die Spannweite der Daten an, Kreuze sind Ausreißer.

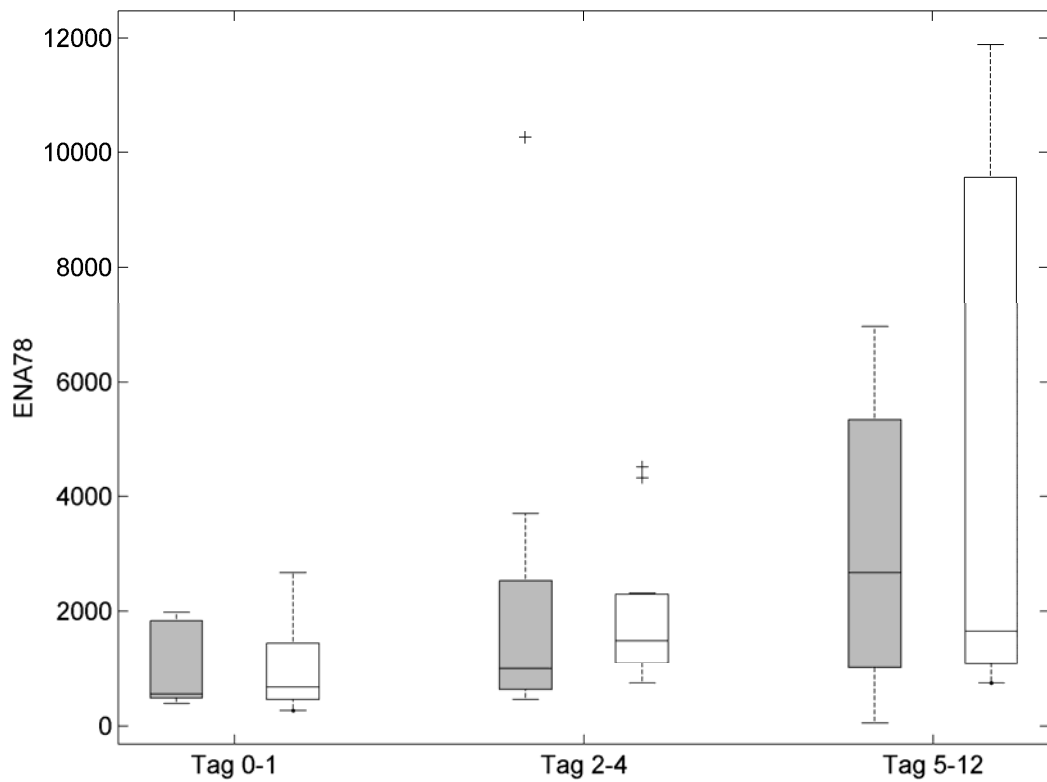


### 4.3 Surfactanttherapie

Hinsichtlich der Unterscheidung zwischen einfacher und mehrfacher Gabe von Surfactant zeigen sich folgende Ergebnisse: Der Parameter IL 8 deutet bei mehrfacher Gabe von Surfactant eine Tendenz zur Änderung zwischen Tag 0-1 und Tag 2-4 an (von 1266 pg/ml nach 4560 pg/ml;  $p=0.059$ ), vgl. Abbildung 11. Bei einfacher Gabe von Surfactant deutet sich eine tendenzielle Änderung für ENA 78 zwischen Tag 0-1 und Tag 5-12 an (555 pg/ml nach 2675 pg/ml;  $p=0.069$ ), vgl. Abbildung 12.



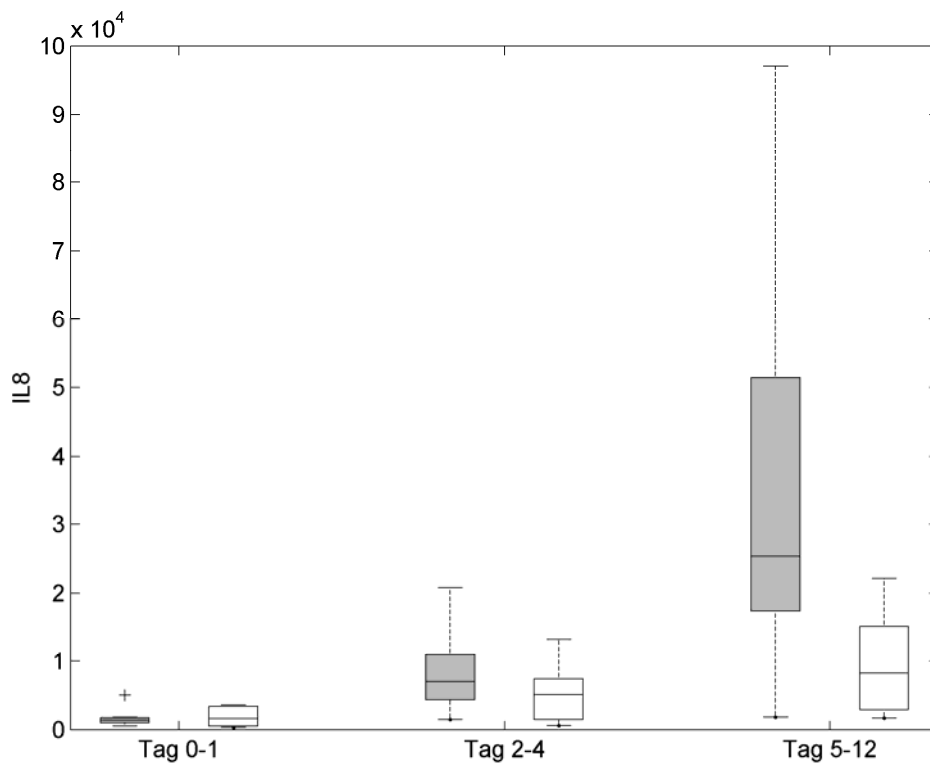
**Abb. 11:** Entwicklung von IL 8 für die Gruppen 1x SF (grau) und mehrmals SF (weiß). Die ‚Box-und-Whisker-Plots‘ stellen als Box das untere / obere Quartil und den Median dar. Die ‚Whisker‘ zeigen die Spannweite der Daten an, Kreuze markieren die Ausreißer.



**Abb. 12:** Entwicklung von ENA 78 für die Gruppen SF 1x (grau) und SF >1x (weiß). Die ‚Box-und-Whisker-Plots‘ stellen als Box das untere / obere Quartil und den Median dar. Die ‚Whisker‘ zeigen die Spannweite der Daten an, Kreuze markieren die Ausreißer.

#### 4.4 Pränatale Steroidtherapie

Der Zeitpunkt der pränatalen Gabe von Steroiden wirkt sich für den Parameter IL 8 folgendermaßen aus. Werden die Steroide kürzer als <48h vor der Geburt gegeben, dann ändert sich der IL 8 Wert sowohl von Tag 0-1 nach Tag 2-4 signifikant (von 1447.5 pg/ml nach 7044 pg/ml;  $p < 0.05$ ) als auch von Tag 0-1 nach Tag 5-12 (von 1447.5 pg/ml nach 25322 pg/ml;  $p < 0.05$ ), vgl. Abbildung 13. Auch von Tag 2-4 nach Tag 5-12 ergibt sich eine signifikante Änderung ( $p < 0.05$ ). Für die Gruppe, in der die Steroide länger als >48h vor der Geburt gegeben wurden, deutet sich lediglich von Tag 0-1 nach Tag 5-12 eine tendenzielle Änderung an (von 1639 pg/ml nach 8260 pg/ml;  $p = 0.075$ ).



**Abb. 13:** Entwicklung von IL 8 für die Gruppen Steroide <48h pränatal (grau) und Steroide >48h pränatal (weiß). Die ‚Box-und-Whisker-Plots‘ stellen als Box das untere / obere Quartil und den Median dar. Die ‚Whisker‘ zeigen die Spannweite der Daten an, Kreuze markieren die Ausreißer.

## **5 Diskussion**

### **5.1 Einteilung der Beatmungstage**

Im Rahmen der Beatmung bei Frühgeborenen sind die bronchoalveolären Lavagen in unserem Institut nur bei klinischer Indikation durchgeführt worden. Diese Indikationen sind bei Surfactant-Substitution und bei pulmonaler Obstruktion gestellt worden. Die Häufigkeit der bronchoalveolären Lavagen bei klinischer Indikation wurde individuell bei den Frühgeborenen entschieden und erfolgte demnach zu keinen festgelegten Zeitpunkten. Aus diesem Grunde wurde die folgende Einteilung in spezielle Zeitperioden gewählt: Tag 0-1; Tag 2-4; Tag 5-12.

Zu Beginn der Beatmung erfolgte die bronchoalveoläre Lavage in engeren Zeitabständen und im weiteren Verlauf wurde die klinische Indikation zur bronchoalveolären Lavage nur noch in größeren Zeitintervallen gestellt.

## **5.2 Einteilung der biochemischen und der klinischen Daten und des Patientenkollektivs**

Die gemessenen pro- und antiinflammatorisch Parameter wurden jeweils mit den erhobenen klinischen und laborchemischen Daten verglichen. Dabei handelte es sich um: Schwangerschaftswoche, Geburtsgewicht, vorzeitiger Blasensprung, Amnioninfektionssyndrom, ANS-Grad, SF-Gabe, pränatale Kortison-Substitution, antibiotische Gabe, CRP <20mg/l, CRP >20mg/l und Outcome. Der Vergleich erfolgte mit dem Ziel, unterschiedliche Verläufe bei unterschiedlicher Diagnose und Behandlung evaluieren zu können. Das Patientenkollektiv ist relativ gering, da während des Beobachtungszeitraum lediglich die Zahl von 20 Frühgeborenen bis zu 12 Tagen beatmet wurde. Die größere Anzahl von Frühgeborenen konnte schon zu einem früheren Zeitpunkt extubiert werden.

### 5.3 Menge und Verdünnungsgrad des Trachealsekret

Die bronchoalveoläre Lavage (BAL) wurde gemäss der Richtlinien „Bronchoalveolar Lavage in Neonates“ (Reynolds,75) durchgeführt. D.h. ein zu untersuchendes Trachealsekret (TS) wurde dann als repräsentativ angesehen, wenn mindestens 50% der instillierten NaCl Lösung zurückgewonnen werden konnte. Die BAL führten wir in folgender Weise durch: es wird 1 ml/kgKG NaCl in den Katheter des rechten Lungenlappen instilliert, dann lavagiert und wieder aspiriert. Schwierigkeiten bei der Beurteilung der TS ergaben sich durch die jeweilig unterschiedlichen Verdünnungsgrade. Diese kamen durch das initiale Anspülen mit NaCl und der Unmöglichkeit, die gleiche Menge jeweils wieder aspirieren zu können, zustande. Um eine genaue Standardisierung und Charakterisierung des TS zu erlangen, wurde initial zunächst Albumin als Referenzgröße gewählt. Im weiteren Verlauf wählten wir sekretorisches IgA, da es sich als eine stabilere Referenzgröße herausstellte. Sekretorisches IgA wird in seiner Konzentration, z.B. durch das Auftreten einer alveolokapillären Leckage oder unter Dexamethason Therapie oder durch die Entwicklung und Ausbreitung einer Sepsis, oder durch das Fortschreiten eines Atemnotsyndroms oder durch ein niedriges Gestationsalter nicht so stark beeinflusst und verändert, wogegen Albumin bei den aufgezählten Faktoren in seiner Konzentration deutlich stärker variiert (Watts,101). Weiter ist zu berücksichtigen, dass bei z.T. sehr geringen Probevolumina der TS nicht immer alle Marker, bzw. das Referenzprotein bestimmt werden konnten. Jedoch erlaubt die gesammelte Anzahl der Messungen statistisch valide Aussagen zu treffen.

Die BAL wurde nur durchgeführt, wenn die klinische Indikation dafür gegeben war, da der Vorgang des Absaugens einen hohen Stressfaktor für die Frühgeborenen darstellen kann (Krombach,56). Häufige Absaugvorgänge können das Bronchial- und Lungengewebe zusätzlich schädigen und führen durch diesen Reiz zu einer pulmonalen Inflammation. Aus diesem Grunde war es nicht möglich zu festgelegten Tagen und Uhrzeiten TS von den Frühgeborenen zu sammeln.

## 5.4 Diskussion der biochemischen Daten

Es wurden zwei proinflammatorische Marker (IL 8 und ENA 78), ein antiinflammatorischer Marker (IL 10) und ein proteolytisch wirksames Enzym zur Evaluation der Inflammation ausgewählt.

Diese o.g. Marker haben sich als effiziente und zudem als korrelierende Marker erwiesen, ein proinflammatorisches pulmonales Krankheitsgeschehen im Verlauf zu beurteilen (vgl. Bozic,**12**; Gortner,**33**; Imaizumi,**45**; Keane,**50**; Walz,**98**).

### 5.4.1 Elastase

Die Elastase ist ein proteolytisch wirkendes Enzym, welches vor allem in den polymorphkernigen neutrophilen Leukozyten (PMNL) vorkommt. Die Neutrophilen-Elastase spielt eine Schlüsselrolle in der Pathogenese und Pathophysiologie des Atemnotsyndroms (ANS) (Morares,**65**). Als ein proteolytisch wirkendes Enzym kann die Elastase zum einen die Funktionen der alveolokapillären Membran als Barriere zerstören und zum anderen die Freisetzung und Migration der proinflammatorischen Zytokine bewirken (Kawabata, **49**).

In der vorliegenden Untersuchung steigt die Elastase im Verlauf der Beatmungstage signifikant an.

In Studien von Odgen (**70**) und Merrit (**64**) et al. konnten ähnliche Anstiege der Elastase Konzentration nachgewiesen werden, als Hinweis auf die Rolle der Inflammation bei neonatalen Lungenerkrankungen. In der Studie von Odgen et al. (**70**) wurde eine bronchoalveoläre Lavage (BAL) an gesunden Neugeborenen, Neugeborenen mit ANS und Neugeborenen mit bronchopulmonaler Dysplasie (BPD) durchgeführt. Die in den ersten 24 Lebensstunden durchgeführte BAL zeigte in allen drei Gruppen eine geringe Elastaseaktivität. Die darauffolgende BAL nach 96h zeigte einen signifikanten Einstrom der PMNL bei der ANS- und BPD-Gruppe, verglichen mit der gesunden Kontrollgruppe. Nach einer Woche kehrten bei fortgesetzter Beatmung die PMNL-Konzentrationen bei der ANS-Gruppe auf Normwerte zurück. Dies zeigt, dass ein prolongierter Krankheits- und Beatmungsverlauf, den pulmonalen Einstrom der PMNL „fördert“ und somit die Entwicklung einer manifesten BPD begünstigt. Diese Auswirkung wird noch deutlicher, wenn die Beatmung bis zu 5 Wochen erforderlich war und eine Sauerstoffabhängigkeit bestand.

Merrit et al. (64) untersuchten ebenso die inflammatorische Aktivität und den zeitlichen Verlauf der Elastase im Trachealsekret (TS) von respiratorisch insuffizienten Frühgeborenen und Neugeborenen. Die Elastase zeigte einen maximalen Konzentrationsanstieg am dritten Beatmungstag und fiel im weiteren Verlauf wieder auf Normwerte zurück. Die Elastase persistierte nur in einer hohen Konzentration bei Kindern, die eine BPD entwickelten. Seine Untersuchungen bestätigten die Resultate von Odgen et al. (64). In den zwei zitierten Studien, wie auch in der vorliegenden Untersuchung (Schultz,79) konnte eine erhöhte Elastase Konzentration in den TS der beatmeten Frühgeborenen und Neugeborenen bestimmt werden als Zeichen für die pulmonale Inflammation und der damit bedingten Schädigung der alveolokapillären Membran. In der vorliegenden Studie stiegen die Elastaseparameter im Verlauf der Beatmungsdauer kontinuierlich an als Zeichen für einen Reiz durch Barotrauma und Sauerstofftoxizität im Rahmen der mechanischen Ventilation. Wir schließen daraus auf ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung einer chronischen persistierenden Lungenerkrankung.

#### **5.4.2 Interleukin 8**

IL 8 ist ein chemotaktisch wirkendes Zytokin. In erster Linie wirkt es aktivierend auf die neutrophilen Granulozyten. Als proinflammatorisch wirkendes Zytokin spielt IL 8 eine Schlüsselrolle in der Pathogenese der akuten und chronischen pulmonalen Inflammation, besonders bei Patienten, die auf dem Boden eines Atemnotsyndroms (ANS) eine bronchopulmonale Dyplasie (BPD) entwickeln. In der vorliegenden Studie (Schultz,79) konnte gezeigt werden, dass insbesondere IL 8 einen signifikanten Anstieg während der Beatmungszeit zeigt, unabhängig vom Grad des ANS oder einer vorliegenden Infektion. Diese Ergebnisse stimmen mit der Studie von Huang et al. (43) überein. Dort konnte demonstriert werden, dass sich deutlich erhöhte IL 8 Messungen im Trachealsekret (TS) von beatmeten frühen Frühgeborenen (24.-32. SSW) mit einem ANS nachweisen lassen. Im Gegensatz dazu fanden sich bei einer Patientengruppe mit ANS und mit einem reiferen Gestationsalter (33.-37. SSW) deutlich geringere Konzentrationen von IL 8 im TS. D.h., dass die unreife Lunge wesentlich empfindlicher reagiert, als eine nahezu ausgereifte Lunge. Ebenso konnte interessanterweise gezeigt werden, dass ein signifikanter Anstieg von IL 8 zu verzeichnen war bei einer Beatmung länger als 12 Tage (vgl. Abb. 1). Dies steht ebenfalls in Übereinstimmung zu den von uns vorgelegten Daten.



(Schultz,79). Weitere Studien (Takasaki,90; Shaw,81; Nui,69; McColm,63; Kwong,58; Kwong,59; Jones,47; Huang,43; Gähler,29; Donnelly,21; Bersford,9; Baier,7) bestätigten diese Aussagen, von einem frühen Anstieg der IL 8 Konzentration im TS von Frühgeborenen mit ANS. Ebenso ließen sich erhöhte IL 8 Werte bei Frühgeborenen mit ANS nachweisen, welche dann im weiteren Verlauf eine BPD entwickelt haben (Baier,7; Groneck,38; Jones,47; McColm,63; Nui,69; Takasaki,90).

Diese persistierend hohen IL 8 Konzentrationen könnten im Zusammenhang mit der hohen Sauerstoffkonzentration während der Beatmungstherapie stehen. Hohe Sauerstoffkonzentrationen führen zu einer erhöhten Produktion von Sauerstoffradikalen, welche eine vermehrte IL 8 Expression induzieren können (Huang,43; Kelly,52). Die Resultate von Huang et al. (43) bestätigen die Ergebnisse der vorliegenden Studie in einem weiteren Punkt, indem sich keine signifikante Änderung der IL 8 Konzentration im Verlauf einer Surfactant-Substitution ergibt. Dies zeigt, dass die Surfactant-Substitution zwar eindrucksvoll den Gasaustausch verbessert, aber nicht die pulmonale Inflammation reduziert in Bezug auf den Einstrom von polymorphkernigen neutrophilen Leukozyten (PMNL) und Zytokinen. (Reynolds,75). Weiter konnte durch Huang et al.(43) und Kwong et al.(58) die Hypothese der vorliegenden Studie bestätigt werden, dass eine längerdauernde Beatmung mit einem signifikanten Anstieg der IL 8 Konzentration korreliert, bzw. eine pulmonale Inflammation induziert (Schultz,79). Sowohl die Resultate von Huang (43), als auch die Ergebnisse der hier vorliegenden Studie stehen im Widerspruch zu den Resultaten von Jones et al. (47), welcher erhöhte IL 8 Konzentrationen bei Reifgeborenen nachwies, die im Verlauf der Beatmung bis zu 96h wieder auf Normbereiche zurück fielen und bei Frühgeborenen im Verlauf von 96h konstant minimal erhöht blieben. Diese unterschiedlichen Resultate finden möglicherweise ihre Erklärung in dem sehr kleinen Patientenkollektiv (5 Patienten) in der Studie von Jones et al. (47) und dem kurzen Beobachtungszeitraum.

### **5.4.3 Interleukin 10**

IL 10 ist ein Produkt der T2-Helferzellen und wirkt als antiinflammatorisches Zytokin, wobei es die Synthese und die Freisetzung von proinflammatorisch wirkenden Zytokinen wie IL 1, IL 6, IL 8 und TNF alpha inhibiert. Mehrere Studien belegen bei Frühgeborenen eine verminderte Fähigkeit in der Produktion und Synthese von antiinflamma-

torisch wirkenden Zytokinen wie IL 10, so dass hier ein Ungleichgewicht zwischen Pro- und Antiinflammation entsteht. Dieses Ungleichgewicht stellt eine Prädisposition für die Entwicklung einer chronischen Lungenerkrankung dar. Diese Imbalance zeigt sich nicht nur bei Frühgeborenen, sondern auch bei Erwachsenen. Donnelly et al. (21) konnten in ihrer Studie demonstrieren, dass niedrige Konzentrationen von IL 10 und IL 1 Rezeptor Antagonist mit einer erhöhten Mortalitätsrate bei Patienten mit Acute respiratory distress syndrome (ARDS) signifikant korreliert. D.h. niedrige Konzentrationen von IL 10 sind mit einer schlechten Prognose bei Patienten mit ARDS assoziiert. Es konnte keine signifikante Korrelation zwischen der Höhe der proinflammatorischen Zytokinen und der Mortalitätsrate gefunden werden. Im Rahmen der Studie von Takanashi et al. (89) wurde eine signifikante Reduktion der IL 10 Konzentration bei Patienten mit chronisch obstruktiver Lungenerkrankung (COPD) und Asthma festgestellt. Eine niedrige Konzentration von IL 10 in den Atemwegen ist möglicherweise ein pathogener Faktor bei der chronisch pulmonalen Inflammation, bzw. COPD. Ähnliche Ergebnisse wurden in Studien bei Frühgeborenen erzielt. So zeigte Kwong et al. (59) niedrige Konzentrationen von IL 10 bei Frühgeborenen mit ANS. Die In-vivo und In-vitro- Ergebnisse belegten, dass keine IL 10 mRNA während der ersten Lebensmonate gebildet werden konnte. Die In-vitro- Ergebnisse zeigten jedoch, dass IL 10 dazu in der Lage ist, als direkt antiinflammatorisches Zytokin zu wirken, durch die Inhibition der proinflammatorischen Mediatoren IL 8 und IL 1 beta.

Huang (43) untersuchte in seiner Studie die Trachealsekret von 18 Frühgeborenen mit RDS und demonstrierte, dass kein Unterschied bestand in der Konzentration von IL 10 zwischen Frühgeborenen der 33.-37. SSW und der 24.-32. SSW. D.h. sehr frühe Frühgeborene besitzen schon die Fähigkeit antiinflammatorische Zytokine zu produzieren. Somit widerlegte Huang et al.(43) mit seinen Resultaten die o.g. Studien, indem er zeigen konnte, dass nicht die Abwesenheit von IL 10, sondern ein erhöhtes IL 10 als prädisponierender Faktor für die bronchopulmonale Dysplasie (BPD) gilt. Die BPD-Gruppe bei den Frühgeborenen zeigte eine deutlich signifikante höhere IL 10 Konzentration, als die Nicht-BPD-Gruppe. Im Gegensatz dazu stehen die Befunde von Oei et al. (71). Diese Arbeitsgruppe konnte in ihrer Studie mit 48 Frühgeborenen und 7 tägiger Beatmungsdauer zeigen, dass eine Abhängigkeit zwischen Gestationsalter und Antiinflammation besteht. Bei einem niedrigem Gestationsalter besteht eine Imbalance zugunsten der Proinflammation, woraus sich eine Prädisposition für die BPD ergibt. Bei der Frühgeborenen-Gruppe mit BPD waren keine messbaren Spiegel von IL 10 nach-

zuweisen, wogegen die Reifgeborenen und Lungengesunden messbare Spiegel von IL 10 aufwiesen.

Auch Jones et al. (47) bestätigten die Ergebnisse von Oeis (71) Studiengruppe, dass die Produktion von IL 10 in einer Relation zum Gestationsalter steht. Trotz einer sehr kleinen Patientengruppe von nur 5 Frühgeborenen und der Tatsache, dass die Trachealsekretproben nur während der ersten 96 h entnommen und einen höheren Verdünnungsgrad aufwiesen, konnten Jones et al. (47) die Ergebnisse von Oei et al. (71) bestätigen. An dieser Stelle wird deutlich, dass unterschiedliche Probengewinnung und Verdünnungsgrade zu unterschiedlichen Resultaten führen und dass ein valider Verdünnungsmarker, wie z.B. sekretorisches IgA, sehr wichtig für objektivierbare Ergebnisse ist. Bei einer wesentlich größeren Patientengruppe von 17 beatmeten Frühgeborenen und einem geringeren Verdünnungsgrad während der bronchoalveolären Lavage, konnte Mc Colm (63) valide messbare Konzentrationen von IL 10 vorlegen. Er konnte hohe Konzentrationen von IL 8 und geringe Konzentrationen von IL 10 bestimmen und bestätigte damit, dass dieses Ungleichgewicht zwischen den beiden Zytokinen als prädisponierender Faktor für die Entwicklung einer BPD zu werten ist. Im Gegensatz dazu konnte Shaw (81) in seiner Studie darlegen, dass mit einer Patientenzahl von 54 Frühgeborenen mit RDS, die über einen Zeitraum von vier Tagen beatmet wurden, sowohl IL 8 als auch IL 10 einen signifikanten ansteigenden Verlauf zeigen.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass prinzipiell fast immer ein Ungleichgewicht bei den Frühgeborenen in der Produktion von anti- und proinflammatorischen Zytokinen besteht, bzw. eine verminderte Antiinflammation nachzuweisen ist, wie auch die Daten der vorliegenden Studie zeigen (Schultz,79). Sowohl bei Erwachsenen als auch bei Neugeborenen gilt die unzureichend produzierte Antiinflammation als prädisponierender Faktor für die Entwicklung einer chronischen Lungenerkrankung.

#### **5.4.4 ENA 78**

ENA 78, ein epitheliales neutrophiles aktivierendes Peptid, gehört zu der Gruppe der chemotaktisch wirkenden Zytokinen und besitzt große Ähnlichkeit in seinen strukturellen und biochemischen Merkmalen mit IL 8. D.h. ENA 78 ist ebenso potent in seiner Funktion, die Chemotaxis der polymorphkernigen neutrophilen Leukozyten (PMNL) zu

induzieren und die Freisetzung ihrer Granula zu bewirken wie IL 8 (Keane,**50**; Imaizumi,**45**; Bozic,**12**; Walz,**98**).

ENA 78 wird von verschiedenen Zelltypen exprimiert, wie z.B. von den Pneumozyten Typ II und spielt in der Pathogenese von inflammatorischen Prozessen in der Lunge und andernorts eine entscheidende Rolle. Es lässt sich bei verschiedenen pulmonalen entzündlichen Vorgängen in hohen Konzentrationen nachweisen, z.B. mit dem Effekt eines Regulator angiogenetischer Aktivität bei der idiopathischen Fibrose (Bozic,**12**; Imaizumi,**45**; Keane,**50**; Walz,**98**). In der bronchoalveolären Lavage (BAL) bei Patienten mit Acute respiratory distress syndrome (ARDS) oder ALI (Acute lung injury) lassen sich hohe Konzentrationen von IL 8 und ENA 78 nachweisen, die in Korrelation mit einer hohen Konzentration von PMNL stehen. Bei Patienten mit ARDS zeigen sich deutlich höhere Spiegel von IL 8 und ENA 78 als bei Patienten mit ALI.

Goodman et al.**(32)** demonstrierten in ihrer Studie bei Patienten mit ARDS, unabhängig von Dauer und Schweregrad, hohe Messwerte von IL 8, ENA 78 und PMNL. Ebenso konnte dargestellt werden, dass weder das klinische Outcome, noch das Vorliegen einer Infektion von der Höhe der proinflammatorischen Zytokine bestimmt wurden. Dagegen wurden erniedrigte Spiegel antiinflammatorischen Zytokine mit einem schlechterem Outcome assoziiert. Diese Ergebnisse stehen in Übereinstimmung mit der vorliegenden Studie. Es konnte gezeigt werden, dass es zu ansteigenden Konzentrationen von proinflammatorischen Zytokinen im Verlauf der Beatmung kam, unabhängig von anderen beeinflussenden Faktoren, wie z.B. eine bestehende Infektionen (Schultz,**79**).

## 5.5 Medikamente und ihr Einfluss auf die Kinetik der Zytokine

### 5.5.1 Steroide in prä- und postnataler Behandlung

Das Atemnotsyndrom (ANS; Synonym RDS) und seine nachfolgenden Komplikationen, wie z.B. insbesondere die bronchopulmonale Dyplasie (BPD) spielen eine Schlüsselrolle in der Perinatalzeit in Bezug auf Mortalität und Morbidität. Steroide werden in der prä- und postnatalen Phase zur Prävention und Therapie von pulmonalen Erkrankungen eingesetzt. Die pränatale Gabe von Steroiden reduziert die Häufigkeit des Auftretens von einem ANS und der intraventrikulären Hirnblutung (IVH). Postnatal werden Steroide zur Prophylaxe und Behandlung einer BPD eingesetzt. Auch die Studien von (Wang,**99**; Groneck,**39**; Yeh,**107**) beschreiben die Vorteile dieser Steroidbehandlungen. Die Steroidbehandlung führt zu einer Suppression der pulmonalen Inflammation, es verringert sich die Konzentrationen der proinflammatorischen Zytokine (LTB 4, IL 1, Elastase, PMNL), es kommt zu einer Verminderung der pulmonalen Leckage, der gesamte pulmonale Status verbessert sich, die Sauerstoffzufuhr kann reduziert, die Frühgeborenen können früher von der Beatmung entwöhnt werden, womit sich die Inzidenz der BPD verringert. In der vorliegenden Studie zeigte sich, dass die pränatale Dexamethason Behandlung keinen protektiven Effekt auf die Ausbildung einer BPD entwickelte, da es zu keiner signifikanten Reduktion der proinflammatorischen Zytokine kam.

Neuere Studien haben gezeigt, dass die postnatale Behandlung mit Steroiden, zu einer Störung in der zerebral- neuronalen Entwicklung führen kann und somit mit einer erhöhten Inzidenz an Zerebralparesen einhergeht (Groneck,**35**; Grier,**34**). Zwar führt die Behandlung mit Kortikosteroiden zu einer kurzfristigen Verbesserung der Lungenfunktion und reduziert das Risiko einer BPD, verbessert dabei aber nicht die Überlebensrate der Kinder mit BPD (Bancalari,**8**; Grier,**34**). Die Behandlung mit Kortikosteroiden führt zu einer Reihe von Nebenwirkungen. Es wurden Hyperglykämien, Hypertonien, Kardiomyopathien, Wachstumsretardierungen, Infektanfälligkeiten, gastrointestinale Blutungen und vor allem Störungen in der zerebralen Entwicklung beobachtet. Es kam zu einer erhöhten Rate an Zerebralparesen und neurologischen Spätschäden. Hirnentwicklung und Hirnwachstum waren beeinträchtigt und deutlich verzögert. Aus diesem Grunde wird die postnatale Behandlung mit Kortikosteroiden bei Frühgeborenen zur Prävention oder Behandlung einer BPD nicht mehr empfohlen (Groneck,**35**; Grier,**34**).

Die pränatale Steroidbehandlung dient der Induktion der Lungenreife. Die einmalige Gabe von Steroiden reduziert die Mortalität der Frühgeborenen sowie die Inzidenz von ANS und von intraventrikulären Hirnblutungen. Die repetitive Gabe von Steroiden bei drohender Frühgeburt kann nicht empfohlen werden, da eine erhöhte Dosis einen ungünstigen Einfluss auf das somatische und zerebrale Wachstum haben kann. Zur pränatalen Steroidbehandlung wird Betamethason empfohlen, da es in Langzeitbeobachtungen keine negativen Effekte auf die zerebrale und somatische Entwicklung zeigte (Gronneck,**35**). In der vorliegenden Studie wurden die Frühgeborenen mit einer einmaligen oder einer mehrfachen Dosis Betamethason (Celestan) behandelt. Aufgrund der hier vorliegenden Ergebnisse konnte bei Frühgeborenen, die pränatal Steroide erhalten haben, im Verlauf der Beatmungstage keine Reduktion der proinflammatorischen Mediatoren nachgewiesen werden.

### **5.5.2 Surfactantbehandlung**

Die exogene Surfactant- Substitution ist inzwischen zu einem festen Bestandteil der Routinebehandlung von Frühgeborenen mit Atemnotsyndrom (ANS) geworden. Kern der Pathogenese des ANS ist der Mangel an pulmonalem Surfactant. Dieser Mangel an Surfactant führt über Atelektasen, Hypoxie und pulmonaler Vasokonstriktion zu einer pulmonalen Hypoperfusion. Dies wiederum hat eine Schädigung der alveolokapillären Membran, mit einströmenden Plasmaproteinen zur Folge. Dieses löst im weiteren eine Surfactant- Inaktivierung aus, es kommt zur Ausbildung von hyalinen Membranen und letztendlich zum Vollbild eines ANS. Mit einer Surfactant- Therapie konnte eine signifikante Abnahme der neonatalen Mortalität und Morbidität herbeigeführt werden. Die Intensität und Dauer der Beatmung konnte eindrucksvoll reduziert und damit die Komplikationen eines Barotraumas, wie Pneumothorax und pulmonales Emphysem vermieden werden (Ainsworth,**2**; Gortner,**33**).

Für die Substitution von Surfactant haben sich verschiedene Standards etabliert. Es werden zwei Arten von Surfactant unterschieden, natürlicher Surfactant (porcin oder bovin) und synthetischer Surfactant. Es wird häufiger dem natürlichen Surfactant der Vorzug gegeben, da hiermit ein schnelleres Ansprechen der erreicht wird (Suresh,**87**,Suresh, **88**; Soll,**82**). Die Dosis beträgt 100mg/kgKG. Ebenso hat die prophylaktische Anwendung gegenüber der „Rescue Anwendung“ ihren festen Stellenwert erwor-

ben. Diese verhindert zu einem deutlich größeren Anteil eine akute Schädigung der alveolokapillären Membran, verringert die pulmonale Leckage und reduziert die Freisetzung von proinflammatorischen Zytokinen im Gegensatz zu einer Rescue-Anwendung. Bei bereits bestehendem ANS wird ebenso der früheren Behandlung der Vorzug gegeben, als der verzögerten Behandlung. Bei persistierendem ANS empfiehlt sich die wiederholte Applikation von Surfactant. Von der repetitiven Gabe wird erhofft, dass man der Inaktivierung von Surfactant entgegenwirken kann. Die repetitive Anwendung bei persistierendem ANS ergibt ein besseres Outcome in Bezug auf die pulmonalen Funktionen und die Gesamtmorbidität in der Neonatalperiode.

Faktoren, welche die Effektivität von Surfactant beeinflussen sind folgende: angeborene und pulmonale Erkrankungen, Asphyxie, Infektionen, geringes Gestationsalter und Geburtsgewicht, männliches Geschlecht, ein niedriger APGAR Score und eine verzögerte Applikation von Surfactant (Suresh,**87**; Suresh,**88**; Soll,**82**). Die Nebenwirkungen von Surfactant sind selten und gering. Es wurden vereinzelt Bradykardien und Hypotonien, intraventrikuläre Hirnblutungen und pulmonale Hämorrhagien, sowie Pneumothoraxentwicklung beobachtet. Insgesamt war das „longterm-outcome“ von Frühgeborenen nach Surfactant-Behandlung nicht negativ beeinflusst. Bisher gibt es noch keine ausreichenden Daten darüber, ob die generelle Anwendung von Surfactant einen positiv signifikanten Einfluss auf die Entwicklung einer BPD oder auf die Inzidenz einer BPD ausüben kann (Stevens et al.,**84**). Ahuja et al. (**1**) zeigten in ihrer Studie, dass die Anwendung von Surfactant zu einer Inhibition der pulmonalen Inflammation führt. Es wurde eine signifikante Reduktion der PMNL durch Surfactant beschrieben, welche im weiteren Verlauf durch die Reduktion der lokalen Entzündung eine deutliche Verbesserung der pulmonalen Funktionen zur Folge hatte.

Zu berücksichtigen sind noch Wirkungen und Eigenschaften der Surfactantproteine. Sie spielen eine Schlüsselrolle in der pulmonalen immunologischen Abwehr (Kramer,**55**). Die Surfactantproteine (SP) werden in unterschiedliche Klassen unterteilt. Das SP-A hat verschiedene intrapulmonale immunregulatorische Eigenschaften. Es initiiert die eigene intrapulmonale Abwehr, indem es die Phagozytose, die Produktion von NO, Zytokinen und immunmodulierenden Zellen anregt (Hussain,**44**). Eine Minderfunktion von SP-A, bedingt durch einen Surfactant-Mangel oder eine genetische Abberation kann möglicherweise prädisponierend für eine pulmonale Inflammation und Infektion sein (Weber,**103**; Wright,**106**).

In der vorliegenden Studie konnten die o.g. Ergebnisse von Suresh, Soll und Ahuja nicht bestätigt werden, es zeigte sich keine Reduktion in der Zytokinproduktion bei Surfactant- Mehrfachanwendung. Dies steht in Übereinstimmung zu der Studie von Huang et al. (43), in der gezeigt werden konnte, dass sich keine signifikante Änderung der IL 8 Konzentration im Verlauf einer SF-Substitution ergibt. Dies weist darauf hin, dass die Surfactant-Substitution zwar eindrucksvoll den Gasaustausch verbessert, aber nicht die pulmonale Inflammation reduziert in Bezug auf den Influx von PMNL und Zytokinen.

### **5.5.3 Einfluss der Beatmung auf die Kinetik der Zytokine**

Eine Vielzahl von Studien belegten, dass die mechanische Beatmung eine lokale und systemische Entzündungsreaktion auslösen kann. Die Hauptrisikofaktoren der Beatmung sind in erster Linie die Sauerstofftoxizität und das Baro-/Volumentrauma, welches zu einer Verletzung des Lungengewebes führt und dadurch eine Freisetzung von inflammatorischen Zytokinen und Chemokinen auslöst (van Marten,88). Diese pulmonale Inflammation stellt einen Hauptrisikofaktor für die Entwicklung einer BPD/CLD dar.

Eine Studie von Tsangaris et al. (94) zeigte, dass es bei lungengesunden Patienten nach einer Beatmungsdauer von einer Woche zu einem Anstieg von inflammatorischen Markern, zu einer vermehrten pulmonalen Leckage und zu einer Reduktion von Surfactant kam. Damit konnte demonstriert werden, dass eine verlängerte Beatmung, auch bei Lungengesunden, eine relevante pulmonalen Entzündungsreaktion induzieren kann. Raniere et al. (74) zeigten in ihrer Studie den Effekt von unterschiedlichen Druck-Beatmungsformen in Bezug auf die Synthese und Freisetzung von Entzündungsfaktoren bei Patienten mit Acute respiratory distress syndrome (ARDS). Bei Patienten mit einer lungenschonenden Beatmung (Tidalvolumen und PEEP angepasst an eine Druck-Volumen-Kurve) zeigte sich, dass die Konzentrationen von IL 1 beta, IL 6, IL 8 und TNF alpha signifikant geringer waren, als in einer Kontrollgruppe. Aus dieser Studie konnte die Schlussfolgerung gezogen werden, dass eine lungenprotektive Beatmung, die eine Überdehnung durch erhöhten Druck und Volumina vermeidet, die pulmonale Inflammation signifikant reduzieren kann. Eine druckgeminderte Beatmung kann nicht nur die lokale, sondern auch die systemische Entzündungsreaktion und damit die Morbidität und Mortalität der ARDS Patienten senken.



Stüber et al. (86) entwickelten ein ähnliches Studiendesign, um den Effekt von unterschiedlichen Beatmungsformen auf die Freisetzung von Entzündungsmarkern bei Patienten mit ALI (Acute lung injury) zu evaluieren. Die Gruppe mit einer lungenprotektiven Beatmung zeigte während der Beobachtungsphase einen geringen Anstieg der inflammatorischen Marker im Plasma und in der bronchoalveolären Lavage (TNF alpha und IL 6), wobei die Gruppe mit einem hohem Tidalvolumen in der Beatmung einen deutlich höheren Anstieg der Entzündungsparameter zeigte. Als bei dieser Patientengruppe auf eine lungenprotektive Beatmungsform umgestellt wurde, stiegen die inflammatorischen Parameter in der bronchoalveolären Lavage dennoch weiter an. D.h. eine einmal induzierte Entzündungsreaktion kann auch durch einen Wechsel auf eine lungenprotektive Beatmungsform nicht mehr unterbrochen werden. Stüber et al. (86) bestätigten in ihrer Studie die Ergebnisse von Ranieri et al.(74), dass bereits nach kurzer Beatmungszeit mit hohen Beatmungsdrücken es zu einem Anstieg von Entzündungsparametern pulmonal und peripher kommt.

Thome et al. (93) stellten in ihrer Studie die Hypothese auf, dass die Hochfrequenz (HFO) -Beatmung im Gegensatz zu einer IPPV- Beatmung eine Reduktion der inflammatorischen Mediatoren bei Frühgeborenen mit ANS zur Folge habe. Die Ergebnisse der Studie ließen keine signifikanten Unterschiede für die Höhe der inflammatorischen Mediatoren (IL 8 und LTB4) für die pulmonale Leckage mit Albumin als Marker, sowie für das klinische Outcome erkennen. Die Studiengruppe nahm an, dass sie mit der IPPV- Beatmung bereits ein lungenprotektives Regime gewählt hatten, sodass sich keine signifikanten Unterschiede zur HFO- Beatmung erzielen ließen. Die bisher zitierten Studien bestätigen alle, dass die Beatmung von Früh- und Neugeborenen und Erwachsenen zu einer pulmonalen Entzündungsreaktion führt, ausgelöst durch Barotrauma und Sauerstofftoxizität. Dies bestätigt somit die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung, dass eine verlängerte Beatmung bei Frühgeborenen mit ANS mit einer Erhöhung der inflammatorischen Zytokine einhergeht.

Van Marter et al. (95) beschäftigten sich in ihrer Studie mit Beatmung, postnataler Sepsis und Chorioamnionitis als Modulatoren der bronchopulmonalen Dyplasie (BPD) bei Frühgeborenen. Es sollte das Verhältnis zwischen pränataler und postnataler Infektion und verlängerter Beatmung (>7 Tage) in Bezug auf die Entwicklung einer BPD beurteilt werden. Das geringste Risiko für die Entwicklung einer BPD hatten Frühgeborene mit einer Beatmungsdauer <7 Tage und einer Chorioamnionitis. Das Auftreten einer Infektion führte zu einer verbesserten und schnelleren Lungenreife, ausgelöst durch einen

Kortisol Schub während der Entzündungsphase. Demgegenüber ist jedoch bekannt, dass eine pränatale Infektion zu einer Freisetzung von Entzündungsmediatoren führen kann, die zu einer Zerstörung von pulmonalen Gewebe und somit zu einer entsprechenden pulmonalen Inflammation führen, welche dann auch eine Beatmungsabhängigkeit nach sich ziehen kann. Diese Studie, wie auch die vorher genannten bestätigen unsere Ergebnisse, dass eine langandauernde Beatmung sowohl bei Gesunden, wie auch bei geschädigten Lungen einen entsprechende pulmonale und daraus folgende systemische Entzündungsreaktion auslösen kann (Schultz,79).

## 6 Zusammenfassung

Im Rahmen unserer Studie sollte der Hypothese nachgegangen werden, inwiefern ein direkter Zusammenhang zwischen Beatmung und pulmonaler Inflammation hergestellt werden kann. Die Inflammation und ihre entsprechenden Mediatoren beeinflussen die perinatale Morbidität und Mortalität und nehmen damit in der Perinatalzeit einen ganz besonderen Stellenwert ein. Die Freisetzung proinflammatorischer Zytokine ist mit verschiedenen Krankheitsbildern assoziiert. Im Zusammenhang unserer Studie ist die bronchopulmonale Dysplasie hervorzuheben, des Weiteren sind nekrotisierende Enterokolitis, intraventrikuläre Hämorrhagie und periventrikuläre Leukomalzie zu erwähnen. Die pulmonale Inflammation spielt die wichtigste Rolle in der Pathogenese der bronchopulmonalen Dysplasie bei Frühgeborenen. Eine langandauernde mechanische Beatmung bei Frühgeborenen mit respiratorischer Insuffizienz scheint ein Induktor der pulmonalen Inflammation zu sein. Um diese Hypothese zu evaluieren, haben wir pro- und antiinflammatorische Zytokine im Trachealsekret von Frühgeborenen mit Atemnotsyndrom unterschiedlichen Grades untersucht.

Alle proinflammatorischen Parameter stiegen signifikant im Trachealsekret von Frühgeborenen mit Atemnotsyndrom an, während einer Beatmungsdauer zwischen 0-12 Tagen. Im Gegensatz zu den proinflammatorischen Zytokinen bleibt die Konzentration des antiinflammatorischen Zytokin IL 10 während der gesamten Beatmungsdauer konstant. Dies könnte darauf hinweisen, dass Frühgeborene eine verminderte Fähigkeit besitzen, eine Entzündungsreaktion durch antiinflammatorische Mediatoren entsprechend zu regulieren. Weitere Ergebnisse unserer Untersuchungen erbrachten den Beleg, dass es keine Korrelationen gibt zwischen der Höhe der pulmonalen proinflammatorischen Zytokine (ENA 78, IL 8, Elastase) und systemischen Entzündungsparametern (Höhe des CRP- Wert).

Auch zeigte sich, dass die Höhe der Konzentration der proinflammatorischen Zytokine und dem Schweregrad des Atemnotsyndrom nicht korrelieren. Unsere Beobachtungen stützen die These, dass die mechanische Beatmung in der Induktion der pulmonalen Inflammation unabhängig ist von systemischer Infektion und dem Schweregrad des Atemnotsyndrom. Ebenso konnte gezeigt werden, dass die pränatale Anwendung von Dexamethason keinen Effekt auf die Höhe der Werte der hier untersuchten Zytokine zeigt.

Abschließend lässt sich sagen, dass im Rahmen dieser Studie die Hypothese bestätigt werden konnte, dass sowohl eine längerdauernde Beatmung eine pulmonale Inflammation induziert und damit prädisponierend wirkt für die Entwicklung einer bronchopulmonalen Dysplasie, als auch fördernd auf die Entwicklung der typischen Erkrankungen des Frühgeborenen. Diese These hat sich im Rahmen von verschiedenen Studien bei Erwachsenen bestätigt und betont damit den Stellenwert eines schonenden und kurzen Beatmungskonzepts bei Frühgeborenen zur Vermeidung entsprechender Langzeitschäden und Entwicklungsstörungen. Die Imbalance zwischen pro- und antiinflammatorischen Zytokinen weist auf die Notwendigkeit der Entwicklung entsprechender Therapiekonzepte hin, um mit jeweilig antiinflammatorischen Mediatoren der lokalen und systemischen Entzündungsreaktionen entgegen wirken zu können und somit ein verbessertes Outcome bei den Frühgeborenen zu erzielen.

## 7 Literaturverzeichnis

1. Ahuja A, Oh W, Chao W, Spragg RG, Smith RM: Inhibition of the human neutrophil respiratory burst by native and synthetic surfactant. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1996;14:496-503
2. Ainsworth SB, Milligan DW: Surfactant therapy for respiratory distress syndrome in premature neonates: a comparative review. *Am J Respir Med.* 2002; 1:417-1433
3. Al Salmi QA, Walter JN, Colasurdo GN, Sockrider MM, Smith EO, Takahashi H, Fan LL: Serum KL-6 and surfactant protein A and D in pediatric interstitial lung disease. *Chest* 2005;127:403-407
4. Ancel PY, Breart G: Epidemiologie und Risikofaktoren der Frühgeborenen. *Der Gynäkologe* 2000;33:356-360
5. Arnon S, Grigg J, Silvermann M: Pulmonary inflammatory cells in ventilated preterm infants: effect of surfactant treatment. *Arch Dis Child* 1993;69:44-48
6. AWMF, Leitlinien der Gesellschaft für Neonatologie und pädiatrische Intensivmedizin: Diagnostik und Therapie der Bronchopulmonalen Dysplasie Frühgeborener. AWMF- Leitlinien- Register, Nr. 024/014, Entwicklungsstufe: 2
7. Baier RJ, Loggins J, Kruger TE: Monocyte chemoattractant protein 1 and interleukin 8 are increased in bronchopulmonary dysplasia: relation to isolation of ureaplasma urealyticum. *J Investig Med.* 2001;49:362-369
8. Bancalari E: Corticosteroids and neonatal chronic lung disease. *Eur J Pediatr* 1998;157 Supp11:S31-37
9. Beresford MW, Shaw NJ: Detectable interleukin 10 and interleukin 8 in bronchoalveolar lavage fluid from preterm infants ventilated for respiratory distress syndrome. *Early Human Develop* 2000;58:69-76

10. Bevilacqua G, Parmigiani S: An observational study of surfactant treatment in infants of 23-30 weeks gestation: comparison of prophylaxis and early rescue. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2003;14:197-204
11. Buck C, Bundschuh J, Gallati H, Bartmann P, Pohlandt F: Interleukin-6: a sensitive parameter for the early diagnosis of neonatal bacterial infection. *Pediatrics* 1994;93:54-58
12. Bozic CR, Gerard NP, Gerard C: Receptor binding specificity and pulmonary gene expression the neutrophil-activating peptide ENA-78. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1996;14:302-308
13. Chheda S, Palkowitz KH, Garofalo R, Rassin DK, Goldman AS: Decreased interleukin-10 production by neonatal monocytes and T cells: relationship to decreased production and expression of tumor necrosis factor alpha and its receptors. *Pediatr Res* 1996;40:475-483
14. Crowley PA: Antenatal corticosteroid therapy: a meta-analysis of the randomised trials, 1972-1994. *Am Obstet Gynecol* 1995;173:322-335
15. Crowther CA, Harding J: Repeat doses of prenatal corticosteroids for women at risk of preterm birth for preventing neonatal respiratory disease. *Cochrane Database Syst Rev.* 2003;(3):CD003935
16. Dammann O, Leviton A: Maternal intrauterine infection, cytokines and brain damage in the preterm newborn. *Ped Res* 1997;42:1-8
17. Dammann O, Leviton A: Infection remote from the brain, neonatal white matter damage and cerebral palsy in the preterm infant. *Semin Ped Neurol* 1998;5:190-201
18. De Beaufort AJ, Pelikan DM, Elferink JG, Berger HM: Effect of interleukin-8 in meconium on in-vitro neutrophil chemotaxis. *Lancet* 1998;352:102-105

19. De Blic J, Midulla F, Barbato A, Clement A, Dab I, Eber E, Green C, Grigg J, Kotecha S, Kurland G, Pohunek P, Ratjen F, Rossi G: Bronchoalveolar lavage in children. ERS Task Force on bronchoalveolar lavage in children. European Respiratory Society. *Eur Respir J* 2000;15:217–231
20. De Dooy JJ, Mahieu LM, Van Bever HP: The role of inflammation in the development of chronic lung disease in neonates. *Eur J Pediatr.* 2001;160:457-463
21. Donnelly SC, Strieter RM: The association between mortality rates and decreased concentrations of interleukin-10 and interleukin-1ra in the lung fluid with acute respiratory distress syndrome. *Ann Intern Med* 1996;125:191-196
22. Donnelly SC, Strieter RM: Interleukin 8 and development of adult respiratory distress syndrome in at risk patient groups. *Lancet* 1992; 341:643-647
23. Doyle LW, Rogerson S, Chuang SL, James M, Bowman ED, Davis PG: Why do preterm infants die in 1990s? *Med J Aust* 1999;170:528-532
24. Doyle LW; Victorian Infant Collaborative Study Group: Outcome at 5 years of age of children 23 to 27 week's gestation: refining the prognosis. *Pediatrics* 2001;108:134-141
25. Doyle LW, Cheung MM, Ford GW, Olinsky A, Davis NM, Callanan C: Birth weight <1500g and respiratory health at age 14. *Arch in Child* 2001;84:40-44
26. Dunn MS, Reily MC: Approaches to the initial respiratory management of preterm neonates. *Paediatr Respir Rev.* 2003;4:2-8
27. Frank L: Pathophysiology of lung injury and repair: Special features of the immature lung; in Polin RA, Fox WW (eds): *Fetal and Neonatal Physiology*, ed 2. Philadelphia, Saunders, 1998:1175–1188

28. Fujiwara T, Chida S, Watabe Y, Maeta H, Morita T, Abe T: Artificial Surfactant Therapy in Hyaline Membrane Disease. *Lancet*. 1980;1:55-59
29. Gähler A, Stallmach T, Schwaller J, Fey MF, Tobler A: Interleukin-8 expression by fetal and neonatal pulmonary cells in hyaline membrane disease. *Pediatr Res* 2000;48:299-303
30. Giedion A, Haefliger H, Dange P : Acute pulmonary X-ray changes in hyaline membrane disease treated with artificial ventilation and positive end-expiratory pressure (PEEP). *Pediatr Radiol* 1973;1:145–152
31. Gomez R , Romero R , Ghezzi F, Yoon BH, Mazor M, Berry SM: The fetal inflammatory response syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 1998;179:194–202
32. Goodman RB, Strieter RM, Martin DP, Steinberg KP, Milberg JA, Maunder RJ, Kunkel SL, Walz A, Hudson LD, Martin TR: Inflammatory cytokines in patients with persistence of the acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med*. 1996;154:602-611
33. Gortner L: Natural surfactant for neonatal respiratory distress syndrom in very premature infants: a 1992 update. *J Perinat Med* 1992;20:409-419
34. Grier DG, Halliday HL: Corticosteroids in the prevention and management of bronchopulmonary dysplasia. *Pediatrics*. 2002;109:330-338
35. Groneck P: Perinatal glucocorticosteroid therapy: time for reconsideration. *Z Geburtshilfe Neonatol*. 2001;205:231-235
36. Groneck P: Interleukin 8 in pulmonary effluent of preterm infants. *J Pediatr* 1993;123:839-840
37. Groneck P, Speer CP: Inflammatory mediators and bronchopulmonary dysplasia. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 1995;73:F1–F3



38. Groneck P, Speer CP: Die Pathogenese der bronchopulmonalen Dysplasie. *Z.Geburtsh. Neonatol.* 1995;199:181-189.
39. Groneck P, Reuss D, Götze-Speer B, Speer CP: Effects of dexamethasone on chemotactic activity and inflammatory mediators in tracheobronchial aspirates of preterm infants at risk for chronic lung disease. *J Pediatr* 1993;122:938-844
40. Hammoud MS, Thalib L: Development of chronic lung disease in preterm infants treated with surfactant. *Pediatr Int.* 2002;44:493-449
41. Hitti J, Tarczy-Hornoch P, Murphy J, Hillier SL, Aura J, Eschenbach DA: Amniotic fluid infection, cytokines, and adverse outcome among infants at 34 weeks gestation or less. *Obstet Gyn* 2001;98:1080-1088
42. Howard M, O'Gara A: Biological properties of interleukin-10. *Immun Today.* 1992;13:198-200
43. Huang HC, Yang MY, Huang CB, Yang KD: Profiles of proinflammatory cytokines in bronchoalveolar lavage fluid from premature infants with respiratory distress syndrome. *J Microbiol Immunol Infect* 2000;33:19-24
44. Hussain S: Role of surfactant protein A in the innate host defense and autoimmunity. *Autoimmunity.* 2004;37:125-130
45. Imaizumi T, Albertine KH, Jicha DL, McIntyre TM, Prescott SM, Zimmermann GA: Human endothelial cells synthesize ENA-78: relationship to IL 8 and to signalling of PMN adhesion. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1997;17:181-192
46. Jobe AH, Ikegami: Mechanism initiating lung injury in the preterm. *Early Hum Dev.* 1998;53:81-94

47. Jones CA, Cayabyab G, Kwong KY, Stotts C, Wong B, Hamdan H, Minoo P, deLemos RA: Undetectable interleukin (IL)-10 and persistent IL-8 expression early in hyaline membrane: A possible developmental basis for the predisposition to chronic lung inflammation in preterm newborns. *Pediatric Res* 1996;39:966–975
48. Jones KP, Edwards JH, Reynolds SP, Peters TJ, Davies BH: A comparison of albumin and urea as reference markers in bronchoalveolar lavage fluid from patients with interstitial lung disease. *Eur Respir J* 1990;3:152-156
49. Kawabata K, Hagio T, Matsuoka S: The role of neutrophil elastase in acute lung injury. *Eur J Pharmacol.* 2002;451:1-10
50. Keane MP, Belperio JA, Burdick MD, Lynch JP, Fishbein MC, Strieter RM: ENA-78 is an important angiogenic factor in pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med.*2001;164:2239-2242
51. Khammesh H, Perlman M, Wojtulewicz J, Dunn M: Surfactant therapy in full term neonates with severe respiratory failure. *Pediatrics.* 1993;92:135-139
52. Kelly J: Free radicals disorders of preterm infants. *Br Med Bullet* 1993;49:668-678
53. Knoches AM, Doyle LW: Long-term outcome of infants born preterm. *Baillieres Clin Obstet Gynaecol* 1993;7:633-651
54. Kotecha S: Cytokines in chronic lung disease of prematurity. *Eur J Pediatr.*1996;155:14-27
55. Kramer BW, Speer CP: Surfactant Proteins A and D: major factors of the immune response of the lung. *Z Geburtshilfe Neonatol.* 2003;207:41-47
56. Krombach F, Fiehl E, Burkhardt D: Short term and long term effect of serial BALF in a nonhuman primate model. *Am J Respir Crit Care Med* 1994;150:153-158

57. Küster H, Weiss M, Willeitner AE, Detlefsen S, Jeremias I, Zbojan J, Geiger R: Interleukin-1 receptor antagonist and interleukin-6 for early diagnosis of neonatal sepsis 2 days before clinical manifestation. *The Lancet*. 1998;352:1271-1277
58. Kwong KY, Jones CA, Cayabyab R, Lecart C, Stotts CL, Randhawa I, Ramanathan R, Khuu N, Minoo P, deLemos RA: Differential regulation of interleukin-8 by interleukin-1beta and TNF alpha in hyaline membrane disease. *J Clin Immunol* 1998;18:71-80
59. Kwong KY, Jones CA: The effects of IL-10 on proinflammatory cytokine expression. (IL 1 $\beta$  and IL 8) in hyaline membrane disease. *Clin Immun and Immunopath*. 1998;88:105-113
60. Leon LR, Kozak W, Kluger MJ: Role of interleukin-10 in inflammation. *Annals NY Academy of Science*,1998;856:69-75
61. Martinot A, Leclerc F: Sepsis in neonates and children: Definitions, epidemiology and outcome. *Ped Emergency Care*;13:277-281
62. McColm JR , McIntosh N: Interleukin-8 in bronchoalveolar lavage samples as predictor of chronic lung disease in premature infants. *Lancet* 1994;343:729
63. McColm JR , Stenson BJ, Biermasz N, McIntosh N: Measurement of interleukin 10 in bronchoalveolar lavage from preterm ventilated infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*.2000;82:F156-159
64. Merrit TA, Cochrane CG, Holcomb K, Bohl B, Hallmann M, Stayer D, Edwards DK: Elastase and alpha1 proteinase inhibitor activity in tracheal aspirate during respiratory distress syndrome. *J Clin Invest*. 1983;72:656-666
65. Moraes TJ, Chow CW, Downey GP: Proteases and lung injury. *Crit Care Med*. 2003;31:189-194

66. Moses D, Holm BA, Spitale P, Lui M, Enhorning G: Inhibition of pulmonary surfactant function by meconium. *Am J Obstet Gynecol.* 1991;164:477-481
67. Mukaida N, Matsushima K: Regulation of IL-8 and the characteristics of the receptors for IL-8. *Cytokines* 1992; 4:41-53
68. Nelson Textbook of Pediatrics: 15. Auflage, Philadelphia, Sanders Company
69. Nui JO, Munishi UK, Siddiq MM, Parton LA: Elevation of interleukin 8 and interleukin 6 precedes the influx of neutrophils in tracheal aspirate from preterm infants who develop bronchopulmonary dysplasia. *Pediatr. Pulmonol.* 1997;24:331-336
70. Odgen BE, Murphy SA, Saunders GC, Pathak D, Johnson JD: Neonatal lung neutrophils and elastase/proteinase inhibitor imbalance. *Am Rev Respir Dis* 1984;130:817-821
71. Oei J, Lui K, Wang H, Henry R: Decreased interleukin 10 in tracheal aspirate from preterm infants developing chronic lung disease. *Acta Paediatr.* 2002;91:1194-1199
72. Pfleiderer A, Breckwoldt M, Martius G: *Gynäkologie und Geburtshilfe*, 3. Auflage 1999, Stuttgart, Thieme Verlag.
73. Plotz FB, Slutsky AS, van Vught AJ, Heijnen CJ: Ventilator induced lung injury and multiple system organ failure: a critical review of facts and hypotheses. *Intensive Care Med.* 2004;30:1865-1872
74. Ranieri VM, Suter PM, Tortorella C, De Tullio, Dayer JM, Brienza A, Bruno F, Slutsky AS: Effect of mechanical ventilation on inflammatory mediators in patients with acute respiratory distress syndrome: A randomized controlled trial. *JAMA* 1999;282:54-61
75. Reynolds HY: Bronchoalveolar lavage. State of art. *Am Rev Respir Dis.* 1987. 135:250-263

76. Rojas MA, Gonzalez A, Bancalari E, Claire N, Poole C, Silva-Neto G: Changing trends in the epidemiology and pathogenesis of neonatal chronic lung disease. *J Pediatr.* 1995;126:605-610
77. Saliba E, Marret S: Cerebral white matter damage in the preterm infant: pathophysiology and risk factors. *Semin Neonatol* 2001;6:121-133
78. Schultz C, Rott C, Temming P, Schlenke P, Möller JC, Bucskey P: Enhanced interleukin-6 and interleukin-8 synthesis in term and preterm infants. *Pediatric Res* 2002;51:317–322
79. Schultz C, Tautz J, Reiss I, Möller JC: Prolonged mechanical ventilation induces pulmonary inflammation in preterm infants. *Biol. Neonate* 2003;84:64-66
80. Shah SS, Ohlsson A, Halliday H, Shah VS: Inhaled versus systemic corticosteroids for the treatment of chronic lung disease in ventilated very low birth weight preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2003;(2):CD002057
81. Shaw NJ: Detectable interleukin10 and interleukin8 in bronchoalveolar lavage fluid from preterm infants ventilated fro respiratory distress syndrom. *Early Human Develop* 2000;58:69-76
82. Soll RF, Morley CJ: Prophylactic versus selective use of surfactant in preventing morbidity and mortality in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2001;(2):CD00510
83. Speer CP: Inflammatory mechanism in neonatal chronic lung disease. *Eur J Pediatr.*1999; 158:18-22
84. Stevens TP, Blennow M, Soll RF: Early surfactant administration with brief ventilation vs selective surfactant and continued mechanical ventilation for preterm infants with or at risk for respiratory distress syndrome. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2004;(3): CD003063

85. Sticherling M: Chemokine, wichtige Modulatoren der Entzündungsreaktion. In *Vitro* 1999; 4: 44-48
86. Stüber F, Wrigge H, Schroeder S, Wetegrove S, Zinserling J, Hoefft A, Putensen C: Kinetic and reversibility of mechanical ventilation-associated pulmonary and systemic inflammatory response in patients with acute lung injury. *Intensive Care Med* 2002;28:834–841
87. Suresh GK, Soll RF: Current surfactant use in preterm infants. *Clin Perinatol.* 2001;28:671-694
88. Suresh GK, Soll RF: Exogenous surfactant therapy in newborn infants. *Ann Acad Med Singapore.* 2000;32:335-345.
89. Takanashi S, Hasegawa Y: Interleukin-10 level in sputum is reduced in bronchial asthma and COPD. *Eur Resp J* 1999;14:309-314
90. Takasaki J, Ogawa: Interleukin 8 in tracheobronchial aspirate of infants acts neutrophil chemotactic factor in the development of chronic lung disease. *Pediatr Int.* 1999;41:78-81
91. Tegtmeier FK, Maacks S, Wood WG, Wiebecke W: Elastase alpha1 proteinase inhibitor and lactoferrin concentrations in endotracheal aspirates of ventilated newborns. *Pediatric Pulmonology.* 1992;13:90-94
92. Thiel M, Zourelidis C, Peter K: Die Rolle der polymorphkernigen neutrophilen Leukozyten in der Pathogenese des akuten Lungenversagens. *Anaesthesist.* 1996;45:113-130
93. Thome U, Götze-Speer B, Speer CP, Pohlandt F: Comparison of pulmonary inflammatory mediators in preterm infants treated with intermittent positive pressure ventilation or high frequency oscillatory ventilation. *Pediatric Research.* 1998;44:330-337

94. Tsangaris I, Lekka ME, Kitsioui E, Constantinopoulus S, Nakos G: Bronchoalveolar lavage during prolonged ventilation of patients without acute lung injury. *Eur Respir J*. 2003;21:495-501
95. Van Marter LJ, Dammann O, Allred EN, Leviton A, Pagano M, Mody M, Martin C: Chorioamnitis, mechanical ventilation, and postnatal sepsis as modulators of chronic lung disease in preterm infants. *J Pediatr*. 2002;140:17-26
96. Vigneswaran R: Infection and preterm birth:evidence of a common causal relationship with BPD and cerebral palsy. *J Ped Child Health* 2000;36:293-296
97. Von Stockhausen, Fenner A: Das Atemnotsyndrom. Pädiatrische Pneumologie. Springer-Verlag Heidelberg 1985:623-647
98. Walz A, Schmutz P, Müller C, Schnyder-Candrian S: Regulation and function of the CXC chemokine ENA-78 in monocytes and its role in disease. *Journal of Leukocyte Biology* 1997;62:604-611
99. Wang JY, Yeh TF, Lin YJ, Chen WY, Lin CH: Early postnatal dexamethason therapy may lessen lung inflammation in premature infants with respiratory distress syndrome on mechanical ventilation. *Pediatr Pulmonol*. 1997;23:193-197
100. Watterberg KL, Demers LM, Scott SM, Murphy S: Chorioamnitis and early lung inflammation in infants in whom BPD develops. *Pediatrics*. 1996;97:210-215
101. Watts CL, Bruce MC: Comparison of secretory component for immunoglobulin A with albumin as reference proteins in tracheal aspirate from preterm infants. *J Pediatr* 1995;127:113–122
102. Wauer RR: Surfactanttherapie des neonatalen Atemnotsyndroms. 3. Auflage 2004, Stuttgart, Thieme Verlag .

103. Weber B, Borkhardt A, Stoll-Becker S, Reiss I, Gortner L: Polymorphisms of surfactant protein A genes and the risk of bronchopulmonary dysplasia in preterm infants. *Turk J Pediatr.* 2000;42:181-185
104. Wiedermann FJ, Mayr AJ, Kaneider NC, Fuchs D, Mutz NJ, Schobersberger W: Alveolar granulocyte colony-stimulating factor NS alpha-chemokines in relation to serum levels, pulmonary neutrophil and severity of lung injury in ARDS. *Chest.* 2004;125:212-219
105. Wiswell TE, Tuggle JM, Turner BS: Meconium aspiration syndrome: have we made a difference? *Pediatrics* 1990;85:715-721
106. Wright JR: Host defense function of pulmonary surfactant. *Biol Neonate.* 2004;85:326-232
107. Yeh TS, Torre JA, Rastogi A, Anyebuno MA, Pildes RS: Early postnatal dexamethasone therapy in premature infants with severe respiratory distress syndrome: A double-blind, controlled study. *J Pediatr.* 1990;117:273-282
108. Yoon BH, Roberto R: A systemic fetal inflammatory response and the development of BPD. *Am J Obstet Gynecol.* 1999;181:773-779
109. Zhang H, Downey GP, Suter PM, Slutsky AS, Ranieri VM: Conventional mechanical ventilation is associated with bronchoalveolar lavage-induced activation of polymorph neutrophils leukocytes: a possible mechanism explain the systemic consequences of ventilator-induced lung injury in patients with ARDS. *Anesthesiology.* 2002;97:1426-1433



## **Publikationsliste:**

**Schultz C, Tautz J, Reiss I, Möller JC**

Prolonged mechanical ventilation induces pulmonary inflammation in preterm infants.

Biol. Neonate 2003;84:64-66

## **Danksagung:**

Meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. Möller, danke ich ganz herzlich für die interessante Themenstellung.

Bei meinem Betreuer, Dr. med. Christian Schultz, möchte ich mich ganz besonders bedanken, 1.) dafür, dass er sich mir und meiner Doktorarbeit angenommen hat, 2.) für die klare Strukturierung der gesammelten Daten und die Findung der daraus resultierenden Fragestellung, 3.) für all die Unterstützung, die Motivation, die Geduld und Ausdauer und die große Mühe und die Investition von Zeit und Interesse. Ganz ganz herzlichen und unvergesslichen Dank dafür!!!

Die biochemischen Analysen würden im Labor der Kinderklinik der Medizinischen Universität zu Lübeck durchgeführt. Für die liebevolle Unterstützung, die aufmerksame Einarbeitung und die endlose Geduld von Sabine Ziesenitz möchte ich mich mehr als herzlich bedanken.

Weiter möchte ich mich bei Dirk Cyzarz von der Medizinischen Forschung des Gemeinschaftskrankenhaus Herdecke bedanken, für die geduldige Unterstützung und Hilfe in der Auswertung und Berechnung der statistischen Daten.

Ganz besonders möchte ich mich natürlich bei meinem Vater bedanken, der mir mindestens drei mal am Tag auf die Füße getreten ist, mich immer wieder aufgefordert, ermuntert und motiviert hat, die Doktorarbeit zu einem baldigen Abschluss zu bringen. Zudem hat er mich tatkräftig in der Literaturrecherche unterstützt und ebenso hat er der gesamten Arbeit den entsprechend runden Schliff gegeben. Danke Dir!

Und zu guter Letzt, möchte ich mich bei Lena mehr als nur einmal bedanken, dafür das sie immer da gewesen ist, wenn ich einen aufmunternden und unterstützenden Ansprechpartner gesucht habe, der es genau verstanden hat, wenn ich mich mit dem „D-Wort“ gequält habe. Sie hat es immer wieder geschafft, aus eigener Erfahrung sprechend, mich erneut zu motivieren, anzuspornen, das baldige Ziel, das Interesse und den Abschluss der Doktorarbeit nicht aus den Augen zu verlieren. Ich danke dir dafür wirklich ganz besonders, wie auch für unsere besondere Freundschaft.

# LEBENS LAUF

Name/Vorname: **Tautz, Juliane**  
Adresse: Dubs-Str. 46, 8003 Zürich, Schweiz  
Tel.Nr. privat: 0041 43 333 06 28, mobil: 0041 78 857 05 17  
Email: [jtautz@hotmail.com](mailto:jtautz@hotmail.com)  
Geburtstag: 11. September 1975  
Zivilstand: ledig  
Heimatort: Zürich, Schweiz

## Beruflicher Werdegang

09.2005 – heute Ostschweizer Kinderspital St. Gallen, Schweiz  
*Assistenzärztin*  
Kinderchirurgie, Pädiatrische interdisziplinäre Notfallstation,  
Neonatologie

07.2004 - 08.2005 Regionalspital Lachen, Schweiz  
*Assistenzärztin*  
Internistische Notfallstation, Rettungsdienst, Interdisziplinäre  
Intensivstation

01.2004 - 06.2004 Gemeinschaftskrankenhaus Herdecke, Deutschland  
*Ärztin im Praktikum*  
Allgemeine Pädiatrie

## Ausbildung

11.2003 Drittes Staatsexamen

03.2003 Zweites Staatsexamen

08.1999 Erstes Staatsexamen

08.1998 Ärztliche Vorprüfung

10.1996 Studium Humanmedizin, Medizinische Hochschule Lübeck

## **Famulaturen/Praktika**

- 06.2003 – 08.2003      Praktisches Tertial in der chirurgischen Abteilung der Schleswig Holstein Klinik Eutin, Deutschland
- 04.2003 – 06.2003      Internship in der chirurgischen Abteilung des Concord Hospital, University of Sydney, Australien
- 12.2002 – 03.2003      Unterassistentin in der gynäkologischen Abteilung des Kantonsspital Winterthur, Schweiz
- 08.2002 – 11.2002      Unterassistentin in der internistischen Abteilung des Regionalspital Lachen, Schweiz
- 02.1999-07.2002      Famulaturen in den Bereichen Innere Medizin, Anästhesie, Gynäkologie, Radiologie, Hals-Nasen-Ohrenheilkunde

## **Promotionsarbeit**

„Induktion der pulmonalen Inflammation durch längerdauernde Beatmung bei Frühgeborenen“  
Durchführung der Untersuchungen: Januar 1999 bis Juli 2002

## **Auslandsaufenthalt**

- 01.1996-09.1996      Mitarbeit im „AIDS Housing Council“, Cleveland, Ohio, USA  
Mitarbeit im „sozialpsychologischen Dienst Pädiatrie“ des Metro Health Medical Center, Cleveland, Ohio, USA  
Mitarbeit im „Day Care Center für AIDS Patienten“, New York City, USA  
Mitarbeit in einer „Tagesstätte für Jugendliche“, New York City, USA

## **Schule**

1982 - 1995      Rudolf Steiner Schule, Bochum, Deutschland

## **Sprachen**

Englisch      gutes schriftliches und mündliches Verständnis  
Russisch      mündliche Verständigung, schriftlich nach Vorlage

