

**Wird die pulmonale Inflammationsreaktion beatmungs-
bedürftiger Frühgeborener durch moderate permissive
Hyperkapnie beeinflusst?**

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
der Medizinischen Fakultät
der Universität Ulm

vorgelegt von
Sarah Gentner
geb. Ellwangen (Jagst)

Ulm, 2014

Amtierender Dekan: Prof. Dr. Thomas Wirth

1. Berichterstatter: Prof. Dr. Ulrich Thome

2. Berichterstatter: Prof. Dr. Karl-Heinz Orend

Tag der Promotion: 24. Oktober 2014

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	VI
1 EINLEITUNG.....	1
1.1 PATHOGENESE	4
1.2 RISIKOFAKTOREN.....	5
1.2.1 Frühgeburt und Unreife	6
1.2.2 Vorzeitiger Blasensprung	7
1.2.3 Persistierender Ductus arteriosus (PDA)	7
1.2.4 Pränatale und nosokomiale Infektion	8
1.2.5 Maschinelle Beatmung	9
1.2.6 Sauerstofftoxizität.....	10
1.3 INFLAMMATORISCHE MECHANISMEN DER BPD.....	11
1.3.1 Zelluläre und lösliche Mediatoren im Trachealsekret.....	12
1.3.2 Proteolytische und oxidative Lungenschädigung	16
1.3.3 Reparaturmechanismen und Wachstumsfaktoren	19
1.3.4 Pulmonale mikrovaskuläre Permeabilität	20
1.4 PROPHYLAXE UND THERAPIE DER BPD.....	21
1.4.1 Pränatale Steroide.....	22
1.4.2 Surfactant.....	22
1.4.3 Methylxanthine	23
1.4.4 Dexamethason	23
1.4.5 Vitamin A	23
1.4.6 Verschluss des PDAs.....	24
1.4.7 Diuretika	24
1.4.8 Beatmungsstrategien	24
1.5 FRAGESTELLUNG.....	27
2 MATERIAL UND METHODEN.....	29
2.1 PATIENTENKOLLEKTIV	29
2.1.1 Randomisierung	30
2.1.2 Intervention.....	32
2.2 TRACHEALSEKRETGEWINNUNG UND -AUFBEREITUNG.....	32

2.2.1	Sammeln und Asservieren des Trachealsekrets.....	32
2.3	METHODEN DER IMMUNOLOGISCHEN UND BIOCHEMISCHEN ANALYSE.....	33
2.3.1	Messmethoden.....	33
2.4	MATERIAL.....	37
2.4.1	Geräte.....	37
2.4.2	Laborbedarf.....	37
2.5	STATISTISCHE ANALYSE DER DATEN.....	38
2.5.1	Erhebung der Daten.....	38
2.5.2	Daten zum Outcome.....	38
2.5.3	Statistische Analyse der Daten.....	39
3	ERGEBNISSE.....	42
3.1	TESTUNG AUF DEMOGRAPHISCHE UND KLINISCHE UNTERSCHIEDE ZWISCHEN DER KONTROLLGRUPPE UND DER INTERVENTIONSGRUPPE.....	43
3.2	TESTUNGEN DER HYPOTHESE.....	47
3.2.1	Ergebnisse zu Hypothese 1.....	47
3.2.2	Ergebnisse zu Hypothese 2.....	58
4	DISKUSSION.....	60
4.1	DISKUSSION DER ERGEBNISSE DER GETESTETEN HYPOTHESEN.....	60
4.2	RESPIRATORISCHES OUTCOME.....	65
4.3	INTERPRETATION DER KLINISCHEN DATENANALYSE.....	66
4.4	DISKUSSION DES STUDIENPLANS.....	68
4.5	FAZIT.....	72
5	ZUSAMMENFASSUNG.....	74
6	LITERATURVERZEICHNIS.....	76
	DANKSAGUNG.....	IX
	LEBENS LAUF.....	X

Abkürzungsverzeichnis

α_1 -PI	α_1 -Proteinase-Inhibitor
AG	Antigen
AK	Antikörper
AMGF	Alveolar Macrophage-derived Growth Factor
APGAR	Herzfrequenz, Atemanstrengung, Reflexauslösbarkeit, Muskeltonus, Hautfarbe (Score zur klinischen Beurteilung von Neugeborenen)
ARDS	Acute Respiratory Distress Syndrome
ASMase	Acide Sphingomyelinase
BAL	Bronchoalveoläre Lavage
BCA	Bicinchoninic Acid
BPD	Bronchopulmonale Dysplasie
C5a	Complement component 5a
C ¹⁴	Kohlenstoff Isotop
CAP	Caffeine for Apnea of Prematurity (Studie)
CD11b/CD18	Zelloberflächenrezeptor
CHCl ₃ /CH ₃ OH	Chloroform/Methanol
CLD	Chronic Lung Disease
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
CPAP	Continuous Positive Airway Pressure
CRF	Case Report Form
DNA	Deoxyribonucleic Acid
E α_1 -PI	Elastase α_1 -Proteinase Inhibitor
ELBW	Extremely Low Birthweight, < 1000 g Geburtsgewicht
ELISA	Enzyme-Linked-Immuno-Sorbent-Assay
FiO ₂	Fraction of inspired Oxygen
GFRP	Growth Factor Related Protein
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
HFOV	High Frequency Oscillatory Ventilation
HRP	Horseradish Peroxidase
ICAM	Intercellular Adhesion Molecule

IgA	Immunglobulin A
IGF	Insulin-like Growth Factor
IL	Interleukin
iNO	inhalatives Stickstoffmonoxid
IPPV	Intermittent Positive Pressure Ventilation
IVH	Intraventricular Hemorrhage
LPS	Lipopolysaccharide
LT	Lebenstag
LTB ₄	Leukotrien B ₄
MCP	Monocyte Chemotactic Protein
MHC	Milde Hyperkapnie
MIP-1 α	Macrophage Inflammatory Protein-1 α
n	Stichprobengröße
NaCl	Natriumchlorid
NEC	Nekrotisierende Enterokolitis
NICHD/NIH	National Institute of Child Health and Human Development
NO	Stickstoffmonoxid
NPY	Neuropeptid Y
Φ	Makrophag
O ₂ ⁻	Sauerstoffradikal
OH•	Hydroxyl-Radikal
PaCO ₂	Kohlenstoffdioxid Partialdruck
PAF	Platelet Activating Factor
PaO ₂	Sauerstoffpartialdruck
PDA	Persistierender Ductus arteriosus
PDGF	Platelet Derived Growth Factor
PEEP	Positive Endexpiratory Pressure
PHC	Permissive Hypercapnia; hier: moderate permissive Hyperkapnie
PHELBI	Permissive Hypercapnia in Extremely Low Birthweight Infants
PIE	Pulmonales Interstitielles Emphysem
pm	post menstruationem
PPHN	Persistierende Pulmonale Hypertonie des Neugeborenen

PVL	Periventrikuläre Leukomalazie
RDS	Respiratory Distress Syndrome
RM-ANOVA	Repeated Measures - Analysis of Variance
ROP	Retinopathia praematurorum
ROS	Reactive Oxygen Species
SA-HRP	Streptavidin-Horseradish Peroxidase
SA-PE	Streptavidin-Phycoerythrin
SD	Standardabweichung
sICAM	soluble Intercellular Adhesion Molecule
slgA	sekretorisches Immunglobulin A
SOD	Superoxiddismutase
SP-A	Surfactant Protein-A
SSW	Schwangerschaftswoche
TGF	Transforming Growth Factor
TNF	Tumornekrosefaktor
TS	Trachealsekret
UKOS	United Kingdom Oscillation Study
VLBW	Very Low Birthweight, < 1500 g Geburtsgewicht
Wo.	Woche

1 Einleitung

Die bronchopulmonale Dysplasie (BPD) ist eine chronische Lungenerkrankung [73], die sich während der Neonatalperiode [125] aus einer akuten Lungenschädigung im Rahmen eines akuten Atemnotsyndroms (RDS) [97] entwickelt. Die BPD zeichnet sich durch arterielle Hypoxämie bei Raumluft [49], eine dadurch bedingte Sauerstoffabhängigkeit über die Dauer von mindestens 28 Tagen sowie durch chronische Atemnot aus [34]. Weiter geben radiologische Abnormitäten des Röntgen-Thorax Anhalt für eine BPD [34, 49, 61]. Es wird davon ausgegangen, dass die BPD pathogenetisch mit einer signifikanten Entzündungsreaktion der Atemwege und der Lunge [34, 94, 96], sowie mit gestörten Heilungsprozessen [3, 12, 96] assoziiert ist. Diese Annahme wird durch den Nachweis erhöhter Konzentrationen von Entzündungsmediatoren im Trachealsekret maschinell beatmeter Frühgeborener, die eine BPD entwickelten, unterstützt. Allerdings konnten die Faktoren, die der bronchoalveolären Entzündung zugrunde liegen, bisher nicht sicher identifiziert werden [34]. Als wesentliche Risikofaktoren werden eine Exposition gegenüber hohen Sauerstoffkonzentrationen sowie ein beatmungsassoziiertes Baro- und Volutrauma und nicht zuletzt respiratorische Infektionen erachtet [63, 94, 96, 125].

Erstmalig beschrieben Northway et al. 1967 die bronchopulmonale Dysplasie [73, 125] als eine schwere, durch Sauerstoff und maschinelle Beatmung Frühgeborener verursachte Lungenschädigung [1, 5, 40, 57]. Bereits Northway erkannte bei frühgeborenen Kindern mit akutem Atemnotsyndrom, die mit intermittierend positivem Druck (IPPV) beatmet wurden, im Röntgen-Thorax charakteristische radiologische Muster der chronischen Lungenerkrankung [125]. Histopathologisch zeigten sich in den Lungen verstorbener Kinder bei dieser klassischen Form der BPD („old BPD“) insbesondere Epithelmetaplasien, eine Hypertrophie der glatten Muskulatur sowie eine Lungenfibrose [39, 40].

Durch Fortschritte in der neonatologischen und perinatalen Versorgung [102, 110], die die Gabe pränataler Steroide, Surfactanttherapie [36, 102, 125] und sanftere Beatmungsstrategien beinhalten, entwickeln größere Frühgeborene mit einem Geburtsalter zwischen 28 und 32 Gestationswochen und einem Geburtsgewicht

zwischen 1000 und 1500 g nur noch selten eine BPD [8, 40, 57, 95]. Die dennoch zu beobachtende Inzidenzzunahme der BPD [3, 57] ist auf die Tatsache zurückzuführen, dass gleichzeitig die Überlebensrate sehr kleiner Frühgeborener stieg [4, 77, 104, 125]. Unter diesen extrem unreifen Neugeborenen mit einem Gewicht unter 1000 g (ELBW) ist die BPD mit einer Inzidenz von 30 % [40] die häufigste Komplikation [57] und stellt damit immer noch eine große Herausforderung für die Neonatologie dar [102]. Zusätzlich zu den epidemiologischen Veränderungen hat sich auch das histopathologische Bild der BPD gewandelt. Während Fibrose und Zellproliferation die klassische Form der BPD kennzeichneten [1, 40], dominieren bei den extrem unreifen Neugeborenen alveoläre Hypoplasie sowie mangelnde azinäre und vaskuläre Entwicklung das Bild. Diese neue Form der BPD ging als „new BPD“ in die Literatur ein [8, 39, 84]. Nach mehrmaliger Änderung wurde die BPD im Jahr 2000 vom National Institute of Child Health and Human Development (NICHD) neu definiert [40, 101]. Während initial die Diagnose abhängig vom Sauerstoffbedarf im Alter von 28 Tagen, persistierender Atemnot sowie charakteristischen radiologischen Veränderungen im Röntgen-Thorax gestellt wurde, wurde nach Shennan et al. 1988 die BPD anhand des Sauerstoffbedarfs im postmenstruellen Alter von 36 Wochen diagnostiziert [18].

Gemäß der neuen diagnostischen Kriterien des NICHD wird bei frühgeborenen Kindern die Diagnose einer BPD gestellt, wenn sie mindestens 28 Tage zusätzlichen Sauerstoff benötigen. Abhängig vom Ausmaß der respiratorischen Unterstützung im Alter von 36 Wochen post menstruationem erfolgt eine Klassifizierung der Erkrankung in mild (kein erhöhter Sauerstoffbedarf), moderat (Sauerstoffbedarf/ $\text{FiO}_2 < 30\%$) oder schwer (Sauerstoffbedarf/ $\text{FiO}_2 > 30\%$ und/oder maschinelle Beatmung bzw. CPAP). Zusätzlich wurde vorgeschlagen, den Namen BPD, anstatt des unspezifischen Terms chronische Lungenerkrankung (CLD), beizubehalten [40, 101].

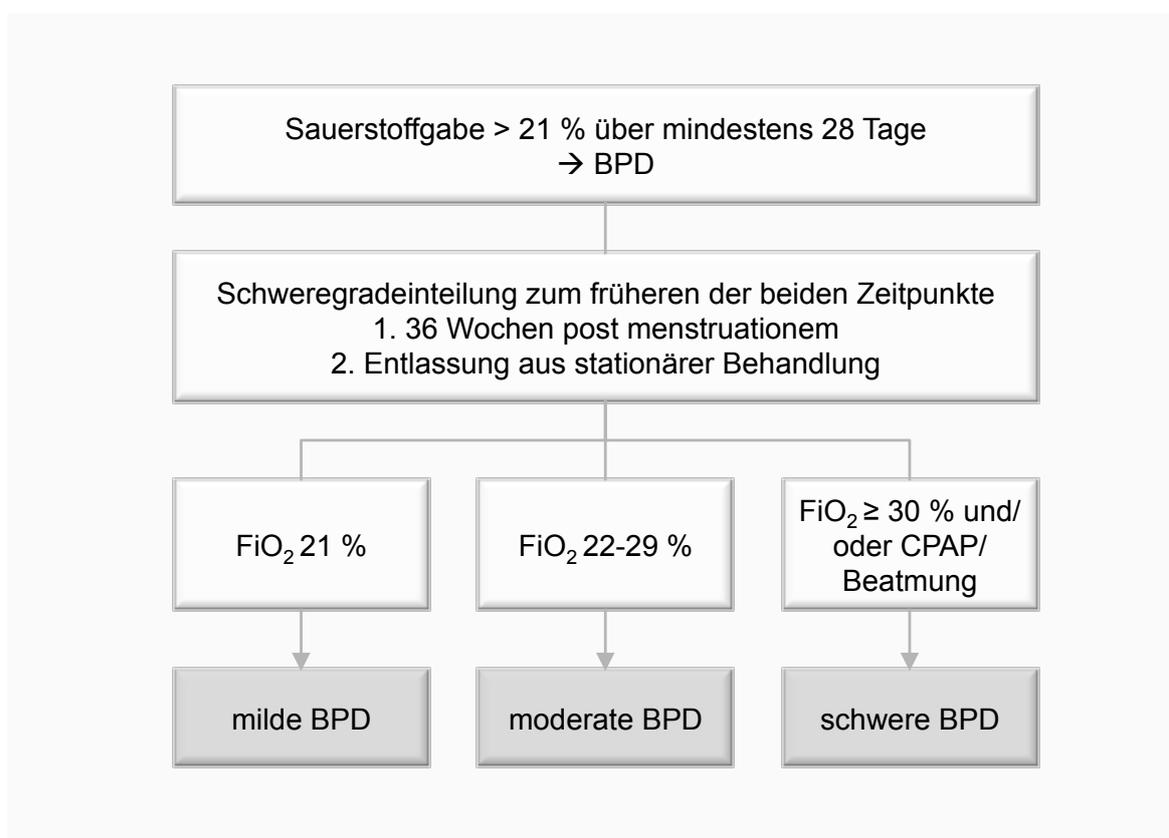


Abbildung 1: Definition und Schweregradeinteilung der bronchopulmonalen Dysplasie nach Jobe und Bancalari [40].

Da die künstliche Sauerstoffzufuhr als solche kein absolut objektives Kriterium darstellt, erarbeiteten Walsh et al. ergänzend eine „physiologische“ Definition der BPD, wonach Frühgeborene mit zusätzlichem Sauerstoffbedarf $< 30\%$ im Alter von 36 Wochen post menstruationem einem Reduktionstest unterzogen werden. Hierbei wird in definierten Schritten der zusätzliche Sauerstoff bis auf Raumluftniveau reduziert. Frühgeborene, die unter Raumluft über einen Zeitraum von einer halben Stunde die Sauerstoffsättigung $> 90\%$ halten können, haben der Definition von Walsh et al. zufolge keine BPD. Frühgeborene mit zusätzlichem Sauerstoffbedarf $> 30\%$, maschineller Beatmung oder CPAP im Alter von 36 Wochen post menstruationem erhalten ohne weitere Testung die Diagnose BPD (Abbildung 2). Mit dieser Definition sind Walsh et al. die Einzigen, die eine BPD anhand einer Untergrenze der Sauerstoffsättigung diagnostizieren [111, 112].

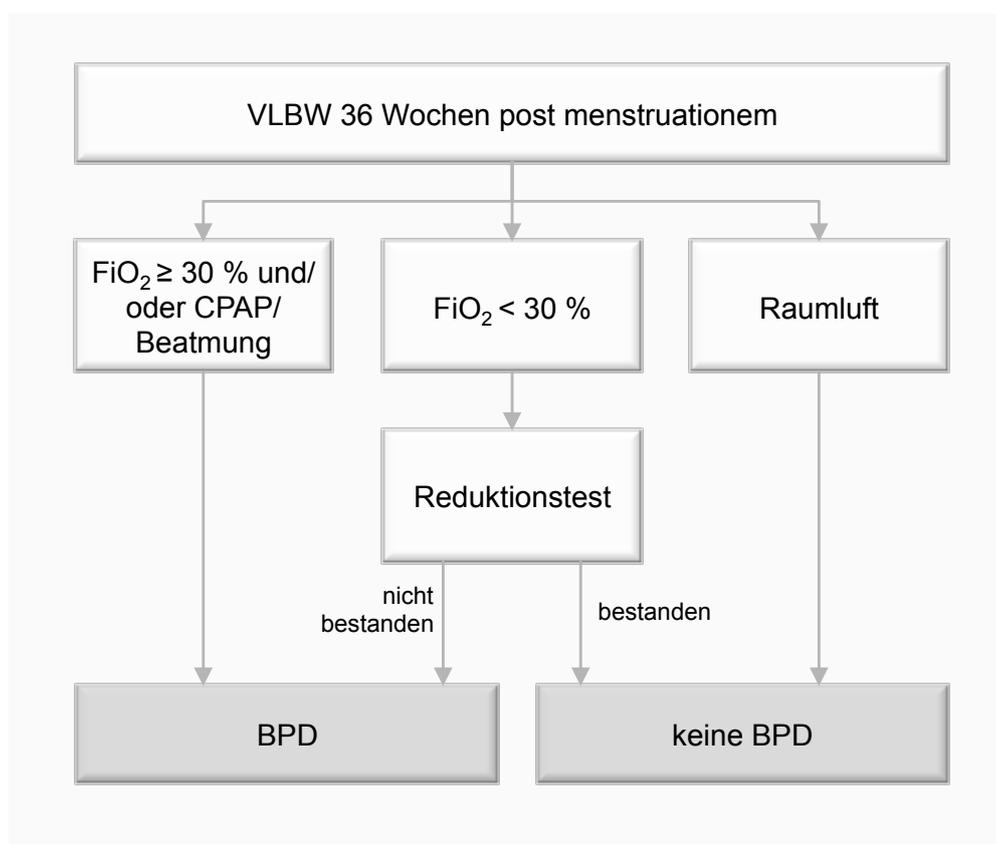


Abbildung 2: "Physiologische" Definition der BPD nach Walsh et al [111, 112].

1.1 Pathogenese

Die pathogenetischen Mechanismen der Lungenschädigung sind multifaktoriell und nicht komplett geklärt [31, 93]. Während des letzten Jahrzehnts haben sich die Erkenntnisse über die Pathogenese der BPD jedoch beträchtlich erweitert [94, 101].

Für die Entwicklung einer bronchopulmonalen Dysplasie bei Kindern mit extrem niedrigem Geburtsgewicht sind verschiedene postnatale Faktoren verantwortlich. Zu diesen zählen primär die Unreife der Lunge, die häufig ein akutes Atemnotsyndrom bedingt und der daraus oftmals resultierende Bedarf maschineller Beatmung. Mit der maschinellen Beatmung geht sowohl die Gefahr der Sauerstofftoxizität durch Hyperoxie als auch die Gefahr der mechanischen Schädigung der Lunge in Form eines Baro- und Volutraumas einher. Des Weiteren können Reanimation, Infektionen, Hyperhydratation und persistierender Ductus arteriosus (PDA) mit sekundär gesteigerter Lungenperfusion ursächlich für eine Lungenschädigung sein [33, 73, 92-96]. Kinder mit extrem niedrigem Geburtsgewicht, die initial keine

oder nur minimale Anzeichen eines RDS hatten, allerdings einem Amnioninfektionssyndrom [40] oder postnatal früh einer pulmonalen oder systemischen Infektion ausgesetzt waren [8, 94-96], können in der Folge ebenfalls eine BPD entwickeln [33, 40, 96].

Die genannten Faktoren führen zu einer schädigenden Entzündungsreaktion im Lungengewebe sehr unreifer Kinder, die bei der Erklärung der multifaktoriellen und komplexen Pathogenese der BPD unter Annahme einer „multiple-hit“ Theorie [96] eine zentrale Rolle spielt [31, 40, 96]. Weiter kommt es zum Aufrechterhalten oder zur Verschlechterung bestehender Entzündungen [8, 33, 57, 94, 96] mit nachfolgendem Lungenödem und später zu einem Lungenemphysem [30, 31, 33]. Gestörte Reparaturmechanismen des unreifen Lungengewebes tragen aufgrund einer übermäßigen Reaktion schließlich zur Entwicklung einer Lungenfibrose bei [30, 33, 96, 102].

Als weiterer Aspekt der Lungenschädigung wird eine Imbalance zwischen pro- und antiinflammatorischen Faktoren sowie zwischen pro- und antiangiogenetischen Faktoren betrachtet. Getriggert sowohl durch Entzündungszellen und Entzündungsmediatoren als auch durch die beschriebene Imbalance kommt es in den Lungen der Frühgeborenen zu einer Störung der pulmonalen Entwicklung mit gestörter pulmonaler Angiogenese und Inhibition der alveolären Septierung, was mit lebenslangen Konsequenzen für die Kinder verbunden sein kann [57, 95, 96, 103].

Merritt et al. fanden hinreichende Hinweise dafür, dass das langfristige Outcome der Kinder vom Ausmaß der Entzündungsreaktion abhängig ist [66, 69]. Damit wird die Annahme unterstützt, dass die Entzündungsreaktion eine wesentliche Bedeutung in der Pathogenese der BPD hat.

1.2 Risikofaktoren

Risikofaktoren für die Entwicklung der BPD bei Frühgeborenen sind die mit der Frühgeburtlichkeit assoziierte Unreife, sekundär vermehrte pulmonale Durchblutung aufgrund eines PDA, sowie pränatale und nosokomiale Infektionen. Wesentliche Faktoren sind das durch die maschinelle Beatmung bedingte Baro- und Volutrauma und die Toxizität des Sauerstoffs [73, 94].

1.2.1 Frühgeburt und Unreife

Als Frühgeburt wird per definitionem die Geburt eines Kindes vor der vollendeten 37. Schwangerschaftswoche (SSW) bezeichnet. Die Frühgeborenen werden anhand ihres Geburtsgewichtes in sehr kleine Frühgeborene (VLBW) mit einem Geburtsgewicht unter 1500 g und in extrem kleine Frühgeborene (ELBW) mit einem Geburtsgewicht von unter 1000 g unterteilt.

Die Frühgeburtlichkeit ist mit unreifer Lungenstruktur, Mangel an Surfactant und insuffizientem Atemantrieb assoziiert. Diese Faktoren tragen zur Ateminsuffizienz bei, die dazu führt, dass die Frühgeborenen einer maschinellen Beatmung bedürfen [73] und damit weiteren Risikofaktoren ausgesetzt sind. Die Anfälligkeit der Frühgeborenen für eine Lungenschädigung durch maschinelle Beatmung und Sauerstoff wird möglicherweise durch die Unreife der pulmonalen Zellverbindungen sowie durch die Unreife der Abwehrmechanismen gegenüber reaktiven Sauerstoffspezies [33, 73, 86], aufgrund niedriger Konzentrationen protektiver antioxidativer Enzyme begünstigt und verschlimmert [4, 73, 86, 88, 95]. Zu diesen Abwehrmechanismen gehören unter anderem Superoxiddismutase (SOD), Katalase und Glutathionperoxidase [86, 96, 117]. Außerdem tragen niedrige Konzentrationen an Faktoren, die die Lungendifferenzierung und Lungenregenerierung fördern, zur Lungenschädigung bei [20, 30, 33, 102]. Die Unreife des zellulären antioxidativen Systems resultiert meist in einer defizienten Beseitigung reaktiver Sauerstoffspezies (ROS) und H_2O_2 , die mit zunehmender Beatmungsdauer unter erhöhter Sauerstoffkonzentration akkumulieren und zu Veränderungen der Zellphysiologie führen [64]. Durch den Mangel an Surfactant führt eine Beatmung mit positivem Druck innerhalb von Minuten zu einem Einreißen des alveolären Epithels und dadurch zur Schädigung der Lunge des Frühgeborenen [30].

Es wird außerdem angenommen, dass bei Frühgeborenen aufgrund der Unreife bestehende Defizite in humoralen Abwehrmechanismen sowie gestörte Funktionen von Neutrophilen und Makrophagen direkt zur gesteigerten Anfälligkeit gegenüber pulmonalen und systemischen Infektionen beitragen [94].

1.2.2 Vorzeitiger Blasensprung

Ein vorzeitiger Blasensprung besteht per definitionem bei einem Fruchtwasserabgang durch Einriss der Fruchtblase vor Eintritt der Geburtswehen.

In Folge eines frühen vorzeitigen Blasensprungs kann es zu einem Oligohydramnion kommen, das durch verminderte fetale Atembewegungen und einem Verlust an intrapulmonaler Flüssigkeit ein erhöhtes Risiko für eine pulmonale Hypoplasie birgt. Man geht somit davon aus, dass ein länger anhaltendes Oligohydramnion die Lungenentwicklung negativ beeinflusst. Des Weiteren ist ein vorzeitiger Blasensprung meist mit einer Infektion und Inflammation verbunden, die wiederum zu reduzierter fetaler Atembewegung führen und so zu einer Schädigung der Lunge beitragen [118]. Nach Grigg et al. (1992) konnte bei Kindern, die nach einem vorzeitigen Blasensprung geboren wurden, in der bronchoalveolären Lavage (BAL) eine signifikant erhöhte Zahl an inflammatorischen Zellen und Mediatoren, insbesondere an IL-6, nachgewiesen werden. Dies wird auf einen durch den vorzeitigen Blasensprung bedingten fetalen Stress zurückgeführt, der ein Ansteigen inflammatorischer Zellen und Mediatoren zur Folge hat und somit zu einer BPD führen kann [27]. Grigg et al. zufolge führt dieser fetale Stress auch zu einem Anstieg der fetalen Glukokortikoidkonzentration und zur Surfactantbildung. Diese kurzfristigen, durch den vorzeitigen Blasensprung induzierten, Reifungsprozesse der Lunge, gehen nach Chiswick et al. (1976) mit einer geringeren Inzidenz des RDS einher. Gleichzeitig führen die beschleunigten Reifungsprozesse jedoch zu einer erhöhten Vulnerabilität der Lunge für postnatale Noxen, wie zum Beispiel maschinelle Beatmung und damit zu einem vermehrten Auftreten der BPD [11, 27]. Demnach nivelliert sich der ursprüngliche Benefit der beschleunigten Lungenreifung. Zudem steigt durch einen vorzeitigen Blasensprung durch Keimaszension das Risiko für ein Amnioninfektionssyndrom erheblich an [81]. Hierzu siehe auch Abschnitt 1.2.4.

1.2.3 Persistierender Ductus arteriosus (PDA)

Bei termingerecht geborenen Kindern verschließt sich der Ductus arteriosus meist innerhalb der ersten 48 Lebensstunden. Viele frühgeborene Kinder leiden jedoch unter einer Persistenz des Ductus arteriosus (PDA). Durch den entstehenden Links-Rechts-Shunt kommt es unter anderem zu hämodynamischen Veränderungen im Lungenkreislauf. Daraus resultiert oftmals ein Lungenödem, das den Be-

darf an maschineller Beatmung und erhöhter inspiratorischer Sauerstoffkonzentration (FiO₂) steigert und damit einen Risikofaktor für die Entstehung einer BPD darstellt [4-6, 66, 96].

1.2.4 Pränatale und nosokomiale Infektion

Amnioninfektionssyndrom

Diverse Studien untersuchten die Hypothese, dass eine pränatale Infektion, verursacht durch Exposition gegenüber einer Amnioninfektion oder der intrauterinen Exposition gegenüber proinflammatorischen Zytokinen (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8), die Lunge der Föten so konditioniert, dass postnatal bereits geringe schädigende Ereignisse zu einer exzessiven Entzündungsreaktion in den Atemwegen und dem Lungengewebe führen, die nachfolgend meist die Alveolarisierung und pulmonale Gefäßentwicklung beeinträchtigt [94, 101] und in der Folge zu einer BPD führt [57, 113]. Die Steigerung des Risikos, nach Exposition gegenüber einer Amnioninfektion postnatal eine BPD zu entwickeln, wird auch mit einer unzureichenden Hemmung der fetalen proinflammatorischen Zytokinreaktion erklärt [96].

Infektion

Speer et al. identifizierten sowohl eine innerhalb der ersten sieben Lebenstagen einsetzende Sepsis (early-onset sepsis), als auch systemische nosokomiale Infektionen per se eindeutig als Risikofaktoren für die BPD. Frühgeborene Kinder mit einer Atemwegsinfektion durch das Bakterium *Ureaplasma urealyticum*, einer der häufigsten Erreger des Amnioninfektionssyndroms [84, 96], wiesen im Trachealsekret erhöhte zelluläre Entzündungsparameter und erhöhte Konzentrationen von Entzündungsmediatoren, vor allem IL-1 β [34], auf [32, 34, 53, 84, 95]. Groneck et al. konnten bei Kindern, die eine BPD entwickelten, eine Korrelation mit erhöhten Konzentrationen von IL-1 und IL-8 nachweisen [34]. *Ureaplasma urealyticum* trigger eine bronchoalveoläre Entzündungsreaktion und führt zu vermehrter chemotaktischer Aktivität wodurch das Risiko für eine BPD steigt [32, 34, 53, 96]. Özdemir et al. konnten in ihrer Studie ebenfalls eine Assoziation zwischen *Ureaplasma urealyticum* und einer vermehrten Entwicklung einer BPD nachweisen. Des Weiteren konnten sie durch eine antibiotische Therapie mit Clarithromycin die

Inzidenz der BPD senken [75]. Die Bedeutung von *Ureaplasma urealyticum* in der Pathogenese der BPD wird jedoch kontrovers diskutiert [32, 34, 53, 75, 96].

Fujimura et al. zeigten mittels Nachweises erhöhter Konzentrationen freier Elastase im Trachealsekret von Kindern mit bakterieller Kolonisation der Atemwege, dass pränatale Infektionen über elastolytische Prozesse und über die Entwicklung eines Lungenemphysems zur Lungenschädigung beitragen [21, 93].

Ein weiterer zu berücksichtigender Faktor im Rahmen der nosokomialen Infektion ist die Freisetzung vasoaktiver Prostaglandine während einer Sepsis. Sie verhindern sehr wahrscheinlich den Verschluss des Ductus arteriosus oder induzieren seine Wiedereröffnung [6, 25, 94, 95]. Durch oben beschriebenen Mechanismus (Abschnitt 1.2.3) kommt es schließlich zu einer Beeinträchtigung der Lungenfunktion mit möglicherweise weitreichender Konsequenz.

Es ist hervorzuheben, dass sowohl bei der durch Infektion hervorgerufenen als auch bei der durch unspezifische Stimuli wie Hyperoxie oder Trauma verursachten Entzündungsreaktion im Trachealsekret erhöhte Konzentrationen von Entzündungsmediatoren vorliegen [27, 31, 93, 94].

1.2.5 Maschinelle Beatmung

Tremblay et al. folgerten aus Untersuchungen an Tiermodellen, dass maschinelle Beatmung nicht nur einen signifikanten Einfluss auf die Entzündungsprozesse der septischen Lunge, sondern auch auf die der normalen Lunge hat. Dabei wird der maschinellen Beatmung sowohl ein initiierender, als auch ein begünstigender Effekt auf lokale und systemische Entzündungsreaktionen zugesprochen [94, 108]. In pathologischen und klinischen Studien wurde diese Folgerung untermauert und erkannt, dass die BPD wesentliche Folgeerscheinung der beatmungsassoziierten Entzündungsreaktion ist [30, 33, 94]. Groneck et al. (1994) konnten den Untersuchungen Tremblays entsprechend zeigen, dass Neugeborene, die länger als 10 Tage mit hohen Tidalvolumina und hohen inspiratorischen Spitzendrücken beatmet wurden, im Vergleich zu Kontrollen im Trachealsekret eine erhöhte chemotaktische Aktivität, eine höhere Zahl an Neutrophilen und eine erhöhte Konzentration von IL-8, C5a, LTB₄ und Eα₁-PI aufwiesen. Weiter war die Entzündungsreaktion mit einer erhöhten Permeabilität des Lungenepithels assoziiert, was sich im

Trachealsekret in erhöhten Albumin Konzentrationen widerspiegelte [30]. Die Freisetzung der proinflammatorischen Mediatoren und der nachfolgende Einstrom von Leukozyten sind auf die beatmungsbedingte Überdehnung der Lungen sowie das zyklische Öffnen und Schließen der Lungeneinheit zurückzuführen, was schließlich ein Zerreißen der strukturellen Elemente zur Folge hat [13, 16, 64, 70, 96].

Volu- und Barotrauma beeinflussen zudem Apoptose und Proliferation. Auch diese Hypothese wird durch den Nachweis einer signifikant erhöhten Zahl apoptotischer und proliferierender Zellen in Lungen maschinell beatmeter Kinder unter erhöhten Sauerstoffkonzentrationen gestützt [14, 64].

1.2.6 Sauerstofftoxizität

Im Hinblick auf die Beatmungstherapie Frühgeborener ist die Sauerstofftoxizität ein weiterer Faktor, der die Entwicklung der BPD begünstigt [117]. Schon die normale Umgebungsluft hat einen deutlich höheren Sauerstoffpartialdruck als das intrauterine Milieu. Hinzu kommt, dass die frühgeborenen Kinder aufgrund der Unreife ihrer Lunge sowie des Mangels an Surfactant oder bereits erfolgter pulmonaler Schädigung einer maschinellen Beatmung mit erhöhter Sauerstoffkonzentration bedürfen, um ausreichend Sauerstoff aufnehmen zu können. Dies führt im Umkehrschluss wiederum zu einer erhöhten Sauerstofftoxizität.

Die Sauerstofftoxizität ist, wie oben bereits beschrieben, unter anderem auf die Unreife der intrazellulären enzymatischen antioxidativen Mechanismen extrem frühgeborener Kinder zurückzuführen [85, 86, 102, 117], wodurch die Lungen und andere Organe gegenüber oxidativen Schäden anfällig sind [102, 117]. Sauerstoff verursacht durch die Bildung hochreaktiver, toxischer Sauerstoffspezies (ROS) [58, 123] und durch die Peroxidation von Membranlipiden eine direkte Gewebeschädigung [10, 30, 102, 117], die durch nachfolgende Entzündungsreaktionen und Reparaturprozesse verschlimmert wird [31, 104]. Neben den direkten Effekten auf das Gewebe üben Sauerstoffspezies durch die Induktion einer oxidativen Inaktivierung protektiver Antiproteasen und die Zunahme von Metalloproteinasen auch indirekte Effekte auf das Gewebe aus [96].

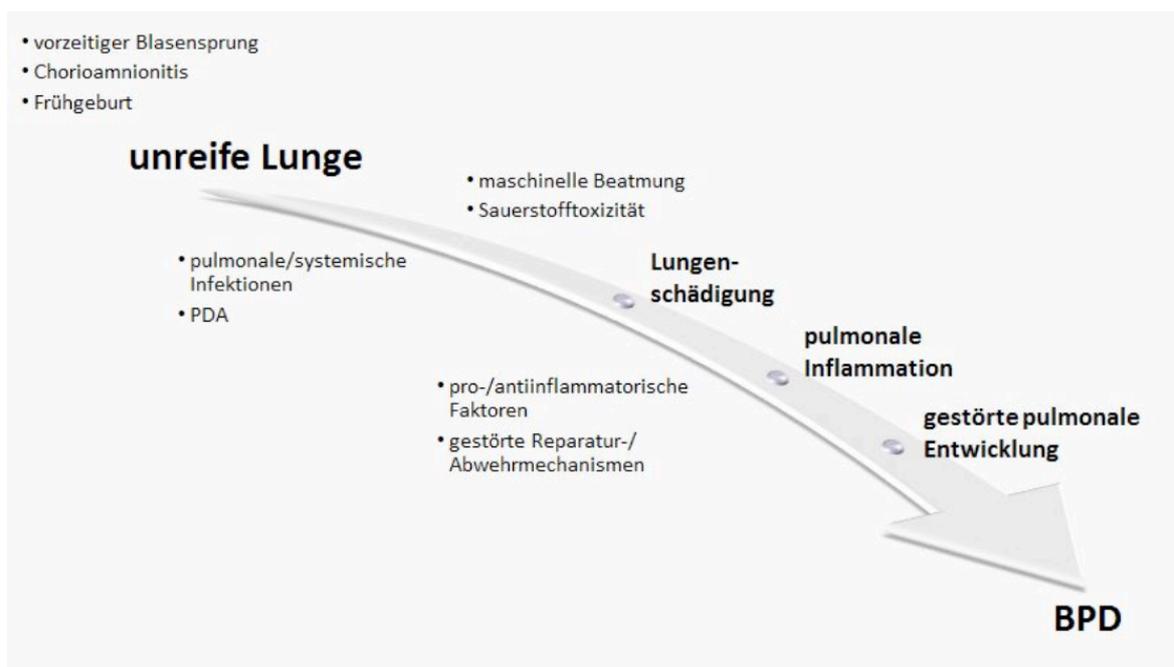


Abbildung 3: Überblick über die pathogenetische Abfolge der BPD modifiziert nach Thomas et al. [102].

1.3 Inflammatorische Mechanismen der BPD

Das Konzept der Entzündung als wesentlicher, der BPD zugrunde liegender, pathogenetischer Faktor kann die Schädigung der extrem unreifen Lungen durch oben genannte Risikofaktoren, darunter vor allem das Barotrauma und die Sauerstofftoxizität, sowie die nachfolgende Lungenfibrose, in einen gemeinsamen Kontext stellen [30, 74].

Die Entzündungsreaktion führt initial zur lokalen Produktion chemotaktisch aktiver Wirkstoffe, zur Migration von Entzündungszellen, vermehrter Expression von Adhäsionsmolekülen auf endothelialen und epithelialen Zellen, sowie zur Adhäsion von Neutrophilen, der die Invasion von Makrophagen folgt und eine vermehrte mikrovaskuläre Permeabilität zur Folge hat [30, 31, 94]. Schließlich kommt es zur Akkumulation von Entzündungszellen, schädigenden proinflammatorischen Mediatoren, toxischen Sauerstoffradikalen, Lipidmediatoren und potenten Proteasen (Elastase, Kollagenase, Metalloproteinase) (Abbildung 4) [94, 96].

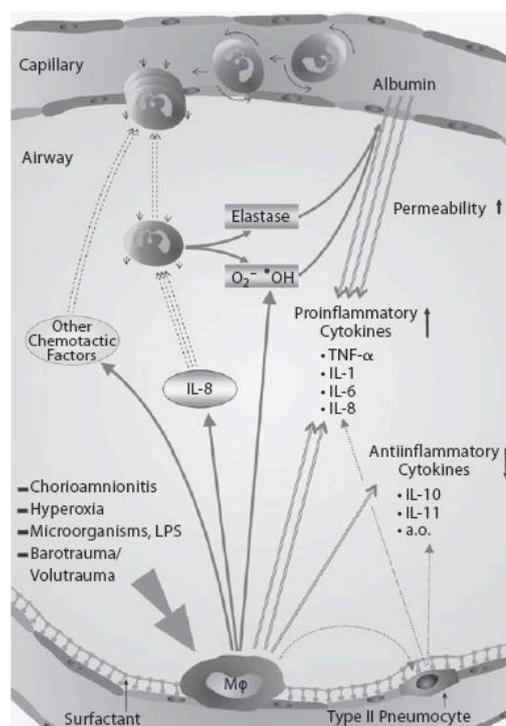


Abbildung 4: Pathogenetische Faktoren der BPD; Abbildung von Speer et al. [96].

1.3.1 Zelluläre und lösliche Mediatoren im Trachealsekret

Im Trachealsekret beatmeter Frühgeborener, die für die Entwicklung einer BPD anfällig sind, konnte ohne Vorliegen einer bakteriellen Kolonisation eine vermehrte Rekrutierung von inflammatorischen Zellen und eine erhöhte Zahl an inflammatorischen Mediatoren nachgewiesen werden [30, 31, 34, 66, 104]. Diese Beobachtung wurde bereits 1983 von Merritt et al. beschrieben und durch weitere Studien unterstützt [33, 66]. Untersuchungen des Trachealsekrets von Kindern mit einem hohen Risiko eine BPD zu entwickeln, abgeschätzt am Bedarf maschineller Beatmung am 10. Lebensstag, zeigten erhöhte Konzentrationen Neutrophiler sowie eine höhere chemotaktische Aktivität als Kinder mit niedrigerem Risiko für eine BPD [28, 30, 66, 104]. Dieser Beobachtung zufolge wird davon ausgegangen, dass der Influx Neutrophiler durch die erhöhte chemotaktische Aktivität, die sich auch im Trachealsekret widerspiegelt, vermittelt wird [30]. Parallel konnte bei Kindern, die eine BPD entwickelten, eine anhaltend erhöhte Zahl aktivierter Makrophagen nachgewiesen werden [33]. Unter den zellulären Mediatoren kann Makrophagen und Neutrophilen als vorwiegende Zelltypen eine wichtige Rolle zugeschrieben werden, die wiederum zur Freisetzung der relevantesten löslichen Mediatoren und Zytokine beitragen [28, 30, 65, 66, 76, 96].

Chemotaktische Faktoren und Zytokine

Wichtige, im Trachealsekret bzw. in der bronchoalveolären Lavage (BAL) von Kindern, die eine BPD entwickelten, nachgewiesene chemotaktische Faktoren für humane Neutrophile sind LTB₄, Anaphylatoxin C5a und IL-8 [28, 30, 48, 56, 94].

LTB₄ wird von Neutrophilen und Alveolarmakrophagen in der Lunge produziert [30] und dient als ein autokrines Hochregulationssystem. Bei Neugeborenen mit einem Risiko für eine BPD wurden, verglichen mit Kontrollen, innerhalb der ersten 15 Lebensstage in der BAL signifikant höhere Konzentrationen von LTB₄ nachgewiesen [30, 31]. Während hohe Konzentrationen LTB₄ mit fortgeschrittenen Stadien der BPD assoziiert waren, wurde C5a, das aus zahlreichen unterschiedlichen Quellen stammt [30, 31, 93], auch bei einer frühen BPD [28] gefunden. Bei diesen Untersuchungen war die C5a Konzentration in der BAL mit denen des Plasmas vergleichbar. C5a hat vielfältige biologische Funktionen, unter ihnen ist vor allem die chemotaktische Aktivität gegenüber Neutrophilen und Monozyten hervorzuheben [28]. Sowohl LTB₄ als auch C5a können in Gegenwart von Neutrophilen die mikrovaskuläre Permeabilität steigern und somit zur Entwicklung eines Lungenödems beitragen [30].

IL-8, der wahrscheinlich wichtigste chemotaktische Faktor der Lunge [56, 94], vermittelt über eine vermehrte Expression von Zelloberflächenrezeptoren auf Neutrophilen, die pulmonale Rekrutierung von Neutrophilen und begünstigt die Freisetzung proteolytischer Enzyme [30, 67, 93]. Dies wird induziert durch bakterielle Toxine oder Endotoxine, maschinelle Beatmung sowie durch unspezifische Stimuli wie Hyperoxie, Hypoxie, Ischämie oder Reperfusion [30, 31, 47, 48, 67, 93, 95]. Zudem soll IL-8 auch die Regulation endothelialer Zelladhäsionsmoleküle, darunter ICAM-1, kontrollieren [93, 94]. IL-8 wird lokal in der Lunge von Alveolarmakrophagen, Neutrophilen, Fibroblasten, Pneumozyten Typ II und nicht immunologischen Zellen, wie endothelialen Zellen, gebildet [30, 56]. Neben seiner chemotaktischen Funktion übt IL-8 auch eine proinflammatorische Funktion aus [30]. IL-8 stimuliert außerdem Neutrophile zur Sekretion von PAF (platelet activating factor), das die mikrovaskuläre Permeabilität erhöht und somit wie LTB₄ und C5a zur Entstehung eines Lungenödems beiträgt [23, 30]. IL-8 war im Trachealsekret von Kindern mit dem Risiko an einer BPD zu erkranken erhöht [30, 47].

Donnelly et al. führten diesbezüglich eine Studie an erwachsenen Patienten mit dem Risiko für ein akutes Atemnotsyndrom (ARDS) durch, in der sie ebenfalls eine Assoziation zwischen erhöhter IL-8 Konzentration und der Entwicklung eines ARDS feststellen konnten. Es wird davon ausgegangen, dass erhöhte Konzentrationen im Trachealsekret einen Marker für die Entwicklung einer BPD darstellen [15]. Kotecha et al. wiesen erhöhte Konzentrationen von IL-8 im Trachealsekret von frühgeborenen Kindern nach, die ein Risiko für eine BPD hatten, beziehungsweise eine BPD entwickelt hatten. Anhand ihrer Ergebnisse sahen auch sie die Möglichkeit, IL-8 als prädiktiven Marker für die Entwicklung einer BPD heranzuziehen [47].

Neben IL-8 tragen möglicherweise weitere proinflammatorische Zytokine wie TNF- α , IL-1, IL-6 sowie Elastin- und Fibronectin-Fragmente [48], sowie weitere Faktoren (Metalloproteinasen, Lipoxigenase-Produkte) zur chemotaktischen Aktivität bei [30, 42, 50, 83, 94, 96]. Sie scheinen während der frühen Entzündungsreaktion wichtige Mediatoren für die Rekrutierung und Aktivierung von Entzündungszellen zu sein [50, 94]. Diese Zytokine werden wie IL-8 von Alveolarmakrophagen, Fibroblasten, Pneumozyten Typ II und endothelialen Zellen unter anderem nach Stimulation durch bakterielle Toxine, Endotoxine, Hyperoxie und Hypoxie gebildet [94, 95]. Innerhalb der ersten 10 Lebensstage wiesen Kinder, die später eine BPD entwickelten, in der BAL außerdem erhöhte Konzentrationen von ICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1) und MIP-1 α (macrophage inflammatory protein-1 α) [50, 69] sowie von PAF (platelet activating factor) auf [93, 97].

IL-1, insbesondere IL-1 β , ist eines der wichtigsten Zytokine in der Regulation von Entzündungsreaktionen und der Abwehr von Infektionen. Zudem übt es viele der Funktionen von TNF- α aus [29, 32, 42, 93]. Eine Freisetzung erfolgt lokal durch Alveolarmakrophagen nach Stimulation mit bakteriellen Toxinen oder während der Phagozytose von Mikroorganismen [32]. IL-1 β induziert über eine Steigerung der Expression von Adhäsionsmolekülen (ICAM) eine vermehrte Adhärenz der Neutrophilen am Ort der Entzündung [39, 50]. Über die Induktion von Wachstumsfaktoren (PDGF, IL-6) stimuliert IL-1 indirekt die Proliferation von Fibroblasten [7]. Der Zeitverlauf der Zytokine in der BAL lässt vermuten, dass IL-1 eine zentrale Rolle in der Hochregulation von TNF- α und IL-8 spielt. Einer Studie von Kotecha et

al. zufolge waren IL-1 β Konzentrationen bei Kindern, die später eine BPD entwickelten, erhöht [50, 93].

Das Ausmaß der TNF- α Konzentration ist abhängig von der Dauer der maschinellen Beatmung [31, 68]. Hohe Konzentrationen von TNF- α und IL-1, die beide die Kollagenproduktion von Fibroblasten induzieren [54], haben in Tiermodellen zu einer Lungenfibrose geführt [69, 78]. Bagchi et al. gehen davon aus, dass TNF- α im Gegensatz zu IL-6, das als Reaktion auf eine schwere Lungenschädigung und als wichtiger früher Marker einer BPD fungiert, zur chronischen Entzündung einer bereits bestehenden BPD beiträgt [3].

IL-6 ist ein multifunktionelles Zytokin mit lokalen, wie auch systemischen Effekten. Seine Expression kann durch TNF induziert werden. IL-6 selbst hat Einfluss auf die Differenzierung und Aktivierung von Lymphozyten. In *in vitro* Studien führt IL-6 zu einer vaskulären Permeabilitätssteigerung [3, 45, 50]. IL-6 war während der ersten 2 Lebenswochen in der BAL von Kindern, die verglichen mit Kontrollen eine BPD entwickelten, signifikant erhöht [3]. Auch Kotecha et al. wiesen eine signifikante Erhöhung der IL-6 Konzentration bei Kindern mit einer BPD nach [50].

Studien lassen vermuten, dass die proinflammatorische Zytokinreaktion in den Atemwegen und dem Lungengewebe von frühgeborenen Kindern unter anderem ein Zeichen für die mangelnde Fähigkeit ist, die Inflammation durch eine adäquate Expression von antiinflammatorischen Zytokinen IL-4, IL-10, IL-11, IL-12, IL-13, IL-18 oder dem IL-1-Rezeptorantagonisten zu regulieren [43, 95, 96]. Die proinflammatorischen Zytokine TNF- α , IL-1 β und IL-8 unterliegen teilweise der Regulation des antiinflammatorischen Zytokins IL-10 [42, 94]. Durch eine verminderte Expression von IL-10 kommt es zu einer Imbalance pro- und antiinflammatorischer Faktoren mit einem Überwiegen von TNF- α , IL-1 β und IL-8.

Inflammatorische Zellen und weitere chemotaktische Mediatoren

Die Rekrutierung von Monozyten und Neutrophilen aus der Zirkulation in den extralveolären Raum [95, 96], die unmittelbar nach Beginn der maschinellen Beatmung auftritt, kommt über eine komplexe Interaktion zwischen Adhäsionsmolekülen (E-Selektin) und ihrer Liganden (L-Selektin) zustande [48, 61, 96, 98, 109, 124]. Die Diapedese der Neutrophilen erfolgt über die Bindung von ICAM-1, einem

Glykoprotein, das durch eine IL-1 Stimulation auf alveolären Epithelzellen exprimiert wird, an den CD11b/CD18 Komplex auf Neutrophilen [31, 47]. Im Trachealsekret von Kindern mit früher BPD konnten erhöhte Konzentrationen des löslichen interzellulären Adhäsionsmolekül-1 (sICAM-1), L-Selektin (Leukozyten Abkömmling) und E-Selektin (Endothel Abkömmling) nachgewiesen werden [42, 44, 47, 48, 51, 61, 94, 95, 124]. Nach einem Sauerstoff induzierten Parenchymschaden kommt es aufgrund der folgenden Rekrutierung von Neutrophilen in das pulmonale Gewebe zu einer erhöhten Expression von ICAM-1 [31, 94].

Des Weiteren wurden im Trachealsekret bzw. in der bronchoalveolären Lavage von Kindern mit BPD drei potente β -Chemokine, die die Chemotaxis von Monozyten und Makrophagen induzieren, nachgewiesen: macrophage inflammatory protein-1 α (MIP-1 α), monocyte chemotactic protein (MCP) und growth factor-related protein- α (GFRP- α) [69, 93, 94, 96]. Im Speziellen waren signifikant höhere Konzentrationen des proinflammatorischen Zytokins MIP-1 α mit der späteren Entwicklung einer Lungenfibrose assoziiert [69, 93, 94].

1.3.2 Proteolytische und oxidative Lungenschädigung

Imbalance von Elastase und α_1 -Proteinase-Inhibitor

Neutrophile sollen durch ein verlängertes Überleben, bedingt durch eine inadäquate Suppression ihrer Apoptose und Störungen in der Phagozytose durch Makrophagen, zur pulmonalen Inflammation beitragen [35, 46, 52, 96]. Andererseits tragen Neutrophile, angezogen von geschädigtem Gewebe durch chemotaktisch aktive Wirkstoffe, während des Prozesses der Phagozytose und folgender Apoptose durch Degranulation und Sekretion von Proteasen und reaktiven Sauerstoffmetaboliten, zur Lungenschädigung bei [31, 66, 76, 92, 93]. In den azurophilen Granula von Neutrophilen wird Elastase gelagert, deren vorwiegendes Substrat in der Lunge das pulmonale Gewebselastin ist. Durch Destruktion der alveolokapillären Einheit und der Extrazellulärmatrix ist die Elastase in die Pathogenese der akuten und chronischen Lungenerkrankung Frühgeborener involviert [91, 93, 94]. Unter normalen Bedingungen wird Elastase durch Komplexierung mit der Antiprotease α_1 -Proteinase-Inhibitor (α_1 -PI) inaktiviert und somit die alveolokapilläre Einheit vor autolytischer Proteolyse geschützt [66, 91, 93, 94]. In Lungensekreten von Kindern mit BPD wurden einerseits erhöhte Konzentrationen von nicht-komplexierter, somit

funktionell aktiver Elastase [66, 94], und andererseits wahrscheinlich aufgrund oxidativer Inaktivierung [94, 96, 102], eine niedrige Aktivität von α_1 -Proteinase-Inhibitor nachgewiesen [22, 31, 66, 76, 93, 94]. Es wurde daher angenommen, dass eine Imbalance zwischen Elastase und Antiprotease [66, 93, 96], möglicherweise verursacht durch beatmungsbedingte Hyperoxie und durch Atemwegsinfektion [33, 93], zum Lungenemphysem führt und damit ein wichtiger Faktor der zur BPD führenden Lungenschädigung Frühgeborener ist [21, 31, 34, 66, 93, 95]. Weiter ist zu beachten, dass Elastase per se für die Lunge schädlich ist [3]. Freie Elastase soll bei Makrophagen zu einer vermehrten Produktion von toxischen Sauerstoffmetaboliten führen, die wiederum durch oxidativen Stress die Aktivität von Kollagenasen steigern [90, 93, 94]. Die Degradation der elastischen Lungengfasern durch Elastase führt zu reduzierter alveolärer Septierung [93, 94], die aktuellen Studien zufolge pathophysiologisches Kennzeichen der bereits oben beschriebenen „new BPD“ einer schweren neuen BPD ist [93-95]. Die Degradationsprodukte sollen außerdem eine chemotaktische Funktion für weitere inflammatorische Zellen, wie beispielsweise Fibroblasten, haben [66].

Die Hypothese einer Imbalance besteht nicht nur auf Ebene der Elastase, sondern auch im Metalloproteinase- und Cysteinproteasen-System [95, 96].

Nitrierungsprodukte

Das Alveolarepithel ist kontinuierlich reaktiven Sauerstoff- und Stickstoffspezies aus endogenen und exogenen Quellen ausgesetzt [122]. Es wird inzwischen davon ausgegangen, dass eine *in vivo* Schädigung des Alveolarepithels und des pulmonalen Surfactantsystems möglicherweise durch hochreaktive Sauerstoff-Stickstoff-Zwischenprodukte wie Peroxynitrit (ONOO^-) verursacht wird [87, 121-123]. Peroxynitrit entsteht durch die Verbindung von NO mit Superoxidradikalen, die durch unterschiedliche inflammatorische Stimuli, Lungenendothel, alveoläre epitheliale Zellen und aktivierte alveoläre Makrophagen gebildet werden [121, 122]. Diese Superoxidradikale sammeln sich in den Lungen der frühgeborenen Kinder an, da sie aufgrund ihrer Unreife erniedrigte Konzentrationen an protektiven antioxidativen Enzymen wie der Superoxiddismutase (SOD) haben und die Superoxidradikale erst verzögert entfernt werden [86, 96, 117]. Durch seine potente nitrierende und oxidierende Eigenschaft kann Peroxynitrit sämtliche biologische

Moleküle wie DNA, Lipide und Proteine schädigen [123]. In Lungen von Erwachsenen und Kindern mit akuter Lungenschädigung konnte Peroxynitrit sowie seine Zerfallsprodukte Nitrit/Nitrat, und Nitrotyrosin nachgewiesen werden, was darauf hinweist, dass auch *in vivo* Nitrierungsreaktionen ablaufen [87, 122, 123]. Peroxynitrit und seine reaktiven Zwischenprodukte inhibieren durch Nitrierung von Tyrosinresten die Funktion von pulmonalen Surfactantproteinen, vor allem von Surfactant-Protein A (SP-A). Nitriertes Surfactant-Protein A konnte insbesondere in der BAL von Patienten mit akuter Lungenschädigung nachgewiesen werden [87, 122]. Die Nitrierung des immunologisch wichtigen SP-A führt zu verminderter Lipidaggregation und zu reduzierter Mannose-Bindung, was eine funktionelle Hemmung, sowie Verschlechterung der pulmonalen Abwehrfähigkeit zur Folge hat [87, 121, 123]. Die Nitrierung von Tyrosinresten des α_1 -Proteinase-Inhibitors resultiert in einem selektiven Verlust der Inhibitionsaktivität von Elastase, was die Imbalance-Theorie stützt [122].

Glykolipide

Weitere im Trachealsekret nachzuweisende Faktoren waren platelet-activating factor (PAF), saure Sphingomyelinase (ASMase) und Ceramid. PAF ist ein wesentlicher Mediator des Lungenödems bei Lungenschädigung, dessen exakte molekulare Mechanismen jedoch noch weitgehend unbekannt sind [23, 24]. Göggel et al. zeigten, dass ein PAF induziertes Lungenödem unter anderem durch die simultane Aktivierung von Cyclooxygenase und saurer Sphingomyelinase, gefolgt von der anschließenden Produktion von Prostaglandin E₂ und Ceramid, vermittelt wird [24].

Ceramid ist ein Membransphingolipid, generiert entweder durch Hydrolyse aus Sphingomyelin, katalysiert durch die extrazellulär aktive saure Sphingomyelinase oder durch *de novo* Synthese. Im Falle einer Zellschädigung ist die saure Sphingomyelinase für die Ceramid Produktion verantwortlich [10, 24, 58]. Ceramid reguliert die zelluläre Antwort auf Stress, Zytokine und proapoptotische Stimuli [24]. Es wurde nachgewiesen, dass die durch Ceramid vermittelte Apoptose unter anderem als Reaktion auf TNF- α erfolgt [10]. Bei der Generierung von Ceramid soll außerdem das Antioxidans Glutathion eine regulatorische Rolle spielen. Niedrige Konzentrationen von Glutathion induzieren die Produktion von Ceramid und

korrelieren mit der Induktion von Apoptose, während erhöhte Glutathion Konzentrationen als Reaktion auf Oxidantien die Generierung von Ceramid hemmen. Lavrentiadou et al. zeigten, dass eine Depletion von Glutathion möglicherweise die Verbindung zwischen oxidativem Stress und Ceramid vermittelter Apoptose in der Lunge darstellt [58].

Beim ARDS des Erwachsenen konnten in der BAL geschädigter Lungen außerdem Glykolipide nachgewiesen werden, die in der Lage sind, *in vitro* das Surfactantsystem zu hemmen. Die hauptsächlich nachgewiesenen kohlenhydrathaltigen Lipide bei Ateminsuffizienz waren Sphingolipide. Es wird angenommen, dass diese Glykolipide aus geschädigten Lungenzellen stammen [82].

1.3.3 Reparaturmechanismen und Wachstumsfaktoren

Makrophagen sorgen einerseits während der frühen Entzündungsphase für die Phagozytose des Zelldetritus der Gewebeschädigung. Andererseits tragen sie zum destruktiven Prozess bei, indem sie, ähnlich den Neutrophilen, proteolytische Enzyme und toxische Sauerstoffmetabolite freisetzen [29, 30, 66]. Dennoch sind Makrophagen durch die Sekretion von Zytokinen und Wachstumsfaktoren essentiell für den Übergang von entzündlichen zu reparativen Prozessen [3, 30]. Eine Überstimulation dieser Reparaturprozesse mit dadurch gesteigerter Produktion von zellulärem Fibronectin in der Lungenstruktur erklärt zum Teil die Pathogenese der Lungenfibrose, die unter anderem kennzeichnend für die BPD ist [29, 30, 69, 114]. Watts et al. wiesen erhöhte Konzentrationen von zellulärem Fibronectin im Trachealsekret von Kindern mit RDS und nachfolgender BPD nach [115].

In diesem Zusammenhang ist auch der profibrotische Mediator TGF- β zu nennen [48, 49], der im Rahmen der Gewebereparatur- und Heilungsprozesse nach Lungenschädigung und assoziierter Entzündungsreaktion induziert wird [7, 57] und eine Schlüsselrolle in der Begrenzung dieser Prozesse spielt [7, 96]. TGF- β führt zu einer Steigerung der Fibronectin- und Prokollagentranskription durch Fibroblasten [48, 49] und zu einer Freisetzung verschiedener mesenchymaler Wachstumsfaktoren, wie insulin-like growth factor-1 (IGF-1), IL-1, alveolar macrophage-derived growth factor (AMGF), tumor necrosis factor- α (TNF- α) und platelet-derived growth factor (PDGF). TGF- β ist unter den genannten Faktoren der potenteste direkte Stimulator der Kollagensynthese [7, 19, 38]. Sind die reparativen

Prozesse übersteigert, wird die normale Lungenentwicklung möglicherweise gehemmt und die Entwicklung einer Lungenfibrose begünstigt [7, 49, 96]. Bei Frühgeborenen mit BPD konnten gemäß dieser Annahme in den Atemwegen erhöhte Konzentrationen von TGF- β nachgewiesen werden [7, 49, 57, 96].

Wird der Zusammenhang zwischen TGF- β und der Pathogenese der Lungenfibrose betrachtet, muss auch hier von einer vorherrschenden Imbalance ausgegangen werden. Im vorliegenden Fall überwiegt eine durch TGF- β vermittelte Synthese von Antiproteasen mit nachfolgend verminderter Degradation existierender Extrazellulärmatrix [7, 48, 49], was schließlich zur Fibrosierung führt.

1.3.4 Pulmonale mikrovaskuläre Permeabilität

Pathognomonisch für die frühe BPD ist neben der Rarifizierung der Alveolen, die persistierende abnorme Lungenpermeabilität [29, 30, 95, 96, 103], die zu einem Lungenödem führt [29, 123]. Während des Entzündungsprozesses haben mehrere Faktoren schädigenden Einfluss auf die mikrovaskuläre Permeabilität [30, 40, 96]. Dies sind zum einen Veränderungen der Gefäßperfusion im Entzündungsgebiet oder vermehrte Perfusion durch einen PDA [30, 84], zum anderen sind es direkte Effekte der Entzündungszellen und Mediatoren auf alveoläre und kapilläre Membranen, wie zum Beispiel Zytokine oder toxische Sauerstoffradikale, die durch Phagozyten und andere Quellen generiert werden. Weiter kommt es zu einer Inaktivierung des Surfactantsystems durch verschiedene Serumproteine, mikrobielle Kolonisation und Infektion der Atemwege [93, 94]. Gegenwärtig ist allerdings lediglich eine Assoziation zwischen pulmonaler Entzündung und mikrovaskulärer Permeabilität geklärt; der Nachweis einer klaren Kausalität muss noch erfolgen [31]. In der bronchoalveolären Lavage von Kindern mit BPD wurde eine Vielzahl von Lipidmediatoren, Leukotrienen, Prostazyklinen, PAF, C5a, IL-8 und Endothelin-1 gefunden, die möglicherweise durch eine Veränderung der Oberflächenladung der Endothelmembran direkte Effekte auf die mikrovaskuläre Permeabilität ausüben [30, 31, 72, 94, 96, 97]. Dadurch wird es möglich, dass Moleküle, wie Albumin, vom Plasma ins Interstitium oder die Alveolen durchsickern [33]. Damit geht die Beobachtung konform, dass Kinder, die ein hohes Risiko für eine BPD hatten bzw. später eine BPD entwickelten, verglichen mit Kontrollen erhöhte Albumin Konzentrationen aufwiesen [30, 93, 104, 115]. In klinischen und experimentellen Studien

wurde die Albumin Konzentration in der bronchoalveolären Lavage als Maß für die mikrovaskuläre Permeabilität verwendet [29, 30, 115].

Durch einige Zytokine wird die alveolokapilläre Integrität möglicherweise indirekt beeinflusst, indem inflammatorische Zellen zu einer vermehrten Freisetzung und Sekretion von proteolytischen Enzymen aktiviert oder vermehrt toxische Sauerstoffspezies freigesetzt werden [90, 93, 94]. Durch die veränderte epitheliale und endotheliale Permeabilität wird nachfolgend ein Lungenödem verursacht, ein weiteres Kennzeichen des RDS und der frühen BPD [23, 29].

Hirabayashi et al. (1994) zeigten in ihrer Studie, dass auch Neuropeptid Y (NPY), ein von Nervenzellen freigesetzter Mediator, die pulmonale Gefäßpermeabilität erhöhen kann. Sie gehen davon aus, dass durch Aktivierung sympathischer Nerven vermehrt Neuropeptid Y freigesetzt wird, es durch den vasokonstriktorisches Effekt auf glatte Gefäßmuskulatur zu einer Erhöhung des kapillären Drucks kommt und schließlich zur Extravasation von Plasma und nachfolgend zu einem neurogenen Lungenödem führt. Neben der vasokonstriktorisches Eigenschaft soll Neuropeptid Y die Wirkung von Norepinephrin verstärken, seine eigene Freisetzung und die von Katecholaminen hemmen und in sehr hoher Dosierung die Histaminfreisetzung von Mastzellen induzieren, was schließlich zur Beeinflussung der Gefäßpermeabilität führt [37].

1.4 Prophylaxe und Therapie der BPD

Trotz der Tatsache, dass sich die Erkenntnisse über die Pathogenese der BPD im letzten Jahrzehnt beträchtlich erweitert haben sind die meisten prophylaktischen und therapeutischen Interventionen nicht evidenzbasiert [101, 102].

In erster Linie basiert die Therapie eines RDS des Frühgeborenen auf der Verabreichung von Sauerstoff, maschineller Beatmung und der Substitution von Surfactant. Weitere unterstützende Maßnahmen sind die Gabe von Methylxanthinen, Glukokortikoiden und Vitamin A. Des Weiteren stehen verschiedene Möglichkeiten zum Verschluss eines PDAs zur Verfügung.

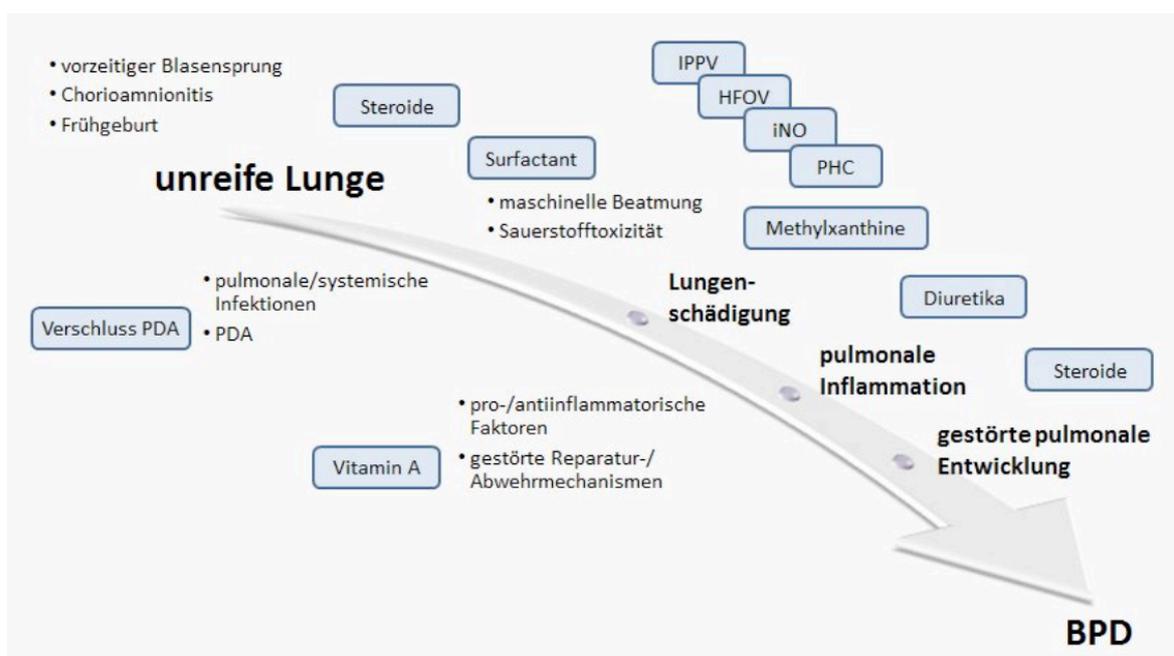


Abbildung 5: Zusammenfassung diverser therapeutischer Ansätze modifiziert nach Thomas et al. [102].

1.4.1 Pränatale Steroide

Die pränatale Verabreichung von Steroiden, insbesondere Betamethason, bei drohender Frühgeburt vermindert unter anderem die Inzidenz des RDS und somit den Bedarf maschineller Beatmung. Gleichzeitig soll das Risiko einer BPD reduziert werden [39, 71].

1.4.2 Surfactant

Die Therapie mit exogenen Surfactantpräparaten ist eine bewährte Komponente der Therapie des RDS. Sie sollen bedeutende Effekte auf die Zellphysiologie und Entzündungsprozesse in der Lunge ausüben. Dies schließt die Unterdrückung proinflammatorischer Zytokine, die Produktion von Superoxid und die Regulation der pulmonalen Abwehr ein. Außerdem wird vermutet, dass Surfactant einen antiapoptotischen Effekt hat [64].

Gemäß Daten einer Metaanalyse und eines systematischen Reviews wird eine prophylaktische oder frühe Verabreichung von Surfactant bei Kindern mit einem hohen Risiko für eine BPD empfohlen [102]. Sie wiesen eine Reduktion sowohl der Mortalität als auch der Inzidenz der BPD nach [17, 102]. Diese Daten konnten in Untersuchungen von Egberts et al. bestätigt werden [17]. Es besteht jedoch in der Literatur eine hohe Variabilität unter den Studienergebnissen, die unter ande-

rem auf die Verwendung verschiedener Surfactantpräparate, die Vorlage diverser Verabreichungspläne und auf unterschiedliche Studienpopulationen zurückzuführen ist [36, 125].

1.4.3 Methylxanthine

Methylxanthine werden häufig auf neonatologischen Intensivstationen verwendet. Es ist derzeit jedoch wenig über ihre Langzeitwirkung bekannt. Schmidt et al. wiesen in der CAP-Studie (Caffeine for Apnea of Prematurity) durch die Verabreichung von Coffein eine signifikante Reduktion der Inzidenz der BPD im postmenstruellen Alter von 36 Wochen nach. Eine generelle Empfehlung für eine frühe Verabreichung von Coffein bei allen extrem unreifen Kindern konnte jedoch nicht aus der Studie abgeleitet werden [102].

1.4.4 Dexamethason

Die Therapie mit Dexamethason kann zum einen die Dauer der maschinellen Beatmung verkürzen, zum anderen die Entzündungsreaktion mildern und die Konzentration von Zytokinen im Trachealsekret vermindern [22, 28, 29, 104, 114, 120, 125]. Nach der Therapie mit Dexamethason reduzierte sich die Konzentration von Neutrophilen und Albumin sowie die fast aller untersuchten Entzündungsmediatoren (IL-1 β , LTB₄, Elastase-Aktivität) im Trachealsekret [22, 29, 31, 114, 120]. Der Haupteffekt besteht in einer Verbesserung des Gasaustausches und der Lungenmechanik [28, 40, 114] sowie in der Verminderung der mikrovaskulären Permeabilität [28, 29, 31, 114, 120]. Außerdem soll die Reaktion auf Surfactant verbessert werden [40].

1.4.5 Vitamin A

In Studien führte die intramuskuläre Verabreichung von Vitamin A zu einer leichten Reduktion der Inzidenz der BPD. Unter den therapeutischen und prophylaktischen Ansätzen hat, abgesehen von Steroiden und Surfactant, nur Vitamin A eine erwiesene Wirksamkeit. Die Verabreichung von Vitamin A wird allerdings nur in wenigen medizinischen Zentren durchgeführt [102].

1.4.6 Verschluss des PDAs

Durch einen frühen pharmakologischen oder chirurgischen Verschluss eines klinisch symptomatischen PDAs soll die Lungenfunktion verbessert und der Bedarf maschineller Beatmung reduziert werden. Für den prophylaktischen Verschluss eines asymptomatischen PDAs liegt jedoch keine Evidenz vor [4].

1.4.7 Diuretika

Diuretika vermögen die Lungenfunktion unter anderem durch eine Reduktion des pulmonalen Ödems vorübergehend zu verbessern [30, 73, 102]. Neben der diuretischen Wirkung sollen Diuretika außerdem einen positiven Effekt auf den Lungengefäßwiderstand ausüben [101].

1.4.8 Beatmungsstrategien

Die maschinelle Beatmung stellt einen Hauptrisikofaktor in der Pathogenese der BPD dar und ist zugleich eines der wichtigsten therapeutischen Verfahren [62]. Speer et al. zeigten, dass sich die diversen Beatmungsstrategien lediglich hinsichtlich ihres schädigenden Potentials unterscheiden [95]. Thome et al. folgerten aus einem randomisierten Vergleich der Beatmungsstrategien, dass vielmehr die Qualität der Beatmung ausschlaggebend ist als die Strategie per se [105].

IPPV

Eine „intermittent positive pressure ventilation“ (IPPV) soll anhand einer höheren Ventilationsfrequenz, geringeren Tidalrücken und Tidalvolumina das Volutrauma reduzieren. Durch eine hohe Ventilationsfrequenz während der IPPV kann das Volutrauma weiter gesenkt werden, da das benötigte Minutenvolumen mit geringeren Tidalvolumina erreicht werden kann. Diese Hypothese wurde in drei randomisierten Studien bestätigt, in denen eine Ventilationsfrequenz von 60 Atemzügen pro Minute mit geringen Spitzendrücken im Vergleich zu einer Ventilationsfrequenz von 20 bis 40 Atemzügen pro Minute mit höheren Spitzendrücken mit einer geringeren Inzidenz an Ateminsuffizienz assoziiert war [105].

HFOV

Es wurde angenommen, dass eine „high frequency oscillatory ventilation“ (HFOV) Frühgeborener mit Surfactantmangel durch verringertes Volutrauma aufgrund reduzierter Tidalvolumina, geringere schädigende Auswirkung hat und sich dies in einer verminderten Entzündungsreaktion im Trachealsekret widerspiegelt [104]. Mit der Einführung der HFOV in die neonatologische Intensivmedizin konnte jedoch keine definitive Reduktion der Inzidenz der BPD erzielt werden [125].

Auch Thome et al. konnten in ihrer Studie im Vergleich der HFOV mit IPPV keinen Unterschied bezüglich der Inzidenz der BPD [104] und der im Trachealsekret befindlichen Entzündungsmediatoren nachweisen; durch HFOV wurde eine identische proinflammatorische Reaktion hervorgerufen [95, 104].

iNO

Inhalatives Stickstoffmonoxid (iNO) fungiert als lokaler pulmonaler Vasodilatator und soll dadurch bei pulmonaler Hypertension zu verbesserter Oxygenierung führen. Trotz zahlreicher randomisierter Studien bezüglich des Effekts von iNO bei Frühgeborenen, besteht keine Evidenz für den Einsatz von iNO zur Prävention einer BPD. Ein früher Einsatz von iNO bei Kindern mit einem Geburtsgewicht über 1000 g soll einen positiven Einfluss sowohl auf Mortalität und BPD als auch auf das neurologische Outcome ausüben. Bei Kindern mit extrem niedrigem Geburtsgewicht konnte dies jedoch nicht beobachtet werden [57]. Gemäß der NICHD wird der Einsatz von iNO bei Frühgeborenen zur Prävention einer BPD außerhalb von Studien nicht empfohlen [89].

PHC

Permissive Hyperkapnie (PHC) ist eine Beatmungsstrategie, bei der relativ hohe PaCO₂ Werte toleriert werden, um mit kleineren Tidalvolumina der Überdehnung der Lunge vorzubeugen und damit das Risiko für eine Lungenschädigung zu minimieren [62, 79, 110]. Es wird davon ausgegangen, dass niedrigere Tidalvolumina eine geringere Lungendehnung verursachen sowie die Freisetzung inflammatorischer Mediatoren reduzieren [100, 110]. Trotz der Tatsache, dass zur Aufrechterhaltung der arteriellen Oxygenierung bei niedrigerem Tidalvolumen ein höherer

positiver endexpiratorischer Druck (PEEP) notwendig ist, konnten in Kombination mit verminderter inspiratorischer Dehnung günstige Effekte erzielt werden [100].

Das „Acute Respiratory Distress Syndrome Network“ zeigt in einer Studie, dass geringere Tidalvolumina sowohl die Mortalität als auch die Zahl der Beatmungstage reduzieren [100]. Verglichen mit anderen Studien besteht hinsichtlich der Verwendung geringerer Tidalvolumina Konsens. Kraybill et al. konnten in einer retrospektiven Analyse zeigen, dass eine Assoziation zwischen höheren PaCO₂ Konzentrationen und verminderter Inzidenz der BPD bei Kindern mit extrem niedrigem Geburtsgewicht besteht [55]. Andere Studien hingegen konnten diese Hypothese nicht stützen [63]. In weiteren retrospektiven Studien konnte jedoch gezeigt werden, dass durch eine relative Hypokapnie in den ersten Lebenstagen eine CLD bzw. BPD verschlechtert werden kann [62]. Jedoch wurde aufgrund der zerebral vasodilatierenden Effekte höherer PaCO₂-Drücke befürchtet, dass PHC die Hirnblutungsrate Frühgeborener erhöhen könnte.

Mariani et al. zeigten in einer Pilotstudie, dass die Anwendung der PHC bei Frühgeborenen im Vergleich zu normokapnischer Beatmung nicht komplikationsträchtiger ist. Die durchgeführte Studie hatte allerdings keine statistische Signifikanz, um eine Reduktion der BPD nachzuweisen [62]. Auch Thome et al. konnten in ihrer Studie keinen günstigen Effekt der permissiven Hyperkapnie nachweisen [106]. Es gibt jedoch Daten, die eine Assoziation zwischen vermehrtem Auftreten intraventrikulärer Blutungen und schwerer, nicht jedoch milder, Hyperkapnie aufzeigen [59, 99]. Hinsichtlich einer milden Hyperkapnie wird dagegen davon ausgegangen, dass sie möglicherweise einen protektiven Effekt auf das unreife Gehirn haben könnte. Klinische Studien unterstützen diese Annahme gewissermaßen, indem sie einen Zusammenhang zwischen Hypokapnie und einem erhöhten Risiko für periventrikuläre Leukomalazie (PVL) [62, 119], zerebrale Atrophie und Defiziten in der neurologischen Entwicklung Frühgeborener nachweisen konnten [110].

Ein weiterer positiver Effekt der permissiven Hyperkapnie kann durch die Verschiebung der Sauerstoffdissoziationskurve nach rechts zu höheren pO₂-Konzentrationen (Bohr Effekt) erzielt werden, wodurch die Sauerstoffdissoziation ins Gewebe erleichtert wird [110]. Permissive Hyperkapnie resultiert außerdem in einem verbesserten venösen Rückstrom und erhöhtem Herzzeitvolumen sowie günstigen Auswirkungen auf das Gehirn [110].

Zwei an erwachsenen Patienten mit ARDS durchgeführte Studien konnten nachweisen, dass permissive Hyperkapnie eine lungenprotektive Wirkung hat. Die erste Studie konnte über reduzierte Konzentrationen von Zytokinen sowohl in der bronchoalveolären Lavage als auch im Serum berichten [80] während die zweite Studie eine signifikante Reduktion der Mortalität nachweisen konnte [2, 100]. Mangels kontrollierter Studien an Neugeborenen werden für Aussagen bezüglich der Sicherheit, Wirksamkeit und vor allem Definition der permissiven Hyperkapnie bei Neugeborenen weitere prospektive Studien benötigt [62, 110].

Wung et al. waren die Ersten, die über Studien mit permissiver Hyperkapnie bei termingerecht geborenen Kindern mit persistierender pulmonaler Hypertonie (PPHN) berichteten. Bei Frühgeborenen mit einem hohen Risiko eine BPD zu entwickeln, werden Varughese et al. zufolge PaCO₂ Werte von 45-50 mm Hg als „sicher“ bzw. „gut toleriert“ erachtet [110].

1.5 Fragestellung

Die beatmungsinduzierte Lungenschädigung bei frühgeborenen Kindern stellt einen zentralen Mechanismus in der Pathogenese der BPD dar. Ein wesentlicher Ansatz zur Reduktion der Inzidenz der BPD ist daher die Optimierung der Beatmungsstrategie [110]. Dabei wird der Verringerung der Tidalvolumina [100], die unter anderem durch permissive Hyperkapnie erreicht werden kann [62, 110], eine wichtige Bedeutung zuteil. Die permissive Hyperkapnie gilt bei erwachsenen Patienten mit ARDS als sichere Beatmungsstrategie und verbessert das Überleben [100]. Bisher liegen nur wenige Daten über permissive Hyperkapnie bei frühgeborenen Kindern vor [62]. Drei randomisierte Studien über permissive Hyperkapnie bei Kindern mit extrem niedrigem Geburtsgewicht (ELBW) erbrachten kein eindeutiges Ergebnis oder mussten frühzeitig beendet werden [9, 106]. Um die permissive Hyperkapnie auf neonatologischen Intensivstationen zu etablieren und die Inzidenz der BPD zu senken, bedarf es daher weiterer randomisierter Studien.

Der hier vorliegenden prospektiven randomisierten Studie wurde die Hypothese zugrunde gelegt, dass mit moderater permissiver Hyperkapnie (PHC) beatmete Kinder im Vergleich zu mild hyperkapnisch beatmeten Kindern (MHC) aufgrund der geringeren Tidalvolumina und der verminderten Lungendehnung, weniger

Lungenschädigung erleiden und somit geringere pulmonale Entzündungsreaktionen induziert werden. In der Folge werden im Trachealsekret der mit permissiver Hyperkapnie beatmeten Kindern reduzierte Konzentrationen von proinflammatorischen Zytokinen und saurer Sphingomyelinase erwartet.

Außerdem wurde der Hypothese nachgegangen, dass anhand des Nachweises erhöhter Konzentrationen spezifischer proinflammatorischer Zytokine und saurer Sphingomyelinase die Entwicklung einer BPD vorhergesagt werden kann, um frühzeitig therapeutisch intervenieren zu können.

2 Material und Methoden

Die vorliegende Arbeit wurde im Rahmen einer prospektiven randomisierten multi-zentrischen Studie (PHELBI, Permissive Hypercapnia in Extremely Low Birthweight Infants) durchgeführt. Gegenstand dieser Studie ist die Beurteilung der Effekte der experimentellen Intervention mittels moderater permissiver Hyperkapnie im Vergleich zur Kontrollintervention mit milder hyperkapnischer Beatmung.

Der vorliegenden Arbeit wurden ausschließlich Daten von Kindern zugrunde gelegt, die in die PHELBI-Studie an der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin der Universitätsklinik Ulm (Zentrum 17) aufgenommen worden waren. Die Beschränkung auf diese Kinder erfolgte, da das Sammeln der Trachealsekrete an den übrigen Zentren nicht systematisch erfolgt war und nur vereinzelt Proben verfügbar waren. Mit der Beschränkung auf Kinder der Universitätskinderklinik Ulm sollte einem Selektionsbias vorgebeugt und der Tatsache entgegen gewirkt werden, dass in Studien gezeigt werden konnte, dass die Inzidenz der CLD bei frühgeborenen Kindern am Tag 28 sogar nach erfolgter Schichtung nach Gewicht, ethnischer Herkunft und Geschlecht [26], sowie nach Mortalität [63] zentrumsvariabel ist.

Alle an der Studie teilnehmenden Kinder erhielten neonatologische Versorgung gemäß den aktuell höchsten klinischen Standards. Für diese Studie liegt ein positives Votum der Ethikkommission vor, das in zeitlichen Abständen wiederholt überprüft wurde.

Zu Beginn der Therapie wurden die Erziehungsberechtigten über Inhalt, Vorgehensweise, Risiken und Ziel der Studie aufgeklärt. Die von den Erziehungsberechtigten unterzeichnete Einverständniserklärung wurde archiviert.

2.1 Patientenkollektiv

In diese prospektive Studie wurden Frühgeborene aufgenommen, die sich im Zeitraum von 2008 bis 2012 in der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin der Universitätsklinik Ulm befanden und dort auf der neonatologischen Intensivstation medizinisch versorgt wurden.

Einschlusskriterien waren im Prüfzentrum geborene Frühgeborene mit einem Geburtsgewicht von ≥ 400 g und ≤ 1000 g sowie einem Gestationsalter von ≥ 23 0/7 Wochen und ≤ 28 6/7 Wochen, die innerhalb von 24 Stunden post partum einer endotrachealen Intubation und maschinellen Beatmung bedurften und für die eine schriftliche Einverständniserklärung der Erziehungsberechtigten vorlag. Frühgeborene, die innerhalb von 24 Stunden post partum keiner endotrachealen Intubation bedurften, wurden nicht mehr rekrutiert, da davon ausgegangen wurde, dass bei diesen Kindern wahrscheinlich zu milde Lungenerkrankungen vorliegen, um zu der Fragestellung dieser Studie beitragen zu können. Ausgeschlossen wurden zudem außerhalb des Prüfzentrums geborene Frühgeborene, sowie Frühgeborene mit einem Geburtsgewicht von < 400 g und > 1000 g. Diese Kinder wurden nicht in die Studie aufgenommen, da der Anteil der Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht < 400 g eine kleine Minderheit mit außergewöhnlich hohen Risiken für ein ungünstiges Outcome darstellt. Andererseits haben Kinder > 1000 g Geburtsgewicht erheblich geringere Risiken. Diese beiden Patientengruppen wurden aus der Studie ausgeschlossen, da sie zur Fragestellung nur unerheblich beitragen würden. Weitere Ausschlusskriterien waren kongenitale Malformationen, die eine frühe chirurgische Intervention erforderten und die die respiratorische Versorgung oder das Outcome beeinflussten. Ausnahme waren ein persistierender Ductus arteriosus oder ein persistierendes Foramen ovale. Zu den Malformationen zählten Fehlbildungen des zentralen Nervensystems, des Herzens, der Lunge, des Darms oder der Bauchwand. Zudem wurden Frühgeborene mit Hydrops fetalis, chromosomalen Anomalien oder mit schwerer Asphyxie bei Geburt (definiert als 10 min Herzfrequenz < 100 /min und pH des arteriellen Nabelschnurblutes $< 7,00$), mit Komplikationen bei der maschinellen Beatmung, die vor Randomisierung auftraten, sowie Frühgeborene, die ausschließlich palliativ versorgt wurden, ausgeschlossen.

Nach Berücksichtigung der Ein- und Ausschlusskriterien wurde eine relativ gleichförmige Patientenpopulation erwartet [107].

2.1.1 Randomisierung

Die an der Studie teilnehmenden Kinder wurden innerhalb von 12 Stunden nach Intubation und Beginn der maschinellen Beatmung durch ein Block-Randomisierungs-Schema mit variablen Blockgrößen, stratifiziert nach Geburts-

gewicht (A = 400-499 g, B = 500-749 g, C = 750-999 g) in zwei Behandlungsgruppen unterteilt. Bis zur Randomisierung wurden alle Kinder nach dem Schema der Kontrollgruppe therapiert. Die randomisierte Beatmungsmethode war maßgeblich für die ersten 14 Lebenstage, sofern das Kind nicht früher extubiert wurde oder schwerwiegende Komplikationen auftraten.

Behandlungsgruppen

Tabelle 1: Moderate permissive Hyperkapnie (Interventionsgruppe)

Lebenstag [d]	PaCO₂ Zielbereich [mm Hg]
1-3 (0-72 h)	55-65
4-6 (73-144 h)	60-70
7-14 (145-336 h)	65-75

Tabelle 2: Milde Hyperkapnie (Kontrollgruppe)

Lebenstag [d]	PaCO₂ Zielbereich [mm Hg]
1-3 (0-72 h)	40-50
4-6 (73-144 h)	45-55
7-14 (145-336 h)	50-60

War während der ersten 14 Lebenstage eine Reintubation nötig, zum Beispiel aufgrund schwerer Apnoen, erfolgte die Behandlung gemäß der ursprünglichen Randomisierung und dem aktuellen Lebenstag [107].

Eine Verblindung der beteiligten Personen war aufgrund der Vielzahl klinischer Interventionen, wie Blutgasbestimmungen und Beatmungsregulierungen, im Rahmen der neonatologischen intensivmedizinischen Versorgung nicht möglich.

2.1.2 Intervention

In der Behandlungsgruppe der experimentellen Intervention wurde zunächst mit mäßig hohen PaCO₂ Grenzen begonnen, um diese im weiteren Verlauf entsprechend oben genannten Werten zu steigern.

Die Beatmung der Kontrollgruppe erfolgte entsprechend der traditionellen Beatmungsstrategie, wie sie auf vielen neonatologischen Intensivstationen übliche Praxis ist. Auch hier wurden entsprechend obiger Angaben die Werte für PaCO₂ allmählich gesteigert. Zwischen der Interventionsgruppe und der Kontrollgruppe wurde durchgehend bis zum Ende der Intervention nach 14 Tagen ein Unterschied von 15 mm Hg angestrebt.

Im Rahmen der neonatologischen intensivmedizinischen Versorgung erhielten alle Kinder eine Surfactanttherapie.

2.2 Trachealsekretgewinnung und -aufbereitung

2.2.1 Sammeln und Asservieren des Trachealsekrets

Die Trachealsekretgewinnung erfolgte nur im Rahmen der medizinisch indizierten endotrachealen Absaugung, die integraler Bestandteil der Beatmungstherapie ist. Es wurden an Lebenstag 2, 4, 7, 14 und 21 jeweils maximal vier Proben pro Tag gesammelt; vorausgesetzt das Kind wurde nicht eher extubiert.

Vorab wurden 0,5 ml/kg Körpergewicht 0,9 % NaCl-Lösung in den Endotrachealtubus instilliert, nach 3-5 Atemzügen wurde das Trachealsekret unter sterilen Bedingungen in eine Absaugfalle gesaugt. Anschließend wurde der Absaugkatheter mit 0,5 ml 0,9 % NaCl-Lösung durchgespült. Das abgesaugte Trachealsekret wurde unmittelbar nach seiner Gewinnung bei 140 x g für zehn Minuten zentrifugiert. Der Überstand wurde abpipettiert und in Cryotubes bei -18 °C gelagert. Die so gewonnenen Trachealsekretproben wurden gebündelt innerhalb von 48 h in einen -80 °C Gefrierschrank überführt und dort bis zur immunologischen Analyse aufbewahrt.

2.3 Methoden der immunologischen und biochemischen Analyse

Alle Analysen wurden im Labor von Prof. Dr. Stefan Uhlig, Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Rheinisch-Westfälischen Technischen Hochschule der Universitätsklinik Aachen, Deutschland, durchgeführt. Mit Ausnahme der sauren Sphingomyelinase, die mit selbst entwickelten Reagenzien bestimmt wurde, kamen für die Analysen kommerzielle Assays zum Einsatz. Aufgrund der Vielzahl von Zytokinen und der kleinen Menge an verfügbarem Material der jeweiligen Patienten wurde unter anderem eine Multiplex-Methode verwendet, welche die gleichzeitige Messung vieler verschiedener Zytokine erlaubt und schon zuvor erfolgreich für Analysen der bronchoalveolären Lavage eingesetzt wurde. Die Multiplex-Methode ermöglicht es abhängig von den verwendeten Assays Informationen über weitere Zytokine ohne zusätzlichen Kosten- und Laboraufwand zu erhalten.

Die Proben eines Patienten von einem Tag wurden gepoolt und in ein Reaktionsgefäß pipettiert. Mittels eines Probenschüttlers erfolgte anschließend die Homogenisierung der Proben.

Zur Korrektur ungleicher Verdünnung der Proben durch Zugabe von unterschiedlichen Mengen der 0,9 % NaCl-Lösung während des Sammelprozesses wurde zusätzlich in allen Proben die Konzentration der sekretorischen Komponente von IgA (sIgA) bestimmt, die während der ersten Lebensmonate unabhängig von Gestationsalter, postnatalem Alter, kapillärer Permeabilität und Steroidtherapie ist und daher als Referenzwert verwendet werden konnte [1, 114, 116]. Somit konnten alle Messwerte zur Konzentration von sIgA des jeweiligen Patienten ins Verhältnis gesetzt werden.

2.3.1 Messmethoden

Immunoassays für IL-1 β , IL-6, IL-8, MIP-1 α

Zytokine werden typischerweise entweder durch einen Immunoassay oder Bioassay bestimmt. Zur Analyse der Zytokine IL-1 β , IL-6, IL-8 und MIP-1 α wurde der Bio-Plex ProTM Assay verwendet. Dieser Assay ermöglicht es gleichzeitig mehr als 100 Zytokine in einer Vertiefung einer 96-well-Mikrotiterplatte zu analysieren. Außerdem ermöglicht dieses Verfahren die Erstellung eines kompletten Zytokinprofils aus reduziertem Probenmaterial und verringert die Probenaufbereitungszeit.

Prinzip des Bio-Plex ProTM Assays :

Das Bio-Plex[®] System besteht aus drei Kerntechnologien; aus fluoreszierend gefärbten Mikrokugeln (beads), an die Biomoleküle gebunden sind, aus einem Flow-Zytometer mit Lasern und Optiken zur Messung der verschiedenen Moleküle, die an die Oberfläche der Mikrokugeln gebunden sind und aus einem Hochgeschwindigkeitsprozessor.

Das Prinzip dieses Systems entspricht dem eines „Sandwich-ELISA“. Dabei binden Antikörper (AK), die kovalent an farblich gekennzeichnete beads gekoppelt sind, spezifisch an Zytokine. Nach mehreren Waschschritten zur Beseitigung von ungebundenem Protein, wird ein biotinylierter Detektions-Antikörper hinzugefügt, woraus sich ein Sandwichkomplex aus erstem AK, Zytokin und zweitem AK bildet, der wiederum durch die Zugabe von Streptavidin-Phycoerythrin (SA-PE) detektierbar gemacht wird. Die detektierten Zytokine werden anhand des Bio-Plex[®] Suspension Array Systems, das spezifische Reaktionen basierend auf beads-Farbe und Fluoreszenz erkennt, quantifiziert und identifiziert. Die unbekanntes Zytokinkonzentrationen werden automatisch von der Bio-Plex ManagerTM Software mittels einer Standardkurve ermittelt.

Die Durchführung des Bio-Plex ProTM Assays erfolgte gemäß Herstellerangaben (Bio-Plex ProTM Assay, Cytokine, Chemokine, and Growth Factors - Bio-Rad Laboratories, München).

Immunoassay für LTB₄ und NPY

Der Immunoassay für LTB₄ und NPY basiert auf dem Prinzip eines kompetitiven Bindungstests. Zur Quantifizierung von LTB₄ und NPY musste dieses Verfahren verwendet werden, da es hiermit möglich ist die Menge an AK oder Antigen (AG) in einer Probe unbekannter Zusammensetzung zu bestimmen.

Prinzip des Enzym Immunoassays:

Beim kompetitiven Bindungstest kommt es zur Konkurrenz zwischen einem durch Biotinylierung markierten Antigen und dem in der Probe enthaltenen Antigen um einen Bindungsplatz an die bereits an der Mikrotiterplatte gebundenen Antikörper. Das biotinylierte AG interagiert mit Streptavidin-Horseradish Peroxidase (SA-

HRP), das nach Zugabe einer Substratlösung eine enzymatische Farbreaktion katalysiert. Die Farbintensität ist direkt proportional zur Menge an biotinyliertem AG-SA-HRP Komplex und umgekehrt proportional zu der in der Probe enthaltenen Antigenmenge. Die Farbintensität (Extinktion) kann mithilfe eines Mikrotiterplatten-Lesegerätes photometrisch bei einem Absorptionsmaximum von 450 nm gemessen werden. Dem entsprechend kann eine Standardkurve anhand der bekannten Konzentrationen erstellt werden. Die unbekannte Konzentration in den Proben kann durch Extrapolation dieser Standardkurve bestimmt werden.

Die Durchführung der Assays erfolgte gemäß Herstellerangaben (Parameter™ LTB₄ Assay- R&D Systems GmbH, Wiesbaden; Neuropeptide Y (NPY) EIA Kit - Phoenix Europe GmbH, Karlsruhe).

Immunoassay für TGF-β1, Albumin, Nitrotyrosin, slgA

Die Immunoassays für TGF-β1, Albumin, Nitrotyrosin und slgA sind ELISA (Enzyme-Linked-Immuno-Sorbent-Assay)-Kits, die auf dem Prinzip einer antikörpergekoppelten enzymatischen Farbreaktion, auch als „doppeltes Antikörper Sandwich-Prinzip“ bezeichnet, beruhen und eine quantitative Bestimmung von Antigenen ermöglicht.

Zur Korrektur ungleicher Verdünnung der Proben wurde die Konzentration von slgA bestimmt, die unabhängig von Gestationsalter und postnatalem Alter ist. Somit können die Werte auf slgA normiert werden.

Prinzip des ELISAs:

Die ELISA-Kits enthalten eine 96-well-Mikrotiterplatte, deren Vertiefungen bereits mit einem gegen das gesuchte Antigen gerichteten Antikörper beschichtet sind. Dieser fixierte Antikörper bindet nach Zugabe der Trachealsekretproben und folgender Inkubation entsprechend der Herstellerangaben das nachzuweisende Antigen. Ungebundenes und überschüssiges Material wird durch Waschen entfernt. Anschließend wird ein weiterer enzymmarkierter (HRP) polyklonaler AK (detection AK) zu dem Antikörper-Antigen-Komplex hinzugegeben. Durch Bindung dieses Antikörpers entsteht ein sogenannter „Sandwich-Komplex“ aus erstem AK, AG und zweitem AK. Durch nochmaliges Waschen werden erneut ungebundene Bestandteile entfernt. Die enzymatische Farbreaktion wird durch die Zugabe einer

Substratlösung Tetramethylbenzidin induziert, das von dem AK-gebundenen Enzym umgesetzt wird und ein farbiges Endprodukt bildet. Die Enzymreaktion wird nach einer bestimmten Reaktionszeit durch Zugabe einer sauren Stopplösung terminiert.

Die Farbintensität (Extinktion) kann mithilfe eines Mikrotiterplatten-Lesegeräts bei einem Absorptionsmaximum von 450 nm photometrisch gemessen werden. Nach Erstellen einer Standardkurve kann die Quantifizierung der nachzuweisenden Verbindung in der Probe erfolgen.

Die Durchführung der Assays erfolgte gemäß Herstellerangaben (Quantikine® ELISA Human TGF-β1 Immunoassay - R&D Systems GmbH, Wiesbaden; AssayMax Human Albumin ELISA Kit - AssayPro, St. Charles (USA); Nitrotyrosine ELISA Kit - Hycult® Biotech, Uden (NL); ELISA-Kontrollen sekretorisches IgA - ImmuChrom GmbH, Heppenheim).

Assay für Nitrit/Nitrat

Die Bestimmung der Reaktionsprodukte des Peroxynitrits erfolgte über eine enzymatische Konversion von Nitrat zu Nitrit.

Prinzip des Assays für Nitrit/Nitrat:

Der verwendete Assay bestimmt die Nitrit-Konzentration basierend auf einer enzymatischen Umwandlung von Nitrat zu Nitrit, katalysiert durch die Nitratreduktase. Ihm liegt das Prinzip der Griess Reaktion, einer zweistufigen Reaktion, bei der Nitrit mit Sulfanilsäure zu einem Diazoniumion reagiert, zugrunde. Dieses Ion koppelt an N-(1-naphthyl)ethylendiamin und bildet einen Diazofarbstoff, dessen Lichtabsorption bei 550-620 nm photometrisch bestimmt werden kann.

Die Durchführung der Assays erfolgte gemäß Herstellerangaben (Parameter™ Total Nitric Oxide and Nitrate/Nitrite Assay - R&D Systems GmbH, Wiesbaden).

Assay für saure Sphingomyelinase (ASMase)

Die ASMase-Aktivität wurde mit Hilfe von C¹⁴-markiertem Sphingomyelin als Substrat bestimmt. Jede Trachealsekretprobe musste zur ASMase-Bestimmung 10 µg

Protein enthalten. Die Proteinmenge wurde mittels des BCA Protein Assays der Firma Thermo Scientific, Rockford (USA) gemäß Herstellerangaben ermittelt.

Prinzip des Assays:

Zur Bestimmung der ASMase-Aktivität wurden 10 µg Protein auf 10 µl verdünnt und mit 40 µl des Substratgemisches (C¹⁴-markiertes Sphingomyelin + Sphingomyelin) für zwei Stunden bei 37 °C inkubiert. Diese Reaktion wurde nach einer Stunde gestoppt. Zum Abtrennen von Lipiden wurde anschließend 750 µl CHCl₃/CH₃OH (Chloroform/Methanol) und 250 µl destilliertes Wasser hinzugefügt und das Gemisch bei 20000 x g für 4 min zentrifugiert. Von der oberen Phase wurden 250 µl Probenmaterial in ein Szintillationsröhrchen pipettiert und 4 ml Szintillationsflüssigkeit (AQUASAFE 300 plus, Zinsser Analytic GmbH) hinzugegeben. Nach Mischen des Szintillationsröhrchens konnte die Radioaktivität mittels eines β-Counters gemessen werden.

2.4 Material

2.4.1 Geräte

Plattenlesegerät	Luminex 100, Software Luminex IS 2.2
Probenschüttler	Scientific Industries Vortex-1 Genie Touch Mixer
Zentrifuge	Thermo Electron Corporation; Heraeus Fresco 17
ELISA-Reader	Tecan Genios
β-Counter Programm 20	Beckman

2.4.2 Laborbedarf

96-well-Mikrotiterplatten	Nunc-Immuno Plate F96 Maxisorp bzw. aus Kits
Pipettenspitzen	Sarstedt 0,5-10 µl, 10-100 µl; Eppendorf 100-1000 µl
Einkanalpipetten	Eppendorf 0,5-10 µl, 10-100 µl, 100-1000 µl
Mehrkanalpipetten	Eppendorf 10-100 µl, 20-300 µl
Reaktionsgefäß	Sarstedt 1,5 ml
Szintillationsröhrchen	Packard

2.5 Statistische Analyse der Daten

2.5.1 Erhebung der Daten

Die klinischen Patientendaten wurden im CRF-Datenerhebungsbuch durch die an der Studie beteiligten Ärzte erfasst. Die Datenerhebung wurde von externen Studienmonitoren überwacht.

2.5.2 Daten zum Outcome

Zusätzlich zur Konzentration inflammatorischer und proinflammatorischer Mediatoren im Trachealsekret wurde im Alter von 36 Wochen \pm 1 Tag post menstruationem nach Walsh et al. das klinische Outcome bezüglich BPD oder Tod bestimmt. Die Diagnose einer BPD erfolgte unter Ruhebedingungen 30 min nach einer Mahlzeit und beruhte auf den folgenden Parametern: lebend, hospitalisiert, maschinelle Beatmung oder Sauerstoffgabe unter Berücksichtigung der Ergebnisse des Sauerstoff-Reduktionstests (siehe unten) [111, 112]. Kinder, die maschinelle Beatmung oder CPAP benötigten, erhielten die Diagnose BPD.

Bei Kindern ohne maschinelle Beatmung im Alter von 36 Wochen \pm 1 Tag post menstruationem aber mit zusätzlichem Sauerstoffbedarf wurde der FiO_2 in einer Kopfbox bestimmt:

- Kinder, die $> 30\%$ FiO_2 hatten, um die Sättigung $> 90\%$ zu halten, hatten eine BPD.
- Kinder, die $< 30\%$ FiO_2 hatten, aber keine Sättigung $> 90\%$ über 15 min halten konnten, hatten ebenfalls eine BPD.
- Kinder, die $< 30\%$ FiO_2 hatten und damit eine Sättigung $> 90\%$ über 15 min halten konnten, wurden dem Sauerstoff-Reduktionstest unterzogen (siehe unten).

Sauerstoff-Reduktionstest

Beim Sauerstoff-Reduktionstest wird in definierten Schritten der zusätzliche Sauerstoff bis auf Raumluftniveau reduziert:

- Kinder, die über einen Zeitraum von 10 min Raumlufte tolerierten, hatten keine BPD.
- Kinder, die über 5 min eine Sättigung < 90 % oder über 15 sek eine Sättigung < 80% hatten, hatten eine BPD. In diesen Fällen wurde der Test unmittelbar beendet.

Des Weiteren wurden zur Bestimmung der sekundären Zielkriterien im Alter von 36 Wochen \pm 1 Tag post menstruationem Daten zum respiratorischen und nicht-respiratorischen Outcome erhoben. Bezüglich des respiratorischen Outcomes wurde die Inzidenz von Luftlecks sowie die Dauer von maschineller Beatmung, von CPAP und von zusätzlichem Sauerstoffbedarf bestimmt. Luftlecks, wie Pneumothorax, Pneumomediastinum, Pneumoperikard und pulmonales interstitielles Emphysem wurden radiologisch festgestellt. Zur Ermittlung der Dauer maschineller Beatmung wurden alle Tage, an denen das Kind mehr als 12 Stunden intubiert, maschinell beatmet oder nicht invasiv zum Beispiel mittels CPAP beatmet wurde, gezählt. Außerdem wurde im Rahmen der Bestimmung des nicht-respiratorischen Outcomes die Inzidenz intrakranieller Blutungen (IVH) nach Papille bestimmt. Diese wurde mittels transkranieller Sonographie an Lebenstag 14 diagnostiziert. An Lebenstag 1 wurde ebenfalls eine transkranielle Sonographie durchgeführt, die dem Ausschluss pränataler, mit der Studie somit nicht im Zusammenhang stehender, intrakranieller Blutungen diene. Weiter wurde die Inzidenz eines persistierenden Ductus arteriosus, einer nekrotisierenden Enterokolitis (NEC) und einer Retinopathia praematurorum (ROP) erhoben. Die Diagnose NEC wurde anhand klinischer und radiologischer Befunde gestellt. Bei der ROP wurde jede mindestens drittgradige ROP ebenso wie Laser- und Kryotherapien gezählt.

2.5.3 Statistische Analyse der Daten

Den Berechnungen wurde a priori ein Signifikanzniveau von $\alpha = 5\%$ zugrunde gelegt. Signifikanzwerte von $p \leq 0,05$ wurden als signifikante und Signifikanzwerte von $p \leq 0,01$ als hoch signifikante Unterschiede bezeichnet.

Alle im Folgenden durchgeführten statistischen Tests wurden aufgrund der geringen Fallzahl explorativ eingesetzt.

Zur Testung der Vergleichbarkeit der beiden Gruppen wurden für metrische Daten jeweils das arithmetische Mittel, die Standardabweichung als Maß für die Variabilität, Median sowie Minimum und Maximum berechnet. Angegeben sind hierzu bei Häufigkeitsdaten sowohl die absoluten Werte als auch die relativen Werte (%-Werte). Unterschiede zwischen den beiden Gruppen wurden bei metrisch skalierten Daten mit dem nicht-parametrischen Mann-Whitney Rank Sum Test für unabhängige Stichproben ermittelt. Für nominal skalierte Daten wurde der Exakte Test nach Fisher angewandt.

Aufgrund der geringen Fallzahl konnte bei den Daten für die analysierten Parameter nicht von einer Normalverteilung ausgegangen werden, daher wurden zur statistischen Auswertung nicht-parametrische Verfahren verwendet.

Da aus ethischen Gründen nicht alle geplanten Trachealsekrete gesammelt werden konnten, enthält der Datensatz leider einige Fehlstellen. Um dennoch die erste Hypothese testen zu können, wurde mit gemischten Modellen gerechnet. Hierbei wurde zunächst mittels RM-ANOVAs analysiert, ob ein Haupteffekt der Versuchsbedingung (Kontrollgruppe versus Interventionsgruppe) bereinigt um den Effekt des Messzeitpunktes vorliegt. Des Weiteren wurde auf einen Haupteffekt des Messzeitpunktes bereinigt um den Effekt der Versuchsbedingung sowie auf eine Interaktion zwischen Versuchsbedingung und Messzeitpunkt untersucht.

Weiter wurde mittels eines Wilcoxon-Rangsummentests der Vergleich der beiden Gruppen pro Messzeitpunkt erstellt.

Zur Überprüfung der zweiten Hypothese wurde eine logistische Regression durchgeführt.

Die elektronische Datenerfassung erfolgte im Tabellenkalkulationsprogramm MS Excel (Version 2011 für Mac OS X).

Mithilfe der in Excel verfügbaren Statistikfunktionen wurde die deskriptive Statistik berechnet.

Die statistische Auswertung erfolgte nach Konvertierung der Daten aus Excel rechnergestützt mit SAS Version 9.2 für Windows. Zum Ausschluss von Konvertierungsfehlern waren nach Übertragung Stichproben durchgeführt worden.

Zur Erstellung der Graphiken wurde Excel 2011 für Mac OS X verwendet.

Die „Box- and Whisker-Plots“ stellen als Box das untere/obere Quartil und den Median dar. Die „Whisker“ illustrieren die 10. und 90. Perzentile der Daten.

3 Ergebnisse

Im Zeitraum von 2008 bis 2012 wurden 73 frühgeborene Kinder mit einem Geburtsgewicht ≥ 400 g und ≤ 1000 g, die in der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin der Universitätsklinik Ulm geboren wurden, in die Studie aufgenommen und randomisiert, um entweder mild hyperkapnisch (Kontrollgruppe) oder moderat permissiv hyperkapnisch (Interventionsgruppe) beatmet zu werden.

In der Kontrollgruppe sind zwei Kinder und in der Interventionsgruppe ein Kind innerhalb von 36 Wochen post menstruationem verstorben. Da die Berechnungen zum primären Outcome auf intention-to-treat-Analysen basieren und das primäre Outcome der vorliegenden Studie durch BPD und/oder Tod definiert ist, wurden die verstorbenen Kinder weiterhin in die Datenauswertung mit eingeschlossen. Einzige Ausnahme der intention-to-treat-Analyse waren Kinder, deren Eltern die Einverständniserklärung rückwirkend zurückgezogen hatten. In der vorliegenden Studie waren dies zwei der bereits randomisierten Kinder, die beide der Interventionsgruppe zugeteilt waren. Diese beiden Kinder wurden aus Datenschutzgründen retrospektiv aus der Auswertung ausgeschlossen.

Für die statistische Analyse der Daten ergab sich somit eine Stichprobengröße von $n = 71$ Patienten mit 36 Patienten in der Kontrollgruppe und 35 Patienten in der Interventionsgruppe.

Bedingt durch Versterben oder Verlegung in ein heimatnahes Krankenhaus vor 36 Wochen ± 1 Tag post menstruationem kam es bei einzelnen Frühgeborenen zu unvollständiger Dokumentation einzelner Variablen, so dass die Größe des Patientenkollektivs bei diversen Variablen variiert.

Trachealsekret (TS) wurde von 62 der 71 in die Studie aufgenommenen Kinder gesammelt. Da die Abnahme des Trachealsekrets bei den Frühgeborenen nur bei entsprechender Indikation erfolgte, konnten die vorgegebenen Abnahmezeitpunkte nicht immer eingehalten werden. Naturgemäß nahm die Häufigkeit der Trachealsekretentnahmen mit zunehmendem Lebensalter ab, so dass die Zahl der gewonnenen Proben stark variierte. Wesentliche Gründe für die Reduktion der Probenzahl waren Extubation innerhalb der ersten 21 Lebenstage und Abnahme

der Anzahl medizinisch indizierter trachealer Absaugvorgänge aufgrund pulmonaler Funktionsbesserung.

3.1 Testung auf demographische und klinische Unterschiede zwischen der Kontrollgruppe und der Interventionsgruppe

In Tabelle 3 werden die Ergebnisse der Testung auf Unterschiede zwischen den beiden Gruppen dargestellt. Es wurden jeweils die Mittelwerte mit Standardabweichung sowie Median, Minimum und Maximum berechnet. Angegeben sind hierzu sowohl die absoluten als auch relativen Werte. Gleichzeitig wurde der in der statistischen Analyse ermittelte p-Wert angegeben, der bei metrischen Daten mittels des Mann-Whitney Rank Sum Tests und bei numerischen Daten mittels des Exakten Tests nach Fisher berechnet wurde.

Um neben der p-Wert Bestimmung eine Aussage über mögliche Unterschiede der beiden Gruppen bezüglich der erhobenen Häufigkeiten machen zu können, wurden anhand von Tabellen der Binomialverteilung die jeweiligen Konfidenzbereiche verglichen. Hierbei wurde von einer Konfidenzwahrscheinlichkeit von 95 % ausgegangen.

Fehlten vereinzelte Messwerte bzw. Variablen, wurden diese Kinder aus der Berechnung ausgeschlossen. Die jeweilige Stichprobengröße n wurde in Klammern angegeben.

Tabelle 3: Ergebnisse der Testung auf Unterschiede der Eingangsvariablen bei den im Zeitraum von 2008 bis 2012 an der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin der Universitätsklinik Ulm in die Studie aufgenommenen Frühgeborenen (n = 71) unter milder Hyperkapnie (Kontrollgruppe) bzw. unter moderater permissiver Hyperkapnie (Interventionsgruppe).

Variable	Behandlungsgruppe		p-Wert
	milde Hyperkapnie	moderate permissive Hyperkapnie	
Patientenzahl (Schicht A, B, C)	36 (51 %) A = 2 (6 %), B = 18 (50 %), C = 16 (44 %)	35 (49 %) A = 2 (6 %), B = 18 (51 %), C = 15 (43 %)	
Gestationsalter [d] Mittelwert ± SD Median (Min; Max)	176,9 ± 9,2 178 (161; 199)	179,1 ± 10,4 179 (163; 201)	0,48
Geschlecht*	m = 17 (47 %) w = 19 (53 %)	m = 20 (57 %) w = 15 (43 %)	0,48
Geburtsgewicht [g] Mittelwert ± SD Median (Min; Max)	700,7 ± 162,2 705 (415; 970)	726,4 ± 154,9 730 (440; 990)	0,53
präinatale Steroide*	30 (83 %)	32 (91 %)	0,48

vorzeitiger Blasensprung*	8 (22 %)	2 (6 %)	0,09
APGAR 5 min*		(n = 34)	
9-10	14 (39 %)	16 (47 %)	0,63
5-8	22 (61 %)	17 (50 %)	0,47
< 5	0 (0 %)	1 (3 %)	0,49
APGAR 10 min*		(n = 33)	
9-10	27 (75 %)	26 (79 %)	0,78
5-8	9 (25 %)	7 (21 %)	0,78
< 5	0 (0 %)	0 (0 %)	1,00
Intubationsalter [h]			
Mittelwert \pm SD	3,3 \pm 4,6	3,6 \pm 5,5	0,51
Median (Min; Max)	2,5 (0; 21)	0 (0; 17)	

* berechnet mit dem Exakten Test nach Fisher; alle anderen mit Mann-Whitney Rank Sum Test

Es ergab sich zwischen den Versuchsbedingungen bezüglich der oben aufgeführten Variablen Gestationsalter, Geschlecht, Geburtsgewicht, pränatale Steroide, vorzeitiger Blasensprung, Apgar Scores und Intubationsalter kein Unterschied, so dass die Vergleichbarkeit der beiden Gruppen bezüglich dieser Variablen gegeben war.

Weiter wurde auf Unterschiede der beiden Gruppen bezüglich des nicht-respiratorischen Outcomes im Alter von 36 Wochen post menstruationem überprüft. Die Diagnose einer intrakraniellen bzw. intraventrikulären Blutung (IVH) wurde im Gegensatz zu den übrigen Daten im Alter von 1 und 14 Lebenstagen mittels transkranieller Sonographie bestimmt. Hierbei diente die transkranielle Sonographie an Lebenstag 1, wie bereits oben beschrieben, dem Ausschluss pränataler, mit der Studie somit nicht im Zusammenhang stehender, intrakranieller Blutungen.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 dargestellt.

Tabelle 4: Ergebnisse der Testung auf Unterschiede des nicht-respiratorischen Outcomes bei den im Zeitraum von 2008 bis 2012 an der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin der Universitätsklinik Ulm in die Studie aufgenommenen Frühgeborenen (n = 71) unter milder Hyperkapnie (Kontrollgruppe) bzw. unter moderater permissiver Hyperkapnie (Interventionsgruppe). PDA – persistierender Ductus arteriosus; ROP – Retinopatia praematurorum; NEC – nekrotisierende Enterokolitis; IVH – intraventrikuläre Hämorrhagie.

Variable	Behandlungsgruppe		p-Wert
	milde Hyperkapnie	moderate permissive Hyperkapnie	
PDA*	(n = 35) 14 (40 %)	(n = 34) 10 (29 %)	0,45
ROP*	(n = 35) 16 (46 %)	(n = 34) 12 (35 %)	0,47
NEC*	(n = 34) 0 (0 %)	(n = 34) 4 (12 %)	0,11
Schädelstatus normal	(n = 33) 29 (88 %)	(n = 34) 32 (94 %)	0,43

IVH*	(n = 33)	(n = 33)	
alle Grade	11 (33 %)	11 (33 %)	1,00
Grad 3-4	2 (6 %)	3 (9 %)	1,00

* berechnet mit dem Exakten Test nach Fisher; alle anderen mit Mann-Whitney Rank Sum Test

Wie Tabelle 4 veranschaulicht, bestand auch bezüglich der Variablen PDA, ROP, NEC, Schädelstatus und IVH kein wesentlicher Unterschied, so dass die beiden Patientengruppen in dieser Hinsicht als vergleichbar zu betrachten sind.

Zusätzlich wurden Unterschiede bezüglich des respiratorischen Outcomes im Alter von 36 Wochen post menstruationem gesucht. Die Ergebnisse sind in Tabelle 5 dargestellt.

Tabelle 5: Ergebnisse der Testung auf Unterschiede des respiratorischen Outcomes bei den im Zeitraum von 2008 bis 2012 an der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin der Universitätsklinik Ulm in die Studie aufgenommenen Frühgeborenen (n = 71) unter milder Hyperkapnie (Kontrollgruppe) bzw. unter moderater permissiver Hyperkapnie (Interventionsgruppe). PIE – pulmonales interstitielles Emphysem.

Variable	Behandlungsgruppe		p-Wert
	milde Hyperkapnie	moderate permissive Hyperkapnie	
endgültig extubiert 36 Wo. pm*	(n = 34) 34 (100 %)	(n = 34) 34 (100 %)	1,00
Alter bei Extubation [d]	(n = 34)	(n = 34)	
Mittelwert ± SD	25,8 ± 18,1	22,6 ± 19,8	0,36
Median (Min; Max)	25,5 (2; 74)	19 (2; 77)	
endgültig kein CPAP 36 Wo. pm*	(n = 34) 32 (94 %)	(n = 34) 29 (85 %)	0,43
Alter bei CPAP absetzen [d]	(n = 32)	(n = 29)	
Mittelwert ± SD	53,9 ± 20,0	45,8 ± 20,2	0,12
Median (Min; Max)	58 (7; 80)	48 (7; 74)	
mechanische Atemhilfe [h]		(n = 29)	
Mittelwert ± SD	1199,7 ± 544,4	1087,5 ± 523,6	0,27
Median (Min; Max)	1258 (152; 2143)	1140 (42; 2059)	
vollständig O ₂ entwöhnt 36 Wo. pm	(n = 34) 28 (82 %)	(n = 34) 28 (82 %)	1,00
mittlerer FiO ₂			
Mittelwert ± SD	0,32 ± 0,14	0,31 ± 0,10	0,56
Median (Min; Max)	0,27 (0,22; 0,89)	0,28 (0,22; 0,72)	
Pneumothorax*	3 (8 %)	0 (0 %)	0,24
Lungenblutung*	1 (3 %)	1 (3 %)	1,00
PIE*	4 (11 %)	0 (0 %)	0,12

* berechnet mit dem Exakten Test nach Fisher; alle anderen mit Mann-Whitney Rank Sum Test

In einer letzten Analyse wurde auf Unterschiede im primären Outcome BPD/Tod zwischen den beiden Gruppen untersucht. Die Ergebnisse sind in Tabelle 6 dargestellt. Im unteren Abschnitt werden die Daten der explorativ erhobenen Diagno-

se BPD aufgeführt. Die explorative Bestimmung der BPD erfolgte, wie in Abbildung 1 illustriert, nach den Diagnosekriterien von Jobe und Bancalari [40].

Tabelle 6: Ergebnisse der Testung auf Unterschiede des primären Outcomes BPD/Tod bei den im Zeitraum von 2008 bis 2012 an der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin der Universitätsklinik Ulm in die Studie aufgenommenen Frühgeborenen (n = 71) unter milder Hyperkapnie (Kontrollgruppe) bzw. unter moderater permissiver Hyperkapnie (Interventionsgruppe).

Variable	Behandlungsgruppe		p-Wert	
	milde Hyperkapnie	moderate permissive Hyperkapnie		
BPD nach Protokoll	keine BPD	26 (75 %)	26 (74 %)	1,00
	BPD	8 (22 %)	8 (23 %)	1,00
	Tod	2 (6 %)	1 (3 %)	1,00
BPD explorativ	keine BPD	4 (11 %)	6 (17 %)	0,73
	BPD	30 (83 %)	(n = 35) 28 (80 %)	0,73
	mild	22 (73 %)	19 (68 %)	0,78
	moderat	3 (10 %)	3 (11 %)	1,00
	schwer	5 (17 %)	6 (21 %)	0,74
	Tod	2 (6 %)	(n = 35) 1 (3 %)	1,00

Wie aus Tabelle 6 ersichtlich, gibt es trotz der unterschiedlichen Beatmungsstrategien keinen Unterschied im Überleben und der Inzidenz der BPD bzw. Tod. 3 der in die Studie aufgenommenen Frühgeborenen verstarben aufgrund von schweren intraventrikulären Blutungen (n = 1), schwerer pulmonaler Hypoplasie (n = 1) und extremer Unreife (n = 1). Dies führt zu einer Gesamtüberlebensrate von 95,8 % (Kontrollgruppe 94,4 %, Interventionsgruppe 97,1 %).

Bezüglich des respiratorischen Outcomes besteht, wie oben aufgeführte Daten zeigen, zwischen den beiden Gruppen kein Unterschied. Dies deutet daraufhin, dass es hinsichtlich der beatmungsbedingten Lungenschäden abhängig von der Beatmungsstrategie keinen Unterschied gibt.

Der mittlere FiO_2 unterschied sich bei beiden Gruppen nicht. Dies zeigt, dass in beiden Gruppen ähnliche klinische Schweregrade der Lungenerkrankung vorliegen.

3.2 Testungen der Hypothese

In den folgenden Abschnitten werden die Ergebnisse der Analyse der Trachealsekretproben dargestellt.

In Abschnitt 3.2.1 werden die Ergebnisse der Hypothese 1 und in Abschnitt 3.2.2 die Ergebnisse der Hypothese 2 dargestellt.

3.2.1 Ergebnisse zu Hypothese 1

Die Hypothese 1 ging davon aus, dass mittels moderater permissiver Hyperkapnie verglichen zu milder hyperkapnischer Beatmung die Konzentration proinflammatorischer Zytokine und saurer Sphingomyelinase im Trachealsekret reduziert werden kann.

Im folgenden Abschnitt werden die Ergebnisse der gemischten Modelle dargestellt. Es werden zunächst jeweils die Ergebnisse hinsichtlich des Haupteffekts der Versuchsbedingung bereinigt um den Effekt des Messzeitpunktes (Tabelle 7) sowie des Haupteffekts des Messzeitpunktes bereinigt um den Effekt der Versuchsbedingung (Tabelle 8) illustriert.

Für den Parameter Nitrotyrosin konnten keine Berechnungen erfolgen, da der analysierte Wert bis auf einzelne Ausnahmen unabhängig der Versuchsbedingung bzw. unabhängig des Messzeitpunktes unter der Nachweisgrenze lag. Aufgrund dessen wurde in den folgenden Tabellen auf die Angabe von Nitrotyrosin verzichtet.

Zusammenfassend ist anzumerken, dass die statistische Analyse der Hypothese 1 bezogen auf die untersuchten Parameter keine eindeutigen Ergebnisse ergab, sodass die Hypothese nicht bestätigt werden konnte. Es konnte bezogen auf die Versuchsbedingungen bereinigt um den Effekt des Messzeitpunktes bei keinem der Parameter ein signifikanter Unterschied ermittelt werden. Ebenso ergab sich an den einzelnen Messzeitpunkten kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen.

Tabelle 7: Ergebnisse des Haupteffekts des PaCO₂-Zielbereiches für die analysierten Parameter bei den im Zeitraum von 2008 bis 2012 an der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin der Universitätsklinik Ulm in die Studie aufgenommenen Frühgeborenen (n = 71) unter milder Hyperkapnie (Kontrollgruppe) bzw. unter moderater permissiver Hyperkapnie (Interventionsgruppe).

Parameter	p-Wert	Parameter	p-Wert
IL-6	0,44	NPY	0,47
IL-8	0,91	LTB ₄	0,87
IL-10	0,87	TGF-β1	0,26
IL-1β	0,42	Nitrat	0,73
MIP-1α	0,34	ASMase	0,25
Albumin	0,63		

Tabelle 8: Ergebnisse des Haupteffekts des Messzeitpunktes der analysierten Parameter bei den im Zeitraum von 2008 bis 2012 an der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin der Universitätsklinik Ulm in die Studie aufgenommenen Frühgeborenen (n = 71) unter milder Hyperkapnie (Kontrollgruppe) bzw. unter moderater permissiver Hyperkapnie (Interventionsgruppe).

Parameter	p-Wert	Parameter	p-Wert
IL-6	0,01	NPY	0,005
IL-8	0,10	LTB ₄	0,01
IL-10	0,48	TGF-β1	0,10
IL-1β	0,005	Nitrat	0,06
MIP-1α	0,82	ASMase	0,62
Albumin	0,02		

Für die Parameter IL-6, IL-1β, Albumin, NPY und LTB₄ kann unabhängig von der Gruppenzugehörigkeit ein signifikanter Effekt des Messzeitpunktes nachgewiesen werden (Tabelle 8). Während IL-6 mit einer signifikant höheren Konzentration an Lebenstag 2 und 7 einen zweigipfligen Verlauf aufweist, haben IL-1β, Albumin, NPY und LTB₄ einen eingipfligen Verlauf. Für Albumin und NPY lassen sich hierbei signifikant erhöhte Konzentrationen an Lebenstag 2 nachweisen. IL-1β und LTB₄ erreichen verglichen mit den übrigen Messzeitpunkten an Lebenstag 7 einen Konzentrationsgipfel. Bei den übrigen untersuchten Parametern gibt es keinen signifikanten Unterschied zwischen den einzelnen Messzeitpunkten.

In den folgenden Tabellen werden die Ergebnisse der Interaktion zwischen Messzeitpunkt und Versuchsbedingung (Tabelle 9) sowie die Ergebnisse des Vergleichs der beiden Gruppen pro Messzeitpunkt (Tabelle 10) dargestellt.

Tabelle 9: Ergebnisse der Interaktion zwischen Messzeitpunkt der analysierten Parameter und Versuchsbedingung bei den im Zeitraum von 2008 bis 2012 an der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin der Universitätsklinik Ulm in die Studie aufgenommenen Frühgeborenen (n = 71) unter milder Hyperkapnie (Kontrollgruppe) bzw. unter moderater permissiver Hyperkapnie (Interventionsgruppe).

Parameter	p-Wert	Parameter	p-Wert
IL-6	0,92	NPY	0,59
IL-8	0,49	LTB ₄	0,69
IL-10	0,73	TGF-β1	0,92
IL-1β	0,94	Nitrat	0,60
MIP-1α	0,24	ASMase	0,08
Albumin	0,98		

Tabelle 10: Ergebnisse des Vergleichs der beiden Gruppen pro Messzeitpunkt bei den im Zeitraum von 2008 bis 2012 an der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin der Universitätsklinik Ulm in die Studie aufgenommenen Frühgeborenen (n = 71) unter milder Hyperkapnie (Kontrollgruppe) bzw. unter moderater permissiver Hyperkapnie (Interventionsgruppe).

Parameter	p-Wert				
	LT 2	LT 4	LT 7	LT 14	LT 21
IL-6	0,44	0,74	0,52	1,00	0,60
IL-8	0,82	0,30	1,00	0,51	0,80
IL-10	0,51	0,78	0,34	0,74	0,36
IL-1β	0,15	0,70	0,84	0,88	0,32
MIP-1α	0,88	0,77	0,12	0,72	0,70
Albumin	0,53	0,28	0,56	0,88	0,50
NPY	0,80	0,31	0,33	0,81	0,85
LTB ₄	1,00	0,73	0,95	0,61	0,35
TGF-β1	0,39	0,54	0,55	0,41	0,95
Nitrat	0,66	0,96	0,96	0,40	1,00
ASMase	0,23	0,27	0,56	0,26	1,00

Bei keinem der untersuchten Parameter ergab sich, wie aus den obigen Tabellen ersichtlich, an den einzelnen Messzeitpunkten ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen.

Bei Betrachtung der einzelnen Konzentrationsverläufe zeigt sich für die Parameter IL-6, LTB₄ und IL-10 ein ähnlicher Verlauf (Abbildung 6-8). Der Verlauf der genannten Parameter über den gesamten Messzeitraum betrachtet, scheint sowohl in der Interventionsgruppe als auch in der Kontrollgruppe mit tendenziell höchsten Konzentrationen an Lebenstag 2 und 7 zweigipflig zu sein. Insgesamt kommt es bis zu Lebenstag 21 zu einem Abfall der Konzentrationen. Im Vergleich der beiden Gruppen an den einzelnen Messzeitpunkten fällt auf, dass die Kontrollgruppe bis auf Lebenstag 4 bei allen drei Parametern höhere Konzentrationen aufweist als die Interventionsgruppe.

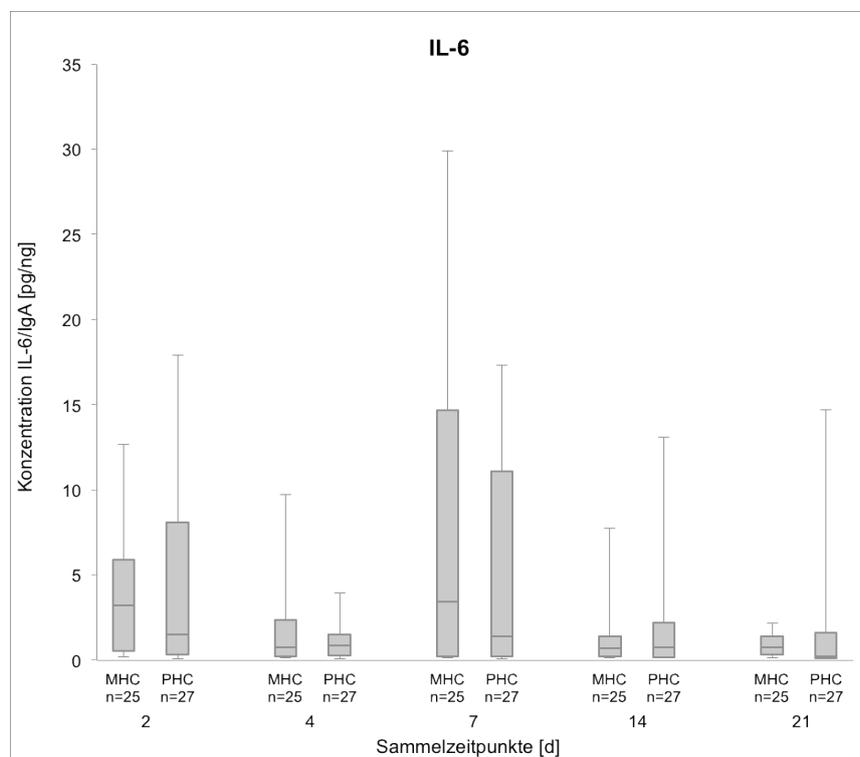


Abbildung 6: Boxplots der Analysedaten des Parameters Interleukin-6 (IL-6) in Abhängigkeit der fünf Messzeitpunkte und der Versuchsbedingung bei den im Zeitraum von 2008 bis 2012 an der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin der Universitätsklinik Ulm in die Studie aufgenommenen Frühgeborenen (n = 71) unter milder Hyperkapnie (MHC, Kontrollgruppe) bzw. unter moderater permissiver Hyperkapnie (PHC, Interventionsgruppe).

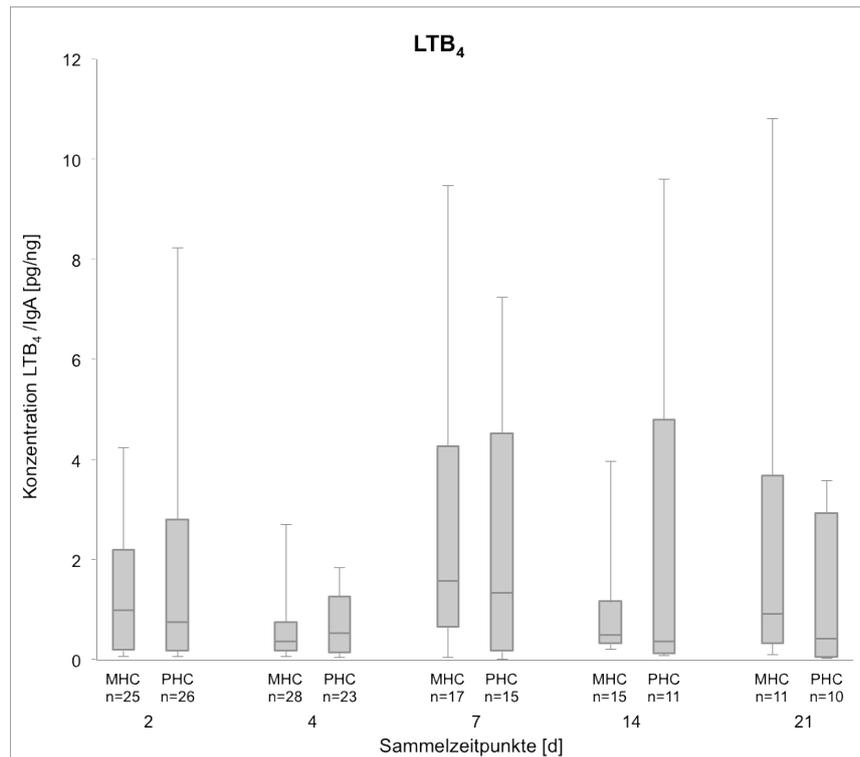


Abbildung 7: Boxplots der Analysedaten des Parameters Leukotrien B₄ (LTB₄) in Abhängigkeit der fünf Messzeitpunkte und der Versuchsbedingung bei den im Zeitraum von 2008 bis 2012 an der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin der Universitätsklinik Ulm in die Studie aufgenommenen Frühgeborenen (n = 71) unter milder Hyperkapnie (MHC, Kontrollgruppe) bzw. unter moderater permissiver Hyperkapnie (PHC, Interventionsgruppe).

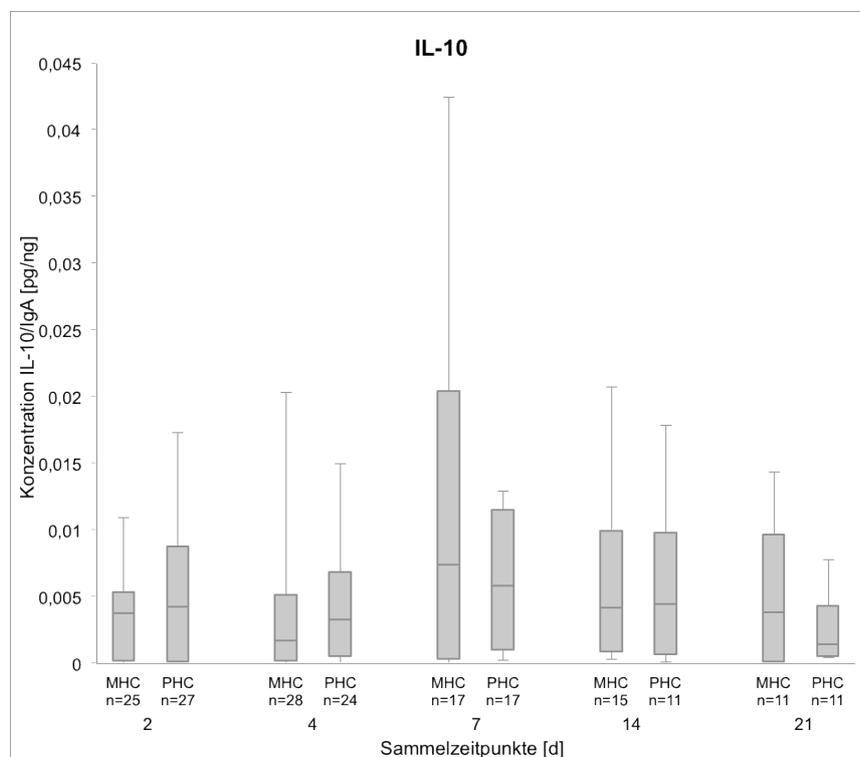


Abbildung 8: Boxplots der Analysedaten des Parameters Interleukin-10 (IL-10) in Abhängigkeit der fünf Messzeitpunkte und der Versuchsbedingung bei den im Zeitraum von 2008 bis 2012 an der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin der Universitätsklinik Ulm in die Studie aufgenommenen Frühgeborenen (n = 71) unter milder Hyperkapnie (MHC, Kontrollgruppe) bzw. unter moderater permissiver Hyperkapnie (PHC, Interventionsgruppe).

Die Parameter IL-1 β und MIP-1 α (Abbildung 9 und 10) scheinen bei Betrachtung über den gesamten Messzeitraum mit einem Konzentrationsgipfel an Lebenstag 7 hingegen einen eingipfligen Verlauf zu nehmen. Während IL-1 β in der Kontrollgruppe gleichermaßen wie in der Interventionsgruppe einen Anstieg an Lebenstag 7 verzeichnet und vergleichbar hohe Konzentrationen erreicht, kommt es bei MIP-1 α an Lebenstag 7 nur in der Kontrollgruppe zu einem Anstieg der Konzentration. An den übrigen Messzeitpunkten konnten bei beiden Parametern sowohl in der Interventionsgruppe als auch in der Kontrollgruppe deutlich geringere Konzentrationen ermittelt werden. Beim Vergleich der beiden Gruppen an den einzelnen Messzeitpunkten scheint es bei MIP-1 α bis auf Lebenstag 7 kaum Unterschiede zwischen der Interventionsgruppe und der Kontrollgruppe zu geben. IL-1 β , währenddessen, weist an Lebenstag 2, 14 und 21 in der Kontrollgruppe tendenziell höhere Konzentrationen auf als die Interventionsgruppe.

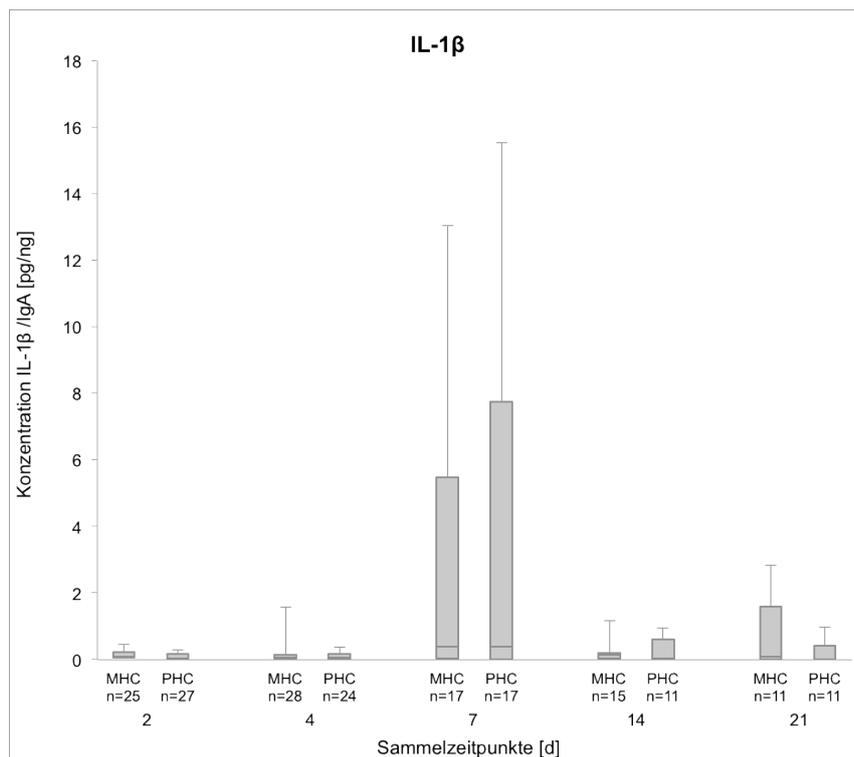


Abbildung 9: Boxplots der Analysedaten des Parameters Interleukin-1 β (IL-1 β) in Abhängigkeit der fünf Messzeitpunkte und der Versuchsbedingung bei den im Zeitraum von 2008 bis 2012 an der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin der Universitätsklinik Ulm in die Studie aufgenommenen Frühgeborenen (n = 71) unter milder Hyperkapnie (MHC, Kontrollgruppe) bzw. unter moderater permissiver Hyperkapnie (PHC, Interventionsgruppe).

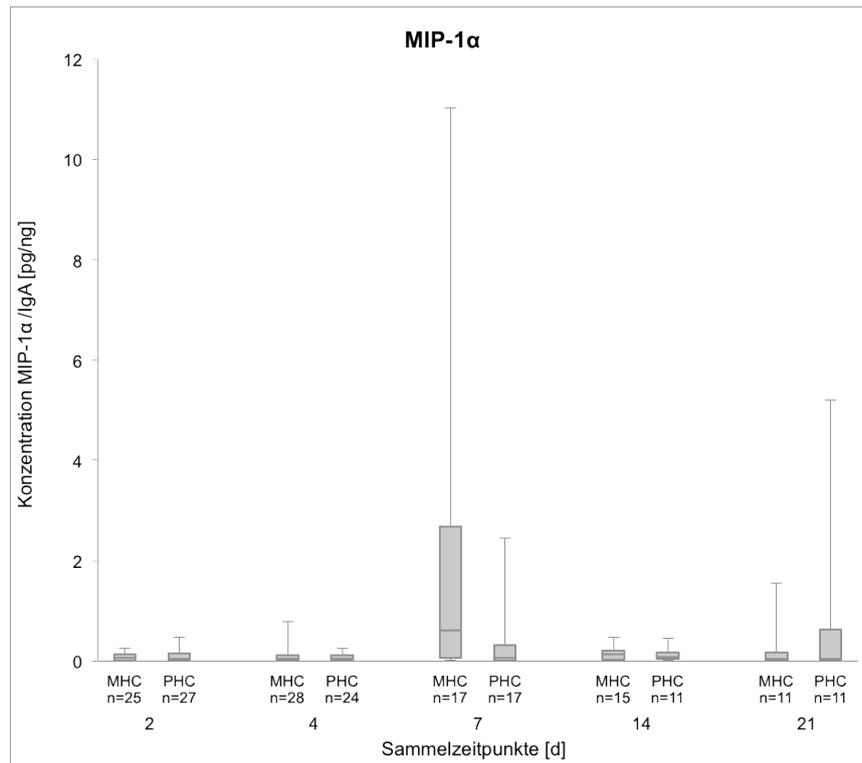


Abbildung 10: Boxplots der Analysedaten des Parameters Macrophage Inflammatory Protein-1 α (MIP-1 α) in Abhängigkeit der fünf Messzeitpunkte und der Versuchsbedingung bei den im Zeitraum von 2008 bis 2012 an der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin der Universitätsklinik Ulm in die Studie aufgenommenen Frühgeborenen ($n = 71$) unter milder Hyperkapnie (MHC, Kontrollgruppe) bzw. unter moderater permissiver Hyperkapnie (PHC, Interventionsgruppe).

Bei Betrachtung der Verläufe von Nitrat (Abbildung 11) ist auffallend, dass sich die Konzentrationen sowohl über den Messzeitraum als auch im Vergleich der beiden Gruppen an den einzelnen Messzeitpunkten kaum unterscheiden. Es scheint anders als bei IL-1 β und MIP-1 α an Lebenstag 2 im Vergleich zu den übrigen Messzeitpunkten in beiden Gruppen eine geringfügig höhere Konzentration nachweisbar zu sein.

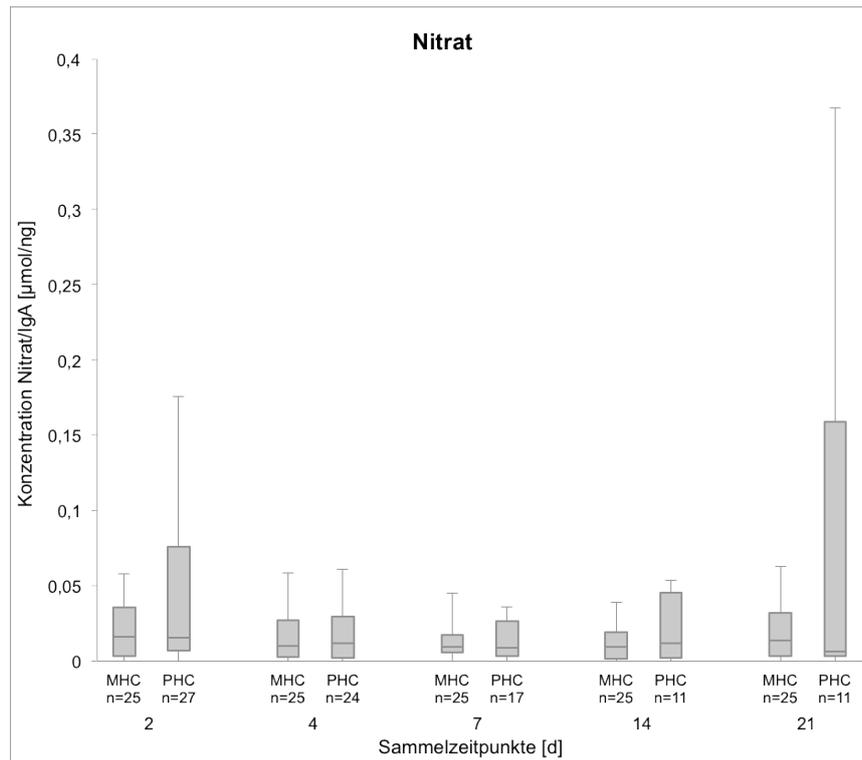


Abbildung 11: Boxplots der Analysedaten des Parameters Nitrat in Abhängigkeit der fünf Messzeitpunkte und der Versuchsbedingung bei den im Zeitraum von 2008 bis 2012 an der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin der Universitätsklinik Ulm in die Studie aufgenommenen Frühgeborenen (n = 71) unter milder Hyperkapnie (MHC, Kontrollgruppe) bzw. unter moderater permissiver Hyperkapnie (PHC, Interventionsgruppe).

Vergleichbar zu Nitrat haben die Parameter Albumin und NPY (Abbildung 12 und 13) ebenfalls geringfügig höhere Konzentrationen an Lebenstag 2 aufzuweisen. Bei Albumin beschränkt sich dies jedoch auf die Kontrollgruppe, während es in der Interventionsgruppe an Lebenstag 4 scheinbar zu einem Anstieg kommt. Sowohl bei Albumin als auch bei NPY lassen sich an den einzelnen Messzeitpunkten insbesondere an Lebenstag 7 und 14 bei Albumin und zusätzlich an Lebenstag 2 bei NPY im Median vergleichbare Konzentrationen zwischen den beiden Gruppen nachweisen. Bei beiden Parametern kommt es betrachtet über den Messzeitraum innerhalb der jeweiligen Gruppe nur zu geringfügigen Änderungen der Konzentration.

Bei Betrachtung der Verläufe von TGF- β 1 (Abbildung 14) fällt besonders auf, dass es in der Kontrollgruppe über alle fünf Messzeitpunkte scheinbar zu keiner Konzentrationsänderung kommt, während die Interventionsgruppe im gesamten Messzeitraum höhere und alternierende Konzentrationen aufweist.

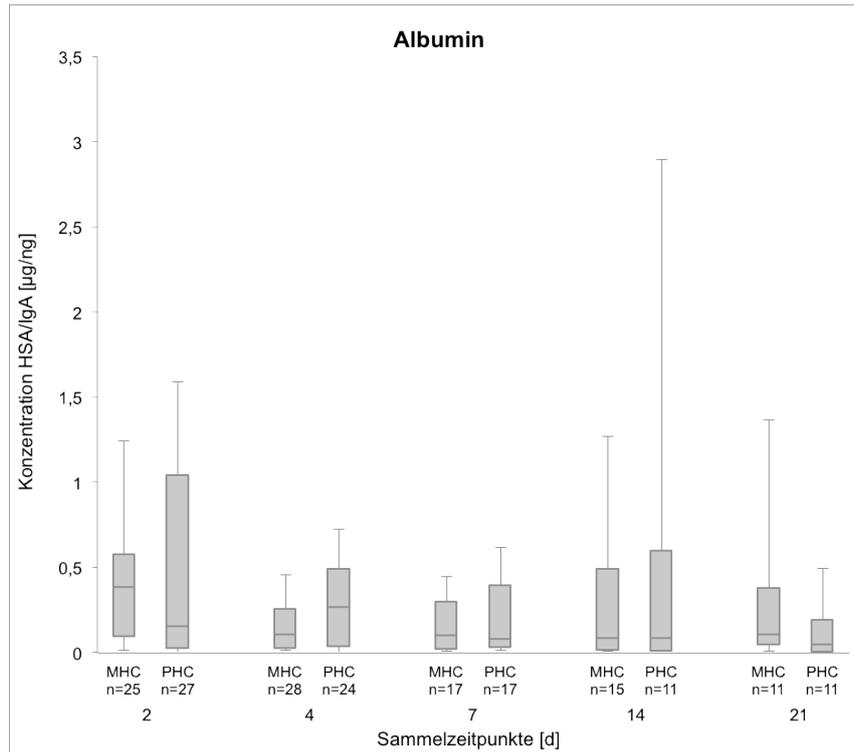


Abbildung 12: Boxplots der Analysedaten des Parameters Albumin in Abhängigkeit der fünf Messzeitpunkte und der Versuchsbedingung bei den im Zeitraum von 2008 bis 2012 an der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin der Universitätsklinik Ulm in die Studie aufgenommenen Frühgeborenen ($n = 71$) unter milder Hyperkapnie (MHC, Kontrollgruppe) bzw. unter moderater permissiver Hyperkapnie (PHC, Interventionsgruppe).

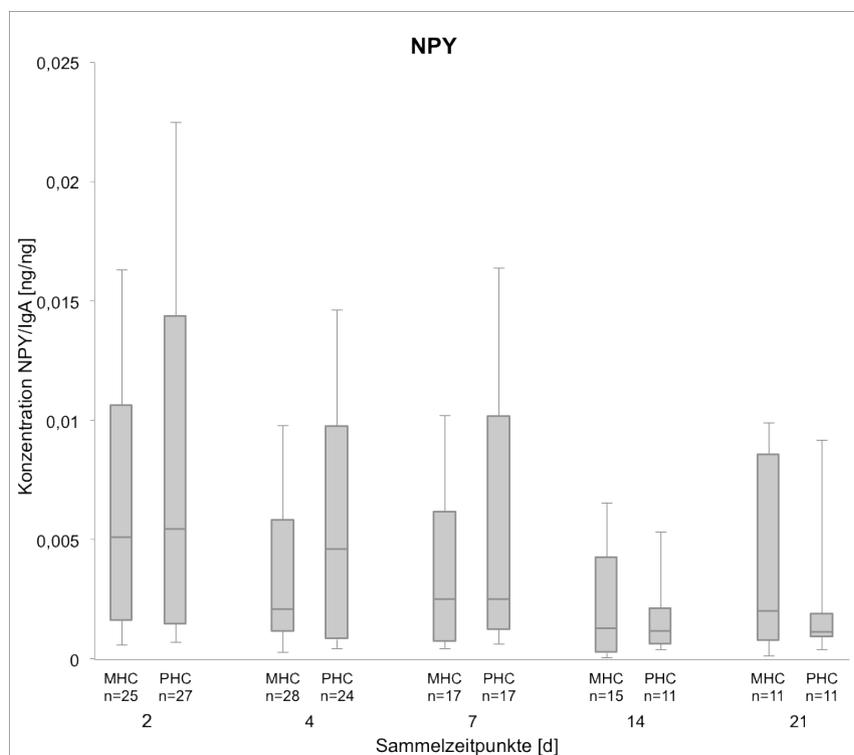


Abbildung 13: Boxplots der Analysedaten des Parameters Neuropeptid Y (NPY) in Abhängigkeit der fünf Messzeitpunkte und der Versuchsbedingung bei den im Zeitraum von 2008 bis 2012 an der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin der Universitätsklinik Ulm in die Studie aufgenommenen Frühgeborenen ($n = 71$) unter milder Hyperkapnie (MHC, Kontrollgruppe) bzw. unter moderater permissiver Hyperkapnie (PHC, Interventionsgruppe).

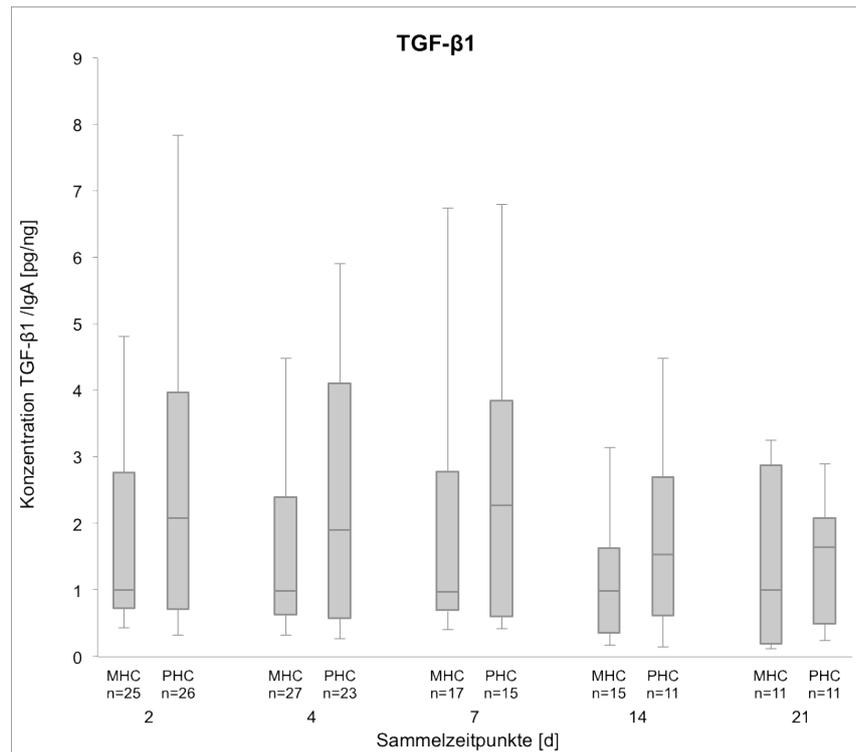


Abbildung 14: Boxplots der Analysedaten des Parameters Transforming Growth Factor- β 1 (TGF- β 1) in Abhängigkeit der fünf Messzeitpunkte und der Versuchsbedingung bei den im Zeitraum von 2008 bis 2012 an der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin der Universitätsklinik Ulm in die Studie aufgenommenen Frühgeborenen ($n = 71$) unter milder Hyperkapnie (MHC, Kontrollgruppe) bzw. unter moderater permissiver Hyperkapnie (PHC, Interventionsgruppe).

Die Parameter IL-8 und ASMase (Abbildung 15 und 16) heben sich bei Betrachtung der Verläufe von den bereits beschriebenen Parametern ab. Bei IL-8 tendiert die Interventionsgruppe an Lebenstag 2, 4 und 7 und bei ASMase an Lebenstag 2, 4 und 14 zu wesentlich höheren Konzentrationen als die Kontrollgruppe. Bei IL-8 kommt es anders als bei ASMase ab Lebenstag 4 in der Interventionsgruppe zu einem Abfall der Konzentrationen, während es bei ASMase hingegen in der Interventionsgruppe an Lebenstag 14 zu einem weiteren deutlichen Anstieg der Konzentration kommt.

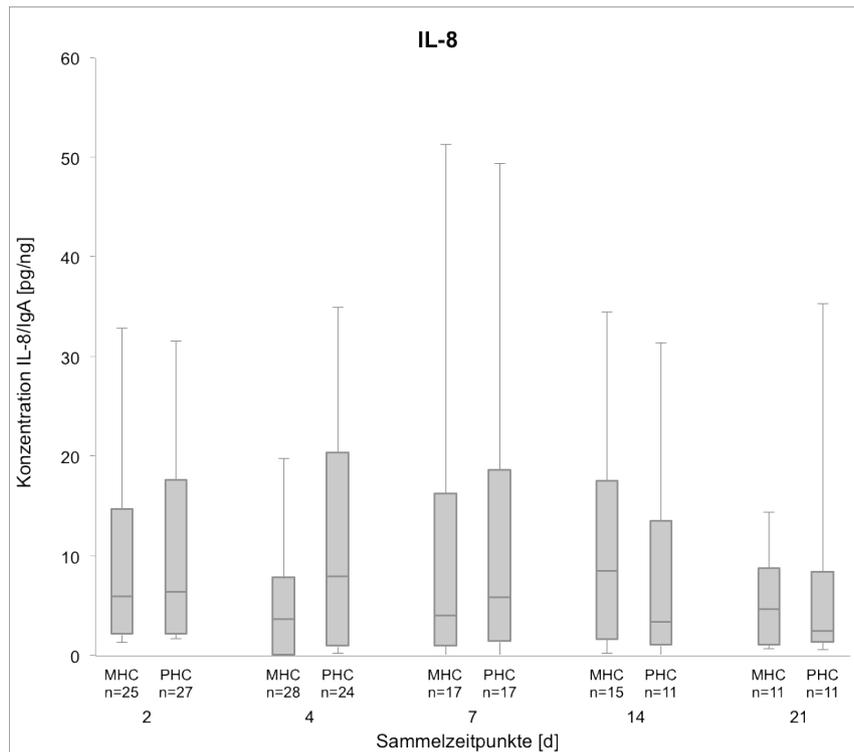


Abbildung 15: Boxplots der Analysedaten des Parameters Interleukin-8 (IL-8) in Abhängigkeit der fünf Messzeitpunkte und der Versuchsbedingung bei den im Zeitraum von 2008 bis 2012 an der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin der Universitätsklinik Ulm in die Studie aufgenommenen Frühgeborenen ($n = 71$) unter milder Hyperkapnie (MHC, Kontrollgruppe) bzw. unter moderater permissiver Hyperkapnie (PHC, Interventionsgruppe).

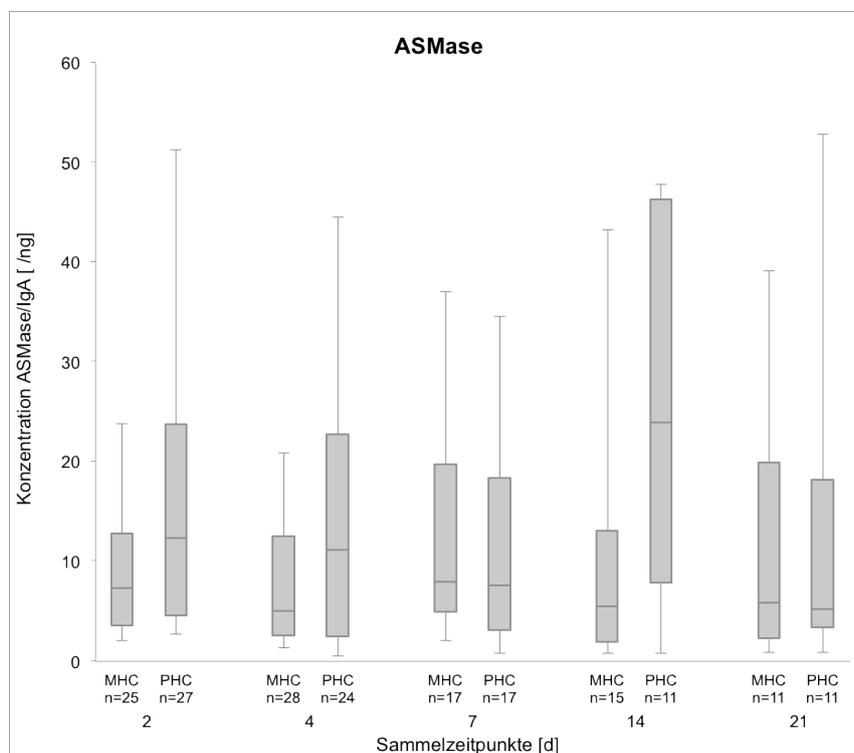


Abbildung 16: Boxplots der Analysedaten des Parameters saure Sphingomyelinase (ASMase) in Abhängigkeit der fünf Messzeitpunkte und der Versuchsbedingung bei den im Zeitraum von 2008 bis 2012 an der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin der Universitätsklinik Ulm in die Studie aufgenommenen Frühgeborenen ($n = 71$) unter milder Hyperkapnie (MHC, Kontrollgruppe) bzw. unter moderater permissiver Hyperkapnie (PHC, Interventionsgruppe).

3.2.2 Ergebnisse zu Hypothese 2

Die Hypothese 2 lautete, dass anhand der Messung der proinflammatorischen Mediatoren und saurer Sphingomyelinase eine Aussage über die Entwicklung einer BPD erfolgen kann.

Zur Prüfung eines prädiktiven Faktors einer BPD wurden logistische Regressionsanalysen durchgeführt. Hierbei wurden nur univariate Modelle untersucht, da die Anzahl der Patienten mit dem primären Endpunkt BPD/Tod sehr gering war.

In den folgenden Tabellen sind die Ergebnisse der logistischen Regressionsanalyse der Baselinewerte von Lebenstag 2, 4, 7, 14 und 21 dargestellt.

Wie bereits oben aufgeführt konnten für den Parameter Nitrotyrosin keine Berechnungen erfolgen. Für die Parameter IL-10, NPY und Nitrat konnte das Modellfit keine sinnvollen Ergebnisse liefern. Daher wurden diese Parameter für diese Frage nicht weiter berücksichtigt.

Tabelle 11: Ergebnisse der logistischen Regressionsanalyse der Baselinewerte an Lebenstag 2.

Parameter	p-Wert	Parameter	p-Wert
IL-6	0,45	Albumin	0,46
IL-8	0,66	LTB ₄	0,45
IL-1 β	0,73	TGF- β 1	0,09
MIP-1 α	0,15	ASMase	0,70

Tabelle 12: Ergebnisse der logistischen Regressionsanalyse der Baselinewerte an Lebenstag 4.

Parameter	p-Wert	Parameter	p-Wert
IL-6	0,84	Albumin	0,71
IL-8	0,38	LTB ₄	0,66
IL-1 β	0,46	TGF- β 1	0,79
MIP-1 α	0,42	ASMase	0,75

Tabelle 13: Ergebnisse der logistischen Regressionsanalyse der Baselinewerte an Lebenstag 7.

Parameter	p-Wert	Parameter	p-Wert
IL-6	0,69	Albumin	0,40
IL-8	0,25	LTB ₄	0,75
IL-1 β	0,27	TGF- β 1	0,44
MIP-1 α	0,42	ASMase	0,73

Tabelle 14: Ergebnisse der logistischen Regressionsanalyse der Baselinewerte an Lebenstag 14.

Parameter	p-Wert	Parameter	p-Wert
IL-6	0,26	Albumin	0,85
IL-8	0,52	LTB ₄	0,79
IL-1 β	0,46	TGF- β 1	0,44
MIP-1 α	0,71	ASMase	0,59

Tabelle 15: Ergebnisse der logistischen Regressionsanalyse der Baselinewerte an Lebenstag 21.

Parameter	p-Wert	Parameter	p-Wert
IL-6	0,66	Albumin	0,47
IL-8	0,25	LTB ₄	0,26
IL-1 β	0,32	TGF- β 1	0,85
MIP-1 α	0,76	ASMase	0,65

4 Diskussion

4.1 Diskussion der Ergebnisse der getesteten Hypothesen

Es wurden bereits einige Studien bezüglich der Verwendung von permissiver Hyperkapnie (PHC) durchgeführt. Einige von ihnen ergaben, dass permissive Hyperkapnie die Entwicklung einer BPD reduzieren könnte. Keine dieser Studien untersuchte bislang jedoch, ob die beobachtete klinische Verbesserung mit einer verminderten Zahl an inflammatorischen Mediatoren im Trachealsekret assoziiert ist. Die Hypothese 1 vermutete entsprechend, dass mittels moderater permissiver Hyperkapnie im Vergleich zur milden hyperkapnischen Beatmung die Konzentration proinflammatorischer Zytokine und saurer Sphingomyelinase im Trachealsekret reduziert werden kann. Dies sollte Ausdruck der Tatsache sein, dass durch moderate permissive Hyperkapnie die Lungenschädigung im Vergleich zu milder hyperkapnischer Beatmung gesenkt werden kann. In zahlreichen Studien konnte gezeigt werden, dass im Trachealsekret beatmeter Frühgeborener, die für die Entwicklung einer BPD anfällig sind, ohne Vorliegen einer bakteriellen Kolonisation eine vermehrte Rekrutierung von inflammatorischen Zellen und eine erhöhte Zahl an inflammatorischen Mediatoren nachgewiesen werden kann [30, 31, 34, 66, 104]. Diese Beobachtung wurde bereits 1983 von Merritt et al. beschrieben und durch weitere nachfolgende Studien unterstützt [33, 66]. Die Ergebnisse mehrerer Studien zeigen erhöhte Konzentrationen von IL-1 β , MIP-1 α und TGF- β 1 im Trachealsekret von Kindern, die später eine BPD entwickelten [7, 49, 50, 69, 93, 96]. IL-1 β stimuliert als eines der wichtigsten Zytokine in der Entzündungsreaktion [29, 32, 42, 93] indirekt die Proliferation von Fibroblasten [7] und fördert so die Ausbildung einer Lungenfibrose. Ähnlich fungieren MIP-1 α und TGF- β 1 als profibrotische Mediatoren [48, 49, 69, 93, 94, 96]. TGF- β 1 wird hierbei im Rahmen von Gewebereparatur- und Heilungsprozessen induziert [7, 57] und führt in der Folge zu einer Steigerung der Fibronectin- und Prokollagentranskription durch Fibroblasten [48, 49]. Kommt es zu einer überschießenden Bildung von TGF- β 1, wird die normale Lungenentwicklung möglicherweise gehemmt und die Entwicklung einer Lungenfibrose begünstigt [7, 49, 96]. Außerdem konnten Kotecha et al. (1995) sowie Groneck et al. (1994) im Trachealsekret von Kindern mit erhöhtem

Risiko an einer BPD zu erkranken erhöhte Konzentrationen von IL-8 nachweisen [30, 47]. Dies steht im Gegensatz zu einer Studie von Thome et al. (1998), die keinen statistisch signifikanten Unterschied der IL-8 Konzentration zwischen Kindern, die eine BPD entwickelten, und der Kontrollgruppe ermitteln konnten [104]. IL-8 erhöht als wichtigster chemotaktischer Faktor der Lunge durch die Stimulation von Neutrophilen zur Sekretion von PAF die mikrovaskuläre Permeabilität und trägt wie LTB₄ zur Entstehung eines Lungenödems bei [23, 30]. Auch das multifunktionelle Zytokin IL-6 führt in *in vitro* Studien zu einer vaskulären Permeabilitätssteigerung [3, 45, 50]. Als weiterer Parameter mit Auswirkung auf die vaskuläre Permeabilität wurde Neuropeptid Y, ein von Nervenzellen freigesetzter Mediator [37], analysiert. Groneck et al. (1994) konnten bei Neugeborenen mit einem Risiko für eine BPD, verglichen mit gesunden Kontrollkindern, höhere Konzentrationen von LTB₄ ermitteln [30, 31, 93]. Entsprechend beschrieben Bagchi et al. (1994) sowie Kotecha et al. (1996) bei Kindern, die im Verlauf eine BPD entwickelten, im Vergleich zur Kontrollgruppe in der bronchoalveolären Lavage eine signifikant erhöhte Konzentration von IL-6 [3, 50]. Durch eine gesteigerte mikrovaskuläre Permeabilität wird es möglich, dass Moleküle wie Albumin vom Plasma ins Interstitium oder die Alveolen durchsickern [33]. Damit konnte die Konzentration von Albumin in der bronchoalveolären Lavage in klinischen und experimentellen Studien als Maß für die mikrovaskuläre Permeabilität verwendet werden [29, 30, 115]. Frühere Studien wiesen in diesem Zusammenhang eine Assoziation zwischen der Entwicklung einer BPD und erhöhten Konzentrationen von Albumin nach [28, 30, 93, 104, 115].

Die Parameter Nitrat und ASMase werden aufgrund ihrer von den inflammatorischen und chemotaktischen Mediatoren abweichenden Funktionen gesondert betrachtet. Studien lassen vermuten, dass Peroxynitrit zu einer Schädigung des Alveolarepithels und des pulmonalen Surfactantsystems führt. Dementsprechend konnten in Lungen von Erwachsenen und Kindern mit akuter Lungenschädigung Peroxynitrit sowie seine Zerfallsprodukte Nitrit/Nitrat und Nitrotyrosin nachgewiesen werden [87, 121-123]. Im Falle einer Zellschädigung katalysiert ASMase die Hydrolyse von Sphingomyelin zu Ceramid [10, 24, 58], das die zelluläre Antwort auf Stress, Zytokine und proapoptotische Stimuli reguliert [24]. Damit werden erhöhte Konzentrationen von ASMase im Trachealsekret von Kindern mit einer Lun-

genschädigung erwartet.

Die statistische Analyse der Hypothese 1 ergab bezogen auf die untersuchten Parameter keine eindeutigen Ergebnisse, so dass die Hypothese nicht bestätigt werden konnte. Bezogen auf die Versuchsbedingungen bereinigt um den Effekt des Messzeitpunktes konnte bei keinem Parameter ein signifikanter Unterschied gefunden werden.

Für die Parameter IL-6, IL-8, IL-10, IL-1 β , LTB₄, TGF- β 1, MIP-1 α , Nitrat, Albumin, NPY und ASMase ergaben sich an den einzelnen Messzeitpunkten entgegen der aufgestellten Hypothese keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen der Interventionsgruppe und der Kontrollgruppe, womit sich anhand dieser Parameter statistisch weder ein positiver noch ein negativer Effekt der moderaten permissiven Hyperkapnie nachweisen lässt. Bei Betrachtung der Konzentrationsverläufe im Rahmen einer explorativen Analyse ergaben sich jedoch Unterschiede, die im Folgenden in die Interpretationen miteinbezogen werden. Diese Unterschiede in den jeweiligen Kurvenverläufen könnten sowohl als positive als auch als negative Effekte der moderaten permissiven Hyperkapnie interpretiert werden. Aufgrund der Streuung der Werte bei allen Parametern hatte die Interpretation der Ergebnisse jedoch unter Vorbehalt zu erfolgen. Daher war zu berücksichtigen, dass die beobachteten, statistisch nicht signifikanten, Unterschiede rein zufälliger Natur sein können.

Während sich die inflammatorischen Zytokine IL-6, IL-1 β , TGF- β 1 und IL-10 in der vorliegenden Studie entgegen der aufgestellten Hypothese nicht in eine einheitliche Richtung bewegen, fällt bei Betrachtung der chemotaktischen Parameter IL-8, LTB₄ und MIP-1 α auf, dass in der Interventionsgruppe im Median für diese Parameter tendenziell etwas geringere Konzentrationen erreicht werden als in der Kontrollgruppe. Im Falle von IL-1 β können in der vorliegenden Studie über den gesamten Beobachtungszeitraum keine wesentlichen Unterschiede zwischen den beiden Gruppen ermittelt werden. In der Interpretation der Ergebnisse lässt sich daher keine eindeutige Aussage über die Wirkung der moderaten permissiven Hyperkapnie in Bezug auf den Parameter IL-1 β treffen. Die entgegen den Erwartungen ausbleibende Reduktion der Konzentration in der Interventionsgruppe lässt einen ausbleibenden Effekt der moderaten permissiven Hyperkapnie vermuten. Anders

als bei IL-1 β zeigt die Analyse der Kurvenverläufe von TGF- β 1 in der Interventionsgruppe tendenziell höhere Konzentrationen als die Kontrollgruppe. Interpretiert man diese erhöhten Konzentrationen vor dem Hintergrund oben beschriebener Zusammenhänge, lässt sich annehmen, dass in der vorliegenden Studie durch moderate permissive Hyperkapnie die Konzentration von TGF- β 1 tendenziell gesteigert und dadurch das Risiko für eine BPD ansteigen würde. Dem steht jedoch entgegen, dass die tendenziell niedrigeren Konzentrationen von MIP-1 α in der Interventionsgruppe als ein positiver Effekt der moderaten permissiven Hyperkapnie im Sinne einer hemmenden Wirkung gewertet werden könnten, was mit einem geringeren Risiko für eine BPD verbunden wäre. Dies wäre passend dazu, dass die Zahl der Beatmungstage, wenn auch nicht signifikant, in der Interventionsgruppe etwas geringer war als in der Kontrollgruppe. Da das primäre Outcome BPD/Tod in der vorliegenden Studie durch permissive Hyperkapnie nicht beeinflusst wurde, könnte davon ausgegangen werden, dass sich die positiven und negativen Effekte der moderaten permissiven Hyperkapnie in diesem Fall gegenseitig aufgehoben haben.

Für die Parameter IL-8, LTB $_4$ und IL-6 konnten in der vorliegenden Studie ebenfalls in der Interventionsgruppe verglichen zur Kontrollgruppe tendenziell geringere Konzentrationen gemessen werden. Auch für NPY zeigte sich über den Beobachtungszeitraum eine Tendenz zu abnehmenden Konzentrationen. So lässt sich durch die geringeren Konzentrationen in der Interventionsgruppe auch hier ein positiver Effekt bezüglich der Wirkung der moderaten permissiven Hyperkapnie annehmen. Wird im Hinblick auf die oben zitierten Studien anhand der tendenziell geringeren Konzentrationen dieser Parameter in der Interventionsgruppe ein positiver Effekt bezüglich der Wirkung der moderaten permissiven Hyperkapnie im Sinne einer antiinflammatorischen Wirkung und dem Ausbleiben einer vaskulären Permeabilitätssteigerung vermutet, würden gleichzeitig in der Interventionsgruppe erniedrigte Konzentrationen von Albumin erwartet werden. Entgegen dieser Erwartung konnte in der vorliegenden Studie jedoch kein Unterschied der Albumin Konzentration zwischen der Interventionsgruppe und der Kontrollgruppe ermittelt werden. Auch in der Analyse des Parameters IL-10, als einzigem der untersuchten inflammatorischen Zytokine mit antiinflammatorischem Effekt, ergab sich aus dem Verlauf des Medians keine Tendenz. Entsprechend der Hypothese 1 wurden in

der Interventionsgruppe erhöhte Konzentrationen an IL-10 erwartet. Dadurch wäre es zu einem Überwiegen des antiinflammatorischen Zytokins IL-10 und zur Verminderung des Risikos für eine BPD gekommen.

In der vorliegenden Studie konnte für Nitrotyrosin aufgrund der geringen Anzahl an erhaltenen Trachealsekretproben, wie oben bereits angemerkt, keine verwertbare Analyse durchgeführt werden. Für Nitrat konnte zwischen der Interventionsgruppe und der Kontrollgruppe entgegen der Hypothese 1 kein signifikanter Unterschied der Konzentrationen nachgewiesen werden, was eher auf einen ausbleibenden Effekt der moderaten permissiven Hyperkapnie schließen lässt. Bezüglich des Nachweises der ASMase gibt es nach dem derzeitigen Kenntnisstand bisher keine Studie, die eine Aussage über den Zusammenhang zwischen ASMase und der Entwicklung einer BPD treffen kann. Entgegen der Vermutung, dass durch moderate permissive Hyperkapnie die Konzentration an ASMase gesenkt werden kann, kommt es in der Interventionsgruppe nicht zu einer Verringerung der Konzentration. Für Aussagen über die Wirkung der permissiven Hyperkapnie bezogen auf den Parameter ASMase bedarf es daher weiterer Studien.

Die Hypothese 2 vermutete, dass anhand der Messung der proinflammatorischen Zytokine und saurer Sphingomyelinase eine Aussage über die Entwicklung einer BPD erfolgen kann.

Es lässt sich bei der statistischen Analyse der Daten für keinen Parameter ein Zusammenhang zur BPD feststellen. Dieses Ergebnis steht im Gegensatz zu manchen anderen Studien, die zwischen einzelnen im Trachealsekret nachgewiesenen Parametern und der Entwicklung einer BPD einen Zusammenhang vermuten ließen. In einer Studie von Thome et al. (1998) konnte zwischen den Parametern IL-8 und LTB₄ und der Entwicklung einer BPD eine Assoziation festgestellt werden [104]. Weitere Studien konnten zeigen, dass Kinder mit dem Risiko eine BPD zu entwickeln, erhöhte Konzentrationen an IL-8, IL-6, saurer Sphingomyelinase, MIP-1 α , TGF- β , LTB₄ und Albumin hatten [15, 47, 48]. Sie schlussfolgerten wie auch andere, dass erhöhte Konzentrationen von IL-8 im Trachealsekret einen Marker für die Entwicklung einer BPD darstellen können [15]. Kotecha et al. (1995) sahen anhand ihrer Ergebnisse die Möglichkeit IL-8 als prädiktiven Marker für die Ent-

wicklung einer BPD heranzuziehen [47]. Als wesentlicher Parameter wurde hierbei sowohl von Kotecha et al. [47] als auch von Donnelly et al. (1993) IL-8 erachtet [15]. Aufgrund der Komplexität der Entzündungsreaktion konnte jedoch auch anhand der bisher vorliegenden Studien keine Aussage über den prädiktiven Wert der gemessenen Konzentrationen gemacht werden.

Vor dem Hintergrund der Ergebnisse der bisher erfolgten Studien ist das Ergebnis der vorliegenden Studie unter anderem aufgrund der initial bereits kleinen und im Verlauf weiter regredienten Zahl an Trachealsekretproben bezüglich der Hypothese 2 nicht aussagekräftig genug, um mit den vorliegenden Daten eine Aussage über den Zusammenhang von BPD und den einzelnen Parametern treffen zu können. Hierzu bedarf es weiterer Langzeitstudien mit größerer Fallzahl. Ein weiterer Grund für die geringe Aussagekraft der Ergebnisse der Hypothese 2 kann die Streuung der Parameter bei allen vorhandenen Messwerten sein, die unter anderem auf eine biologische Variabilität schließen lässt. Aufgrund dieser Variabilität können kleinere Unterschiede mit der verfügbaren Fallzahl nicht nachgewiesen werden, allerdings stellt sich bei kleinen Unterschieden auch die Frage, ob diese, wenn nachgewiesen, klinisch relevant wären.

4.2 Respiratorisches Outcome

Wie im Abschnitt 3.1 veranschaulicht, sind die beiden Gruppen bezüglich der Variablen „endgültig extubiert mit 36 Wochen post menstruationem“ und „vollständig ohne zusätzlichen Sauerstoff“ ähnlich, dennoch ist bemerkenswert, dass die Kinder in der Interventionsgruppe im Mittel früher extubiert und früher vom CPAP entwöhnt werden konnten als Kinder in der Kontrollgruppe. Des Weiteren ist hervorzuheben, dass die Kinder der Interventionsgruppe im Mittel ca. 100 h weniger mechanische Atemhilfe benötigten. Beides könnte auf einen höheren Atemantrieb zurückzuführen sein und nicht zwangsläufig auf eine geringere Lungenerkrankung, da es sich in der Inzidenz der BPD gemäß der angewandten Definition und dem Überleben nicht widerspiegelt. Aus diesem Grund erscheint dieser Unterschied nicht als klinisch relevant. Bei der Berechnung des p-Wertes zeigte sich diesbezüglich auch kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen. Dieses Ergebnis geht konform mit einer Studie von Mariani et al. (1999), die nachweisen konnten, durch permissive Hyperkapnie die Dauer der Beatmungszeit in den ers-

ten 96 h senken zu können. Sie konnten allerdings keine statistisch signifikante Reduktion der Gesamtdauer der Beatmungstage erreichen [62], was allerdings nur an der kleinen Fallzahl liegen könnte. In einer Studie des Acute Respiratory Distress Syndrome Networks (2000) konnte an erwachsenen Patienten gezeigt werden, dass mittels geringerer Tidalvolumina die Zahl der Beatmungstage und Mortalität signifikant reduziert werden kann [100]. Dementsprechend besteht nach einer von Kraybill et al. (1989) durchgeführten retrospektiven multizentrischen Analyse an 235 ELBW Kindern eine Assoziation zwischen erhöhter Konzentration an PaCO₂ in den ersten Lebenstagen und später reduzierter Inzidenz der BPD [55]. Im Gegensatz hierzu konnte in der vorliegenden Studie in Bezug auf Mortalität und Inzidenz der BPD kein Unterschied zwischen den beiden Gruppen aufgedeckt werden. Somit muss anhand der vorliegenden Daten angenommen werden, dass die hyperkapnische Beatmungsstrategie das respiratorische Outcome bezüglich BPD oder Tod weder positiv noch negativ beeinflusst. Dies entspricht den Ergebnissen von randomisierten kontrollierten Studie von Mariani et al. (1999), Carlo et al. (2002) sowie Thome et al. (2006) an Frühgeborenen, die mit permissiver Hyperkapnie behandelt wurden. Auch sie konnten weder einen nachteiligen noch günstigen Effekt der permissiven Hyperkapnie nachweisen [9, 62, 104].

4.3 Interpretation der klinischen Datenanalyse

Gemäß der Bestimmung der BPD nach den Diagnosekriterien des Studienprotokolls, siehe Abschnitt 2.5.2, hatten 16 Kinder eine BPD, davon jeweils 8 in der Interventionsgruppe und in der Kontrollgruppe. Die Diagnose erfolgte nach rein funktionellen Kriterien. Die bereits 1979 postulierte Festlegung anhand radiologischer Auffälligkeiten wird nicht mehr angewendet, da die Diagnosestellung besser durch Beurteilung der respiratorischen Funktion als lebenswichtige Funktion, erfolgt. Zudem ist die Diagnosestellung weniger untersucherabhängig als bei der Beurteilung radiologischer Auffälligkeiten zu erwarten ist.

In einer explorativen Analyse wurde die Diagnose BPD nach den Kriterien der NICHD ermittelt [40, 101, 107]. Hiernach erhielten 58 Kinder die Diagnose BPD, 30 in der Kontrollgruppe und 28 in der Interventionsgruppe.

Zurückzuführen ist dieser deutliche Unterschied auf den Zeitpunkt der Diagnose-

stellung, der nach den Diagnosekriterien des Studienprotokolls wesentlich später erfolgt und zwar in einem postmenstruellen Alter von 36 Wochen, was einem postnatalen Alter von 42-84 Tagen entspricht. Zu diesem Zeitpunkt kann man davon ausgehen, dass die Kinder bereits über die akute Phase der respiratorischen Insuffizienz hinweg sind und tatsächlich nur die Kinder erfasst werden, die Langzeit-Komplikationen nach sich ziehen.

Nach den Kriterien der NICHD wird die Diagnose BPD bereits im Alter von 28 Tagen postnatal festgelegt und im Alter von 36 Wochen post menstruationem erfolgt nur noch die Schweregradeinteilung. In diesem Alter ist noch ein größerer Anteil der Kinder von zusätzlicher Sauerstoffzufuhr abhängig und erfüllt somit die Definition. Nur Kinder, die nach dieser Definition eine moderate oder schwere BPD entwickelten, entsprechen hierbei den Kindern, die nach den Kriterien des vorliegenden Studienprotokolls überhaupt die Diagnose BPD erhalten.

Im Vergleich zu Studien von Groneck et al. (1993, 1994) und Kotecha et al. (1995, 1996) [28, 30, 47, 49] unterscheidet sich diese Studie insbesondere im Zeitpunkt der Diagnosestellung der BPD. Die Diagnosestellung der BPD erfolgte in den zuvor genannten Studien an Lebenstag 28, wie es in der vorliegenden Studie in der explorativen Datenanalyse anhand der NICHD-Kriterien erfolgte. Diese Studien wiesen dadurch eine deutlich höhere Zahl an BPD erkrankten Kindern auf. Daher ist der Vergleich der Ergebnisse der vorliegenden Studie mit diesen Ergebnissen unter Vorbehalt zu beurteilen.

Festzuhalten ist jedoch, dass es unabhängig von der verwendeten Definition der BPD in der vorliegenden Studie keinen signifikanten Unterschied in der Anzahl der BPD erkrankten Kinder zwischen der Interventionsgruppe und der Kontrollgruppe gibt. Somit entsteht ein Gleichklang der biochemischen und klinischen Ergebnisse.

Andererseits steht es beim prognostischen Wert der BPD-Definition auch nicht zum Besten. In einer Nachuntersuchung der Teilnehmer der UKOS-Studie zeigte sich beispielsweise, dass mit Hochfrequenzoszillation beatmete Frühgeborene im Alter von 12-14 Jahren eine bessere Lungenfunktion hatten als konventionell beatmete Kinder [126] obwohl ursprünglich kein Unterschied in der BPD-Häufigkeit gefunden worden war [41].

4.4 Diskussion des Studienplans

Bei der Analyse der statistischen Ergebnisse ist auch der zugrunde liegende Studienplan näher zu betrachten. Durch Schwächen desselbigen können möglicherweise das Ausbleiben erwarteter bzw. das Auftreten unerwarteter Effekte erklärt werden. Im vorliegenden Studiendesign wurden allen Kritiken bisheriger Hyperkapnie Studien Rechnung getragen.

Da bisher über keine Studie bezüglich inflammatorischer Mediatoren im Trachealsekret von Kindern, die mit permissiver Hyperkapnie behandelt wurden, berichtet wurde, lag keine feste Berechnung für die Probengröße vor. Somit wurden alle Patienten, die am größten an der PHELBI-Studie teilnehmenden Zentrum aufgenommen wurden, eingeschlossen. Aufgrund mangelnden Patientengutes, was sicherlich auf die engen Einschlusskriterien zurückzuführen war, wurde die Substudie ohne statistische Berechnung mit 73 Kindern terminiert. Dadurch, dass nur Patienten aus der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin der Universitätsklinik Ulm in die Studie aufgenommen wurden, konnte einer Variabilität durch zentrumsspezifische Behandlungsstrategien entgegengewirkt werden. Beim Vergleich der vorliegenden Studie mit den bereits erfolgten Studien muss berücksichtigt werden, dass diese auf unterschiedlichen Strategien und unterschiedlichen analysierten Mediatoren basierten. Beide Gruppen hatten in der vorliegenden Studie eine vergleichbare Größe. Durch eine stratifizierte Randomisierung konnte der Problematik begegnet werden, dass die Kinder mit unterschiedlichen Konstitutionen zufällig auf die Gruppen verteilt wurden.

PaCO₂-Zielwerte

Daten bezüglich der permissiven Hyperkapnie bei beatmeten Kindern sind nur begrenzt existent. Wung et al. waren die Ersten, die über Experimente mit permissiver Hyperkapnie bei termingerecht geborenen Kindern mit PPHN berichteten. Sie hielten die PaO₂ Werte zwischen 50-70 mm Hg und ließen zu, die PaCO₂ Werte bis 60 mm Hg zu steigern. In einer Studie von Varughese et al. (2002) wurden bei Neugeborenen mit hohem Risiko für eine BPD PaCO₂ Werte von 45-50 mm Hg als „sicher“ und „gut toleriert“ erachtet [110].

In der vorliegenden Studie wurden die PaCO₂ Werte während der kritischen ersten Lebenstage nah am Normbereich gesunder Kinder und Erwachsener (PaCO₂ 35-45 mm Hg) orientierend festgelegt und im Anschluss erst allmählich erhöht, um den Atemantrieb zu verbessern und die Entwöhnung zu erleichtern. Zwischen der Interventionsgruppe und der Kontrollgruppe wurde während der gesamten Intervention ein Unterschied von 15 mm Hg geplant. Das Ziel, in der Kontrollgruppe während der ersten Lebenstage einen PaCO₂ zwischen 35 und 45 mm Hg beizubehalten, hätte bedeutet, dass die meisten Kinder während dieser Zeit an die maschinelle Beatmung gebunden gewesen wären und wurde daher als unethisch betrachtet. Zudem wurde ein initialer PaCO₂ Zielwert von 40-50 mm Hg zur Vermeidung versehentlicher hypokapnischer Episoden für sicherer erachtet als ein Zielwert von 35-45 mm Hg. Weiter wurde erwartet, dass Kinder mit weniger geschädigten Lungen schneller eine suffiziente Spontanatmung entwickeln und dadurch den PaCO₂ unter dem Zielwert halten. Die Beatmung muss in diesen Fällen weiter reduziert werden um zu versuchen, das Kind zu extubieren.

In der Gruppe der experimentellen Intervention wurde zunächst mit mäßig hohen PaCO₂ Grenzen um 55-65 mm Hg an Lebenstag 1 bis 3 begonnen. Dies erfolgte in der Annahme, dass die initialen Grenzen in einem Bereich liegen, der in einigen Zentren bereits verwendet wurde, ohne dass sich schwere Nebenwirkungen auffällig häuften. Außerdem waren diese Werte nur minimal höher als diejenigen, in der von Carlo et al. (2002) durchgeführten größten Studie, die keine Zunahme ungünstiger Outcomes zeigte [9]. An Lebenstag 4 und 7 wurden die PaCO₂ Grenzen weiter erhöht, um bis Lebenstag 7 bis 14 Werte um 65-75 mm Hg zu erreichen, da mit zunehmendem Alter der Kinder das Risiko intrakranieller Blutungen sinkt. Des Weiteren wurde erwartet, dass mit steigenden PaCO₂ Zielwerten die Zahl der Kinder, die extubiert werden können, zunimmt. Aus diesem Grund wurde angenommen, dass Kinder in der Interventionsgruppe früher von der maschinellen Beatmung entwöhnt werden können und somit das Risiko für beatmungsinduzierte Schädigungen minimiert wird. Gleichzeitig sollten die Kinder, die weiterhin maschinell beatmet wurden, von den reduzierten Beatnungsmaßnahmen aufgrund höherer PaCO₂ Zielwerte profitieren, da nach einer metabolischen Adaptation an höhere PaCO₂ Werte keine unerwünschten Nebeneffekte erwartet wurden [59]. Zu diesem Zeitpunkt sind die günstigen Effekte der moderaten permissiven Hyper-

kapnie vermutlich durch die potentiell ungünstigen Effekte einer milden hyperkapnischen Azidose ausgeglichen. Durch eine schwere hyperkapnische Azidose kommt es zu vermehrtem zerebralen Blutfluss, der zu Hirnödem, Hirndruck und IVH führen kann. Retrospektive Daten zeigen eine Assoziation zwischen IVH und schwerer jedoch nicht mit milder Hyperkapnie [59, 99]. Somit geht die Festsetzung der PaCO₂ Werte mit einer Abwägung zwischen dem schmalen Grad der erwünschten günstigen Effekte und potenziell negativen Auswirkungen einher.

Trachealsekretgewinnung, -asservierung und -analyse

Die Trachealsekretgewinnung erfolgte, wie bereits in Kapitel 2, Abschnitt 2.2.1 beschrieben, zu fünf definierten Zeitpunkten (Lebenstag 2, 4, 7, 14, 21). Wichtig zu berücksichtigen ist, dass aufgrund der Tatsache, dass die Abnahme des Trachealsekrets bei den Frühgeborenen nur bei liegendem Trachealtubus erfolgen konnte, die Häufigkeit der Entnahme mit zunehmendem Lebensalter abnahm. Gleichzeitig führte diese Tatsache jedoch auch zu einer Negativselektion, da kränkere Frühgeborene einer längeren Intubation bedurften und dadurch von diesen Kindern insgesamt mehr Trachealsekret gesammelt werden konnte.

Das abgesaugte Trachealsekret wurde anschließend nach seiner Gewinnung zentrifugiert, der Überstand abpipettiert und in Cryotubes bei -18 °C gelagert. Die so gewonnenen Trachealsekretproben wurden gebündelt innerhalb von 48 h in einen -80 °C Gefrierschrank überführt und dort bis zur immunologischen Analyse aufbewahrt. Kritische Punkte sind hierbei zum einen, dass die Zeiten zwischen Trachealsekretgewinnung, Zentrifugation, Lagerung bei -18 °C und Verbringung in den -80 °C Gefrierschrank nicht identisch waren. Diese Zeiten ließen sich nicht gleich halten, da das Sammeln des Trachealsekretes nur im Rahmen der indizierten Absaugung erfolgte und dies durch wechselndes Personal durchgeführt wurde. Die Lagerzeit könnte durch Zwischenanalysen bzw. durch einen kürzeren Zeitraum der Patienten-Rekrutierung verkürzt werden. In letzterem Fall wäre es notwendig, multizentrisch Proben systematisch zu sammeln. Hierbei müsste allerdings, wie oben bereits beschrieben, eine mögliche Zentrumsvariabilität [26, 63] in Kauf genommen werden.

Weiter ist zu beachten, dass die Menge und die Verdünnung des gewonnenen

Materials sehr unterschiedlich war. Dies war auch in einer Studie von Bagchi et al. (1994) Diskussionspunkt [3]. Um dieser Tatsache Rechnung zu tragen, wurde zur Korrektur der ungleichen Verdünnung die Konzentration von sIgA bestimmt, die unabhängig vom Gestationsalter und postnatalem Alter ist, somit als Referenzwert verwendet werden kann und die gemessenen Werte der einzelnen Parameter zu sIgA in Bezug gesetzt werden können. Die dennoch existente Streuung der Parameter bei allen vorhandenen Messwerten lässt unter anderem auf eine biologische Variabilität schließen, die auf Unterschiede im Ausmaß der Lungenschädigung und der antiinflammatorischen Reaktion jedes einzelnen Kindes zurückzuführen ist. Da jedes Kind seinen eigenen zeitlichen Verlauf der Expression von Mediatoren hat, ergibt die Analyse der Parameter eine große Bandbreite der gemessenen Konzentrationen und es war nicht von einer Normalverteilung der Daten auszugehen. Letzterem wurde durch Wahl nicht parametrischer Testverfahren Rechnung getragen.

Statistische Analyse

Die beschriebene Streuung der Werte bezieht sich einerseits auf die Bandbreite der Ergebnisse an sich, andererseits auf einzelne gemessene Ausreißer. Beides kann auf oben angeführte kritische Punkte des Studienplans zurückgeführt werden. Fraglich ist jedoch, inwiefern sich die Streuung auf die statistischen Ergebnisse und ihre Validität auswirkt. Es ist zu diskutieren, ob es statistisch sinnvoll wäre, die Ausreißer aus der statistischen Analyse auszuschließen. Vor dem Hintergrund, dass sich unter den gemessenen Parametern abhängig von der Beatmungsstrategie zum einen keine eindeutige Tendenz erkennen lässt und zum anderen das primäre Outcome Tod/BPD durch die Beatmungsstrategie nicht beeinflusst wurde, ist davon auszugehen, dass sich die vereinzelt Ausreißer nicht wesentlich auf die Validität der Ergebnisse auswirken. Im Vergleich zu anderen Arbeiten ist bezüglich einzelner Ausreißer nur schwer eine Aussage zu treffen, da bei den veröffentlichten Arbeiten keine Rohdaten vorliegen. Ergebnisse einer Studie von Thome et al. (1998) [104] lassen anhand der Fehlerbalken vermuten, dass ebenfalls eine breite Streuung der Werte für die analysierten Parameter vorlag. Über einzelne Ausreißer lässt sich auch hier keine Aussage machen. Dies ist insofern interessant, als dass dieser Studie ein ähnlicher Studienplan zugrunde lag.

4.5 Fazit

In der Literatur gab es bisher kaum Daten zum Einfluss der permissiven Hyperkapnie auf einzelne pro- und antiinflammatorische Mediatoren. Im Vergleich zu vorhergehenden Studien zur permissiven Hyperkapnie wurde im Gegensatz zu dieser Studie vor allem hinsichtlich des Effekts auf das klinische Outcome, im Sinne von BPD oder Tod bzw. Dauer der Beatmung, untersucht.

Auf der Grundlage, dass Entzündungsmediatoren im Trachealsekret mit der Entwicklung einer BPD zusammenhängen und der Annahme, dass mittels permissiver Hyperkapnie die Inzidenz der BPD gesenkt werden kann, wurden bei Bearbeitung der Hypothese 1 in der Interventionsgruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe niedrigere Konzentrationen der analysierten Substanzen erwartet.

Aus den erfolgten Untersuchungen kann geschlossen werden, dass unter Berücksichtigung des diskutierten Studienplans durch die moderate permissive Hyperkapnie kein statistisch signifikanter Effekt auf die Konzentration der proinflammatorischen Mediatoren ausgeübt wird. Das Ausbleiben des erwarteten Effekts kann unter anderem im Zusammenhang mit der relativ kleinen Stichprobengröße diskutiert werden. In Abwesenheit eines klaren Trends ist jedoch stark anzuzweifeln, dass in einer größeren Stichprobe ein signifikanter Unterschied festzustellen gewesen wäre. Vielmehr wird bei der Betrachtung der Ergebnisse deutlich, dass das Ausbleiben der erwarteten Effekte in Bezug auf die Trachealsekretanalyse durch das klinische Ergebnis bestätigt wird; zwischen den beiden Gruppen besteht bezüglich des primären Outcomes BPD/Tod kein signifikanter Unterschied. Unter dieser Prämisse ist kein Unterschied bezüglich der Mediatoren im Trachealsekret zu erwarten. Insofern stimmen die biochemischen und klinischen Resultate überein.

Bei der Untersuchung der Hypothese 2 konnte ebenfalls kein signifikantes Ergebnis erzielt werden. Hierbei wurde der Frage nachgegangen, ob anhand eines prognostischen Markers eine Aussage über die Entwicklung einer BPD anhand der Messung proinflammatorischer Mediatoren erfolgen kann und somit die Möglichkeit gegeben wäre, Kinder herauszufinden, die möglicherweise von einer moderaten permissiven Hyperkapnie profitieren würden.

Da sich weder im klinischen Outcome insbesondere bezüglich der negativen Ef-

efekte zwischen den beiden Gruppen, noch in den biochemischen Daten signifikante Unterschiede zeigten, lassen die Ergebnisse der vorliegenden Studie am ehesten vermuten, dass eine moderate permissive Hyperkapnie nicht schonender zu sein scheint als eine milde Hyperkapnie. Dies könnte unter anderem darauf zurückgeführt werden, dass eine moderate permissive Hyperkapnie die Lunge zwar mechanisch weniger belastet, sich aber vermutlich eine zu große Anzahl von Enzymen zu weit außerhalb ihres pH-Optimums befinden, so dass sich die Effekte gegenseitig aufheben. Hierzu passt, dass sich in der Trachealsekretanalyse die untersuchten inflammatorischen Mediatoren und Zytokine nicht in eine einheitliche Richtung bewegen und keinen Trend erkennen lassen.

5 Zusammenfassung

Die permissive Hyperkapnie ist eine Beatmungsstrategie, die unter anderem durch verringerte Tidalvolumina das Risiko für eine beatmungsinduzierte Lungenschädigung reduzieren und infolge die Inzidenz einer bronchopulmonalen Dysplasie (BPD) senken soll.

Der vorliegenden prospektiven randomisierten Studie, die im Rahmen der PHE-LBI-Studie (Permissive Hypercapnia in Extremely Low Birthweight Infants) durchgeführt wurde, wurde die Hypothese zugrunde gelegt, dass Kinder, die mit moderater permissiver Hyperkapnie (PHC) beatmet wurden, im Vergleich zu Kindern, die mild hyperkapnisch (MHC) beatmet wurden, aufgrund der geringeren Tidalvolumina und der verminderten Lungendehnung, weniger Lungenschädigung erleiden und somit geringere pulmonale Inflammationsreaktionen induziert werden. In der Folge werden im Trachealsekret der mit moderater permissiver Hyperkapnie beatmeten Kinder, reduzierte Konzentrationen von inflammatorischen Zytokinen und Mediatoren (Interleukin-1 β (IL-1 β), Interleukin 6 (IL-6), Interleukin 8 (IL-8), macrophage inflammatory protein-1 α (MIP-1 α), Leukotrien B₄ (LTB₄), Neuropeptid Y (NPY), transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1), Albumin, Nitrotyrosin, Nitrat und saurer Sphingomyelinase (ASMase) erwartet. Außerdem wurde der Hypothese nachgegangen, ob anhand des Nachweises erhöhter Konzentrationen spezifischer inflammatorischer Zytokine und saurer Sphingomyelinase die Entwicklung einer bronchopulmonalen Dysplasie (BPD) vorhergesagt werden kann, um frühzeitiger therapeutisch intervenieren zu können.

Zur Überprüfung der Hypothesen wurden 73 Frühgeborene mit extrem niedrigem Geburtsgewicht (Geburtsgewicht ≥ 400 g ≤ 1000 g, Gestationsalter ≥ 23 0/7 Wochen und ≤ 28 6/7 Wochen), die in der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin der Universitätsklinik Ulm geboren wurden und einer maschinellen Beatmung bedurften, randomisiert einer Interventionsgruppe (moderate permissive Hyperkapnie) und einer Kontrollgruppe (milde Hyperkapnie) zugeteilt. Es wurde systematisch an fünf definierten Messzeitpunkten (Lebenstag 2, 4, 7, 14, 21) Trachealsekret gesammelt, das, durch Zentrifugation von zellulären Anteilen befreit, bei -80 °C gelagert wurde, bevor es anschließend hinsichtlich der oben genannten Parameter, sowie slgA, als Referenzprotein, laborchemisch analysiert wurde.

Die statistische Analyse hat für die untersuchten Parameter entgegen der ersten aufgestellten Hypothese keinen signifikanten Unterschied zwischen der Interventionsgruppe und Kontrollgruppe erbracht, womit sich anhand dieser Parameter statistisch weder ein positiver noch ein negativer Effekt der moderaten permissiven Hyperkapnie nachweisen lässt. Bei der Untersuchung der zweiten Hypothese konnte ebenfalls kein signifikantes Ergebnis festgestellt werden. Das Ausbleiben der erwarteten Effekte in Bezug auf die Trachealsekretanalyse wird durch das klinische Ergebnis bestätigt; zwischen den beiden Gruppen besteht bezüglich des primären Outcomes BPD/Tod kein signifikanter Unterschied. Da sich im klinischen Outcome insbesondere bezüglich der negativen Effekte zwischen den beiden Gruppen keine signifikanten Unterschiede zeigen, lassen die Ergebnisse der vorliegenden Studie am ehesten vermuten, dass eine moderate permissive Hyperkapnie nicht schonender zu sein scheint als eine milde hyperkapnische Beatmung.

6 Literaturverzeichnis

- [1] **Abman SH** Bronchopulmonary dysplasia „A vascular hypothesis“. *Am J Respir Crit Care Med* 2001, 164, pp. 1755-1756
- [2] **Amato MB, Barbas CS, Medeiros DM, Magaldi RB, Schettino GP, Lorenzi-Filho G, Kairalla RA, Deheinzelin D, Munoz C, Oliveira R, Takagaki TY, Carvalho CR** Effect of a protective-ventilation strategy on mortality in the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 1998, 338, 333-340.
- [3] **Bagchi A, Viscardi RM, Taciak V, Ensor JE, McCrea KA, Hasday JD** Increased activity of interleukin-6 but not tumor necrosis factor- α in lung lavage of premature infants is associated with the development of bronchopulmonary dysplasia. *Pediatr Res* 1994, 36, pp. 244-252
- [4] **Bancalari E, Sosenko I** Pathogenesis and prevention of neonatal chronic lung disease: recent developments. *Pediatr Pulmonol* 1990, 8, pp. 109-116
- [5] **Bancalari E** Corticosteroids and neonatal chronic lung disease. *Eur J Pediatr* 1998, 157, pp. 31-37
- [6] **Bancalari E, Claire N, Gonzalez A** Patent ductus arteriosus and respiratory outcome in premature infants. *Biol Neonate* 2005, 88, pp. 192-201
- [7] **Bartram U, Speer CP** The role of transforming growth factor- β in lung development and disease. *Chest* 2004, 125, pp. 754-765
- [8] **Bland DR** Neonatal chronic lung disease in the post-surfactant era. *Biol Neonate* 2005, 88, pp. 181-191
- [9] **Carlo WA, Stark AR, Wright LL, Tyson JE, Papile LA, Shankaran S, Donovan EF, Oh W, Bauer CR, Saha S, Poole WK, Stoll B** Minimal ventilation to prevent bronchopulmonary dysplasia in extremely-low-birth-weight infants. *J Pediatr* 2002, 141, pp. 370-375
- [10] **Chan C, Goldkorn T** Ceramide path in human lung cell death. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2000, 22, pp. 460-468
- [11] **Chiswick ML** Prolonged rupture of membranes, pre-eclamptic toxemia, and respiratory distress syndrome. *Arch Dis Child* 1976, 51, pp. 674-679
- [12] **Coalson JJ, Kuehl TJ, Prihoda TJ, De Lemos RA** Diffuse alveolar damage in the evolution of bronchopulmonary dysplasia in the baboon. *Pediatr Res* 1988, 24, pp. 357-366
- [13] **Copland IB, Martinez F, Kavanagh BP, Engelberts D, McKerlie C, Belik J, Post M** High tidal volume ventilation causes different inflammatory responses in newborn versus adult lung. *Am J Respir Crit Care Med* 2004, 169, pp. 739-748
- [14] **Crapo JD** Morphologic changes in pulmonary oxygen toxicity. *Ann Rev Physiol* 1986, 48, pp. 721-731
- [15] **Donnelly SC, Strieter RM, Kunkel SL, Walz A, Robertson CR, Carter DC, Grant IS, Pollok AJ, Haslett C** Interleukin-8 and development of

- adult respiratory distress syndrome in at-risk patient groups. *Lancet* 1993, 341, pp. 643-647
- [16] **Dreyfuss D, Saumon G** Ventilator-induced lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 1998, 157, pp. 294-323
- [17] **Egberts J, Brand R, Walti H, Bevilacqua G, Bréart G, Gardini F** Mortality, severe respiratory distress syndrome, and chronic lung disease of the newborn are reduced more after prophylactic than after therapeutic administration of the surfactant curosurf. *Pediatrics* 1997, 100, pp. 1-6
- [18] **Ehrenkranz RA, Walsh MC, Vohr BR, Jobe AH, Wright LL, Fanaroff AA, Wrage LA, Poole K** Validation of the National Institutes of Health Consensus definition of bronchopulmonary dysplasia. *Pediatrics* 2005, 116, pp. 1353-1360
- [19] **Fine A, Goldstein RH** The effect of transforming growth factor- β on cell proliferation and collagen formation by lung fibroblasts. *J Biol Chem* 1987, 262, pp. 3897-3902
- [20] **Frank L, Sosenko IR** Development of lung antioxidant enzyme system in late gestation: possible implications for the prematurely born infant. *J Pediatr* 1987, 110, pp. 9-14
- [21] **Fujimura M, Kitajima H, Nakayama M** Increased leukocyte elastase of the tracheal aspirate at birth and neonatal pulmonary emphysema. *Pediatrics* 1993, 92, pp. 564-569
- [22] **Gerdes JS, Harris MC, Polin RA** Effects of dexamethasone and indomethacin on elastase, α 1-proteinase inhibitor, and fibronectin in bronchoalveolar lavage fluid from neonates. *J Pediatr* 1988, 113, pp. 727-731
- [23] **Göggel R, Hoffman S, Nüsing R, Narumiya S, Uhlig S** Platelet-activating factor-induced pulmonary edema is partly mediated by Prostaglandin E₂, E-Prostanoid 3-Receptors, and potassium channels. *Am J Respir Crit Care Med* 2002, 166, pp. 657-662
- [24] **Göggel R, Winoto-Morbach S, Vielhaber G, Imai Y, Lindner K, Brade L, Brade H, Ehlers S, Slutsky AS, Schütze S, Gublines E, Uhlig S** PAF-mediated pulmonary edema: a new role for acid sphingomyelinase and ceramide. *Nat Med* 2004, 10, pp. 155-160
- [25] **Gonzalez A, Sosenko IR, Chandar J, Hummler H, Claire N, Bancalari E** Influence of infection on patent ductus arteriosus and chronic lung disease in premature infants weighing 1000 grams or less. *J Pediatr* 1996, 128, pp. 470-478
- [26] **Greenough A, Alexander J, Burgess S, Chetcuti PA, Cox S, Lenney W, Turnbull F, Shaw NJ, Woods A, Boorman J, Coles S, Turner J** Home oxygen status and rehospitalisation and primary care requirements of infants with chronic lung disease. *Arch Dis Child* 2002, 86, pp. 40-43
- [27] **Grigg JM, Barber A, Silverman M** Increased levels of bronchoalveolar lavage fluid interleukin-6 in preterm ventilated infants after prolonged rupture of membranes. *Am Rev Respir Dis* 1992, 145, pp. 782-786
- [28] **Groneck P, Oppermann M, Speer CP** Levels of complement ana-

- phylatoxin C5a in pulmonary effluent fluid of infants at risk for chronic lung disease and effects of dexamethasone treatment. *Pediatr Res* 1993, 34, pp. 586-590
- [29] **Groneck P, Reuss D, Götze-Speer B, Speer CP** Effects of dexamethasone on chemotactic activity and inflammatory mediators in tracheobronchial aspirates of preterm infants at risk for chronic lung disease. *J Pediatr* 1993, 122, pp. 938-944
- [30] **Groneck P, Götze-Speer B, Oppermann M, Eiffert H, Speer CP** Association of pulmonary inflammation and increased microvascular permeability during the development of bronchopulmonary dysplasia: A sequential analysis of inflammatory mediators in respiratory fluids of high-risk preterm neonates. *Pediatrics* 1994, 93, pp. 712-718
- [31] **Groneck P, Speer CP** Inflammatory mediators and bronchopulmonary dysplasia. *Arch Dis Child* 1995, 73 pp. 1-3
- [32] **Groneck P, Goetze-Speer B, Speer CP** Inflammatory bronchopulmonary response of preterm infants with microbial colonisation of the airways at birth. *Arch Dis Child* 1996, 74, pp. 51-55
- [33] **Groneck P, Speer CP** Pulmonary inflammation in the pathogenesis of bronchopulmonary dysplasia. *Pediatr Pulmonol* 1997, 16, pp. S29-S30
- [34] **Groneck P, Schmale J, Soditt V, Stützer H, Götze-Speer B, Speer CP** Bronchoalveolar inflammation following airway infection in preterm infants with chronic lung disease. *Pediatr Pulmonol* 2001, 31, pp. 331-338
- [35] **Hanna N, Vasquez P, Pham P, Heck DE, Laskin JD, Laskin DL, Weinberger B** Mechanisms underlying reduced apoptosis in neonatal neutrophils. *Pediatr Res* 2005, 57, pp. 56-62
- [36] **Hennes HM, Lee MB, Rimm AA, Shapiro DL** Surfactant replacement therapy in respiratory distress syndrome. *Am J Dis Child* 1991, 145, pp. 102-104
- [37] **Hirabayashi A, Nishiwaki K, Taki K, Shimada Y, Ishikawa N** Effects of neuropeptide Y on lung vascular permeability in the pulmonary circulation of rats. *Eur J Pharmacol* 1994, 256, pp. 227-230
- [38] **Ignotz RA, Massagués J** Transforming growth factor- β stimulates the expression of fibronectin and collagen and their incorporation into the extracellular matrix. *J Biol Chem* 1986, 261, pp. 4337-4345
- [39] **Jobe AH** The new BPD: An arrest of lung development. *Pediatr Res* 1999, 46, pp. 641-643
- [40] **Jobe AH, Bancalari E** Bronchopulmonary Dysplasia. *Am J Respir Crit Care Med* 2001, 163, pp. 1723-1729
- [41] **Johnson AH, Peacock JL, Greenough A, Marlow N, Limb ES, Marston L, Calvert SA** High-frequency oscillatory ventilation for the prevention of chronic lung disease of prematurity. *N Engl J Med* 2002, 347, pp. 633-642
- [42] **Jónsson B, Tullus K, Braumer A, Li YH, Noack G** Early increase of TNF- α and IL-6 in tracheobronchial aspirate fluid indicator of subsequent

- chronic lung disease in preterm infants. *Arch Dis Child* 1997, 77, pp. F198-F201
- [43] **Jónsson B, Li YH, Noack G, Brauner A, Tullus K** Downregulatory cytokines in tracheobronchial aspirate fluid from infants with chronic lung disease of prematurity. *Acta Paediatr* 2001, 89, pp. 1375-1380
- [44] **Kim BI, Lee HE, Choi CW, Jo HS, Choi EH, Koh YY, Choi JH** Increase in cord blood soluble E-selectin and tracheal aspirate neutrophils at birth and the development of new bronchopulmonary dysplasia. *J Perinat Med* 2004, 32, pp. 282-287
- [45] **Kishimoto T** The biology of interleukin-6. *Blood* 1989, 74, pp. 1-10
- [46] **Koenig JM, Stegner JJ, Schmeck AC, Saxonhouse MA, Kenigsberg LA** Neonatal neutrophils with prolonged survival exhibit enhanced inflammatory and cytotoxic responsiveness. *Pediatr Res* 2005, 57, pp. 424-429
- [47] **Kotecha S, Chan B, Azam N, Silverman M, Shaw RJ** Increase in interleukin-8 and soluble intercellular adhesion molecule-1 in bronchoalveolar lavage fluid from premature infants who develop chronic lung disease. *Arch Dis Child* 1995, 72, pp. F90-F96
- [48] **Kotecha S** Cytokines in chronic lung disease of prematurity. *Eur J Pediatr* 1996, 155, pp. S14-S17
- [49] **Kotecha S, Wangoo A, Silverman M, Shaw RJ** Increase in the concentration of transforming growth factor beta-1 in bronchoalveolar lavage fluid before development of chronic lung disease of prematurity. *J Pediatr* 1996, 128, pp. 464-469
- [50] **Kotecha S, Wilson L, Wangoo A, Silverman M, Shaw RJ** Increase in interleukin (IL)-1 β and IL-6 in bronchoalveolar lavage fluid obtained from infants with chronic lung disease of prematurity. *Pediatr Res* 1996, 40, pp. 250-256
- [51] **Kotecha S, Silverman M, Shaw RJ** Soluble L-selectin concentration in bronchoalveolar lavage fluid obtained from infants who develop chronic lung disease of prematurity. *Arch Dis Child Fetal Neonatal* 1998, 78, pp. F143-F147
- [52] **Kotecha S, Mildner RJ, Prince LR** The role of neutrophil apoptosis in the resolution of acute lung injury in newborn infants. *Thorax* 2003, 58, pp. 961-967
- [53] **Kotecha S, Hodge R, Schaber JA, Miralles R, Silverman M, Grant WD** Pulmonary *Ureaplasma urealyticum* is associated with the development of acute lung inflammation and chronic lung disease in preterm infants. *Pediatr Res* 2004, 55, pp. 61-68
- [54] **Kovacs EJ, DiPietro LA** Fibrogenic cytokines and connective tissue production. *FASEB J* 1994, 8, pp. 854-861
- [55] **Kraybill EN, Runyan DK, Bose CL, Khan JH** Risk factors for chronic lung disease in infants with birth weights of 751 to 1000 grams. *J Pediatr* 1989, 115, pp. 115-120

- [56] **Kunkel SL, Standiford T, Kasahara K, Strieter RM** Interleukin 8 (IL-8): The major neutrophil chemotactic factor in the lung. *Exp Lung Res* 1991, 17, pp. 17-23
- [57] **Kunzmann S, Speer CP, Jobe AH, Kramer BW** Antenatal inflammation induced TGF- β 1 but suppressed CTGF in preterm lungs. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2007, 292, pp. L223-L231
- [58] **Lavrentiadou SN, Chan C, Kawcak T, Ravid T, Tsaba A, van der Vliet A, Rasooly R, Goldkorn T** Ceramide-mediated apoptosis in lung epithelial cells is regulated by glutathione. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2001, 25, 676-684
- [59] **Levene MI, Fawer CL, Lamont RF** Risk factors in the development of intraventricular haemorrhage in the preterm neonate. *Arch Dis Child* 1982, 57, pp. 410-417
- [60] **Lindner W, Pohlandt F** Oxygenation and ventilation in spontaneously breathing very preterm infants with nasopharyngeal CPAP in the delivery room. *Acta Paediatr* 2007, 96, pp. 17-22
- [61] **Little S, Dean T, Bevin S, Hall M, Ashton M, Church M, Warner J, Shute J** Role of elevated plasma soluble ICAM-1 and bronchial lavage fluid IL-8 levels as markers of chronic lung disease in premature infants. *Thorax* 1995, 50, pp. 1073-1079
- [62] **Mariani G, Cifuentes J, Carlo WA** Randomized trial of permissive hypercapnia in preterm infants. *Pediatrics* 1999, 104, pp. 1082-1088
- [63] **van Marter LJ, Allred EN, Pagano M, Sanocka U, Parad R, Moore M, Susser M, Paneth N, Leviton A** Do clinical markers of barotrauma and oxygen toxicity explain interhospital variation in rates of chronic lung disease? *Pediatrics* 2000, 105, pp. 1194-1201
- [64] **May M, Ströbel P, Preisshofen T, Seidenspinner S, Marx A, Speer CP** Apoptosis and proliferation in lungs of ventilated and oxygen-treated preterm infants. *Eur Respir J* 2004, 23, pp. 112-121
- [65] **Merritt TA, Stuard ID, Puccia J, Wood B, Edwards DK, Finkelstein J, Shapiro DL** Newborn tracheal aspirate cytology: classification during respiratory distress syndrome and bronchopulmonary dysplasia. *J Pediatr* 1981, 98, pp. 949-956
- [66] **Merritt TA, Cochrane CG, Holcomb K, Bohl B, Hallman M, Strayer D, Edwards DK, Gluck L** Elastase and α 1-proteinase inhibitor activity in tracheal aspirates during respiratory distress syndrome. *J Clin Invest* 1983, 72, pp. 656-666
- [67] **Metinko AP, Kunkel SL, Standiford TJ, Strieter RM** Anoxia-hyperoxia induces monocyte-derived interleukin-8. *J Clin Invest* 1991, 90, pp. 791-798
- [68] **Murch SH, MacDonald TT, Wood CB, Costeloe KL** Tumor necrosis factor in the bronchoalveolar secretions of infants with the respiratory distress syndrome and the effect of dexamethasone treatment. *Thorax* 1992, 47, pp. 44-47

- [69] **Murch SH, Costeloe K, Klein NJ, MacDonald TT** Early production of macrophage inflammatory protein-1 alpha occurs in respiratory distress syndrome and is associated with poor outcome. *Pediatr Res* 1996, 40, pp. 490-497
- [70] **Muscedere JG, Mullen JB, Gan K, Slutsky AS** Tidal ventilation at low airway pressures can augment lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 1994, 149, pp. 1327-1334
- [71] **National Institutes of Health Consensus Development Conference** Effect of corticosteroids for fetal maturation on perinatal outcomes. *NIH Consensus Statement* 1994, 12, pp. 1-24
- [72] **Niu JO, Munshi UK, Siddiq MM, Parton LA** Early increase in endothelin-1 in tracheal aspirates of preterm infants: correlation with bronchopulmonary dysplasia. *J Pediatr* 1998, 132, pp. 965-970
- [73] **Northway WH** Bronchopulmonary dysplasia: then and now. *Arch Dis Child* 1990, 65, pp. 1076-1081
- [74] **Özdemir A, Brown MA, Morgan WJ** Markers and mediators of inflammation in neonatal lung disease. *Pediatr Pulmonol* 1997, 23, pp. 292-306
- [75] **Özdemir R, Erdeve O, Dizdar EA, Oguz SS, Uras N, Saygan S, Karabulut E, Dilmen U** Clarithromycin in preventing bronchopulmonary dysplasia in Ureaplasma urealyticum-positive preterm infants. *Pediatrics* 2011, 128, pp. 1495-1501
- [76] **Ogden BE, Murphy SA, Saunders GC, Pathak D, Johnson JD** Neonatal lung neutrophils and elastase/proteinase inhibitor imbalance. *Am Rev Respir Dis* 1984, 130, pp. 817-821
- [77] **Parker RA, Lindstrom DP, Cotton RB** Improved survival accounts for most, but not all, of the increase in bronchopulmonary dysplasia. *Pediatrics* 1991, 90, pp. 663-668
- [78] **Piguet PF, Collart MA, Grau GE, Kapanci Y, Vassalli P** Tumor necrosis factor/cachectin plays a key role in bleomycin-induced pneumopathy and fibrosis. *J Exp Med* 1989, 170, pp. 655-663
- [79] **Ramirez J, Totapally BR, Hon E, Torbati D, Mangino MJ, Hultquist KA, Wolfsdorf J** Oxygen-carrying capacity during 10 hours of hypercapnia in ventilated dogs. *Crit Care Med* 2000, 28, pp. 1918-1923
- [80] **Ranieri VM, Suter PM, Tortorella C, De Tullio R, Dayer JM, Brienza A, Bruno F, Slutsky AS** Effect of mechanical ventilation on inflammatory mediators in patients with acute respiratory distress syndrome. A randomized controlled trial. *J Am Med Assoc* 1999, 281, pp. 54-61
- [81] **Rath W, Bembruch U, Schmidt S** Geburtshilfe und Perinatalmedizin. *Thieme Verlag* 2010, 2, p. 579
- [82] **Rauvala H, Hallman M** Glycolipid accumulation in bronchoalveolar space in adult respiratory distress syndrome. *J Lipid Res* 1984, 25, pp. 1257-1262
- [83] **Rindfleisch MS, Hasday JD, Taciak V, Broderick K, Viscardi RM** Potential role of interleukin-1 in the development of bronchopulmonary dys-

- plasia. *J Interferon Cytokine Res* 1996, 16, pp. 365-373
- [84] **Rojas MA, Gonzalez A, Bancalari E, Claire N, Poole C, Silva-Neto G** Changing trends in the epidemiology and pathogenesis of neonatal chronic lung disease. *J Pediatr* 1995, 126, pp. 605-610
- [85] **Saugstad OD** Bronchopulmonary dysplasia and oxidative stress: Are we closer to an understanding of the pathogenesis of BPD? *Acta Paediatr* 1997, 86, pp. 1277-1282
- [86] **Saugstad OD** Oxidative stress in the newborn – a 30-year perspective. *Biol Neonate* 2005, 88, pp. 228-236
- [87] **Sittipunt C, Steinberg KP, Ruzinski JT, Myles C, Zhu S, Goodman RB, Hudson LD, Matalon S, Martin TR** Nitric oxide and nitrotyrosine in the lungs of patients with acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 2001, 163, pp. 503-510
- [88] **Smith CV, Hansen TN, Martin NE, McMicken HW, Elliott SJ** Oxidant stress responses in premature infants during exposure to hyperoxia. *Pediatr Res* 1993, 34, pp. 360-365
- [89] **Soll RF** Cochrane Review Update: Inhaled nitric oxide for respiratory failure in preterm infants. *Neonatal* 2012, 102, pp. 251-253
- [90] **Speer CP, Pabst MJ, Hedegaard HB, Rest RF, Johnston RB** Enhanced release of oxygen metabolites by monocyte-derived macrophages exposed to proteolytic enzymes: activity of neutrophil elastase and cathepsin G1. *J Immunol* 1984, 133, pp. 2151-2156
- [91] **Speer CP, Ninjo A, Gahr M** Clinical and laboratory observations - elastase- α 1-proteinase inhibitor in early diagnosis of neonatal septicemia. *J Pediatr* 1986, 108, pp. 987-990
- [92] **Speer CP, Groneck P** Pathogenesis of chronic lung disease. *Biol Neonate* 1996, 69, pp. 165-212
- [93] **Speer CP** Inflammatory mechanisms in neonatal chronic lung disease. *Eur J Pediatr* 1999, 158, pp. S18-S22
- [94] **Speer CP** New insights into the pathogenesis of pulmonary inflammation in preterm infants. *Biol Neonate* 2001, 79, pp. 205-209
- [95] **Speer CP** Inflammation and bronchopulmonary dysplasia: a continuing story. *Semin Fetal Neonatal Med* 2006, 11, pp. 354-362
- [96] **Speer CP** Chorioamnionitis, postnatal factors and proinflammatory response in the pathogenetic sequence of bronchopulmonary dysplasia. *Neonatology* 2009, 95, pp. 353-361
- [97] **Stenmark KR, Eyzaguirre M, Westcott JY, Henson PM, Murphy RC** Potential role of eicosanoids and PAF in the pathophysiology of bronchopulmonary dysplasia. *Am Rev Respir Dis* 1987, 136, pp. 770-772
- [98] **Strieter RM, Lukacs NW, Standiford TJ** Cytokines. 2. Cytokines and lung inflammation: mechanisms of neutrophil recruitment to the lung. *Thorax* 1993, 48, pp. 765-769

-
- [99] **Szymonowicz W, Yu VYH, Wilson FE** Antecedents of periventricular haemorrhage in infants weighing 1250 g or less at birth. *Arch Dis Child* 1984, 59, pp. 13-17
- [100] **The Acute Respiratory Distress Syndrome Network** Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 2000, 42, pp. 1301-1308
- [101] **Thomas W, Speer CP** Management of infants with bronchopulmonary dysplasia in Germany. *Earl Hum Dev* 2005, 81, pp. 155-163
- [102] **Thomas W, Speer CP** Nonventilatory strategies for prevention and treatment of bronchopulmonary dysplasia – what is the evidence? *Neonatology* 2008, 94, pp. 150-159
- [103] **Thomas W, Seidenspinner S, Kramer BW, Kawczyńska-Leda N, Chmielnicka-Kopaczyk M, Marx A, Wirbelauer J, Szymankiewicz M, Speer CP** Airway concentration of angiopoietin-1 and endostatin in ventilated extremely premature infants are decreased after funisitis and unbalanced with bronchopulmonary dysplasia/death. *Pediatr Res* 2009, 65, pp. 468-473
- [104] **Thome UH, Götze-Speer B, Speer CP, Pohlandt F** Comparison of pulmonary inflammatory mediators in preterm infants treated with intermittent positive pressure ventilation or high frequency oscillatory ventilation. *Pediatr Res* 1998, 44, pp. 330-337
- [105] **Thome UH, Kössel H, Lipowsky G, Porz F, Fürste HO, Genzel-Boroviczeny O, Tröger J, Opperman HC, Högel J, Pohlandt F** Randomized comparison of high-frequency ventilation with high-rate intermittent positive pressure ventilation in preterm infants with respiratory failure. *J Pediatr* 1999, 135, pp. 39-46
- [106] **Thome UH, Carroll W, Wu TJ, Johnson RB, Roane C, Young D, Carlo WA** Outcome of extremely preterm infants randomized at birth to different PaCO₂ targets during the first seven days of life. *Biol Neonate* 2006, 90, pp. 218-225
- [107] **Thome UH** Permissive hypercapnia in extremely low birthweight infants. The PHELBI study. A randomized controlled multicenter trial. *PHELBI Study protocol, Universität Ulm, 2007.*
- [108] **Tremblay L, Valenza F, Ribeiro SP, Li J, Slutsky AS** Injurious ventilatory strategies increase cytokines and c-fos m-RNA expression in an isolated rat lung model. *J Clin Invest* 1997, 99, pp. 944-952
- [109] **Turunen R, Nupponen I, Siitonen S, Repo H, Andersson S** Onset of mechanical ventilation is associated with rapid activation of circulating phagocytes in preterm infants. *Pediatrics* 2006, 117, pp. 448-454
- [110] **Varughese M, Patole S, Shama A, Whitehall J** Permissive hypercapnia in neonates: the case of the good, the bad, and the ugly. *Pediatr Pulmonol* 2002, 33, pp. 56-64
- [111] **Walsh MC, Wilson-Costello D, Zadell A, Newman N, Fanaroff A** Safety, reliability, and validity of a physiologic definition of bronchopulmonary
-

- dysplasia. *J Perinatol* 2003, 23, pp. 451-456
- [112] **Walsh MC, Yao Q, Gettner P, Hale E, Collins M, Hensman A, Everette R, Peters N, Miller N, Muran G, Auten K, Newman N, Rowan G, Grisby C, Arnell K, Miller L, Ball B, McDavid G** Impact of a physiologic definition on bronchopulmonary dysplasia rates. *Pediatrics* 2004, 114, pp. 1305-1311
- [113] **Watterberg KL, Demers LM, Scott SM, Murphy S** Chorioamnionitis and early lung inflammation in infants in whom bronchopulmonary dysplasia develops. *Pediatrics* 1996, 97, pp. 210-215
- [114] **Watts CL, Bruce MC** Effect of dexamethasone therapy on fibronectin and albumin levels in lung secretions of infants with bronchopulmonary dysplasia. *J Pediatr* 1992, 121, pp. 597-607
- [115] **Watts CL, Fanaroff AA, Bruce MC** Elevation of fibronectin levels in lung secretions of infants with respiratory distress syndrome and development of bronchopulmonary dysplasia. *J Pediatr* 1992, 120, pp. 614-620
- [116] **Watts CL, Bruce MC** Comparison of secretory component for immunoglobulin A with albumin as reference proteins in tracheal aspirate from preterm infants. *J Pediatr* 1995, 127, pp. 113-122
- [117] **Weinberger B, Laskin DL, Heck DE, Laskin JD** Oxygen toxicity in premature infants. *Toxicol Appl Pharmacol* 2002, 181, pp. 60-67
- [118] **Williams O, Hutchings G, Hubinont C, Debauche C, Greenough A** Pulmonary effects of prolonged oligohydramnions following mid-trimester rupture of the membranes - antenatal and postnatal management. *Neonatology* 2012, 101, pp. 83-90
- [119] **Wiswell TE, Graziani LJ, Kornhauser MS, Stanley C, Merton DA, McKee L, Spitzer AR** Effects of hypocarbia on the development of cystic periventricular leukomalacia in premature infants treated with high-frequency jet ventilation. *Pediatrics* 1996, 98, pp. 918-924
- [120] **Yoder MC, Chua R, Tepper R** Effect of dexamethasone on pulmonary inflammation and pulmonary function of ventilator-dependent infants with bronchopulmonary dysplasia. *Am Rev Respir Dis* 1991, 143, pp. 1044-1048
- [121] **Zhu S, Haddad IY, Matalon S** Nitration of surfactant protein A (SP-A) tyrosine residues results in decreased mannose binding ability. *Arch Biochem Biophys* 1996, 333, pp. 282-290
- [122] **Zhu S, Manuel M, Tanaka S, Choe N, Kagan E, Matalon S** Contribution of reactive oxygen and nitrogen species to particulate-induced lung injury. *Environ Health Persp* 1998, 106, pp. 1157-1163
- [123] **Zhu S, Ware LB, Geiser T, Matthay MA, Matalon S** Increased levels of nitrate and surfactant protein A nitration in the pulmonary edema fluid of patients with acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 2001, 163, pp. 166-172
- [124] **Zimmerman GA, Prescott SM, McIntyre TM** Endothelial cell interactions with granulocytes: tethering and signaling molecules. *Immunol Today*

1992, 13, pp. 93-100

- [125] **Zimmerman JJ, Farrell PM** Advances and issues in bronchopulmonary dysplasia. *Curr Probl Pediatr* 1994, 24, pp. 159-170
- [126] **Zivanovic S, Peacock JL, Alcazar-Paris M, Lo JW, Lunt A, Marlow N, Calvert SA, Grennough A** Late outcomes of a randomized trial of high-frequency oscillation in neonates. *N Engl J Med* 2014, 370, pp. 1121-1130

Danksagung

Meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Ulrich Thome danke ich ganz herzlich für die Überlassung des Themas und das mir entgegengebrachte Vertrauen, die geduldige Betreuung sowie engagierte Unterstützung bei der Anfertigung dieser Arbeit.

Für die Unterstützung bei der Trachealsekretgewinnung und –aufbereitung danke ich allen beteiligten Mitarbeitern der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin der Universitätsklinik Ulm.

Ich bedanke mich für die Unterstützung von Prof. Dr. Stefan Uhlig, Dr. Ulrike Uhlig und Dr. Yang Yang, die es ermöglicht hatten die immunologischen Analysen im Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Rheinisch-Westfälischen Technischen Hochschule der Universitätsklinik Aachen durchzuführen. Besonderer Dank gilt auch Frau Nadine Ruske, die mir mit viel Geduld die Laborarbeit nahe gebracht hat und bei Fragen stets zur Verfügung stand.

Für die liebevolle Unterstützung möchte ich mich bei Frau Maria Zernickel bedanken, die durch ihr Verständnis und ihre Bemühungen einen wichtigen Anteil am Gelingen dieser Arbeit hat.

Herrn Dr. Markus Hönicka danke ich für die tatkräftige Unterstützung beim Versand der Proben und seinen kompetenten Rat.

Von ganzem Herzen möchte ich mich bei meinen Eltern und meiner Schwester bedanken, die mich während der gesamten Zeit meines Studiums mit einer unendlichen Geduld und größtem Verständnis begleitet haben, die immer da gewesen sind, wenn ich einen aufmunternden und unterstützenden Ansprechpartner benötigte und mich bei der Erstellung dieser Arbeit uneingeschränkt unterstützt haben.

Lebenslauf

Der Lebenslauf wurde in der elektronischen Version aus Gründen des Datenschutzes entfernt.