

**Aus der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin  
(Department) Tübingen  
Abteilung II  
(Schwerpunkte: Kinderkardiologie, Pulmologie, Intensivmedizin)  
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. M. Hofbeck**

**Die Therapie von Atelektasen mit rekombinanter humaner  
Desoxyribonuklease bei intubierten pädiatrischen Patienten**

**Inaugural - Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Zahnheilkunde**

**der Medizinischen Fakultät  
der Eberhard-Karls-Universität  
zu Tübingen**

**vorgelegt von  
Cosima Ankele  
aus Stuttgart**

**2009**

Dekan: Professor Dr. I.B. Autenrieth  
1. Berichterstatter: Professor Dr. L. Sieverding  
2. Berichterstatter: Professor Dr. R. Riessen

---

## **INHALTSVERZEICHNIS**

<b>1. Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1. Pathophysiologie von Ventilationsstörungen	1
1.1.1. Atelektasen	1
1.1.2. Pneumonien / Infiltrate	2
1.1.3. ARDS	3
1.1.4. Beeinflussung durch die HLM	4
1.2. Therapie von Ventilationsstörungen	5
1.3. Rekombinante humane Desoxyribonuklease (RhDNase)	7
1.4. Gegenstand und Ziel der vorliegenden Arbeit	9
<b>2. Methodik</b>	<b>11</b>
2.1. Zeitraum	11
2.2. Studiendesign	11
2.3. Patienten	11
2.3.1. Patientenkollektiv	11
2.3.2. Gruppe 1 (Atelektasen)	11
2.3.3. Alters- und Diagnose- gematchte Gruppe 1a	12
2.3.4. Gruppe 2 (Infiltrate)	12
2.3.5. Kontrollgruppe	12
2.4. Präparat	15
2.4.1. Nebenwirkungen	15
2.5. Primärer Zielparameter	16
2.5.1. Definitionen des primären Zielkriteriums	16
2.5.2. Radiologische Verbesserung von Atelektasen, Dystelektasen, Minderbelüftungen und Infiltraten	18
2.6. Sekundäre Zielparameter	19
2.6.1. Inflammatorische Parameter	19
2.6.1.1. C-reaktives Protein, Gesamtleukozytenzahl und Granulozytenanteil	19
2.6.1.2. DNA-Quantifizierung	19
2.6.1.3. Zytokinexpression im Trachealsekret	20

2.6.1.4. Lipopolysaccharid-Bindendes-Protein (LBP)	21
2.6.2. Beatmungsparameter	21
2.6.3. Laktat	22
2.7. Statistische Verfahren	22
<b>3. Ergebnisse</b>	<b>23</b>
3.1. Patientendaten	23
3.2. Primärer Zielparameter radiologische Verbesserung aller Patientengruppen	24
3.3. Sekundäre Zielparameter	25
3.3.1. Inflammatorische Parameter im Serum	25
3.3.2. Inflammatorische Parameter im Trachealsekret	28
3.3.3. Beatmungsparameter	30
3.3.4. Laktat	33
3.4. Vergleich der gematchten Gruppe 1 mit der Kontrollgruppe	34
3.4.1. Sekundäre Zielparameter	36
<b>4. Diskussion</b>	<b>42</b>
4.1. Diskussion der Methodik	45
4.1.1. Studiendesign	45
4.1.2. Patientenkollektiv	46
4.2. Diskussion der Ergebnisse	48
4.2.1. Primäre Zielparameter	48
4.2.2. Sekundäre Zielparameter	50
4.2.2.1. Inflammatorische Parameter	50
4.2.2.2. Beatmungsparameter	51
4.2.2.3. Laktat	52
4.3. Schlussfolgerung	53
<b>5. Zusammenfassung</b>	<b>54</b>
<b>6. Anhang</b>	<b>57</b>
<b>7. Literaturverzeichnis</b>	<b>58</b>

---

## **ABKÜRZUNGEN**

AF	= Atemfrequenz
AMV	= Atemminutenvolumen /kg Körpergewicht
ARDS	= Acute Respiratory Distress Syndrome
BAL	= Bronchoalveoläre Lavage
BGA	= Blutgasanalyse
CF	= Zystische Fibrose
CRP	= C-reaktives Protein
CBP	= Cardiopulmonaler Bypass
DNA	= Desoxyribonukleinsäure
ELISA	= Enzym-linked immunosorbent assay
FEV1	= Forciertes expiratorisches Volumen in einer Sekunde
FiO <sub>2</sub>	= Inspiratorische Sauerstoffkonzentration in %
FVC	= Forcierte Vitalkapazität
HLM	= Herz-Lungen-Maschine
IL-1 $\beta$	= Interleukin 1 $\beta$
IL-6	= Interleukin 6
IL-8	= Interleukin 8
IL-10	= Interleukin 10
IL-13	= Interleukin 13
IRDS	= Infant respiratory distress syndrome
LBP	= Lipopolysaccharid-Bindendes-Protein
MRSA	= Methicillin-resistenter Staphylococcus aureus
NaCl	= Natriumchlorid
n.v.	= Nicht vorhanden
o.B.	= Ohne Befund
pCO <sub>2</sub>	= Arterieller Kohlendioxid-Partialdruck
pO <sub>2</sub>	= Arterieller Sauerstoffpartialdruck
PEEP	= Positiver endexpiratorischer Druck
PEIT	= Pulmozyme Early Intervention Study

PIP	= Positiver Spitzendruck
RhDNase	= rekombinante humane Desoxyribonuklease = Dornase alfa = Pulmozyme ®
RSV	= Respiratory Syncytial Virus
SD	= Standardabweichung
SMA	= Spinale Muskelatrophie
SSW	= Schwangerschaftswoche
TNF- $\alpha$	= Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$

---

**ABBILDUNGSVERZEICHNIS**

Abbildung 1:	Oberlappenatelektase rechts bei einem Säugling mit RSV-Bronchiolitis	16
Abbildung 2:	Dystelektase rechtes Oberfeld	17
Abbildung 3:	Minderbelüftung einer ehemaligen Oberlappenatelektase rechts	17
Abbildung 4:	Infiltrat linkes Mittelfeld bei einem Patienten mit SMA	18
Abbildung 5:	Gel-Elektrophorese mit kb-size-marker	20
Abbildung 6:	Quantitative radiologische Verbesserung zum Ausgangsbefund unter rhDNase-Therapie (gesamte Gruppe 1)	34
Abbildung 7:	Quantitative radiologische Verbesserung zum Ausgangsbefund unter rhDNase-Therapie (Gruppe 2)	35
Abbildung 8:	Quantitative radiologische Verbesserung zum Ausgangsbefund unter rhDNase-Therapie der gematchten Gruppe 1 und der Kontrollgruppe	35
Abbildung 9:	Verlauf der Gesamt-Leukozytenzahl, Gruppe 1 vs. Kontrollgruppe	36
Abbildung 10:	Konzentration des C-reaktiven Proteins, Gruppe 1 vs. Kontrollgruppe	37
Abbildung 11:	Granulozytenanteil, Gruppe 1 vs. Kontrollgruppe	38
Abbildung 12:	FiO <sub>2</sub> -Bedarf, Gruppe 1 vs. Kontrollgruppe	39
Abbildung 13:	PIP-Verlauf, Gruppe 1 vs. Kontrollgruppe	39
Abbildung 14:	PEEP-Bedarf, Gruppe 1 vs. Kontrollgruppe	40
Abbildung 15:	AMV-Verlauf, Gruppe 1 vs. Kontrollgruppe	41
Abbildung 16:	Verlauf der Laktat-Konzentration, Gruppe 1 vs. Kontrollgruppe	41

**TABELLENVERZEICHNIS**

Tabelle 1:	Quantitativer radiologischer Verlauf der Ereignisse unter rhDNase-Therapie	25
Tabelle 2:	Inflammatorische Parameter im Serum unter rhDNase-Therapie	27
Tabelle 3:	Inflammatorische Parameter im Trachealsekret	29
Tabelle 4:	Verlauf der Beatmungsparameter unter rhDNase-Therapie	32
Tabelle 5:	Verlauf der Laktat-Konzentration unter rhDNase-Therapie	33



## **1. Einleitung**

### **1.1. Pathophysiologie von Ventilationsstörungen**

Vor allem im postoperativen Verlauf von Operationen, aber auch bei mechanischer Ventilationsnotwendigkeit anderer Genese, kommt es häufig zu Lungenfunktionsstörungen. Pulmonale Komplikationen gehören zu den häufigsten Ursachen für Morbidität und Mortalität zum Beispiel nach Herzoperationen [37,38]. Die Vielfalt dieser Lungenfunktionsstörungen ist groß und reicht von Veränderungen wie Atelektasen (1.1.1), Pneumonien / Infiltraten (1.1.2) bis zum Acute Respiratory Distress Syndrom - ARDS (1.1.3).

#### **1.1.1. Atelektasen**

Für die Entstehung einer Atelektase sind mehrere Faktoren verantwortlich. Aufgrund der mechanischen Ventilation der Patienten werden die natürlichen Mechanismen der Atemphysiologie und die mukoziliäre Clearance durch proinflammatorische Mechanismen erheblich gestört. Hinzu kommt, daß die Patienten häufig mit Diuretika therapiert werden und unter der resultierenden Flüssigkeitsrestriktion die mukoziliäre Clearance weiter abnimmt. In der Folge kommt es zu einer Eindickung des Trachealsekretes und zu einem Sekretverhalt. Dies begünstigt rezidivierende Infektionen und beeinträchtigt die Lungenfunktion [41].

Atelektasen sind gekennzeichnet durch eine mangelhafte oder fehlende Entfaltung der Lungenalveolen. Die Wände der kollabierten Alveolen liegen einander an. Atelektasen kann man in Resorptions- oder Obturationsatelektasen und Kompressionsatelektasen unterteilen. Die Resorptions- beziehungsweise Obturationsatelektase entsteht in Folge einer chronischen Verlegung der Bronchien durch angesammelten Schleim. Es kommt zu einer Resorption der in den Alveolen enthaltenen Luft, und die Lunge kollabiert (zum Beispiel bei Bronchitis, Zystischer Fibrose).

Die Kompressionsatelektase hingegen ist Folge eines von außen wirkenden Druckes, der zum Beispiel durch Ergüsse, Tumoren, Lungenzysten, starke Herzvergrößerung, Zwerchfellhochstand oder Pneumothorax hervorgerufen werden kann.

Die als Atelektase beschriebene auftretende pulmonale Komplikation nach chirurgischen Eingriffen wird in der Literatur häufig erwähnt [31,39,72,94,109]. In ihrer Untersuchung fanden Rivera et al. bei 8%, Thomas et al. sogar bei 15% der mechanisch ventilierten Kinder eine Atelektase [80,103].

### **1.1.2. Pneumonien / Infiltrate**

Für das erhöhte Vorkommen von Pneumonien bei intubierten und beatmeten Patienten werden unter anderem Faktoren wie die bei der künstlichen Beatmung notwendige Umgehung der physiologischen Schutzfunktion des oberen Respirationstraktes, die pathologischen intrapulmonalen Druckverhältnisse und die Notwendigkeit einer künstlichen Atemgaskonditionierung verantwortlich gemacht [33,76]. Pneumonien sind entzündliche Erkrankungen des Lungenparenchyms, die durch bakterielle Infektionen, Viren, Pilze und Protozoen ausgelöst werden. Bei mehr als 75 % der Patienten entwickelt sich während einer Langzeitbeatmung eine Pneumonie [11,33,62].

Das Keimspektrum beatmungsassoziierter Pneumonien ist sehr breit. Als häufigste Erreger werden grampositive Keime wie *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenza*, gramnegative *Enterobacteriaceae* sowie potenziell multiresistente grampositive und gramnegative Keime (*Staphylococcus aureus* (MRSA), *Pseudomonas aeruginosa*) nachgewiesen [76]. Die Letalität von Patienten mit einer nosokomialen Pneumonie liegt bei 30-50 %. Eine Reihe von prognostischen Faktoren wie höheres Lebensalter, Schwere der Grunderkrankung, beidseitige Infiltrate, Dauer der Intubation und Beatmung und Vorliegen eines septischen Schocks sind gesichert [25].

Eine tragende Rolle bei der Entstehung entzündlicher Erkrankungen (bakteriell, viral, etc.) der Lunge spielen inflammatorische Zytokine, die als intra- und extrazelluläre Signalstoffe bei der Entzündungskaskade mitwirken. Zytokine sind niedermolekulare Proteine, die von verschiedenen Zellen sezerniert werden. In der Lunge werden sie vor allem von Makrophagen gebildet, aber auch Epithel-, Endothelzellen und Fibroblasten sind zur Produktion von Zytokinen in der Lage. Durch die Eigenschaft von Zytokinen, die Synthese weiterer Zytokine zu induzieren, entsteht eine inflammatorische Kaskade, durch die die Entzündungsreaktion zusätzlich verstärkt wird [32]. Pro- und anti-inflammatorische Zytokine werden im weiteren Verlauf der Entzündung gebildet [61]. Mitentscheidend für den Entzündungsverlauf und somit auch für die Entstehung postoperativer Komplikationen ist die Konzentrationsänderung der Zytokine im menschlichen Organismus [9,14]. Die Gegenregulation der Entzündung erfolgt durch die anti-inflammatorischen Zytokine IL-10 und IL-13, die die Produktion von TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  und IL-6 hemmen.

### **1.1.3. ARDS**

Anhand der oben erwähnten Erkenntnisse konnte außerdem gezeigt werden, daß Patienten, die nach kardiochirurgischen Eingriffen ein ARDS entwickeln, im Plasma deutlich höhere Werte von IL-6 und IL-8 aufweisen als Patienten ohne diese Symptomatik. Den Zytokinen IL-6 und IL-8 werden daher eine entscheidende Rolle bei der Entstehung des ARDS zugeschrieben [3,45,46,55]. Die Inzidenz des ARDS nach kardiochirurgischen Eingriffen liegt ungefähr bei 1,7-2,5 % [47].

Häufig ist eine Abgrenzung des ARDS zur Pneumonie nur schwer möglich, da sich die klinischen Befunde gleichen und ein fließender Übergang zwischen beiden Krankheitsbildern bestehen kann.

#### **1.1.4. Beeinflussung durch die HLM**

Ein Grossteil unserer Patienten wurde kardiochirurgisch therapiert. Der Einsatz der Herz-Lungen-Maschine (HLM) bei kardiochirurgischen Operationen führt im Wesentlichen zu zwei für pulmonale Komplikationen pathophysiologisch relevanten Folgen:

a. Die HLM bedingt während, direkt nach, sowie auch im weiteren postoperativen Verlauf aufgrund der extrakorporalen Zirkulation, signifikante Veränderungen verschiedener Entzündungsmediatoren, wie beispielsweise der pro- und antiinflammatorischen Zytokine [3,45,55,101]. Verfolgt man den Verlauf der Zytokinkonzentration vor, während und nach dem operativen Eingriff, so kann anhand verschiedener Studien ein deutlicher Anstieg von IL-6, IL-8, IL-10 und TNF- $\alpha$  gezeigt werden [3,45,55]. Insbesondere nach Beendigung des kardio-pulmonalen Bypasses ist ein deutlicher Konzentrationsanstieg zu beobachten, der sein Maximum nach ungefähr 2-4 Stunden erreicht [3,27,29,45,46,55,85,101]. Diese Höchstwerte sinken im weiteren Verlauf ab und sind schon am ersten postoperativen Tag wieder deutlich vermindert. Verschiedene Studien beschreiben eine positive Korrelation von IL-6 und IL-8 mit der Zeitdauer der extrakorporalen Zirkulation, die hingegen bei IL-1 $\beta$ , IL-2 und TNF- $\alpha$  nicht zu erkennen war [45,85,107].

b. Die maschinelle Beatmung verändert auch die alveoläre Ventilation und pulmonal-arterielle Durchblutung, in dem die Alveolen unphysiologisch überdehnt werden, dadurch die Totraumventilation zunimmt, die pulmonale Compliance abnimmt, Flüssigkeit retiniert wird und eine mangelhafte arterielle Perfusion resultiert. Dieser Effekt bewirkt eine erhöhte Totraumventilation mit erhöhten intrapulmonalen Shunts. Daraus resultieren direkte Schädigungen des Lungenparenchyms mit Rupturen des Gewebes mit den bekannten klinischen Symptomen des Pneumothorax oder des Pneumomediastinum [52]. In Folge von Ventilationsstörungen kommt es zu einer Schädigung des Lungenparenchyms.

Die daraus resultierende stark verminderte Oxygenierung und der deutlich reduzierte alveoläre Gasaustausch machen eine respiratorische Therapie zwingend notwendig. Die Umgehung der natürlichen Atemphysiologie durch die maschinelle Beatmung bedingt im weiteren eine eingeschränkte mukoziliäre Clearance. Die Hauptursache ist ein unphysiologisch hoher Beatmungsdruck, der den venösen Rücktransport stört und zu einer mangelhaften kardialen Füllung und mangelhaftem Auswurf führt. Dies wiederum bedingt eine Veränderung des peripheren Widerstandes, arterielle Hypotension, Oligurie und Flüssigkeitsretention, die allesamt auf die pulmonale Situation einwirken und den Sauerstofftransport beeinflussen. Ein medikamentöses Einwirken mit Optimierung der kardialen, intravasalen und diuretischen Parameter sind nachfolgend unabdingbar [52].

## **1.2. Therapie von Ventilationsstörungen**

Das Behandlungskonzept von pulmonalen Störungen umfaßt die Respiratortherapie mit PIP (peak inspiratory pressure) und PEEP (positive end-expiratory pressure), die Behandlung durch Physio- und Lagerungstherapie, die Sekretolyse, sowie die Bronchialtoilette und therapeutische Bronchoalveoläre Lavage (BAL).

Die druckkontrollierte Beatmung mit PEEP kommt bei Patienten mit ARDS bereits als Standardtherapie zur Verbesserung der Oxygenierung zum Einsatz [56,87]. Positiver end-expiratorischer Druck bedeutet, daß am Ende der Ausatemungsphase ein positiver Druck in den Alveolen bestehen bleibt. Das heißt, der Druck wird auf einem bestimmten Niveau gehalten und sinkt nicht auf Null. Dadurch werden die Alveolen offen gehalten und ventiliert, die bereits kollabiert waren oder dazu neigen atelektatisch zu werden.

Nachteilig sind die unerwünschten Wirkungen einer Behandlung mit zu hohem PEEP, die auftreten können. Es kann dabei zu einer Abnahme des Herzzeitvolumens kommen, da durch den intrathorakalen Druckanstieg eine Verminderung des venösen Rückstromes verursacht wird. Außerdem kann es durch mögliche Überblähung ventilierter Lungenabschnitte zu einem Barotrauma mit Abnahme der zunächst verbesserten Lungen-Compliance kommen [20,26,108]. Eine Verbesserung der Oxygenierung kann außerdem auch durch eine entsprechende Lagerung des Patienten herbeigeführt werden. Ein Wechsel des Patienten von Seiten- zu Bauchlagerung hilft, den Gasaustausch der Lunge zu verbessern, was insbesondere bei Patienten mit ARDS durch mehrere Studien belegt werden konnte [21,28,65]. Der Lagewechsel führt zu einer Sekretmobilisation und somit zur Verbesserung der Ventilations- und Perfusionsverhältnisse.

Auch die Atemphysiotherapie wird als wichtige supportive Maßnahme bei der Behandlung von Lungenwegsobstruktionen eingesetzt. Durch Sekret fördernde Atemphysiotherapie (Abklopfdrainage, autogene Drainage, Vibrationen), sollen die Folgen der Sekretobstruktion wie Überblähung, Atelektasenbildung, ventilatorische Verteilungsstörung, Ventilations-Perfusions-Inbalance sowie eine erhöhte Atemarbeit verhindert, beziehungsweise beseitigt werden [59]. Nicht wegzudenken ist die Atemphysiotherapie außerdem aus der Therapie der Zystischen Fibrose. Hier hat sie sich zu einem therapeutischen Grundpfeiler entwickelt, da durch sie die zähen Schleimmassen konsequent aus den Atemwegen entfernt werden können. Eine alleinige Sekretolyse wäre nutzlos, erst durch die Eliminierung des Bakteriennährbodens wird eine Senkung der Inflammation herbeigeführt [19,54].

Ein sehr hoher Stellenwert im Rahmen des Therapiekonzeptes von maschinell beatmeten Patienten kommt der Bronchialtoilette zu. Sie dient der mechanischen Säuberung der Atemwege. Das in den Bronchien angesammelte Sekret muß durch Absaugen entfernt werden.

Hierdurch soll die Bildung von Atelektasen und Infektionen vermieden und eine partielle oder vollständige Verlegung der Atemwege verhindert werden, die den pulmonalen Gasaustausch verschlechtert. Das endotracheale Absaugen des intubierten und beatmeten Patienten ist eine generell sehr häufig durchgeführte Tätigkeit. Bei pädiatrischen Patienten wird sie in der Regel alle 3-6 h durchgeführt, bei adulten Patienten nur bei offensichtlicher Schleimretention.

In einigen Fällen wird zu therapeutischen Zwecken auch eine bronchoalveoläre Lavage (BAL) angewendet. Hierunter versteht man die therapeutische Spülung der Bronchien mit physiologischer Kochsalzlösung durch ein eingeführtes Bronchoskop. Bei Patienten deren bronchiale Selbstreinigungsmechanismen durch die künstliche Beatmung gestört sind wird die BAL auch unter Zusatz von Sekretolytika durchgeführt, um das angereicherte Bronchialsekret effizienter aus dem Bronchialsystem entfernen zu können.

Erst seit Kurzem wird bei der Behandlung von beatmungsassoziierten Komplikationen mit Sekretverhalt die bereits aus der Therapie der Zystischen Fibrose bekannte rekombinante humane DNase als mukolytisch wirkendes Medikament eingesetzt. Es bewirkt, wie auch andere Mukolytika (beispielsweise Acetylcystein) eine Viskositätsminderung mit verbundener Verbesserung der Fließeigenschaften des Trachealsekretes und daraus resultierender verbesserter Belüftung der Lungenabschnitte [7,41,77].

### **1.3. Rekombinante humane Desoxyribonuklease (RhDNase)**

Rekombinante humane DNase (Dornase alfa, Pulmozyme ®) ist ein extrazelluläres Enzym, das im Pankreas und in den Speicheldrüsen gebildet wird. Eine bovine pankreatische Desoxyribonuklease (DNase) I wurde bereits 1958 in den USA für die Anwendung am Menschen zugelassen, nachdem in unkontrollierten klinischen Studien bei Patienten mit Infektionen der Atemwege die Wirksamkeit zur Reduktion der Sputumviskosität nachgewiesen werden konnte [23,53,87,97,99].

Die Substanz wurde jedoch aufgrund unerwünschter Nebenwirkungen, die auf die Kontamination mit nicht humanen Proteinen zurückgeführt wurden, wieder vom Markt genommen [70,99]. 1988 wurde rekombinante humane DNase von Shak et al. kloniert und sequenziert und ihre Wirkung in vitro nachgewiesen [93].

Die Wirkung von rhDNase basiert auf der Fragmentierung von extrazellulären DNA-Molekülen [15,16,36,49,81] abgestorbener Leukozyten im Trachealsekret und verbessert so dessen Fließeigenschaften. Die Entzündung wird besonders durch kontinuierliches Einwandern neutrophiler Granulozyten unterhalten. RhDNase hydrolysiert die DNA aus dem purulenten Zelldebris abgestorbener neutrophiler Granulozyten im Trachealsekret und verbessert so die Fließeigenschaften (Rheologie) aufgrund der Konsistenzveränderung des Sekretes, was den Abtransport aus der Lunge erleichtert. Kooperative Patienten können ihr Sekret leichter abhusten [15,16,48,90]. Bei sedierten Patienten unter kontrollierter Beatmung ist eine bessere Bronchialtoilette möglich.

RhDNase (Dornase alfa) wird seit gut zehn Jahren bei Patienten mit Mukoviszidose inhalativ angewendet [2,30,40,63,91,92]. Bei den betroffenen Patienten kommt es in Folge eines Chlorionen-Kanaldefektes zu einer Störung des Chlorionentransportes aus den Zellen, zu einer gesteigerten Natriumionenabsorption und einem gesteigerten transzellulären Wassertransport. Dies führt zu einem Flüssigkeitsverlust, zu einer erhöhten Viskosität des Sekrets sowie zu einem Sekretverhalt in den Bronchiolen. Die Retention des zähen Sekretes begünstigt die endobronchiale Inflammation und bakterielle Infektion mit den für die Zystische Fibrose typischen Keimen (zum Beispiel *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, und *Pseudomonas aeruginosa*).

Eine umfangreiche Phase III-Studie, sowie klinische Studien [2,40,69,95], haben einen positiven Effekt von rhDNase auf die rheologischen Eigenschaften der Sputen von CF-Patienten mit der Folge einer Verbesserung der Lungenfunktionsparameter (FVC, FEV<sub>1</sub>) zeigen können [1,13,51,89].



Mit der PEIT- Studie [104] und anderen Untersuchungen ist darüber hinaus gezeigt worden, daß rhDNase die pulmonale Infektionsrate verringert [30].

Inzwischen wurde die positive Wirkung von rhDNase auch bei anderen Erkrankungen mit Sekretverhalt [84], wie zum Beispiel beim Status asthmaticus [22], bei Bronchiektasien [60,111], bei Atelektasen [7,22,105,106], Karthagener-Syndrom [18], bei chronischer Bronchitis [65] sowie bronchopulmonaler Dysplasie bei Frühgeborenen [74] nachgewiesen.

In den bisherigen Anwendungen hat sich rhDNase als gut verträglich erwiesen. In keinem Fall kam es zu lebensbedrohlichen Komplikationen. Als häufigste Nebenwirkung trat in den Mukoviszidosestudien eine passagere Reizung der oberen Atemwege mit Heiserkeit auf (Laryngitis, Pharyngitis) [2,40], die sich unter Fortführung der Therapie jedoch zurück bildete oder nach Absetzen des Präparates innerhalb weniger Tage verschwand. Anzunehmen ist eine lokale Reizung der Schleimhaut möglicherweise durch den Trägerstoff, die sich nach Weiterführen der Therapie spontan verbessert.

#### **1.4. Gegenstand und Ziel der vorliegenden Arbeit**

Primäres Ziel der vorliegenden Arbeit war die radiologische Verifizierung eines möglichen Behandlungseffektes von rhDNase nach 24 Stunden bei maschinell beatmeten Kindern. Sekundäre Ziele waren Einflüsse auf die Inflammation sowohl im Serum als auch im Trachealsekret and Einflüsse auf Beatmungsparameter.

Über einen erfolgreichen Einsatz bei maschinell beatmeten pädiatrischen Patienten, die mit rhDNase therapiert wurden, gibt es bisher nur wenige Berichte [7,58,74,78]. Im Rahmen einer placebo-kontrollierten Studie (rhDNase vs. NaCl 0,9%) zur Prophylaxe von beatmungsassoziierten Komplikationen bei intubierten kardiochirurgischen Kindern, die dieser Untersuchung vorausgegangen ist, konnte bereits eine deutliche Reduzierung der Atelektasenbildung gezeigt werden.

Riethmüller et al. konnten in dieser Studie signifikante Unterschiede zugunsten der Verumgruppe nachweisen und fanden 17 Atelektasen (vs. 6 unter rhDNase) bei 50 placebo-behandelten Kindern, wovon 10 (59%) Atelektasen unter konservativer Therapie am Folgetag noch nicht wesentlich verändert waren. Auch bei der stationären Aufenthaltsdauer (im Mittel 10,5 vs. 7,8 Intensivtage) sowie bei der Beatmungsdauer (im Mittel 3,67 vs. 2,77 Tage) bestätigten sich diese Unterschiede [78].

Diese kontrollierte Studie gab Anlaß zu der Hoffnung, daß eine Therapie mit rhDNase beim Auftreten von Atelektasen unter mechanischer Ventilation erfolgversprechend sein könnte. Nachfolgend wurden auftretende Atelektasen im Sinne eines Behandlungsversuches mit rhDNase therapiert, alle begleitenden therapeutischen Maßnahmen dokumentiert und der Effekt radiologisch überprüft.

Im Rahmen dieser Pilotstudie sollte überprüft werden, ob sich die bisherigen positiven Beobachtungen auch bei Beatmungskomplikationen (Atelektasen) pädiatrischer Patienten nachvollziehen lassen.

## **2. Methodik**

### **2.1. Zeitraum**

Die Daten der Pilotstudie, im Sinne eines erstmaligen Einsatzes zur gezielten Therapie von Atelektasen, wurden im Zeitraum von Juli 2001 bis Januar 2004 erhoben, die der Kontrollgruppe von Juli 2000 bis Dezember 2002.

### **2.2. Studiendesign**

Bei der hier vorliegenden Pilotstudie handelt es sich um eine prospektive, nicht-kontrollierte Anwendungsbeobachtung, die in der Abteilung Kinderheilkunde II der Universitäts-Kinderklinik Tübingen bei maschinell beatmeten und nicht maschinell beatmeten Kindern durchgeführt wurde.

Die Kontrollgruppe wurde in einer dieser Pilotstudie vorausgehenden prospektiven, randomisierten, placebo-kontrollierten Doppelblind-Studie ermittelt, die in der Abteilung Kinderheilkunde II der Universitäts-Kinderklinik Tübingen bei Patienten der Kinderkardiologie durchgeführt wurde.

### **2.3. Patienten**

#### **2.3.1. *Patientenkollektiv***

In die Pilotstudie wurden insgesamt 46 intensiv-therapeutisch betreute pädiatrische Patienten im Alter von 0 bis 16 Jahren aufgenommen. Darunter befanden sich 30 kardiochirurgische und 16 allgemeinpädiatrische Patienten. Es wurde prinzipiell keine Patientenselektion vorgenommen.

#### **2.3.2. *Gruppe 1 (Atelektasen)***

Die Patientengruppe 1 (Belüftungsstörungen) unserer Untersuchung bestand aus insgesamt 35 pädiatrischen Patienten. Der Altersmedian dieser Patientengruppe lag zum Untersuchungszeitpunkt bei 0,48 Jahren, das Minimum betrug 22 Tage, das maximale Alter lag bei 16,4 Jahren.

Um die Ergebnisse der Gruppe 1 mit denen der historischen Kontrollgruppe (siehe 2.3.1.4) vergleichen zu können, wurden nur Patienten mit einem Alter bis zu 2,3 Jahren, analog der historischen Kontrollgruppe, und Patienten nach durchgeführter Herzoperation verwendet und als Gruppe 1 a deklariert (siehe 2.3.1.2).

### **2.3.3. Alters- und Diagnose- gematchte Gruppe 1a**

Zum Vergleich mit der Kontrollgruppe (siehe unten) wurden die Patienten der Gruppe 1 dem Alter und der Diagnose der Kontrollgruppe angeglichen (=gematchte Gruppe 1a). Es fanden sich in der gematchten Gruppe 1a insgesamt 21 Patienten mit ausschließlich kardiochirurgischen Eingriffen. Der Altersmedian dieser Patientengruppe lag bei 0,32 Jahren, das minimale Alter war 15 Tage, das Maximum lag bei 1,65 Jahren.

### **2.3.4. Gruppe 2 (Infiltrate)**

Da Infiltrate oder Pneumonien von Belüftungsstörungen abzugrenzen sind, wurde die Gruppe 2 (Infiltrate) definiert. Sie setzte sich aus insgesamt 11 pädiatrischen Patienten zusammen. Hier betrug der Altersmedian 1,74 Jahre, das Minimum lag bei 27 Tagen, das Maximum bei 14,6 Jahren. Gruppe 2 setzte sich aus drei weiblichen und acht männlichen pädiatrischen Patienten zusammen.

### **2.3.5. Kontrollgruppe**

Die Kontrollgruppe wurde in einer dieser Pilotstudie vorausgehenden Studie ermittelt. Das Kollektiv der Patienten setzte sich aus 17 von 50 postoperativen Patienten der Kinderkardiologie mit und ohne Herz-Lungen-Maschinen-Einsatz im Alter von 0 bis 2 Jahren zusammen, die eine Atelektase entwickelten und die in einem medikamentösen Behandlungsarm mit Placebo behandelt wurden.

Auch hier wurde prinzipiell keine Patientenselektion vorgenommen, lediglich Patienten, bei denen eine Früh-Extubation (innerhalb von 24 Stunden) angestrebt wurde, wurden nicht rekrutiert.

In dieser Studie wurde rhDNase (= Verum) mit NaCl 0,9% (= Placebo) verglichen. Das Präparat wurde unmittelbar postoperativ bis zum Zeitpunkt der Extubation angewandt. Die Durchführung der Studie beeinflusste nicht die übliche Grundbehandlung der intensivpflichtigen pädiatrischen Patienten. Das primäre Ziel dieser Studie war die Untersuchung des Effekts von rhDNase auf die postoperative Beatmungsdauer bei flüssigkeitsrestriktiv therapierten kinderkardiologischen Patienten mit und ohne Herz-Lungen-Maschinen-Operation, mit Feststellung der Reintubationshäufigkeit, der pulmonalen Infektionshäufigkeit sowie deren Komplikationen (Dystelektasen / Atelektasen).

Klinische und laborchemische Parameter der beiden Behandlungsgruppen (rhDNase und NaCl 0,9%) wurden miteinander verglichen. Das Auftreten von Atelektasen / Dystelektasen und notwendiger Reintubation, die Dauer der mechanischen Ventilation, der Wirkungsnachweis des Präparates durch DNA-Quantifizierung und- Qualifizierung und die entstehenden pulmonalen Infektionen sowie deren Nachweis durch radiologische / bronchoskopische Befunde und infektiologische Parameter (CRP, Interleukine, Leukozyten, Differenzial-Blutbild).

Die Einschlußkriterien für Patienten zur Aufnahme in die Studie waren:

1. alle Patienten mußten postoperativ intubiert und kinderkardiologisch mit und ohne HLM-Operation behandelt sein
2. die schriftliche Einverständniserklärung der Eltern mußte vorliegen
3. der Patient durfte an keiner zweiten gleichzeitig durchzuführenden Studie teilnehmen.

Die Ausschlußkriterien waren:

1. es durfte keine Frühgeburt (< 38. SSW) vorliegen
2. es durfte keine primäre Lungenfehlbildung vorliegen
3. es durfte keine klinische Vorschädigung des Patienten (zum Beispiel cerebrale Blutung, Hirnfehlbildung) vorliegen.

Die Abbruchkriterien für den einzelnen Patienten waren:

1. Pneumothorax
2. Hämoptysis nach Gabe von rhDNase
3. Re-Operation
4. eine notwendige Surfactant-Therapie während der Prüfung.

Der Abbruch der gesamten Studie war bei Auftreten von ernsthaften Nebenwirkungen unter Einsatz des Verum-Präparates, das heißt zweimalig Hämoptysis und /oder zweimalig Pneumothoraces vorgesehen.

Die Dosierung des Verum/Placebo-Präparates erfolgte nach Randomisierungsliste und Verblindung und betrug zweimal täglich 0,2 mg/kg KG bei Patienten < 5 kg und zweimal täglich 0,1 mg/kg KG bei Patienten > 5 kg, maximal jedoch 2,5 mg/die.

Die Applikation erfolgt alle 12 Stunden über den liegenden endotrachealen Tubus via Spritzenapplikation, integriert in den üblichen 3-stündlichen Turnus der Bronchialtoilette. Die medikamentöse Begleitbehandlung erfolgte unverändert und unabhängig von der Studienpräparatapplikation.

Dies betraf sowohl den präoperativen als auch den postoperativen Verlauf. Insbesondere wurden Medikamente, die möglicherweise die Lungenfunktion positiv beeinflussen konnten, beibehalten (zum Beispiel Theophyllin, Acetylcystein, Ambroxol).

## **2.4. Präparat**

Die Dosierung für die Applikation von Dornase alfa bei Atelektasen betrug zweimal täglich 0,1 mg/kg KG oder maximal zweimal 1,25 mg/Tag. Die höhere Dosierung mit 0,2 mg/kg KG aus der Studie der Kontrollgruppe wurde nach Beendigung der Studie als nicht notwendig verworfen. Die Gabe erfolgte bei intubierten Patienten über den liegenden endotrachealen Tubus via Spritzenapplikation.

Das in der Wirkung zu prüfende Medikament (Dornase alfa = rhDNase, Hoffmann-LaRoche) ist zur Behandlung der Zystischen Fibrose bereits zugelassen und in seiner Wirkung bestätigt worden. Die zu erwartende Wirkung des Präparates bei beatmeten Patienten besteht in der Spaltung von DNA und damit in der Zerkleinerung von abgestorbenen Zellkernen von Granulozyten, die vor allem in purulenten Lungensekreten vorkommen. Falls keine Leukozyten im Lungensekret vorliegen, ist davon auszugehen, daß das Präparat (hydrophil in NaCl gelöst) dieselbe Wirkung auf die Sekretolyse im Bronchialbaum wie NaCl 0,9% hat, welches regelmäßig zur Bronchialtoilette in der Routinetherapie angewendet wird. Falls das Präparat wirkungslos bleiben sollte, liegt keine Therapieunterlassung vor, da die Wirkung mindestens der üblichen NaCl-Applikation in den Bronchialbaum gleichgesetzt werden kann.

### **2.4.1. Nebenwirkungen**

Ernsthafte und das Leben bedrohende Nebenwirkungen sind bisher nicht beobachtet worden, weder im Rahmen der zugelassenen Anwendung als inhalative Therapie bei Zystischer Fibrose, noch im Rahmen der abgeschlossenen Studie bei beatmeten Kindern.

Bei inhalativer Therapie wurden reversible Schleimhautreizungen bis hin zur passageren Aphonie beobachtet, die entweder unter Fortführung der Therapie regredient waren oder nach Absetzen des Präparates innerhalb weniger Tage verschwanden.

Die Wirksubstanz des Präparates ist nicht in der Lage, lebendes und intaktes Gewebe anzugreifen, so daß nicht von begleitenden Nebenwirkungen und Komplikationen wie Pneumothorax oder Hämoptysis auszugehen ist.

## 2.5. Primärer Zielparameter

Das primäre klinische Ziel dieser Pilotstudie war der Nachweis, ob durch die Applikation von rhDNase bei intubierten und beatmeten pädiatrischen Patienten in der postoperativen Beatmungsphase eine verifizierte radiologische Verbesserung von Belüftungsstörungen (Gruppe 1) und Infiltraten (Gruppe 2) herbeigeführt werden kann.

### 2.5.1. Definitionen des primären Zielkriteriums

#### Atelektase

Unter einer Atelektase versteht man nicht-belüftete und kollabierte Abschnitte von Lungenparenchym. Radiologisch stellt sie sich als subtotale oder totale Verschattung eines oder mehrerer Lungensegmente oder eines oder mehrerer Lungenlappen dar.



Abbildung 1:

Oberlappenatelektase rechts bei einem Säugling mit RSV-Bronchiolitis.

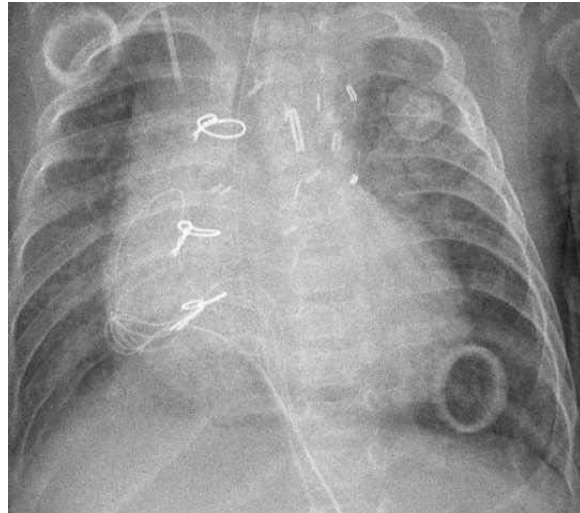


### **Dystelektase**

Die Dystelektase ist definiert als verminderte Belüftung von Lungenabschnitten als Vorstufe einer Atelektase.

Abbildung 2:

Dystelektase rechtes Oberfeld.



### **Minderbelüftung**

Eine Minderbelüftung ist die graduelle Abschwächung einer Dystelektase, „Rest-Dystelektase“



Abbildung 3:

Minderbelüftung einer ehemaligen Oberlappenatelektase rechts, gesamte Lunge mit beginnendem ARDS (ubiquitäre „fleckige“ Verschattung).

### **Infiltrat (klinische Pneumonie)**

Liegt eine raumfordernde, subtotale oder totale Verschattung eines oder mehrerer Lungenlappen vor, so spricht man von einem Infiltrat (klinische Pneumonie).

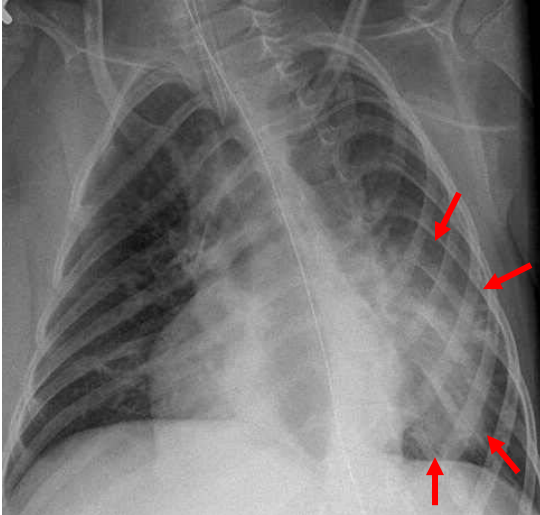


Abbildung 4:

Infiltrat linkes Mittelfeld bei einem Patienten mit SMA (Skoliose),  
klinisch: Fieber und CRP-Erhöhung.

#### ***2.5.2. Radiologische Verbesserung von Atelektasen, Dystelektasen, Minderbelüftungen und Infiltraten***

Die radiologische Verbesserung von Belüftungsstörungen und Infiltraten wurde von einem erfahrenen und langjährig tätigen Radiologen qualifiziert und bewertet (Referenzradiologe Dr. med. Jakob Wiskirchen).

Die radiologische Verbesserung einer Atelektase zu einer Dystelektase wird mit einem Therapieerfolg von 50% bewertet und dokumentiert, die radiologische Verbesserung einer Atelektase zu einer Minderbelüftung wird mit 75%, die einer Dystelektase zu einer Minderbelüftung mit 25%, die einer Minderbelüftung zu einem Normalbefund ebenfalls mit 25% und das vollständige Verschwinden einer Atelektase mit 100% Therapieerfolg bewertet. Infiltrate beziehungsweise Pneumonien müssen gesondert beobachtet und verifiziert werden.

## 2.6. Sekundäre Zielparameter

### 2.6.1. *Inflammatorische Parameter*

Um eine Bestimmung der inflammatorischen Parameter durchführen zu können erfolgte bei allen Patienten täglich die Entnahme von Blut.

Für die laborchemische Analyse des Trachealsekretes wurde den Patienten einmal vor Beginn der rhDNase-Therapie und zweimal während der rhDNase-Therapie Trachealsekret entnommen. Die sterile Entnahme des Trachealsekretes erfolgte morgendlich unmittelbar vor Applikation der rhDNase mittels Absaugschlauch. Die entnommenen Sekret-Proben wurden bis zu ihrer weiteren Verarbeitung bei -20°C tiefgefroren und gelagert. Anhand dieser Sekret-Proben konnte dann eine DNA-Quantifizierung, sowie eine Zytokinbestimmung vorgenommen werden.

#### 2.6.1.1. *C-reaktives Protein, Gesamtleukozytenzahl und Granulozytenanteil*

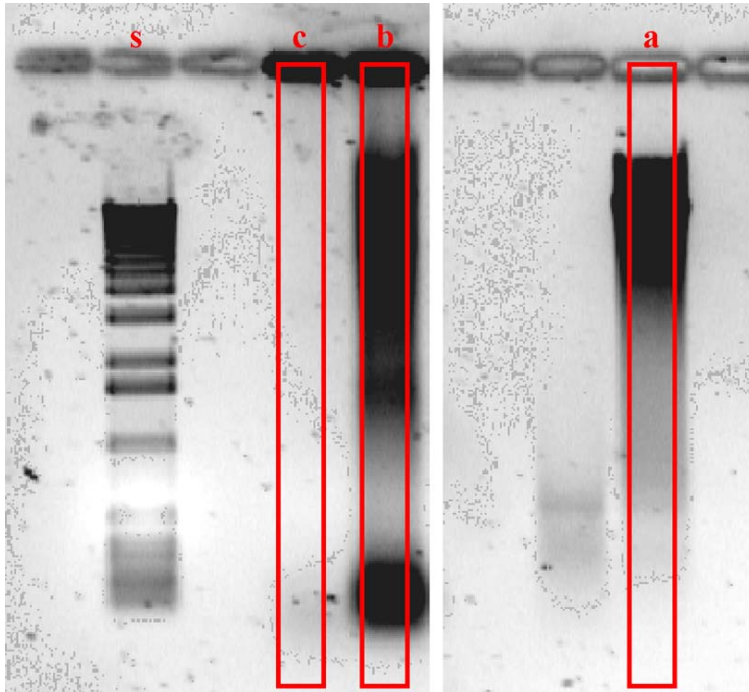
Im Serum der Patienten wurde jeweils täglich die Menge des C-reaktiven Proteins (mg/dl), die Gesamtleukozytenzahl (Anzahl/ $\mu$ l), sowie der Granulozytenanteil (Anzahl/ $\mu$ l) bestimmt. Die Blutentnahme erfolgte immer zwischen 6.00 und 12.00 Uhr.

Zusätzlich erfolgte bei 19 der 46 Patienten eine gesonderte Analyse des entnommenen Trachealsekretes mit Bestimmung der Leukozytenanzahl. Grund für die verminderte Anzahl an gesammeltem Trachealsekret waren ein vollständiges Vorhandensein von Proben vor beziehungsweise nach der DNase-Therapie und außerdem die Menge an vorhandenem Trachealsekret.

#### 2.6.1.2. *DNA-Quantifizierung*

Freie DNA (mg/dl) aus Zelldebris abgestorbener Leukozyten im Trachealsekret wurde mittels Agarose-Gel-Elektrophorese und anschließender densitometrischer Quantifizierung (Abb. 5) in T-Lymphozyten (Jurkat-Zellen, n= 35) als Referenzwert vor intratrachealer Applikation von rhDNase gemessen.

Alle Trachealproben wurden zusätzlich mit 10 µl rhDNase (Pulmozyme®) inkubiert. Die Gel-Proben wurden nach der Formel  $x = (b - c / a) \times 0.155 \text{ mg/ml}$  (siehe Abb. 5) berechnet.



*Abbildung 5: Gel-Elektrophorese mit kb-size-marker (Spur s), Sputum plus rhDNase (Spur c), CF-Sputum (Spur b) und die Referenz (Spur a)*

### 2.6.1.3. Zytokinexpression im Trachealsekret

Aus den gesammelten Proben des Trachealsekretes der Patienten wurden folgende Zytokinwerte bestimmt (ng/ml):

- Interleukin-6 (IL-6)
- Interleukin-8 (IL-8)
- Interleukin-10 (IL-10).

Die Analyse des Trachealsekretes erfolgte anhand eines kommerziellen ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) -Testverfahrens („Immulite“ der Firma DPC Biermann GmbH, Bad Nauheim).

Der ELISA-Test ist eine hochempfindliche Methode, um biologisch aktive Substanzen in Körperflüssigkeiten zu bestimmen. Er basiert auf dem Prinzip der Antigen-Antikörper-Reaktion, das heißt auf der Fähigkeit der Antikörper, spezifisch Antigene zu erkennen und mit ihnen eine Bindung einzugehen.

#### *2.6.1.4. Lipopolysaccharid-Bindendes-Protein (LBP)*

Die quantitative Bestimmung des Lipopolysaccharid-Bindenden-Proteines ( $\mu\text{g/ml}$ ) erfolgte mit einem kommerziellen ELISA-Testverfahren („LBP-Immulite“ der Firma DPC Biermann GmbH, Bad Nauheim) aus dem Trachealsekret der Patienten.

#### **2.6.2. Beatmungsparameter**

Die mechanische Ventilation der Patienten erfolgte mit dem Beatmungsgerät „Servo Ventilator 300“ der Firma Siemens AG.

Es wurden folgende Beatmungsparameter gemessen:

- Inspiratorische Sauerstoffkonzentration in Vol. % ( $\text{FiO}_2$ )
- Positiver inspiratorischer Druck in mmHg (PIP)
- Positiver endexpiratorischer Druck in mmHg (PEEP)
- Atemminutenvolumen in l/min pro kg Körpergewicht (AMV)

Die Bestimmung der Beatmungsparameter wurde täglich um den Zeitpunkt der rhDNase-Applikation durchgeführt.

### **2.6.3. Laktat**

Die Bestimmung der Laktat-Werte (mmol/l) erfolgte anhand der arteriellen Blutgasanalyse (BGA) und wurde jeweils um den Zeitpunkt der rhDNase-Applikation (gegen 9.00 Uhr morgens) durchgeführt.

## **2.7. Statistische Verfahren**

Es wurden zu den deskriptiven Auswertungen statistische Testverfahren (students t-test früh verbundene Stichproben) innerhalb der einzelnen untersuchten Gruppen verwendet, nicht jedoch zwischen den beobachteten Gruppen, da es sich um eine nicht-kontrollierte Untersuchung handelt.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1. Patientendaten

Bei insgesamt 46 Patienten, die an dieser Studie beteiligt waren fanden wir 68 Belüftungsstörungen, die sich wie folgt zusammensetzten: 35 Atelektasen, 12 Dystelektasen, vier Minderbelüftungen und 17 Infiltrate:

Die **Patientengruppe 1** (Belüftungsstörungen) unserer Untersuchung bestand aus insgesamt 35 pädiatrischen Patienten. Der Altersmedian dieser Patientengruppe lag zum Untersuchungszeitpunkt bei 0,48 Jahren (SD 4,61), das Minimum betrug 22 Tage, das maximale Alter lag bei 16,4 Jahren. Die Geschlechtsverteilung in dieser Patientengruppe lag bei 15 weiblichen und 18 männlichen Patienten.

Um die Ergebnisse der Gruppe 1 mit denen der historischen Kontrollgruppe vergleichen zu können, wurden nur Patienten mit einem Alter bis zu 2,3 Jahren (= **gematchte Gruppe 1**), analog der historischen Kontrollgruppe, und Patienten nach durchgeführter Herzoperation verwendet. Es fanden sich in der gematchten Gruppe 1 insgesamt 21 Patienten mit kardiochirurgischen Eingriffen. Der Altersmedian dieser Patientengruppe lag bei 0,32 Jahren (SD 0,36), das minimale Alter war 15 Tage, das Maximum lag bei 1,65 Jahren. Die Geschlechtsverteilung in dieser Patientengruppe lag bei zehn weiblichen und elf männlichen Patienten.

Die **Gruppe 2** (Infiltrate) setzte sich aus insgesamt 11 pädiatrischen Patienten zusammen. Hier betrug der Altersmedian 1,74 Jahre (SD 4,76), das Minimum lag bei 27 Tagen, das Maximum bei 14,6 Jahren. Gruppe 2 setzte sich aus drei weiblichen und acht männlichen pädiatrischen Patienten zusammen.

Unsere **Kontrollgruppe** bestand aus insgesamt 17 intubierten und beatmeten pädiatrischen Patienten. Ihr Altersmedian lag zum Zeitpunkt der Untersuchung bei 0,27 Jahren (SD 0,60), das minimale Alter betrug 6 Tage, das Maximum lag bei 2,3 Jahren. Die Kontrollgruppe setzte sich aus vier weiblichen und 13 männlichen Patienten zusammen.

### **3.2. Primärer Zielparameter radiologische Verbesserung aller Patientengruppen**

Während der Therapie mit rhDNase zeigte sich in der **Patientengruppe 1** mit Atelektasen, Dystelektasen oder Minderbelüftungen eine signifikante radiologische Verbesserung zum Ausgangsbefund. Am deutlichsten stellte sich der Therapieerfolg innerhalb der ersten 24 Stunden ( $p=0,003$ ) dar, indem 20 der insgesamt 51 Belüftungsstörungen radiologisch nicht mehr nachweisbar waren. Nach 96 Stunden erhöhte sich diese Zahl auf 36 und nach mehr als 96 Stunden stellten sich 41 der 51 Ereignisse radiologisch ohne Befund dar.

Während der Therapie mit rhDNase zeigte sich ebenfalls in der **gematchten Patientengruppe 1** eine hoch signifikante radiologische Verbesserung zum Ausgangsbefund ( $p=0,0007$ ) nach 24 Stunden. Es konnten 25 Ereignisse bei 21 Patienten nach spätestens 24 Stunden radiologisch verifiziert werden. Nach 24 Stunden waren bereits 17 der insgesamt 25 Belüftungsstörungen radiologisch nicht mehr nachweisbar.

In der **Gruppe 2** fanden sich bei 11 Patienten 17 Infiltrate, die sich in 3 der 17 Fälle erst nach 72 Stunden, in 4 Fällen nach 96 Stunden und in 16 Fällen nach mehr als 96 Stunden radiologisch nachweisbar besserten. Hierfür liegt keine Kontrollgruppe vor.

Zu Beginn der Untersuchung wurden in der **Kontrollgruppe** sieben Atelektasen, neun Dystelektasen und eine Minderbelüftung diagnostiziert. Nach 24 Stunden fanden sich keine signifikanten Veränderungen ( $p=0,41$ ).



Hier zeigte sich erst nach 72 Stunden eine deutliche Verbesserung der Ereignisse (12 von 17 Patienten ohne Befund). Nach mehr als 96 Stunden konnte noch eine Dystelektase nachgewiesen werden, 16 Ereignisse stellten sich ohne Befund dar.

Tabelle 1: Quantitativer radiologischer Verlauf der Ereignisse unter rhDNase-Therapie

Patienten- gruppe	Befund	0	24 Std.	48 Std.	72 Std.	96 Std.	> 96 Std.	p-Wert*
<b>Gruppe 1 gesamt</b>	<b>Atelektase</b>	35	9	6	3	3	1	0,003
	<b>Dystelektase</b>	12	9	8	4	3	3	
	<b>Minderbelüftung</b>	4	5	7	7	6	5	
	<b>oB</b>	0	12	14	21	23	26	
<b>Gematchte Gruppe 1</b>	<b>Atelektase</b>	16	0	-	-	-	-	0,0007
	<b>Dystelektase</b>	7	6	-	-	-	-	
	<b>Minderbelüftung</b>	2	2	-	-	-	-	
	<b>oB</b>	0	17	-	-	-	-	
<b>Gruppe 2</b>	<b>Infiltrate</b>	17	17	17	14	13	1	1,0
	<b>Dystelektase</b>	0	0	0	0	0	1	
	<b>Minderbelüftung</b>	0	0	0	1	2	2	
	<b>oB</b>	0	0	0	2	2	13	
<b>Kotnroll- gruppe</b>	<b>Atelektase</b>	7	6	3	3	1	0	0,41
	<b>Dystelektase</b>	9	8	8	1	1	1	
	<b>Minderbelüftung</b>	1	2	1	1	1	0	
	<b>oB</b>	0	2	5	12	14	16	

\* nach 24 Stunden Therapie

### 3.3. Sekundäre Zielparameter

#### 3.3.1. Inflammatorische Parameter im Serum

Bei der Betrachtung der im Patientenserum gemessenen klassischen Entzündungsparameter Gesamt-Leukozytenzahl, Granulozytenanteil und C-reaktivem Protein zeigte sich im Verlauf in der **gesamten Gruppe 1** der fünf Behandlungstage eine Abnahme der Gesamt-Leukozytenzahl, der Anteil an Granulozyten reduzierte sich geringfügig. Die Konzentration des C-reaktiven Proteins im Serum der Patienten stieg innerhalb der ersten 48 Stunden diskret an, fiel danach jedoch deutlich ab und betrug am fünften Behandlungstag 3,08 mg/dl, was einer Verbesserung zum Ausgangswert von 55,4% entsprach.

Die in der **gematchten Gruppe 1** gemessenen Gesamt-Leukozytenzahlen und der Granulozytenanteil zeigten während der fünf Behandlungstage einen ähnlichen Verlauf. Nach einem Ansteigen der Werte innerhalb der ersten 48 Stunden folgte im weiteren Verlauf ein diskretes Absinken der gemessenen Werte. Die Konzentration des C-reaktiven Proteins im Serum der Patienten sank im Verlauf der Behandlungstage deutlich ab und betrug am fünften Behandlungstag 2,2 mg/dl, was einer Verbesserung zum Ausgangswert von 65,63% entsprach.

Auffallend in der **Gruppe 2** war bei allen Parametern ein deutlicher Anstieg der Werte, der sich vor allem innerhalb der ersten drei Behandlungstage abzeichnete und bei allen Entzündungsparametern am dritten Tag einen maximalen Wert erreichte. Die Gesamtleukozytenzahl lag zum Zeitpunkt der Messung am dritten Tag bei 15891/ $\mu$ l, der Granulozytenanteil bei 80/ $\mu$ l und der Wert des C-reaktiven Proteines bei 7,3 mg/dl.

Betrachtet man die Konzentration der Entzündungsparameter im Serum der **Kontrollgruppe**, so war bei allen Parametern während der fünf Behandlungstage ein Ansteigen der Werte zu erkennen. Signifikant auffällig ist der Verlauf des C-reaktiven Proteines. Es erreichte am dritten Behandlungstag eine maximale Konzentration von 9,2 mg/dl, was einer Zunahme zum Ausgangswert von 300% entspricht. Dieser Wert veränderte sich am vierten und fünften Tag nur geringfügig und lag zum Zeitpunkt der Messung am fünften Tag noch immer bei 6,5 mg/dl. Die Betrachtung der Gesamtleukozytenzahl und des Granulozytenanteils ergab keine Auffälligkeiten.

Tabelle 2: Inflammatorische Parameter im Serum unter rhDNase-Therapie

Patienten- gruppe	Parameter	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5
Gruppe 1 gesamt	Leukozyten (Anzahl/ $\mu$ l)	n=28	n=19	n=29	n=25	n=18
		12094 $\pm$ 7356	13131 $\pm$ 5593	11025 $\pm$ 3972	10851 $\pm$ 4174	10129 $\pm$ 3099
	Granulozyten (Anzahl/ $\mu$ l)	n=15	n=7	n=16	n=7	n=8
		70 $\pm$ 14	76 $\pm$ 11	66 $\pm$ 13	73 $\pm$ 8	66 $\pm$ 15
	C-reaktives Protein (mg/dl)	n=28	n=18	n=29	n=25	n=20
		6,90 $\pm$ 10	7,09 $\pm$ 10	4,98 $\pm$ 6	4,11 $\pm$ 4	3,08 $\pm$ 4
Gematchte Gruppe 1	Leukozyten (Anzahl/ $\mu$ l)	n=20	n=15	n=20	n=15	n=11
		8963 $\pm$ 4742	11189 $\pm$ 6787	10288 $\pm$ 3957	10601 $\pm$ 4388	9654 $\pm$ 3534
	Granulozyten (Anzahl/ $\mu$ l)	n=15	n=7	n=16	n=7	n=8
		69 $\pm$ 15	72 $\pm$ 10	63 $\pm$ 13	70 $\pm$ 7	60 $\pm$ 17
	C-reaktives Protein (mg/dl)	n=16	n=11	n=20	n=16	n=11
		6,40 $\pm$ 9	6,1 $\pm$ 8	4,4 $\pm$ 6	3,8 $\pm$ 4	2,2 $\pm$ 2
Gruppe 2	Leukozyten (Anzahl/ $\mu$ l)	n=6	n=5	n=7	n=4	n=5
		11622 $\pm$ 7759	12332 $\pm$ 4264	15891 $\pm$ 6825	13738 $\pm$ 4902	12440 $\pm$ 2734
	Granulozyten (Anzahl/ $\mu$ l)	n=2	n=0	n=4	n=3	n=3
		53 $\pm$ 47	n.v.	80 $\pm$ 10	56 $\pm$ 8	62 $\pm$ 21
	C-reaktives Protein (mg/dl)	n=5	n=5	n=7	n=5	n=5
		3,8 $\pm$ 7	7,1 $\pm$ 10	7,3 $\pm$ 10	6,9 $\pm$ 6	7,1 $\pm$ 6
Kontroll- gruppe	Leukozyten (Anzahl/ $\mu$ l)	n=16	n=16	n=14	n=10	n=9
		8317 $\pm$ 3288	10959 $\pm$ 3129	9085 $\pm$ 2176	9617 $\pm$ 3794	8831 $\pm$ 2065
	Granulozyten (Anzahl/ $\mu$ l)	n=10	n=6	n=8	n=2	n=3
		69 $\pm$ 10	73 $\pm$ 11	70 $\pm$ 12	80 $\pm$ 10	74 $\pm$ 10
	C-reaktives Protein (mg/dl)	n=16	n=15	n=14	n=10	n=9
		2,3 $\pm$ 4	5,9 $\pm$ 6	9,2 $\pm$ 7	7,5 $\pm$ 5	6,5 $\pm$ 4

MW  $\pm$  SD

### **3.3.2. Inflammatorische Parameter im Trachealsekret**

Bei n=19 Patienten der **Gruppe 1** erfolgte gesondert eine genaue Analyse des Trachealsekretes. Tabelle 3 zeigt das Verhalten der verschiedenen Entzündungsparameter vor und 24 Stunden nach Beginn der Therapie mit rhDNase. Es fanden sich im Mittel deutlich gesenkte inflammatorische Parameter. Nach 24 Stunden zeigte sich eine Reduktion der Leukozytenzahl um 76 %, die quantitative Bestimmung der DNA-Konzentration im Trachealsekret ergab eine Verminderung nach 24 Stunden um 60 %. Für Interleukin-6 ließ sich zwischen den Messzeitpunkten eine deutliche Konzentrationsabnahme von 26040 pg/ml auf 9950 pg/ml (61,8%) und für Interleukin-8 von 48000 pg/ml auf 31600 pg/ml (34,2%) feststellen. Die Interleukin-10-Konzentration wies hingegen einen Anstieg um 45,8% auf. Die Werte des Lipopolysaccharid-Bindenden-Proteines (LBP) reduzierten sich innerhalb des Messzeitraumes von 0,6 pg/ml auf 0,37 pg/ml (38,3%).

In der **gematchten Gruppe 1** zeigt sich ein fast identisches Bild bei n=16 Patienten. Nach 24 Stunden fand sich eine Reduktion der Leukozytenzahl um 75 %, die quantitative Bestimmung der DNA-Konzentration im Trachealsekret ergab eine Verminderung nach 24 Stunden um 50 %. Für Interleukin-6 ließ sich zwischen den Messzeitpunkten eine deutliche Konzentrationsabnahme von 31147 pg/ml auf 10668 pg/ml (65,7%) und für Interleukin-8 von 47561 pg/ml auf 28641 pg/ml (39,8%) feststellen. Die Interleukin-10-Konzentration fiel ebenfalls um 79,7% ab. Die Werte des Lipopolysaccharid-Bindenden-Proteines (LBP) reduzierten sich innerhalb des Messzeitraumes von 1,15 pg/ml auf 0,28 pg/ml (75,7%).

Die Werte der inflammatorischen Parameter (n=9) der **Kontrollgruppe** im Trachealsekret zeigte bezüglich der quantitativen Bestimmung der DNA, die während der Therapie durchgeführt wurde, im Gesamtverlauf keine signifikanten Auffälligkeiten. Bei der Betrachtung der Interleukin-8- und Interleukin-10-Werte konnte im Verlauf der fünf Behandlungstage eine konsequente Abnahme beobachtet werden.

Signifikant groß war die Abnahme des Interleukin-8-Wertes zwischen den Messungen am ersten und zweiten Tag, hier konnte eine Reduktion um 63,1% nachgewiesen werden. Auffällig war außerdem ein deutlicher Anstieg des Lipopolysaccharid-Bindenden-Proteins. Dieser war insbesondere zwischen den Messungen am ersten und zweiten Tag zu beobachten. Hier stieg der Wert auf 2,43 pg/ml an, was einer Zunahme zum Ausgangswert von 34,3% entsprach. Im weiteren Verlauf der Therapie konnte nach einem Absinken der Werte am vierten Tag (0,9 pg/ml) ein erneut starker Anstieg auf 1,8 pg/ml festgestellt werden.

Tabelle 3: Inflammatorische Parameter im Trachealsekret

Patienten- gruppe	Parameter	Vor Therapie	24 Std.	p-Wert
<b>Gruppe 1 gesamt</b>	<b>Leukozyten (<math>\mu</math>l)</b>	17500 $\pm$ 12100	4200 $\pm$ 3900	0,0013
	<b>DNA quantitativ (mg/dl)</b>	0,05 $\pm$ 0,05	0,02 $\pm$ 0,02	0,029
	<b>IL-6 (pg/ml)</b>	26040 $\pm$ 81400	9950 $\pm$ 22200	0,23
	<b>IL-8 (pg/ml)</b>	48000 $\pm$ 47000	31600 $\pm$ 47000	0,027
	<b>IL-10 (pg/ml)</b>	24 $\pm$ 45	33 $\pm$ 87	0,36
	<b>LBP (pg/ml)</b>	0,6 $\pm$ 0,64	0,37 $\pm$ 0,37	0,042
<b>Gematchte Gruppe 1</b>	<b>Leukozyten (<math>\mu</math>l)</b>	24964 $\pm$ 24570	6561 $\pm$ 8887	0,0092
	<b>DNA quantitativ (mg/dl)</b>	0,06 $\pm$ 0,05	0,03 $\pm$ 0,03	0,042
	<b>IL-6 (pg/ml)</b>	31147 $\pm$ 81314	10668 $\pm$ 22131	0,17
	<b>IL-8 (pg/ml)</b>	47561 $\pm$ 46756	28641 $\pm$ 47239	0,019
	<b>IL-10 (pg/ml)</b>	64 $\pm$ 167	13 $\pm$ 15	0,11
	<b>LBP (pg/ml)</b>	1,15 $\pm$ 1,41	0,28 $\pm$ 0,15	0,023
<b>Kontroll- gruppe</b>	<b>DNA quantitativ (mg/dl)</b>	0,02 $\pm$ 0,03	0,03 $\pm$ 0,02	0,26
	<b>IL-8 (pg/ml)</b>	29248 $\pm$ 64332	10782 $\pm$ 7107	0,19
	<b>IL-10 (pg/ml)</b>	9,01 $\pm$ 6,28	6,69 $\pm$ 2,99	0,27
	<b>LBP (pg/ml)</b>	1,6 $\pm$ 2,5	2,43 $\pm$ 2,1	0,27

MW  $\pm$  SD

In der gematchten Gruppe 1 fiel ein deutlicher Abfall der Gesamt-Leukozytenzahl nach 24 Stunden auf. Vor Beginn der Therapie lag der Wert bei 24964 Leukozyten/ $\mu$ l, nach 24 Stunden wurden 6561 Leukozyten/ $\mu$ l gefunden,

was einer Abnahme von 73,4% entsprach. Aufgrund der fehlenden Werte der Kontrollgruppe konnte ein Vergleich der Leukozytenzahl von Gruppe 1 mit der Kontrollgruppe nicht durchgeführt werden.

Die quantitative Bestimmung der DNA-Konzentration im Trachealsekret ergab in der gematchten Gruppe 1 eine Verminderung um 50%, während in der Kontrollgruppe eine Zunahme der Werte zu erkennen war. Bei der Betrachtung der gemessenen Interleukin-8-Konzentrationen zeigte sich nach 24 Stunden in beiden Gruppen eine deutliche Verbesserung. Die gemessenen Interleukin-10-Werte fielen in der gematchten Gruppe 1 und in der Kontrollgruppe im Verlauf der Therapie. Beim Vergleich der Konzentration des Lipopolysaccharid-Bindenden-Proteins-verhielten sich die Werte von Gruppe 1 und der Kontrollgruppe spiegelbildlich. In Gruppe 1 fielen die Werte von 1,15 pg/ml vor der Therapie, auf 0,28 pg/ml nach 24 Stunden. In der Kontrollgruppe stieg dieser Wert um 51,8%, von 1,6 pg/ml auf 2,43 pg/ml an.

### **3.3.3. Beatmungsparameter**

In nachfolgender Tabelle sind die Verläufe der verschiedenen Beatmungsparameter während der Behandlung mit rhDNase dargestellt. Der Bedarf der inspiratorischen Sauerstoffkonzentration ( $FiO_2$ ) in der **gesamten Gruppe 1** lag am ersten Tag der Behandlung bei 50,73% und betrug zum Zeitpunkt der Messung am zweiten Tag 37%, was einer Verbesserung zum Ausgangswert um 27% entsprach. Im weiteren Verlauf reduzierte er sich auf 33,12%. Der positive inspiratorische Druck (PIP), der positive expiratorische Druck (PEEP) sowie das Atemminutenvolumen pro kg Körpergewicht (AMV) verhielten sich während der fünf Tage nahezu unverändert.

Während der Behandlung mit rhDNase in der alters- und diagnose-**gematchten Gruppe 1** lag der Bedarf der inspiratorischen Sauerstoffkonzentration ( $FiO_2$ ) am ersten Tag der Behandlung bei 53% und betrug zum Zeitpunkt der Messung am zweiten Tag 38%, was einer Verbesserung zum Ausgangswert um 28,3% entsprach. Im weiteren Verlauf reduzierte er sich auf 34 %.

Der positive inspiratorische Druck (PIP), der positive expiratorische Druck (PEEP) sowie das Atemminutenvolumen pro kg Körpergewicht (AMV) verhielten sich während der fünf Tage nahezu unverändert.

In der **Gruppe 2** lässt sich insbesondere bei der inspiratorischen Sauerstoffkonzentration ( $\text{FiO}_2$ ) ein deutlicher Abfall der gemessenen Werte erkennen. Der Ausgangswert lag bei 51% und sank im weiteren Verlauf der Therapie um 31,4% auf 35 % ab. Bei den weiteren gemessenen Parametern positiver inspiratorischer Druck (PIP) und positiver endexpiratorischer Druck (PEEP) konnte keine signifikante Änderung der Werte festgestellt werden, sie verhielten sich nahezu konstant. Das Atemminutenvolumen pro kg Körpergewicht (AMV) konnte aufgrund der fehlenden Messwerte nicht beurteilt werden.

Hinsichtlich des Verlaufes der verschiedenen Beatmungsparameter der **Kontrollgruppe** konnte im Verlauf der fünf Tage bei allen Parametern eine Reduktion der Werte beobachtet werde. Besonders deutlich fiel diese Abnahme bei der inspiratorischen Sauerstoffkonzentration ( $\text{FiO}_2$ ) aus. Hier sanken die Werte von 55,1% am ersten Tag, auf einen Wert von 35,0% der bei der Messung am fünften Tag nachgewiesen werden konnte.

Tabelle 4: Verlauf der Beatmungsparameter unter rhDNase-Therapie

Patienten- gruppe	Parameter	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5
Gruppe 1 gesamt	FiO <sub>2</sub> (%)	n=33	n=29	n=31	n=29	n=25
		50,73± 15	37,0± 10	37,45± 15	35,1±13	33,12±10
	PIP (mm/Hg)	n=24	n=20	n=22	n=18	n=15
		20± 4	19± 4	18± 4	18± 5	18± 4
	PEEP (mm/Hg)	n=28	n=21	n=24	n=22	n=17
		6,08± 1,5	5,68± 1,0	5,92± 1,3	5,68±1,3	6,12±1,6
	AMV (l/min/kg)	n=19	n=10	n=14	n=10	n=9
		0,23± 0,1	0,27± 0,1	0,29± 0,1	0,28± 0,1	0,30±0,1
Gematchte Gruppe 1	FiO <sub>2</sub> (%)	n=19	n=19	n=20	n=19	n=15
		53± 14	38± 10	38± 15	35± 10	34± 10
	PIP (mm/Hg)	n=16	n=15	n=16	n=12	n=12
		22,3± 3,6	20,2± 3,0	19,8± 2,9	20± 3,8	19,2± 3,9
	PEEP (mm/Hg)	n=20	n=16	n=18	n=16	n=12
		6,3± 2,5	5,5± 0,9	5,6± 1,1	5,2±1,1	5,6±1,1
	AMV (l/min/kg)	n=16	n=13	n=15	n=11	n=9
		0,28± 0,2	0,34± 0,3	0,32± 0,3	0,36± 0,3	0,30±0,1
Gruppe 2	FiO <sub>2</sub> (%)	n=4	n=6	n=4	n=4	n=4
		51± 14,36	46± 11,81	48± 8,52	42± 5,97	35± 5,77
	PIP (mm/Hg)	n=4	n=5	n=4	n=4	n=3
		15± 3,50	14± 1,29	14± 1,26	14± 1,91	13± 3,06
	PEEP (mm/Hg)	n=4	n=6	n=4	n=4	n=4
		7,8± 1,7	7,3± 2,5	6,8± 2,5	7,5±1,7	7,5±1,7
	AMV (l/min/kg)	n=3	n=1	n=1	n=1	n=1
		0,2± 0,04	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.
Kontroll- gruppe	FiO <sub>2</sub> (%)	n=15	n=15	n=14	n=11	n=10
		55± 22	47± 20	43± 21	36± 12	35± 10
	PIP (mm/Hg)	n=15	n=15	n=14	n=11	n=10
		22± 5	22± 3	21± 3	20± 2	20± 4
	PEEP (mm/Hg)	n=15	n=15	n=14	n=11	n=10
		4,1± 1	4,0± 1	4,2± 1	3,6± 1	3,7± 1
	AMV (l/min/kg)	n=15	n=15	n=14	n=11	n=10
		0,36± 0,12	0,31± 0,07	0,29± 0,10	0,28± 0,11	0,24± 0,12

MW ± SD



### 3.3.4. Laktat

Bei Betrachtung des Laktatverlaufes in der **gesamten Gruppe 1** während der Therapie mit DNase ließ sich ein Abfall der Werte von 1,11 mmol/l zum Zeitpunkt der Messung am ersten Tag auf 0,79 mmol/l am fünften Tag der Behandlung erkennen, was einer Verbesserung zum Ausgangswert von 31,5% entsprach.

Bei Betrachtung des Laktatverlaufes in der **gematchten Gruppe 1** während der Therapie mit DNase ließ sich ein Abfall der Werte von 1,2 mmol/l zum Zeitpunkt der Messung am ersten Tag auf 0,9 mmol/l am fünften Tag der Behandlung erkennen, was einer Verbesserung zum Ausgangswert von 25% entsprach.

Die Betrachtung des Verlaufes in der **Gruppe 2** der Laktat-Konzentration zeigte keine Besonderheiten.

In der **Kontrollgruppe** zeigte die Laktat-Konzentration im Gesamtverlauf der fünf Tage einen konsequenten Abfall. Am Auffälligsten war dabei das Absinken des Wertes zwischen der Messung am zweiten und am dritten Behandlungstag, hier zeigte sich eine Reduktion zum Ausgangswert um 54% auf 1,7 mmol/l.

Tabelle 5: Verlauf der Laktat-Konzentration unter rhDNase-Therapie

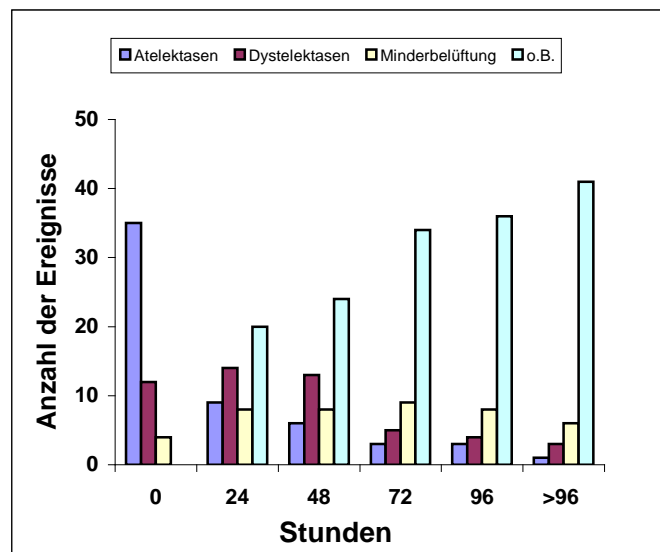
Patienten- gruppe		Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5
<b>Gruppe 1 gesamt</b>	<b>Laktat (mmol/l)</b>	n=28	n=22	n=24	n=23	n=20
		1,1 ± 0,3	1,0 ± 0,3	1,0 ± 0,4	1,0 ± 0,5	0,8 ± 0,3
<b>Gematchte Gruppe 1</b>	<b>Laktat (mmol/l)</b>	n=18	n=15	n=15	n=16	n=12
		1,2 ± 0,3	1,0 ± 0,4	1,1 ± 0,4	1,00 ± 0,5	0,9 ± 0,4
<b>Gruppe 2</b>	<b>Laktat (mmol/l)</b>	n=3	n=4	n=3	n=3	n=3
		0,5 ± 0,2	0,6 ± 0,2	0,6 ± 0,3	0,7 ± 0,2	0,6 ± 0,3
<b>Kontroll- gruppe</b>	<b>Laktat (mmol/l)</b>	n=15	n=15	n=14	n=10	n=10
		3,7 ± 3	3,6 ± 5	1,7 ± 1	1,5 ± 1	1,6 ± 1

MW ± SD

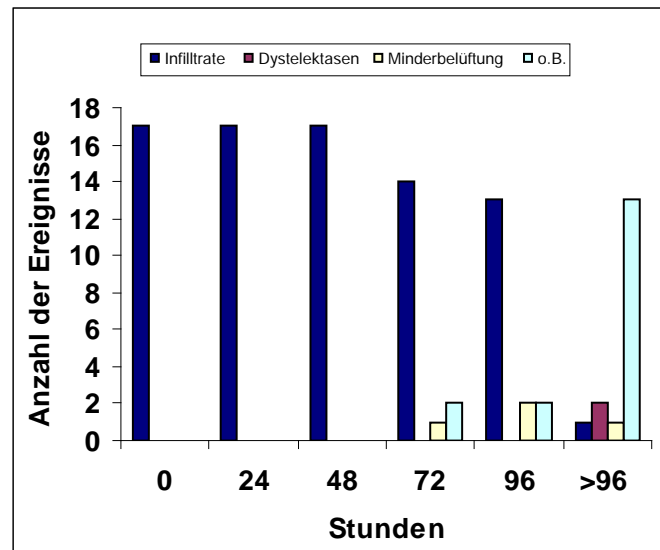
### 3.4. Vergleich der gematchten Gruppe 1 mit der Kontrollgruppe

Beim radiologischen Vergleich der gesamten Gruppe 1 und Gruppe 2 während der Therapie mit rhDNase fanden sich signifikante Unterschiede. In Gruppe 1 konnte bereits nach Ablauf der ersten 24 Stunden eine Regression der Belüftungsstörungen nachgewiesen werden, 20 der anfänglich 51 Ereignisse waren radiologisch nicht mehr nachweisbar. Nach mehr als 96 Stunden stellten sich 41 aller Belüftungsstörungen ohne Befund dar, was einer Verminderung zum Ausgangswert von 80,4% entsprach. Deutlich protrahiert stellte sich dagegen der quantitative Verlauf der Infiltrate aus Gruppe 2 dar. Hier konnte erstmalig 72 Stunden nach Beginn der Therapie mit rhDNase eine Besserung beobachtet werden. Diese fiel jedoch im Vergleich zu Gruppe 1 nur sehr schwach aus. Eine signifikante Verbesserung trat innerhalb der Gruppe 2 erst nach mehr als 96 Stunden auf, 13 der ursprünglich 17 Ereignisse stellten sich zu diesem Zeitpunkt radiologisch ohne Befund dar.

Abbildung 6: Quantitative radiologische Verbesserung zum Ausgangsbefund unter rhDNase-Therapie (gesamte Gruppe 1)

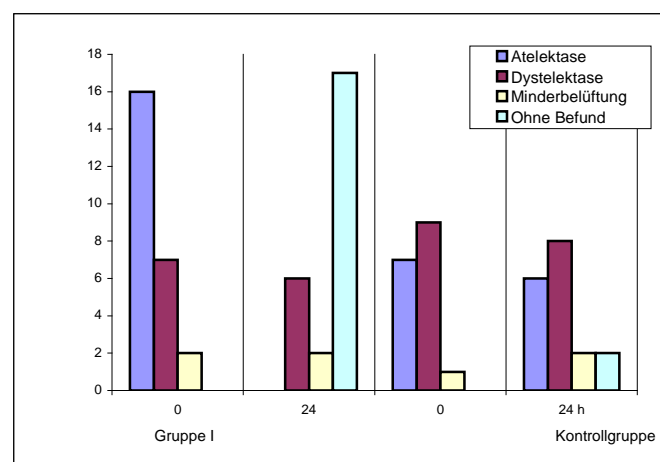


**Abbildung 7:** Quantitative radiologisch Verbesserung zum Ausgangsbefund unter rhDNase-Therapie (Gruppe 2)



Beim radiologischen Vergleich (Abbildung 8) der gematchten Gruppe 1 mit der Kontrollgruppe zeigten sich ebenfalls signifikante Unterschiede. In Gruppe 1 konnte innerhalb der ersten 24 Stunden nach Therapiebeginn mit rhDNase eine vollständige Verbesserung aller Belüftungsstörungen von 68 % (17 von 25 Ereignissen) nachgewiesen werden. In der Kontrollgruppe lag dieser Wert bei 12 % (2 von 17 Ereignissen).

**Abbildung 8:** Quantitative radiologisch Verbesserung zum Ausgangsbefund unter rhDNase-Therapie der gematchten Gruppe 1 und der Kontrollgruppe

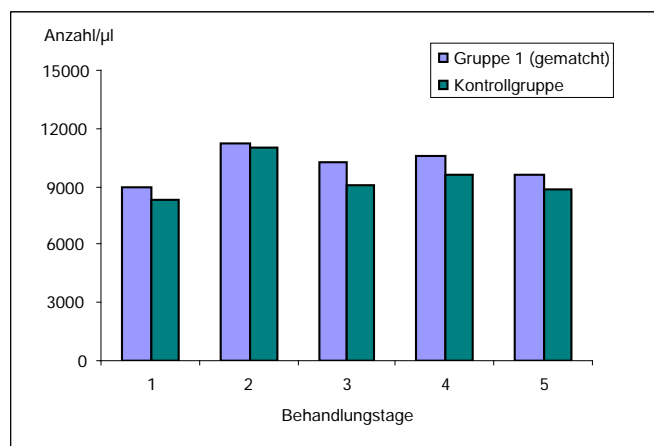


Ein systemischer Bias liegt durch die fortlaufend nicht täglich durchgeführte radiologische Diagnostik vor, so dass jeder Gruppenvergleich nur nach 24 Stunden Sinn machte und durchgeführt wurde.

### 3.4.1. Sekundäre Zielparameter

Vergleicht man den Verlauf der unterschiedlichen Entzündungsparameter im Serum der gematchten Gruppe 1 und der Kontrollgruppe wird ersichtlich, dass die Werte in Gruppe 1 sowohl zu Beginn, als auch im Verlaufe der Untersuchung höher lagen als die der Kontrollgruppe. Betrachtet man den gesamten Verlauf der Leukozyten während der fünf Tage, so war in beiden Gruppen eine rückläufige Tendenz der Werte im Vergleich zum Ausgangswert zu erkennen. Am fünften und letzten Tag der Untersuchung lag in Gruppe 1 eine Gesamtleukozytenzahl von 9654/ $\mu\text{l}$  vor, in der Kontrollgruppe betrug diese 8831 / $\mu\text{l}$ .

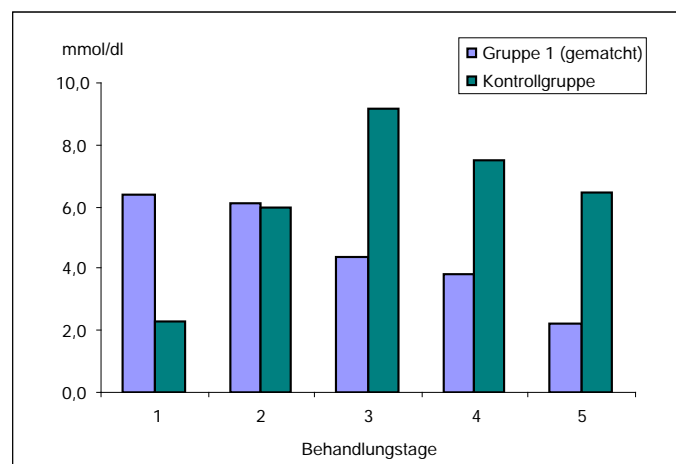
**Abbildung 9:** Verlauf der Gesamt-Leukozytenzahl, Gruppe 1 vs. Kontrollgruppe



Beim Vergleich der ermittelten Werte für die Konzentration des C-reaktiven Proteins der gematchten Gruppe 1 und der Kontrollgruppe fanden sich erhebliche Unterschiede. Auffällig waren die unterschiedlichen Ausgangswerte beider Gruppen. In Gruppe 1 ergab die Messung am ersten Tag der rhDNase-Behandlung einen Wert von 6,4 mg/dl, er lag deutlich über dem der Kontrollgruppe (2,3 mg/dl).

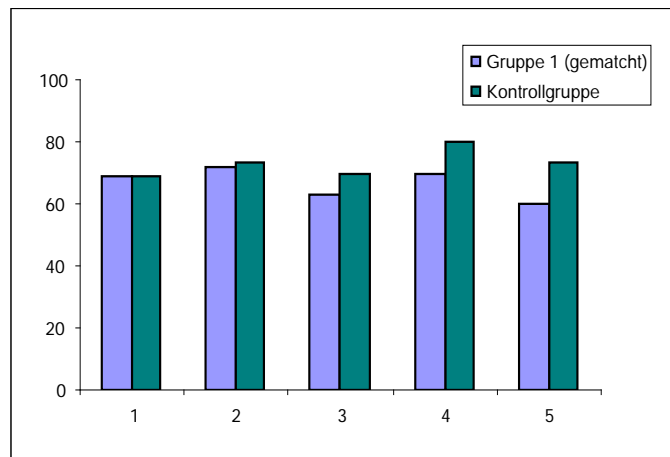
In Gruppe 1 zeigten die Werte im Verlauf der Behandlung eine deutlich rückläufige Tendenz und lagen zum Zeitpunkt der letzten Messung am Tag fünf bei 2,2 mg/dl, was einer Verbesserung von 65,6% zum Ausgangswert entspricht. In der Kontrollgruppe verhielten sich die Werte dagegen anders, es kam zu einem deutlichen Anstieg des C-reaktiven Proteins, das seinen höchsten Wert (9,2 mg/dl) am dritten Tag der rhDNase-Therapie erreichte. Im weiteren Verlauf kam es zu einer Verminderung der Werte, zum Messzeitpunkt am fünften Tag lag der Wert jedoch noch bei 6,5 mg/dl, also deutlich höher als der Ausgangswert.

Abbildung 10: Konzentration des C-reaktiven Proteins, Gruppe 1 vs. Kontrollgruppe



Beim Vergleich der Granulozytenanteile beider Gruppen konnte in Gruppe 1 nach einem Anstieg zwischen der Messung am ersten und zweiten Tag eine rückläufige Tendenz beobachtet werden. In der Kontrollgruppe stiegen die Werte während der Behandlung hingegen weiter an, erreichten am vierten Tag einen maximalen Wert von 80/ $\mu$ l und wiesen zum Zeitpunkt der Messung am fünften Tag einen Wert von 74/ $\mu$ l auf, der deutlich über dem entsprechenden Wert der Gruppe 1 lag.

Abbildung 11: Granulozytenanteil, Gruppe 1 vs. Kontrollgruppe

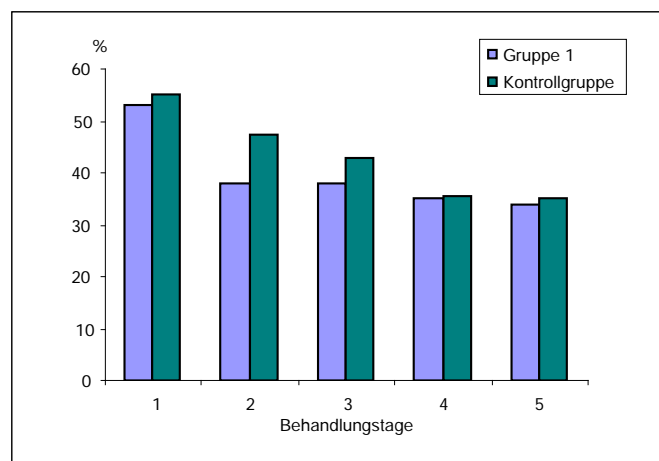


Vergleicht man in der gemachten Gruppe 1 und der Kontrollgruppe das Verhalten der inflammatorischen Parameter im Trachealsekret vor und 24 Stunden nach Beginn der Therapie, fällt ein deutlicher Abfall der Gesamt-Leukozytenzahl nach 24 Stunden auf. Vor Beginn der Therapie lag der Wert bei 24964 Leukozyten/ $\mu$ l, nach 24 Stunden wurden 6561 Leukozyten/ $\mu$ l gefunden, was einer Abnahme von 73,4% entsprach. Aufgrund der fehlenden Werte der Kontrollgruppe konnte ein Vergleich der Leukozytenzahl von Gruppe 1 mit der Kontrollgruppe nicht durchgeführt werden.

Die quantitative Bestimmung der DNA-Konzentration im Trachealsekret ergab in Gruppe 1 eine Verminderung um 50%, während in der Kontrollgruppe eine Zunahme der Werte zu erkennen war. Bei der Betrachtung der gemessenen Interleukin-8-Konzentrationen zeigte sich nach 24 Stunden in beiden Gruppen eine deutliche Verbesserung. Die gemessenen Interleukin-10-Werte fielen in Gruppe 1 und in der Kontrollgruppe im Verlauf der Therapie. Beim Vergleich der Konzentration des Lipopolysaccharid-Bindenden-Proteins verhielten sich die Werte von Gruppe 1 und der Kontrollgruppe spiegelbildlich. In Gruppe 1 fielen die Werte von 1,15 pg/ml vor der Therapie, auf 0,28 pg/ml nach 24 Stunden. In der Kontrollgruppe stieg dieser Wert um 51,8%, von 1,6 pg/ml auf 2,43 pg/ml an.

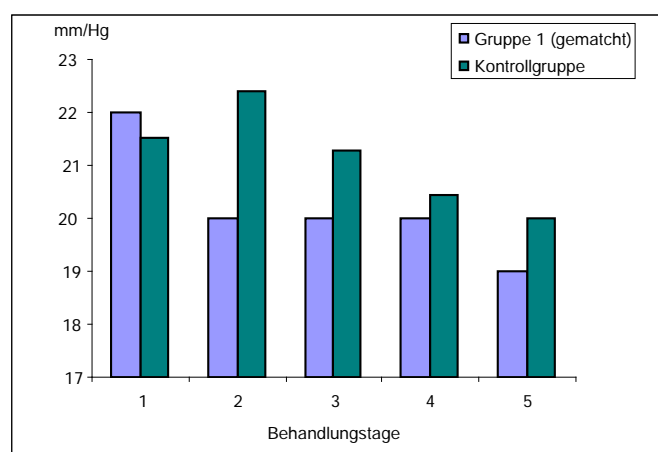
Vergleicht man den Verlauf der unterschiedlichen Beatmungsparameter der gematchten Gruppe 1 und der Kontrollgruppe während der Behandlungsphase, so wird ersichtlich, dass in Gruppe 1 am zweiten Therapietag eine größere Reduktion des  $\text{FiO}_2$ -Bedarfes nachzuweisen war als in der Kontrollgruppe. In Gruppe 1 lag diese Verbesserung verglichen mit dem Ausgangswert bei 28,3 %, in der Kontrollgruppe bei 14,5%.

Abbildung 12:  $\text{FiO}_2$ -Bedarf, Gruppe 1 vs. Kontrollgruppe



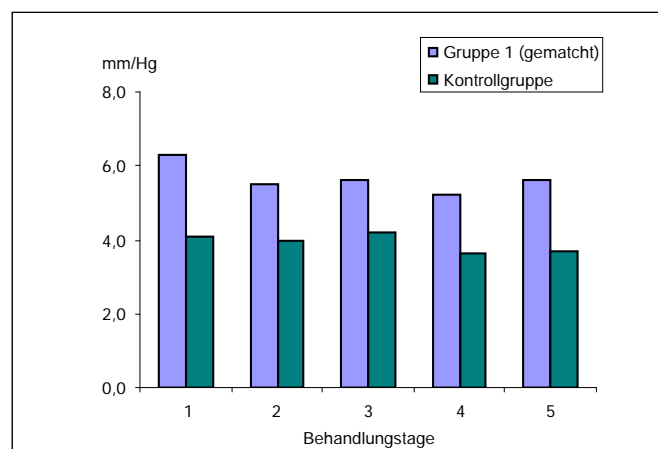
Bezüglich des positiven inspiratorischen Druckes (PIP) im Verlauf der Behandlung in Abhängigkeit von der gematchten Gruppe 1 und der Kontrollgruppe waren keine deutlichen Unterschiede nachzuweisen, die Werte beider Gruppen zeigten ähnliche Verläufe und ließen eine diskrete rückläufige Tendenz erkennen.

Abbildung 13: PIP-Verlauf, Gruppe 1 vs. Kontrollgruppe



Vergleicht man die ermittelten Werte des positiven endexpiratorischen Druckes (PEEP) von Gruppe 1 mit denen der Kontrollgruppe, lassen sich in Gruppe 1 deutlich höhere Werte erkennen. Der in der Messung am ersten Tag ermittelte Wert für Gruppe 1 lag bei 6,3 mm/Hg und somit um 53,7% höher als der der Kontrollgruppe (4,1 mm/Hg). Während der weiteren Behandlung zeigte sich in Gruppe 1 keine Verbesserung, die Werte lagen weiterhin deutlich über denen der Kontrollgruppe. Eine diskrete Verbesserung zum Ausgangswert konnte nur innerhalb der Kontrollgruppe festgestellt werden und betrug 9,6%.

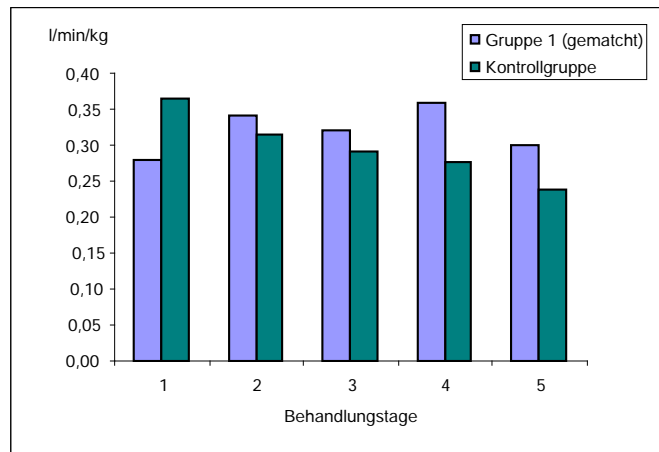
Abbildung 14: PEEP-Bedarf, Gruppe 1 vs. Kontrollgruppe



Bei der vergleichenden Betrachtung des Atemminutenvolumens pro kg Körpergewicht (AMV) von Gruppe 1 und der Kontrollgruppe ließen sich im Verlauf der fünf Behandlungstage höhere Werte für Gruppe 1 erkennen. Der erste gemessene Wert für das Atemminutenvolumen lag in Gruppe 1 bei 0,28 l/min/kg, in der Kontrollgruppe hingegen bei 0,36 l/min/kg. Im Verlauf der ersten zwei Behandlungstage folgte in Gruppe 1 ein deutlicher Anstieg der Werte, der am vierten Tag mit 0,36 l/min/kg sein Maximum erreichte. Erst am fünften Tag kam es hier zu einem Absinken der Werte. Die Werte der Kontrollgruppe zeigten im Vergleich dazu einen konsequenten Abfall und lagen bei der letzten Messung am fünften Tag bei 0,24 l/min/kg.

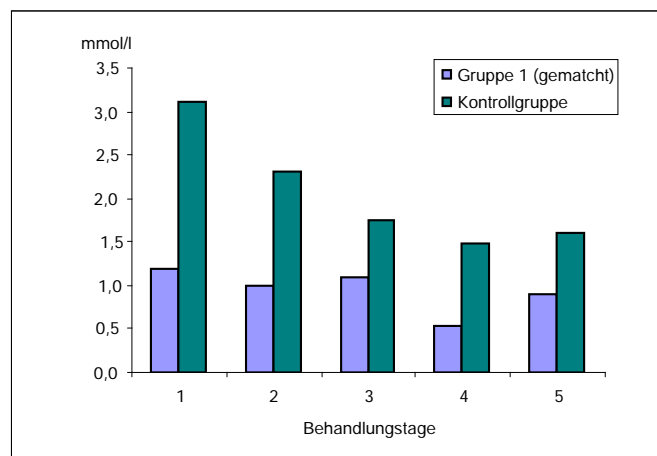


**Abbildung 15:** AMV-Verlauf, Gruppe 1 vs. Kontrollgruppe



Es fanden sich in der Kontrollgruppe deutlich erhöhte Laktat-Werte. Am ersten Tag der Behandlung lag dieser in der Kontrollgruppe bei 3,7 mmol/l und war somit deutlich höher als der von Gruppe 1 (1,2 mmol/l). Es konnte hier erst am dritten Tag ein Absinken des Wertes auf 1,7 mmol/l nachgewiesen werden.

**Abbildung 16:** Verlauf der Laktat-Konzentration, Gruppe 1 vs. Kontrollgruppe



## 4. Diskussion

Bei der Behandlung von Atelektasen steht die Verminderung, beziehungsweise die vollständige Rekrutierung nicht belüfteter Lungenabschnitte, sowie die Prophylaxe der Lungeninfektion im Sinne von Infiltraten / Pneumonien im Vordergrund.

In unserer Studie entwickelten 46 pädiatrische Patienten, die intensivmedizinisch betreut wurden eine radiologisch verifizierbare Belüftungsstörung, von denen 35 Patienten eine oder mehrere Atelektasen (76%) und 11 Patienten bereits ein oder mehrere Infiltrate aufwiesen (24%).

Im Vergleich zu Erwachsenen treten Atelektasen bei pädiatrischen Patienten unter mechanischer Ventilation häufig auf. In der Literatur finden sich hierzu ähnliche Angaben. Thomas et al. fanden in ihrer Studie eine Inzidenz von 15% [102], auf der Intensivstation der Universitäts-Kinderklinik Tübingen fanden wir eine Inzidenz von 21,6% (nicht veröffentlichte Daten). Shevland et al. [94] geben in einer Untersuchung an erwachsenen Patienten hingegen lediglich eine Häufigkeit von 8,5 % an.

Bisher werden bei beatmeten Patienten unterschiedliche standardisierte Therapieverfahren angewandt [105,106]. So wird durch physikalische Maßnahmen wie beispielsweise eine entsprechende Lagerung des Patienten, oder Sekretfördernde Atemphysiotherapie eine Verbesserung der Ventilation herbeigeführt. Außerdem werden Patienten, die eine Atelektase entwickelt haben, supportiv mit Acetylcystein und/oder Ambroxol behandelt, Medikamente die die Sekretolyse fördern. Eine weitere Therapiekomponente stellt die druckkontrollierte Beatmung mit erhöhtem positivem endexpiratorischem Druck (PEEP) und angehobenem positivem inspiratorischen Druck (PIP) dar, durch die atelektatische Abschnitte der Lunge offen gehalten und belüftet werden sollen.

Weiterhin kann durch interventionelle Verfahren wie die bronchoalveoläre Lavage (BAL), die inzwischen zu einem wichtigen Bestandteil der Atelektasentherapie geworden ist, angesammeltes Bronchialsekret abgesaugt und eine Säuberung der verlegten Atemwege vorgenommen werden.

Im Gegensatz zu den Therapiestrategien bei Erwachsenen mit sofortiger Intervention mittels Bronchoskopie und Lavage (BAL), konnte in der Pädiatrie bisher noch kein Konsens, beziehungsweise keine einheitliche Therapie von kindlichen und jugendlichen Atelektasen unter mechanischer Ventilation gefunden werden [64]. Es gibt also bis zum jetzigen Zeitpunkt keine Standardtherapie für Kinder und Jugendliche. Entsprechend finden wir in Standard-Lehrbüchern gegensätzliche Empfehlungen [73,82].

Die bisherige Strategie bei der Therapie von Atelektasen in der pädiatrischen Pulmonologie umfaßt die Anhebung der Beatmungsparameter (PEEP, PIP und  $FiO_2$ ), und/oder regelmäßige Physiotherapie, und/oder Lagerungstherapie, und/oder Sekretolyse (Acetylcystein, Ambroxol), und/oder inhalativen Dilatatoren, und/oder Antibiotika bei Verdacht auf das Vorliegen eines Infiltrates und/oder regelmäßiger trachealer Lavagen über den Tubus mit Sekretolytika.

Eine neue Komponente bei der Behandlung der kindlichen und jugendlichen Atelektase bei mechanisch ventilerten Patienten besteht in der intratrachealen Applikation des mukolytisch wirkenden Medikamentes rekombinante humane Desoxyribonuklease (rhDNase).

Inhalative rhDNase gehört bei der Behandlung der Zystischen Fibrose bereits seit Jahren zum Therapiestandard [2,8,10,12,17,30,40,62,90,92] und wird auch in der mukolytischen Therapie verschiedener anderer Atemwegserkrankungen mit Sekretverhalt (Status asthmaticus, Bronchiektasien, chronische Bronchitis, bronchopulmonale Dysplasie bei Frühgeborenen, Bronchiolitis, Ziliendyskinesie) erfolgreich eingesetzt [22,34,35,60,66,68,74,102,111].

Die Behandlung von Patienten mit Zystischer Fibrose mittels rhDNase wird standardisiert und einheitlich mit einer Dosierung von 2,5 mg inhalativ applizierter rhDNase/kg Körpergewicht durchgeführt (ein bis zwei mal täglich) [2,30,40,42,91,99].

Die Applikation von rekombinanter humaner DNase in unserer Untersuchung erfolgte in Anlehnung an Boeuf et al. [7] zweimal täglich intratracheal über den vorhandenen Tubus in einer Dosierung von 0,1 mg rhDNase/kg Körpergewicht. In der bisher veröffentlichten Literatur sind jedoch sehr unterschiedliche Angaben zur therapeutisch empfohlenen Menge an rhDNase zu finden. Durward et al. [22] geben eine Dosierung von 10 mg absolut intratracheal verabreichter rhDNase bei einem 22 kg schweren Kind an, Boeuf et al. empfiehlt hingegen eine Dosis von 4 mg rhDNase/m<sup>2</sup> [7]. El Hassan et al. schlagen eine Dosierung von 1mg/m<sup>2</sup> intratracheal applizierter rhDNase [24], Merkus et al. führten ihre Untersuchung mit 2,5 mg absolut applizierter rhDNase bei Kindern durch [56].

Die von Riethmüller et al. durchgeführte Studie erbrachte eine ausreichend wirksame Dosierung analog von Boeuf et al. [7]. Die nachfolgend zur Therapie der Belüftungsstörung analog eingesetzte Dosierung erscheint ebenfalls ausreichend zu sein. Trotzdem sollten aufgrund dieser offensichtlichen Uneinigkeit über die therapeutisch empfohlene Dosis von rhDNase unbedingt weitere Dosisfindungs-Studien durchgeführt werden.

Über die gezielte Therapie von Atelektasen durch intratracheale Applikation von rhDNase bei intubierten pädiatrischen Patienten gibt es bisher lediglich Einzelbeobachtungen [7,24,41,56], Daten von Kohorten liegen, außer von der Arbeitsgruppe Riethmüller [77,78], bis dato nicht vor. Dieselben Feststellungen gelten für den Erwachsenenbereich, indem keine veröffentlichten Kohortenstudien vorliegen. Deschner et al. [79] haben von 2003 bis 2007 eine randomisierte plazebo-kontrollierte Studie durchgeführt, die als Kongressbeitrag vorliegt.

Sie fanden einen signifikant positiven Effekt auf die Beatmungsdauer bei nicht operativen Intensivpatienten, insbesondere bei Pneumoniepatienten, jedoch keinen Effekt bei operativen Patienten. Zum gegenwärtigen Zeitpunkt ist daher nicht klar, ob die potentiellen Vorteile der Behandlung mit rhDNase Einzelfallbeobachtungen sind, oder ob tatsächlich ein klinischer Nutzen daraus gezogen werden kann. Einzelne Fallbeispiele zeigen jedoch, daß rhDNase auch bei Kindern mit Lungenerkrankungen außerhalb der Mukoviszidose wirksam sein könnte.

Die vorliegende Arbeit ist eine Pilotstudie zur Anwendung von rekombinanter humaner Desoxyribonuklease bei der Atelektasen-Therapie von intubierten pädiatrischen Patienten. Ihr Hintergrund ist der Nachweis einer positiven Wirkung von interventionell intratracheal applizierter rhDNase bei der Behandlung pädiatrischer Patienten, die mechanisch ventiliert werden.

## **4.1. Diskussion der Methodik**

### **4.1.1. Studiendesign**

Um den Wirkungsnachweis von intratracheal applizierter rekombinanter humaner DNase bei der Atelektasen-Therapie intubierter und beatmeter pädiatrischer Patienten zu bestimmen, wurde die hier vorliegende nicht-kontrollierte, prospektive, offene und monozentrische Anwendungsbeobachtung an intensivtherapeutisch betreuten pädiatrischen Patienten unter mechanischer Ventilation der Universitäts-Kinderklinik Tübingen vorgenommen.

Als primäres klinisches Zielkriterium untersuchten wir die radiologisch verifizierbare Verbesserung von Belüftungsstörungen (Gruppe 1) und Infiltraten (Gruppe 2). Das Maß der entsprechenden radiologischen Verbesserung wurde in dieser Untersuchung beurteilt.

Die radiologische Verbesserung einer Atelektase zu einer Dysteletase wurde mit einem Therapieerfolg von 50% bewertet, die radiologische Verbesserung einer Atelektase zu einer Minderbelüftung wurde mit 75%, einer Dysteletase zu einer Minderbelüftung mit 25%, die Verbesserung einer Minderbelüftung zu einem Normalbefund ebenfalls mit 25% und das vollständige Verschwinden einer Atelektase mit 100% Therapieerfolg bewertet. Infiltrate beziehungsweise Pneumonien wurden gesondert betrachtet.

Das von uns erstellte Scoresystem zur medizinischen Verlaufsbeobachtung muß jedoch auch kritisch betrachtet werden. Ein objektiver Parameter ist hier nicht vorhanden. Die Verifizierung des radiologischen Befundes sollte daher durch einen zweiten unabhängigen Untersucher erfolgen.

Um den klinischen Nutzen von intratracheal applizierter rhDNase bei mechanisch ventilierten pädiatrischen Patienten mit Atelektasen genau bewerten zu können, sollte dieser Anwendungsbeobachtung, die unter nicht standardisierten Bedingungen durchgeführt wurde, zwingend eine prospektive, randomisierte, placebo-kontrollierte und doppelblind angelegte Studie folgen. In einer solchen kontrollierten Studie muß der primäre Zielparameter erneut überprüft werden, und es muß versucht werden, mögliche bisher nicht kalkulierte Einflüsse (Bias), zu minimieren.

#### **4.1.2. Patientenkollektiv**

Im Zeitraum von Juli 2001 bis Januar 2004 fand die klinische Untersuchung der Effektivität von intratracheal applizierter rhDNase auf Belüftungsstörungen bei mechanisch ventilierten wie auch nicht mechanisch ventilierten pädiatrischen Patienten statt.

In die Studie aufgenommen wurden insgesamt 46 intensiv-therapeutisch betreute pädiatrische Patienten im Alter von 0,06 bis 16 Jahren, die eine Belüftungsstörung entwickelten.

Das untersuchte Kollektiv der Patienten erstreckte sich über das gesamte Behandlungsspektrum der Pädiatrie (30 kardiochirurgische und 16 allgemeinpädiatrische Patienten), hier erfolgte keine vorherige Selektion.

Die Kontrollgruppe dieser Pilotstudie entstammt einer dieser Untersuchung bereits vorausgegangenen Studie [76]. Das Patientenkollektiv der Kontrollgruppe setzte sich aus 17 von 50 postoperativen Patienten der Kinderkardiologie mit und ohne Herz-Lungen-Maschinen-Einsatz im Alter von 0,02 bis 2,3 Jahren zusammen, die eine Atelektase entwickelten.

Bei einem Vergleich von Gruppe 1 mit der Kontrollgruppe sollte beachtet werden, daß Riethmüller et al. lediglich pädiatrische Patienten der Altersgruppe von 0 bis 2 Jahren untersuchten.

Die zum Vergleich dieser historischen Gruppe nachträglich gematchte Patientengruppe der Ventilationsstörungen ist nur bedingt mit der Kontrollgruppe vergleichbar. Des Weiteren muß bei einem Vergleich der gewonnenen Daten beachtet werden, daß sowohl diese Patientengruppe mit 21 Patienten, als auch die Kontrollgruppe nur 17 untersuchte Patienten umfassen und somit relativ klein sind.

Ein objektivierbarer Therapieeffekt von intratracheal applizierter rhDNase bei der Behandlung pädiatrischer Patienten mit Atelektasen kann also nur in Form einer randomisierten placebo-kontrollierten Studie verlässlich beurteilt werden. Zugleich sollte in einer solchen kontrollierten Untersuchung ein einheitliches Patientenkollektiv gewählt werden.

Von den drei in dieser Studie untersuchten Gruppen, Gruppe 1 (Atelektasen, Dystelektasen oder Minderbelüftungen), Gruppe 2 (Infiltrate) und Kontrollgruppe, sollte die Patientengruppe mit Infiltraten gesondert betrachtet werden. Hier war in den meisten Fällen eine klinische Differenzierung von Atelektase und Infiltrat beziehungsweise Pneumonie nur sehr schwer möglich.

Dies konnte von uns erst prospektiv anhand der vorliegenden radiologischen Befunde verifiziert und im weiteren Verlauf beurteilt werden.

In die Überlegungen miteinbezogen werden sollte außerdem, daß das therapeutische Vorgehen bei der Behandlung eines Infiltrates beziehungsweise einer Pneumonie ein anderes ist, als das bei der Behandlung einer Atelektase. Im Unterschied zur Atelektase ist die Schleimretention in obstruierten Bronchien beim Infiltrat bereits in ein hochentzündliches Stadium übergegangen, das in der Regel durch adäquate antibiotische Therapie und prolongierte mechanische Ventilation therapiert wird. Ähnlich vergleichbare Krankheitsbilder (ARDS, Asthma) mit erhöhter pulmonaler Inflammation wurden bereits erfolgreich mit rhDNase behandelt.

Ein Vergleich zwischen diesen unterschiedlichen Erkrankungsgruppen ist jedoch nicht zulässig. Ob und in welcher Form rekombinante humane DNase bei der Therapie von Infiltraten eingesetzt werden kann, muß daher in einer gesonderten und kontrollierten Studie untersucht werden.

## **4.2. Diskussion der Ergebnisse**

### ***4.2.1. Primäre Zielparameter***

Die Beurteilung der radiologisch verifizierbaren Verbesserung von Belüftungsstörungen (Gruppe 1) und Infiltraten beziehungsweise Pneumonien (Gruppe 2) erwies sich in einzelnen Fällen unseres Patientenkollektives als nicht einfach. Eine Abgrenzung der Atelektase zur Pneumonie war radiologisch zum Teil nur sehr schwer möglich.

Bis dato ist die qualitative Beurteilung des Verlaufes von Belüftungsstörungen sowie die Abstufung von Atelektase, Dystelektase und Minderbelüftung in der pädiatrischen Pulmonologie noch nicht standardisiert. Auf Grund dessen erfolgte die radiologische Verlaufsbeurteilung in unserer Studie anhand eines von uns erstellten Scoresystems.



Die Verbesserung der jeweiligen Belüftungsstörung wurde als prozentuale Angabe zum Ausdruck gebracht. Es ist hierbei zu bedenken, daß bei einem solchen Scoresystem keine objektivierbaren Parameter gegeben sind, es stellt lediglich eine rein subjektiv erstellte Einteilung dar. Die Beurteilung des radiologischen Befundes ist also somit von der Kompetenz des jeweiligen Radiologen abhängig. Eine Interobserveranalyse zur Minimierung von radiologischen Fehlbefundungen wurde in unserer Studie noch nicht durchgeführt.

Ein weiteres Handicap stellt die zeitliche Abfolge der Röntgenaufnahmen dar. Auf Grund der Strahlenbelastung wurden nur bei klinischer Relevanz Röntgenaufnahmen durchgeführt.

Dies erschwert die Interpretation des Behandlungserfolges unserer gewonnenen Daten, weil nicht in jedem Fall täglich der Behandlungserfolg objektiviert werden konnte. Üblicherweise werden nur in den ersten Tagen nach einer kardiochirurgischen Operation tägliche Röntgenuntersuchungen durchgeführt. Im Unterschied dazu erfolgt bei langzeitbeatmeten Patienten lediglich nach klinischer Indikation, zum Beispiel aufgrund zunehmenden Sauerstoffbedarfes, eine radiologische Kontrolluntersuchung.

Auf Grund dieser Einschränkungen scheint die radiologisch verifizierbare Verbesserung von Belüftungsstörungen als primäres Zielkriterium nur bedingt sinnvoll zu sein. Die radiologische Verlaufsbeurteilung sollte in einer kontrollierten Studie von mehreren Radiologen unabhängig voneinander durchgeführt werden. Eine Interobserveranalyse zur maximalen Minimierung von Fehlbefundungen sollte in einem standardisierten Untersuchungsprotokoll gegeben sein. Außerdem ist eine standardisierte Kontrolle der radiologisch erhobenen Befunde zu fordern, die aber aus ethischen Gründen gut durchdacht und begründet sein muß.

## **4.2.2. Sekundäre Zielparameter**

### *4.2.2.1. Inflammatorische Parameter*

Aus dem Serum aller Patienten wurden während der Behandlung mit rhDNase täglich die Gesamtleukozytenzahl, der Granulozytenanteil und das C-reaktive Protein als Parameter der inflammatorischen Reaktion bestimmt. Dies stellt die Minimalanforderung eines Immunmonitorings dar, das bei weiteren kontrollierten Studie dringend einer Erweiterung um pro- und anti-inflammatorische Zytokine und Entzündungsmediatoren sowohl im Serum als auch am Ort des Geschehens, dem broncheoalveolären System, bedarf.

Nur durch eine detailliertere Erweiterung läßt sich eine fragliche, direkte anti-inflammatorische Wirkung z.B. des untersuchten Medikamentes rhDNase nachweisen. Das gemessene CRP, das zum Vergleich aller untersuchten Gruppen herangezogen werden konnte, ist bekannt für eine langsam wirkende Immunantwort (12-24 Stunden) auf ein entzündliches Geschehen und somit nur bedingt als Vergleichsparameter tauglich.

Bei 16 Patienten aus Gruppe 1 war eine vollständige (vor und während der Therapie) detaillierte Analyse der inflammatorischen Parameter im Trachealsekret (Leukozytenzahl, DNA quantitativ, Interleukin-6, -8, -10 und LBP) möglich. Die Abnahme des Sekretes erfolgte vor und 24 Stunden nach Beginn der Therapie mit rhDNase. Insbesondere die von uns festgestellten Veränderungen der Zytokinkonzentration und der Konzentration des Lipopolysaccharid-Bindenden-Proteins deuten 24 Stunden nach Therapiebeginn schon auf eine positive Wirkung von rhDNase in Gruppe 1 hin.

Die Patientenzahl war mit jeweils 16 untersuchten Sputumproben jedoch zu gering, um eindeutige Aussagen in Bezug auf die Wirkung von rhDNase auf die Entzündungsparameter im Trachealsekret treffen zu können.

Entscheidend ist jedoch, daß diese erste Untersuchung des Verlaufes der Entzündungsparameter im Trachealsekret verglichen mit der Kontrollgruppe eine positive Tendenz erkennen läßt. Die weitere Evaluierung muß in geplanten kontrollierten Studien anhand von größeren Patientenzahlen erfolgen.

#### *4.2.2.2. Beatmungsparameter*

Über den gesamten Untersuchungszeitraum von fünf Tagen wurden sowohl in Gruppe 1 wie auch in der Kontrollgruppe die verschiedenen Beatmungsparameter ( $\text{FiO}_2$ , PIP, PEEP, AMV pro kg Körpergewicht) ermittelt.

Da das Patientenalter der beiden Gruppen stark variierte (Altersmedian Gruppe 1: 0,48 Jahre  $\pm$  4,6 Jahre, Kontrollgruppe: 0,27 Jahre  $\pm$  0,6 Jahre), wurde zum besseren Vergleich der Gruppen eine dem Alter und der Diagnose angegliche-ne Gruppe 1 (= gematchte Gruppe 1) erstellt. Der Altersmedian dieser Gruppe lag bei 0,32 Jahren, SD 0,36 und war daher mit der Kontrollgruppe gut vergleichbar.

Es konnte von uns anhand der vorliegenden Daten festgestellt werden, daß in beiden Gruppen während der fünf Behandlungstage konstant sinkende inspiratorische Sauerstoffkonzentrationen ( $\text{FiO}_2$ ) vorlagen. Die ermittelten Werte unterschieden sich zwischen den Gruppen jedoch nicht signifikant voneinander.

Der Verlauf des positiven inspiratorischen Druckes (PIP) wies nur geringfügige Abweichungen auf, hier konnte von uns keine bedeutende Änderung der Werte festgestellt werden. Was hingegen den Verlauf des positiven endexpiratorischen Druckes (PEEP) während des Beobachtungszeitraumes angeht, konnten wir deutliche Abweichungen zwischen beiden Gruppen erkennen. Alle fünf Messungen zeigten in Gruppe 1 (Atelektasen) deutlich höhere PEEP-Werte, im Mittel lagen diese Werte aus Gruppe 1 um 44% höher als die der Kontrollgruppe. Eine Erklärung hierfür ist, daß die Erhöhung des positiven endexpiratorischen Druckes bei der Therapie von Atelektasen mit zur Behandlungsstrategie gehört.

Hierdurch soll eine Verbesserung der pulmonalen Ventilation herbeigeführt werden [103]. Bei einer geplanten kontrollierten Studie muß dieser Bias in einem einheitlichen Behandlungsregime eliminiert werden.

Der Verlauf des Atemminutenvolumens pro Kilogramm Körpergewicht (AMV) beider Gruppen während der fünf Behandlungstage zeigte einen positiveren Verlauf zu Gunsten der Gruppe 1, was auf ein verbessertes Recruitment der Lunge unter der Behandlung mit rhDNase hinweist.

#### *4.2.2.3. Laktat*

Anhand der arteriellen Blutgasanalyse (BGA), jeweils zu einem festgesetzten Zeitpunkt (9.00 Uhr morgens) bestimmt, wurde die Bestimmung des Laktatwertes durchgeführt. Die in Gruppe 1 ermittelten Laktatkonzentrationen scheinen die Inflammationswerte zu bestätigen.

Sie lagen während aller fünf Untersuchungstage deutlich unter denen der Kontrollgruppe und zeigten im Verlauf eine leicht rückläufige Tendenz.

### 4.3. Schlußfolgerung

Die aus dieser Pilotstudie gewonnenen Daten unterstreichen, daß der intratracheale Einsatz von rekombinanter humaner DNase bei der Therapie von Atelektasen auch bei mechanisch ventilierten pädiatrischen Patienten ein vielversprechender medikamentöser Therapieansatz ist.

Unsere Ergebnisse zeigen ähnlich denen von Hendriks et al. [41], eine Verbesserung von Belüftungsstörungen durch intratracheal applizierte rhDNase unter mechanischer Beatmung.

RhDNase ist eine wertvolle, nicht-invasive Therapiekomponente, die bei intubierten und beatmeten Patienten, die eine Belüftungsstörung entwickelt haben, sinnvoll eingesetzt werden kann. Für die weitere Evaluierung dieses Therapieansatzes ist unbedingt eine placebo-kontrollierte, randomisiert angelegte Studie notwendig. Sie sollte mit einem einheitlich festgelegten Studiendesign durchgeführt werden. Zum Beispiel in Form einer einheitlichen mechanischen Ventilationsanpassung bei Ventilationsverschlechterung (zum Beispiel PEEP-Erhöhung), einer Interobserveranalyse sowohl der invasiven therapeutischen Maßnahmen (BAL) als auch der radiologischen Befundung, einer einheitlichen Altersgruppe und einheitlicher Grunderkrankung der Patienten.

Nicht überzeugend sind die Therapieergebnisse bei Infiltraten beziehungsweise Pneumonien. Sie lassen ein protrahiertes und / oder ein Nicht-Ansprechen vermuten, wobei hierfür Vergleichsdaten einer kontrollierten Studie zwingend notwendig sind. Diese Tendenz unserer Ergebnisse muß jedoch nochmals anhand einer kontrollierten Untersuchung überprüft werden.

## 5. Zusammenfassung

RhDNase (Dornase alfa) wird seit ungefähr zehn Jahren erfolgreich bei Patienten mit Mukoviszidose inhalativ angewendet. RhDNase zerkleinert die DNA aus dem purulenten Zelldebris im Trachealsekret und verbessert so die Fließeigenschaften (Rheologie) aufgrund der Konsistenzveränderung des Sekretes, was den Abtransport aus der Lunge erleichtert.

Wir untersuchten, ob sich die bisherigen positiven Beobachtungen auch bei beatmeten Patienten mit Beatmungskomplikationen (Atelektasen) nachvollziehen lassen.

Um den Wirkungsnachweis von intratracheal applizierter rekombinanter humaner DNase bei der Atelektasentherapie intubierter und beatmeter pädiatrischer Patienten zu bestimmen, wurde die hier vorliegende nicht-kontrollierte, prospektive, offene und monozentrische Anwendungsbeobachtung an intensivtherapeutisch betreuten pädiatrischen Patienten unter mechanischer Ventilation der Universitäts-Kinderklinik Tübingen untersucht.

Als primäres klinisches Zielkriterium untersuchten wir die radiologisch verifizierbare Verbesserung von Belüftungsstörungen (Gruppe 1) und Infiltraten (Gruppe 2) und verglichen mit einer Kontrollgruppe aus einer kontrollierten Studie, die unter NaCl 0,9%-Therapie Belüftungsstörungen entwickelten. Das Maß der entsprechenden radiologischen Verbesserung wurde in dieser Untersuchung anhand eines von uns erstellten Scoresystems beurteilt. 46 intensiv-medizinisch betreute Patienten, die 35 radiologisch gesicherte Atelektasen entwickelten, wurden zweimal täglich mit 0,1 mg/kg Körpergewicht rhDNase intratracheal therapiert. Beobachtet wurde mittels Beatmungsparameter und radiologischen Kontrolluntersuchungen, bei 16 Patienten mittels DNA-Quantifizierung, Zytologie und Zytokinexpression im Trachealsekret. Bei unveränderter Klinik wurde mittels bronchoskopischer Befunde verifiziert.

Wir fanden in Patientengruppe 1 insgesamt 35 pädiatrische Patienten mit Vorliegen einer Belüftungsstörung (Altersmedian 0,48 Jahre, SD 4,6, Minimum 22 Tage, Maximum 16,4 Jahre). Die radiologische Bewertung der Ereignisse während der Therapie mit rhDNase ergab innerhalb der ersten 24 Stunden eine signifikante Verbesserung aller Ereignisse aus Gruppe 1 um 56,4%. Nach 24 Stunden waren bereits 20 der insgesamt 51 (39,2%) Belüftungsstörungen radiologisch nicht mehr nachweisbar.

Zum Vergleich von Gruppe 1 und der Kontrollgruppe wurde von uns eine dem Alter und der Diagnose der Kontrollgruppe angegliche (= gematchte Gruppe 1) erstellt. Diese artefiziell erstellte Gruppe 1 setzte sich aus insgesamt 21 Patienten zusammen. Ihr Altersmedian lag bei 0,32 Jahren (SD 0,36), das Altersminimum war 15 Tage, das Maximum 1,65 Jahre.

Die Gruppe 2 (Infiltrate) setzte sich aus insgesamt 11 pädiatrischen Patienten zusammen (Altersmedian 1,74 Jahre, SD 4,8, Minimum 27 Tage, Maximum 14,6 Jahre). Wir fanden bei 11 Patienten 17 Infiltrate, die sich in 3 der 17 Fälle erst nach 72 Stunden, in 4 Fällen nach 96 Stunden und in 16 Fällen nach mehr als 96 Stunden unter der Behandlung mit rhDNase radiologisch nachweisbar besserten. Innerhalb der ersten 48 Stunden war radiologisch keine Verbesserung zu erkennen. Erst nach 72 Stunden zeigte sich eine geringe Verbesserung um 16,2%.

Unsere Kontrollgruppe (Therapie mit NaCl 0,9%) bestand aus insgesamt 17 intubierten und beatmeten pädiatrischen Patienten (Altersmedian 0,27 Jahre, SD 0,6, Minimum 6 Tage, Maximum 2,3 Jahre). Zu Beginn der Untersuchung wurden in der Kontrollgruppe sieben Atelektasen, neun Dystelektasen und eine Minderbelüftung diagnostiziert. Nach 24 Stunden war bei lediglich 2 von 17 (11,8%) Patienten eine Belüftungsstörung behoben, nach 72 Stunden waren 12 von 17 (70,6%) Patienten ohne Befund. Nach mehr als 96 Stunden konnte noch eine Dystelektase nachgewiesen werden.

Unsere Ergebnisse stimmen mit denen von Hendriks et al. überein, die retrospektiv bei 30 Kindern beobachtet wurden (radiologische Verbesserung bei 17 von 25 (68%) Kindern am Folgetag der Behandlung) [41].

Es ist zu bedenken, daß bei dieser vorliegenden Untersuchung die Atelektasentherapie mit rhDNase nicht unter standardisierten Bedingungen durchgeführt wurde (z.B. nicht einheitliche PEEP-Erhöhung, Intensivierung der Mukolyse, Bronchoskopie plus Lavage), so daß eine placebo-kontrollierte Studie zwingend notwendig ist.



## 6. Anhang

Atelektasen-Erhebung	
Auswertung der Röntgen-Thorax-Aufnahmen durch Dr. med. J. Wiskirchen	
Patienten-Nr.: _____	Dr. med. Jakob Wiskirchen Radiologische Universitätsklinik, Hoppe-Seyler-Str. 3, 72076 Tübingen Tel.: 07071/29 87217 Fax: 07071/29 5845 <a href="mailto:jakub.wiskirchen@med.uni-tuebingen.de">jakub.wiskirchen@med.uni-tuebingen.de</a>

Nr.	Studien-tag	Datum	Uhrzeit	Atelektasen/ Pneumonie-Score					Felder					
				0=ohne Befund 1=Dystelektase 2=Atelektase 3=Infiltrat/Pneumonie 4=Überwässerung					Rechts			Links		
				0	1	2	3	4	O	M	U	O	M	U
1				<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2				<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3				<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4				<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5				<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6				<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7				<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8				<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
9				<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
10				<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
11				<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
12				<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
13				<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
14				<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
15				<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
16				<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
17				<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
18				<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
19				<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
20				<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Bewertung: Verbesserung der Atelektase

vom Datum	um 25%	50%	75%	100%

Datum: \_\_\_\_\_ Unterschrift: \_\_\_\_\_

## 7. Literaturverzeichnis

1. Accurso FJ.  
Aerosolized Dornase Alfa in Cystic Fibrosis Patient With Clinically Mild Lung Disease.  
Dornase Alfa Clin Series 1995; 2(1): 1-6.
2. Aitken ML, Burke W, McDonald G, Shak S, Montgomery AB, Smith A.  
Recombinant human DNase inhalation in normal subjects and patients with cystic fibrosis. A phase 1 study.  
JAMA 1992; 267 (14): 1947-1951.
3. Antonelli M, Tstea G, Tritapepe L, D'Errico RR, Costa D, Giovannelli L, Riccioni L, Gasparetto A, Catena G.  
IL-8, IL-9 and ICAM-1 in serum of paediatric patients undergoing cardiopulmonary bypass with and without cardiopulmonary arrest.  
J Cardiovasc Surg 1999; 40: 803-809.
4. Bachofen M, Weibel ER.  
Alterations of the gas exchange apparatus in adult respiratory insufficiency associated with septicemia.  
Am Rev Respir Dis 1977; 116: 589-615.
5. Black CP.  
Systematic review of the biological and medical management of respiratory syncytial virus infection.  
Respir Care 2003; 48(3): 209-233.
6. Bodmann KF.  
Beatmungsassoziierte Pneumonie-Prävention und Diagnostik.  
Dtsch Med Wochenschr 2002; 127: 744-747.
7. Boeuf B, Prouix F, Morneau S, Marton D, Lacroix J.  
Safety of endotracheal rhDNase for treatment of pulmonary atelectasis in mechanically ventilated children.  
Pediatr Pulmonol 1998; 26 (2): 147.
8. Brandt T, Breitenstein S, von der Hardt H, Tümmler B.  
DNA concentration and length in sputum of patients with cystic fibrosis during inhalation with rhDNase.  
Thorax 1995; 50 (8): 880-882.

9. Casey LC.  
Role of cytokines in the pathogenesis of cardiopulmonary-induced multisystem organ failure.  
Ann Thorac Surg 1993; 56(5): 92-96.
10. Cobos N, Danés I, Gartner S, Gonzáles M, Linán S, Arnau JM.  
DNase use in the daily care of cystic fibrosis: who benefits from it and to what extent ? Results of a cohort study of 199 patients in 13 centres.  
Eur J Pediatr 2000; 159: 176-181.
11. Cook DJ, Walte SD, Cook RJ, Griffith LE.  
Incidence of and risk factors for ventilator-associated pneumonia in critically ill patients.  
Ann Int Med 1998; 129: 433-440.
12. Christopher F, Chase D, Stein K, Milne R.  
RhDNase therapy for the treatment of cystic fibrosis patients with mild to moderate lung disease.  
J Clin Pharm Ther 1999; 24: 415-426.
13. Costello CM, O'Connor CM, Finlay GA, Shiels P, FitzGerald MX, Hayes JP.  
Effect of nebulized recombinant DNase on neutrophil elastase load in cystic fibrosis.  
Thorax 1996; 51(6): 619-623.
14. Cremer J, Martin M, Redl H, Bahrami S, Abraham C, Graeter T, Haverich A, Schlag G, Borst HG.  
Systemic inflammatory response syndrome after cardiac operations.  
Ann Thorac Surg. 1996; 61(6): 1714-1720.
15. Dasgupta B, King M.  
Reduction in viscoelasticity in cystic fibrosis sputum in vitro using combined treatment with nacystelyn and rhDNase.  
Pediatr Pulmonol 1996; 22 (3): 161-166.
16. Dasgupta B, Brown NE, King M.  
Effects of sputum oscillations and rhDNase in vitro: A combined approach to treat cystic fibrosis lung disease.  
Pediatr Pulmonol 1998; 26: 250-255.

17. Davies J, Trindade MT, Wallis C, Rosenthal M, Crawford O, Bush A.  
Retrospective Review of the Effects of RhDNase in Children With Cystic Fibrosis.  
Pediatr Pulmonol 1997; 23: 243-248.
18. Desai M, Weller PH, Spencer DA.  
Clinical benefit from nebulized human recombinant DNase in Kartagener's syndrome.  
Pediatr Pulmonol 1995; 20 (5): 307-308.
19. Dockter G, Dockter A.  
Physiotherapie in der Behandlung der Mukoviszidose: von der Klopf-drainage zum ganzheitlichen Therapiekonzept.  
Medizin im Dialog 6/2000 (Sonderausgabe Mukoviszidose), 20-25.
20. Dorinsky PM, Whitcomb ME.  
The effect of PEEP on cardiac output.  
Chest 1983; 84: 210-216.
21. Douglas WW, Rehder K, Beynen FM, Sessler AD, Marsh HM.  
Improved oxygenation in patients with acute respiratory failure: the prone position.  
Am Rev Respir Dis 1977; 115(4): 559-566.
22. Durward A, Forte V, Shemie SD  
Resolution of mucus plugging and atelectasis after intratracheal rhDNase therapy in a mechanically ventilated child with refractory status asthmaticus.  
Crit Care Med 2000, 28 (2) 560-562.
23. Elmes PC, White JC.  
Deoxyribonuklease in the treatment of purulent bronchitis.  
Thorax 1953; 8: 295-300.
24. El Hassan NO, Chess PR, Hysman MW, Merkus PJ, de Jongtse JC.  
Rescue use of DNase in critical lung atelectasis and mucus retention in premature neonates.  
Pediatrics 2001 Aug; 108 (2): 468-470.

25. Ewig S, Dalhoff K, Lorenz J, Schaberg T, Welte T, Wilkens H.  
Nosokomiale Pneumonie: Empfehlungen zur Therapie und Prophylaxe.  
Pneumonologie 2000; 54: 525-538.
26. Falke KJ, Pontoppidan H, Kumar A, Leith DE, Geffin B, Laver MB.  
Ventilation with endexpiratory pressure in acute lung disease .  
J Clin Invest 1972; 51: 2315-2323.
27. Finn A, Rebuck N, Strobel S, Moat N, Elliot M.  
Systemic inflammation during paediatric cardiopulmonary bypass:  
changes in neutrophil adhesive properties.  
Perfusion 1993; 8: 39-48.
28. Flaatten H, Aardal S, Hevroy O.  
Improved oxygenation using the prone position in patients with  
ARDS.  
Acta Anaesthesiol Scand 1998; 42(3): 329-334.
29. Frering B, Philip I, Rolland C, Langlois JM, Desmots JM.  
Circulating cytokines in patients undergoing normothermic cardiopulmonary bypass.  
J Thorac Cardiovasc Surg 1994; 108(4): 636-641.
30. Fuchs HJ, Borowitz DS, Christiansen DH, Morris EM, Nash ML, Ramsey BW, Rosenstein BJ, Smith AL, Wohl ME.  
Effect of aerosolized recombinant human DNase on exacerbations of respiratory symptoms and on pulmonary function in patients with cystic fibrosis.  
N Engl J Med 1994; 331: 637-642.
31. Galvis AG, Reyes G, Nelson W.  
Bedside Management of lung collaps in children on mechanical ventilation: Saline lavage -simulated cough technique proves simple, effective.  
Pediatr Pulmonol 1994; 17: 326-330.
32. Geiser T.  
Inflammatorische Zytokine und Chemokine bei akuter, entzündlicher Lungenerkrankung.  
Schweiz Med Wochenschr 1999; 129: 540-546.

33. George DL.  
Epidemiology of nosocomial ventilator-associated pneumonia.  
*Infect Control Hosp Epidemiol* 1993; 14(3): 163-169.
34. Gershan WM, Rusakow LS, Chetty A, Splaingard ML.  
Resolution of chronic atelectasis in a child with asthma aerosolized recombinant human DNase.  
*Pediatr Pulmonol* 1994; 18: 268-269.
35. Grealley P.  
Human recombinant DNase for mucus plugging in status asthmaticus.  
*Lancet* 1995; 346 (8987): 1423-1424.
36. Green JD.  
Pharmaco-toxicological expert report Pulmozyme rhDNase Genentech, Inc.  
*Hum Exp Toxicol* 1994; 13 (Suppl 1): 1-42.
37. Grover FL, Johnson RR, Marshall G, Hammermeister KE.  
Factors predictive of operative mortality among coronary artery bypass subsets.  
*Ann Thorac Surg* 1993; 56 (6): 1296-1306.
38. Habermehl P, Knuf M, Kampmann C, Mannhardt W, Schranz D, Kuroczynski W, Wippermann CF, Zepp F.  
Changes in lymphocyte subsets after cardiac surgery in children.  
*Eur J Pediatr* 2003; 162: 15-21.
39. Hamilton WK  
Atelectasis, pneumothorax, and aspiration as postoperative complications.  
*Anesthesiology* 1961; 22: 708-722.
40. Harms HK, Matouk E, Tournier G, von der Hardt H, Weller PH, Romano L, Heijerman HG, Fitzgerald FX, Richard D, Strandvik B, Kolbe J, Kraemer R, Michalsen H.  
Multicenter, open-label study of recombinant human DNase in cystic fibrosis patients with moderate lung disease. DNase International Study Group.  
*Pediatr Pulmonol* 1998; 26 (3): 155-161.

41. Hendriks T, de Hoog M, Lequin MH, Devos AS, Merkus PJFM.  
DNase and atelectasis in non-cystic fibrosis pediatric patients.  
Crit Care Med 2005; 9: 351-356.
42. Heuckmann L, Küster P, Uekötter J.  
Erfahrungen mit der DNase –Langzeit-Therapie bei Mukoviszidose.  
Monatsschr Kinderheilkd 1999; 147: 573-576.
43. Hümmer HP, Zimmermann T, Vicedom F, Moss P.  
Operationsindikationen bei persistierender Atelektase im frühen Kindesalter.  
Zent.bl Chir 1990; 115: 1533-1542.
44. Hyers TM, Tricomi SM, Dettenmeier PA, Fowler AA.  
Tumor necrosis factor levels in serum and bronchoalveolar lavage fluid of patients with the adult respiratory distress syndrome.  
Am Rev Respir Dis 1991; 144: 268-271.
45. Ito H, Hamano K, Gohra H, Katoh T, Fujimura Y, Tsuboi H, Esato K.  
Relationship between respiratory distress and cytokine response after cardiopulmonary bypass.  
Jpn J Surg 1997; 27: 220-225.
46. Jorens PG, De Jongh R, De Backer W, Van Damme J, Van Overveld F, Bossaert L, Walter P, Herman AG, Rampart M.  
Interleukin-8 production in patients undergoing cardiopulmonary bypass. The influence of pre-treatment with methylprednisolone.  
Am Rev Respir Dis 1993 Oct; 148(4 Pt 1): 890-895.
47. Kaul TK, Fields BL, Riggins LS, Wyatt DA, Jones CR, Nagle D.  
Adult respiratory distress syndrome following cardiopulmonary bypass: incidence, prophylaxis and management.  
J Cardiovasc Surg (Torino) 1998; 39(6): 777-781.
48. King M, Dasgupta B, Tomkiewicz RP, Brown NE.  
Rheology of cystic fibrosis sputum after in vitro treatment with hypertonic saline alone and in combination with recombinant human deoxyribonuclease I .  
Am J Crit Care Med 1997; 156 (1):173-177.

49. Kirchner KK, Wagener JS, Khan TZ, Copenhaver SC, Accurso FJ.  
Increased DNA levels in bronchoalveolar fluid obtained from infants with cystic fibrosis.  
Am J Respir Crit Care Med 1996; 154: 1426–1429.
50. Konstan MW, Berger M.  
Current understanding of inflammatory process in cystic fibrosis: onset and etiology.  
Pediatr Pulmonol 1997; 24: 137-142.
51. Laube BL, Auci R.M., Shields DE, Christiansen DH, Lucas MK, Fuchs H.J, Rosenstein BJ.  
Effect of rhDNase on Airflow Obstruction and Mucociliary Clearance in Cystic Fibrosis.  
Am J Respir Crit Care Med 1996; 153: 752-760.
52. Levin DL, Morriss FC.  
Essentials of Pediatric Intensive Care.  
Churchill Livingstone Publishing Inc., 1997.
53. Liebermann J.  
Dornase aerosol effect on sputum viscosity in cases of cystic fibrosis.  
Jama 1968; 205: 312-313.
54. Lindemann H, Tümmler B, Dockter G.  
Mukoviszidose – Zystische Fibrose.  
Thieme, Stuttgart, 4., neubearb. u. erw. Aufl. 2004.
55. McBride WT, Armstrong MA, Gilliland H, McMurray TJ.  
The balance of pro and anti-inflammatory cytokines in plasma and bronchoalveolar lavage (BAL) at pediatric cardiac surgery.  
Cytokine 1996; 8(9): 724-729.
56. Merkus PJ, de Hoog M, van Gent R, de Jongste JC.  
DNase treatment for atelectasis in infants with severe respiratory syncytial virus bronchiolitis.  
Eur Respir J 2001 Oct; 18: 734-737.
57. Naik S, Greenough A, Giffin FJ, Baker A.  
Manoeuvres to elevate mean airway pressure, effects on blood gases and lung function in children with and without pulmonary pathology.  
Eur J Pediatr 1998; 157: 309-312.



58. Nasr SZ, Strouse PJ, Soskolne E, Maxvold NJ, Garver KA, Rubin BK, Moler FW.  
Efficacy of Recombinant Human Deoxyribonuclease I in the Hospital Management of Respiratory Syncytial Virus Bronchiolitis.  
*Chest*. 2001; 120: 203–208.
59. Oberwaldner B, Zach MS.  
Die sekretfördernde Atemphysiotherapie in der pädiatrischen Pneumologie.  
*Schweiz Med Wochenschr* 2000; 130: 711-719.
60. O'Donnell AE, Barker AF, Ilowite JS, Fick RB.  
Treatment of idiopathic bronchiectasis with aerosolized recombinant human DNase I. RhDNase Study Group.  
*Chest* 1998; 113 (5): 1329–1334.
61. Osika E, Cavallion JM, Chadelat K, Boule M, Fitting C, Tournier G, Clement A.  
Distinct sputum cytokines in cystic fibrosis and other chronic inflammatory airway disease.  
*Eur Respir J* 1999; 14: 339-346.
62. Papazian L, Bregeon F, Thirion X, Gregoire R, Saux P, Denis JP, Perin G, Charrel J, Dumon JF, Affray JP, Gouin F.  
Effect of ventilator-associated pneumonia on mortality and morbidity.  
*Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154: 91-97.
63. Patel A, Harrison E, Durward A, Murdoch IA.  
Intratracheal recombinant human desoxyribonuclease in acute life-threatening asthma refractory to conventional therapy.  
*British J. of Anesthesia* 2000; 84 (4): 505-507.
64. Peroni DG, Boner AL.  
Atelectasis: mechanisms, diagnosis and management.  
*Paediatr Respir Rev. Review* 2000; 1(3): 274-278.
65. Piehl MA, Brown RS.  
Use of extreme position changes in acute respiratory failure.  
*Crit Care Med* 1976; 4(1): 13-14.
66. Puchelle E, Zahm JM, de Nentzmann S, Grosskopf C, Shak S, Mougel D, Polu JM.  
Effects of rhDNase on purulent airway secretions in chronic bronchitis.  
*Eur Respir J* 1996; 9 (4): 765–769.

67. Pugin J, Ricou B, Steinberg KP, Suter PM, Martin TR.  
Proinflammatory activity in bronchoalveolar lavage fluids from patients with ARDS, a prominent role for interleukin-1.  
J Respir Crit Care Med 1996; 153: 1850-1856.
68. Puterman AS, Weinberg EG.  
RhDNase in acute asthma.  
Pediatr Pulmonol 1997; 23 (4): 316–317.
69. Quan JM, Tiddens HAWM, Sy JP, McKenzie SG, Montgomery MD, Robinson PJ, Wohl MEB, Konstan MW.  
A two-year randomized, placebo-controlled trial of dornase alfa in young patients with cystic fibrosis with mild lung function abnormalities.  
J Pediatr 2001; 139: 813–820.
70. Raskin P.  
Bronchospasm after inhalation of pancreatic Dornase.  
Am Rev Respir Dis 1968; 98: 697-698.
71. Ratjen F, Rietschel E, Grises M, Ballmann M, Kleinau I, Döring G, Reinhardt D, Paul K.  
Fractional analysis of bronchoalveolar lavage fluid cytology in cystic fibrosis patients with normal lung function.  
Eur Respir J 2000; 15: 141-145.
72. Reines HD, Sade M, Bradford B, Marshall J.  
Chest physiotherapy fails prevent postoperative atelectasis in children after cardiac surgery.  
Ann Surg 1982; 195 (4): 451-455.
73. Reinhardt D.  
Therapie der Krankheiten im Kindes-und Jugendalter.  
Springer 2004.
74. Reiter PD, Townsend SF, Velasquez R.  
Dornase alfa in premature infants with severe respiratory distress and early bronchopulmonary dysplasia.  
J of Perinatology 2000; 20: 530–534.
75. Rello J, Quintana E, Ausina V, Castella J, Luquin M, Net A, Prats G.  
Incidence, etiology and outcome of nosocomial pneumonia in mechanically ventilated patients.  
Chest 1991; 100: 439-444.

76. Rello J, Torres A.  
Microbial causes of ventilated-associated pneumonia.  
Sem Respir Infect 1996; 11: 24-31.
77. Riethmueller J, Borth-Bruhns T, Kumpf M, Vonthein R, Wiskirchen J, Stern M, Hofbeck M, Baden W.  
Recombinant human Deoxyribonuclease shortens ventilation time in young, mechanically ventilated children.  
Pediatr Pulmonol 2005; 00: 1-6.
78. Riethmueller J, Vonthein R, Borth-Bruhns T, Grassmé H, Eyrich M, Schilbach K, Stern M, Gulbins E.  
DNA Quantification and Fragmentation in Sputum after Inhalation of Recombinante Human Deoxyribonuklease.  
Cell Physiol Biochem 2008; 22: 347-352.
79. Deschner N, Vonthein R, Brehm W, Riethmüller J.  
Influence of rhDNase on the duration of mechanical ventilation in intensive care patients.  
European Journal of Anaesthesiology 2008; 25, Supp 44.
80. Rivera R, Tibballs J.  
Complications of endotracheal intubation and mechanical ventilation in infants and children.  
Crit Care Med 1992; 20(2): 193-199.
81. Rochat T, Pastore FD, Schlegel-Häuter SE, Filthuth I, Auckenthaler R, Belli D, Suter S.  
Aerolized rhDNase in cystic fibrosis: eeffect on leucocyte proteases in sputum.  
Eur Respir J 1996; 9 (11): 2200–2206.
82. Rogers MC, Helfaer MA.  
Handbook of Pediatric Intensive Care  
Lippincott Williams and Wilkins,1999.
83. Roper PC, Vonwiller JB, Fisk GC, Gupta JM.  
Lobar atelectasis after nasotracheal intubation in newborn infants.  
Aust Paediatr J 1976; 12: 272-293.
84. Rubin BK.  
Who will benefit from DNase ?  
Pediatr Pulmonol 1999; 27: 3-4.

85. Saatvedt K, Lindberg H, Geiran OR, Michelsen S, Aasen AO, Pedersen T, Mollnes TE.  
Complement activation and release of tumor necrosis factor alpha, interleukin-2, interleukin-6 and soluble tumor necrosis factor and interleukin-2 receptors during and after cardiopulmonary bypass in children.  
Scan J Clin Lab Invest 1995; 55(1): 79-86.
86. Saatvedt K, Lindberg H, Michelsen S, Pedersen T, Seem E, Geiran O.  
Release of soluble tumour necrosis factor alpha receptors during and after paediatric cardiopulmonary bypass. Correlation with haemodynamic and clinical variables.  
Cytokine 1996; 8(12): 944-948.
87. Salomon A, Herchus JA, Segal MS.  
Aerosols of pancreatic Dornase in bronchopulmonary disease.  
Annals of Allergy 1954; 12: 71-79.
88. Serafini G, Cornara G, Cavalloro F, Mori A, Dore R, Marraro G, Braschi A.  
Pulmonary atelectasis during paediatric anaesthesia: CT scan evaluation and effect of positive endexpiratory pressure (PEEP).  
Paediatr Anaesth 1999; 9(3): 225-228.
89. Sha PL, Scott SF, Hodson ME.  
Lobar atelectasis in cystic fibrosis and treatment with recombinant human DNase I.  
Resp Med 1994; 88: 313-315.
90. Shah PL, Scott SF, Knight RA, Marriott C, Ranashina C, Hodson ME.  
In vivo effect of rhDNase I on sputum in patients with cystic fibrosis.  
Thorax 1996b; 51 (2): 119-125.
91. Shah PL, Hodson ME.  
New treatment strategies in cystic fibrosis: rhDNase.  
Monaldi Arch Chest Dis 1996c; 51 (2):125-129.
92. Shah PL, Conway S, Scott SF, Rainisio M, Widman M, Stableforth D, Hodson ME.  
A Case-Controlled Study with Dornase Alfa to Evaluate Impact on Disease Progression over a 4-Year Period.  
Respiration 2001; 68.

93. Shak S, Capon DJ, Hellmiss R, Marsters SA, Baker CL.  
Recombinant human DNase I reduces the viscosity of cystic fibrosis sputum.  
Proc Natl Acad Sci USA 1990; 87: 9188-9192.
94. Shevland JE, Hirleman MT, Hoang KA, Kealey GP.  
Lobar collapse in the surgical intensive care unit.  
Br J Radiol 1983; 56: 531-534.
95. Slattery DM, Waltz DA, Denham B, O' Mahony M, Greally P.  
Bronchoscopically administered recombinant human DNase for lobar atelectasis in cystic fibrosis.  
Pediatr Pulmonol 2001, 31: 383-388.
96. Soubani AO, Pieroni R.  
Acute respiratory distress syndrome: a clinical update.  
South Med J 1999; 92(5):450-457.
97. Spier R, Witebsky E, Paine JR.  
Aerosolized pancreatic Dornase and antibiotics in pulmonary infections.  
Jama 1961; 178: 878-886.
98. Spivack SD, Shinozaki T, Albertini JJ, Deane R.  
Preoperative prediction of postoperative respiratory outcome. Coronary artery bypass grafting.  
Chest 1996; 109(5): 1222-1230.
99. Steinkamp G.  
Rekombinante humane DNase (Dornase alfa) bei Mukoviszidose.  
Monatsschr Kinderheilkd 2001; 149: 1231-1241.
100. Suter PM, Suter S, Girardin E, Roux-Lombard P, Grau GE, Dayer JM.  
High bronchoalveolar levels of tumor necrosis factor and its inhibitors, interleukin-1, interferon, and elastase, in patients with adult respiratory distress syndrome after trauma, shock or sepsis.  
Am Rev Respir Dis 1992; 145: 1016-1022.
101. Tárnok A, Hamsch J, Schneider P.  
Cardiopulmonary bypass-induced increase of serum Interleukin-10 levels in children.  
J Thorac Cardiovasc Surg 1998; 115: 475-457.

102. Ten Berge M, Brinkhorst G, Kroon AA, de Jongste JC.  
DNase treatment in primary ciliary dyskinesia-assessment by nocturnal pulse oximetry.  
Pediatr Pulmonol 1999; 27: 59-61.
103. Thomas K, Habibi P, Britto J, Owens CM.  
Distribution and pathophysiology of acute lobar collaps in the paediatric intensive care unit.  
Crit Care Med 1999; 27 (8): 1594-1597.
104. Tiddens HAWM, McKenzie SG, Wohl ME, Konstan MW, Quan JM, Sy JP.  
Pulmozyme Reduces Risk of Pulmonary Exacerbation and Improves FEF<sub>25-75</sub> & FEV<sub>1</sub> in Young Patients with Cystic Fibrosis and Mild Lung Disease: Results of PEIT Study  
International Pediatric Respiratory and Allergy Congress 4/2001.
105. Touleimat BA, Conoscenti CS, Fine JM.  
Recombinant human DNase in management of lobar atelectasis due to retained secretions.  
Thorax 1995; 50 (12): 1319–1321.
106. Voelker KG, Chetty KG, Mahutte CK.  
Resolution of recurrent atelectasis in spinal cord injury patients with administration of recombinant human DNase.  
Intensive Care Med 1996; 22 (6): 582–584.
107. Wan S, LeClerc JL, Vincent JL.  
Cytokine response to cardiopulmonary bypass lessons learned from cardiac transplantation.  
Ann Thorac Surg 1997; 63(1): 269-276.
108. Ware LB, Matthay MA.  
The acute respiratory distress syndrome.  
N Engl J Med 2000; 342(18):1334-1349.
109. Wightman JAK.  
A prospective survey of the incidence of postoperative pulmonary complications.  
Br J Surg 1976; 55: 85-91.
110. Whitfield JM, Jones MD Jr.  
Atelectasis associated with mechanical ventilation for hyaline membrane disease.  
Crit Care Med 1980; 8: 729-732.

111. Wills PJ, Wodehouse T, Corkery K, Mallon K, Wilson R, Cole PJ.  
Short-term recombinant human DNase in bronchiectasis. Effect on  
clinical state and in vitro sputum transportability.  
Am J Respir Crit Care Med 1996; 154 (21): 413–417.

## **DANKSAGUNG**

An dieser Stelle möchte ich Herrn Professor Dr. L. Sieverding für die Überlassung dieses interessanten Themas danken.

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Dr. J. Riethmüller für seine wertvollen fachlichen Anregungen und Ratschläge und seine unermüdliche Unterstützung, die mir das Bewältigen dieser Dissertation erleichtert haben.

Meinen Eltern danke ich von Herzen für die liebevolle Unterstützung und den Rückhalt, den sie mir während der ganzen Zeit meines Studiums und der Dissertation gegeben haben. Ihre ermutigenden Worte haben mein Durchhaltevermögen immer wieder gestärkt.

Für seine wirklich unendliche Geduld, die er mir während der Entstehung dieser Arbeit entgegengebracht hat und seine Hilfestellung bei computertechnischen Problemen danke ich Oliver.



**LEBENS LAUF**

**Name** Cosima Ankele  
**Geburtsdatum** 12.01.1978  
**Geburtsort** Stuttgart  
**Nationalität** deutsch  
**Eltern** Ulrike Ankele-Kirchhoff, Krankenschwester  
Dr. med.dent. Ernst Ankele, Zahnarzt

**Schul Ausbildung**

1984-1988 Grundschule Dußlingen  
1988-1997 Carlo-Schmid-Gymnasium, Tübingen  
1997 Abitur am Carlo-Schmid-Gymnasium, Tübingen

**Studium und Beruf**

1998 - 2003 Studium der Zahnmedizin, Universität Tübingen  
März 1999 Naturwissenschaftliche Vorprüfung, Universität Tübingen  
April 2001 Zahnärztliche Vorprüfung, Universität Tübingen  
19.11.2003 Zahnärztliche Prüfung, Universität Tübingen  
05.12.2003 Approbation als Zahnärztin, Universität Tübingen  
  
2004 - 2006 Vorbereitungsassistentin in der Zahnarztpraxis  
Dr. C. - P. Seidel, Neckartenzlingen  
2006 - 2007 Zahnärztliche Assistentin in der Zahnarztpraxis  
Dr. Ernst Ankele, Dußlingen  
  
April 2007 Niederlassung als Zahnärztin in Gemeinschaftspraxis mit Dr. Ernst Ankele in Dußlingen