

Aus der Kinderklinik und Kinderpoliklinik
im Dr. von Haunerschen Kinderspital
Klinik der Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Prof. Dr. Dr. hc. D. Reinhardt

**Surfactantproteine und ihre Vorstufen bei
interstitiellen Lungenerkrankungen im Kindesalter**



Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

Vorgelegt von
Valerie Sara Kirchberger
aus Heidelberg
2009

Mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. M. Griese
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. O. Eickelberg
Mitbetreuung durch den promovierten Mitarbeiter:	PD Dr. D. Hartl
Dekan:	Prof. Dr. Dr. hc. M.Reiser, FACR, FRCR
Tag der mündlichen Prüfung:	12.11.2009

Abkürzungsverzeichnis	6
1 Einleitung	7
1.1 Zusammensetzung und Funktion von Surfactant.....	7
1.2 Struktur und Funktion der Surfactantproteine und Phospholipide.....	10
1.2.1 Surfactant-Protein B	10
1.2.2 Surfactant-Protein C	11
1.2.2.1 Surfactant-Protein-C-Defizienz.....	12
1.2.3 Phospholipide	13
1.3 Chronische interstitielle Lungenerkrankungen im Kindesalter.....	14
1.3.1 Allgemeines	14
1.3.2 NSIP	16
1.3.3 Cholesteroidpneumonie	16
1.3.4 Wilson-Mikity.....	16
1.3.5 ABCA-3-Transporter-Defekt.....	17
1.4 Unklare respiratorische Insuffizienz	19
1.5 Zielsetzung der Arbeit	20
2 Material und Methoden	21
2.1 Patientenauswahl und Kontrollgruppe	21
2.1.1 Gruppe Interstitielle Lungenerkrankungen	21
2.1.2 Gruppe unklare respiratorische Insuffizienz.....	22
2.1.2.1 Neugeborene Kinder	22
2.1.2.2 Nicht neugeborene Kinder.....	23
2.1.3 Kontrollgruppe	23
2.2 Bronchoalveoläre Lavage (BAL)	25
2.3 Quantitative Proteinbestimmung.....	26
2.4 Gelelektrophorese und Westernblotting.....	27
2.5 Quantitative Abschätzung der Menge an Surfactantprotein.....	31
2.6 Genetische Untersuchungen.....	34
2.6.1 DNA-Gewinnung.....	34
2.6.2 Sequenzierung.....	35
2.7 Statistik	36
3 Ergebnisse	37
3.1 Qualitative Auswertung von Gelelektrophorese und Western Blotting	37
3.1.1 Pro – SP – B.....	37

3.1.1.1	Gruppe unklare respiratorische Insuffizienz	37
3.1.1.2	Gruppe interstitielle Lungenerkrankungen.....	44
3.1.2	SP – B.....	48
3.1.2.1	Gruppe unklare respiratorische Insuffizienz	48
3.1.2.2	Gruppe interstitielle Lungenerkrankungen.....	53
3.1.3	SP – C	57
3.1.3.1	Gruppe unklare respiratorische Insuffizienz	57
3.1.3.2	Gruppe interstitielle Lungenerkrankungen.....	67
3.2	Quantitative Auswertung	74
3.2.1	Gruppe unklare respiratorische Insuffizienz.....	74
3.2.1.1	Neugeborene Kinder	74
3.2.1.2	Nicht Neugeborene Kinder	79
3.2.2	Gruppe interstitielle Lungenerkrankungen	81
3.2.3	Kontrollgruppe	88
3.3	Sequenzierungen.....	91
3.3.1	Sequenzierung von SFTPC	91
3.3.2	Sequenzierung von SFTP B	92
3.3.3	Sequenzierung von ABCA-3	92
3.4	Beurteilung der durchgeführten Diagnostik am Kollektiv.....	93
3.4.1	Gruppe unklare respiratorische Insuffizienz.....	93
3.4.1.1	Neugeborene Kinder	93
3.4.1.2	Nicht Neugeborene Kinder	93
3.4.2	Gruppe interstitielle Lungenerkrankungen	94
4	Diskussion	95
4.1	Qualitative Auswertung	96
4.1.1	Proform des Surfactantprotein B.....	96
4.1.2	Surfactantprotein B	97
4.1.3	Proform des Surfactantprotein C	98
4.1.4	Surfactantprotein C	99
4.2	Quantitative Auswertung	101
4.2.1	Proform des Surfactantprotein B.....	101
4.2.2	Surfactantprotein -B	101
4.2.3	Surfactantprotein C	102
4.3	Sequenzierung von SP-C	104

4.4	Sequenzierung von SP-B.....	106
4.5	Sequenzierung von ABCA3	107
4.6	Beurteilung der durchgeführten Diagnostik am Kollektiv.....	109
5	Zusammenfassung	111
6	Anhang	113
6.1	Literaturverzeichnis.....	113
6.2	Abbildungen.....	121
6.2.1	Quantifizierung SP-B	121
6.2.2	Quantifizierung SP-C	122
6.2.3	Gruppe unklare respiratorische Insuffizienz.....	123
6.2.3.1	Neugeborene Kinder	123
6.2.3.2	Nicht neugeborene Kinder.....	125
6.2.4	Gruppe interstitielle Lungenerkrankungen	127
6.2.5	Kontrollgruppe	129
6.3	Tabellen	132
6.4	Danksagung.....	149
6.5	Lebenslauf	150

Abkürzungsverzeichnis

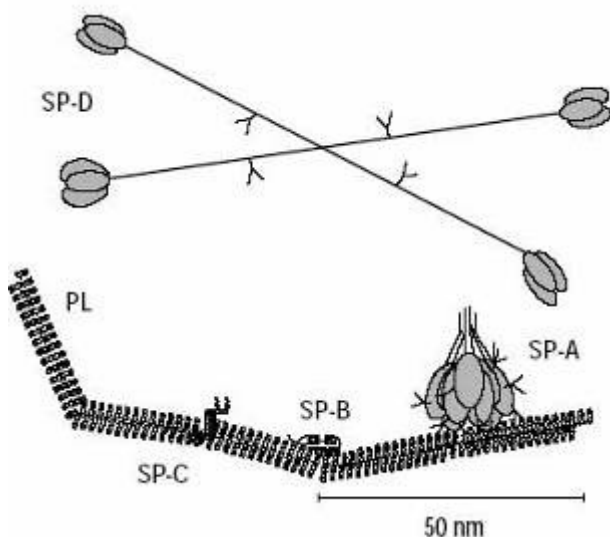
°C	Celsius
AB	Antibiotikum
ABCA-3-Transporter	ATP-binding-cassette Transporter A 3
ANS	Atemnotsyndrom
BAL	Bronchoalveoläre Lavage
CPI	Chronic Pneumonitis of Infancy
CT	Computertomographie
CXR	Chest X-Ray, Röntgen Thorax
DNS/ DNA	Desoxyribonucleic Acid/ Desoxyribonukleinsäure
GA	Gestationsalter
HFO	High-Frequency-Oscillation
HRCT	High-Resonance-Computed-Tomography
ILE /ILD	Interstitielle Lungenerkrankung/ Interstitial Lung Disease
kDa	Kilodalton
MES	2-Morpholinoethansulfonsäure
Min.	Minuten
MOPS	3-Morpholino-propansulfonsäure
N.b.	Nicht bekannt
PILE	Pädiatrische interstitielle Lungenerkrankungen
PC	Phosphatidylcholin
RDS	Respiratory Distress Syndrome
SFTPb	Surfactantprotein B Gen
SFTPC	Surfactantprotein C Gen
SPM	Sphingosin-basiertes Sphingomyelin
SP-A	Surfactantprotein A
SP-B	Surfactantprotein B
SP-C	Surfactantprotein C
SP-D	Surfactantprotein D
TBS	Tris buffered saline
UIP	Usual Interstitial Pneumonitis
URDS	Unexplained Respiratory Distress Syndrome

1 Einleitung

1.1 Zusammensetzung und Funktion von Surfactant

Der Surfactantfilm der Lunge ist ein stark oberflächenaktiver Komplex, dessen Hauptaufgabe in der Erniedrigung der Oberflächenspannung der Alveolen um etwa den Faktor 70 besteht. Dadurch wird ein ansonsten drohender Kollaps der Alveolen am Ende der Expiration verhindert.

Biochemisch besteht Surfactant (surface active agent) zu etwa 90% aus Phospholipiden, mehreren spezifischen Proteinen (SP-A-, -B-, -C und -D) sowie einer ungefähr gleichgroßen Menge an verschiedenen Serumproteinen, insgesamt beträgt der Proteinanteil ca. 10%. Den Hauptteil der Phospholipide macht Phosphatidylcholin aus²⁰. Dieses Gemisch kleidet die Oberfläche der Alveolen der Lunge aus. Das mengenmäßig wichtigste Surfactantprotein ist SP-A. Es ist für etwa 5-6% des Trockengewichts von pulmonalem Surfactant verantwortlich⁴¹. Neben seiner Beteiligung an der strukturellen Organisation des alveolären Surfactantfilms spielt SP-A, zusammen mit SP-D, eine entscheidende Rolle bei der unspezifischen Immunabwehr der Lunge. Dies geschieht vor allem durch seine Fähigkeit, sich an die verschiedensten Krankheitserreger und Allergene sowie an alveoläre Makrophagen zu binden²³. Abbildung 1-1 zeigt eine Übersicht der Surfactantproteine sowie ihre Verbindung zu den Phospholipiden.



1-1: Struktur und relative Größe der Phospholipide und der Surfactantproteine A bis D²⁰. Während SP-D extrazellulär überwiegend in freier Form vorliegt, sind die übrigen Surfactantproteine zumeist an Phospholipide gebunden.

Die Surfactantproteine A und D sind Glycoproteine und gehören zur Familie der Kollektine. Des weiteren gibt es die zwei kleineren, sehr hydrophoben Proteine, SP-B und SP-C³⁷. Deren Hauptaufgabe ist es, Phospholipide in die Grenzschicht zwischen Luft und Flüssigkeit einzubauen und das tubuläre Myelin zu stabilisieren.

1-2 zeigt die räumliche Anordnung der Surfactantbestandteile im Alveolarraum.

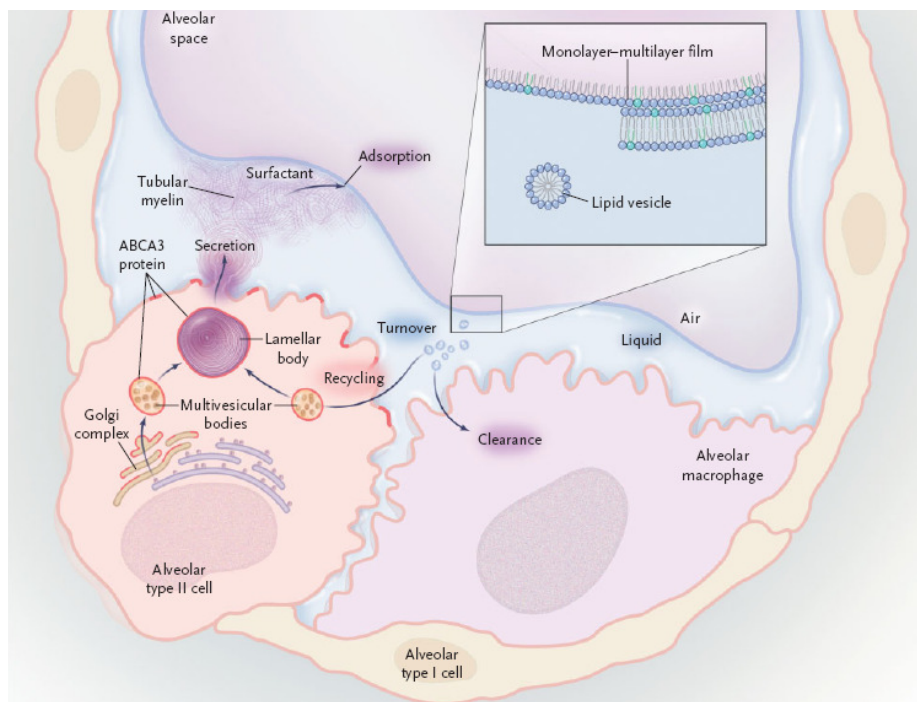


Abbildung 1-2 Darstellung des Alveolarraums mit Lamellenkörperchen und Metabolismus der Surfactantproteine²⁵

Die Surfactant-Phospholipide und -Proteine werden im endoplasmatischen Retikulum der Typ-II-Alveolar-Zellen synthetisiert, zum Golgiapparat transportiert und dort als Lamellarkörperchen gespeichert. Durch Exozytose werden die Lamellarkörperchen aus der Zelle ausgeschleust und bilden das tubuläre Myelin, das die Lipidschicht an der Grenze zum Alveolarraum darstellt. Zum größten Teil wird Surfactant von den Typ-II-Alveolarzellen, zum kleineren Teil jedoch auch von Alveolarmakrophagen wieder aufgenommen und wiederverwertet⁵².

Auch heute noch sind respiratorische Anpassungsprobleme in der postnatalen Periode eine häufige Ursache für eine hohe Mortalität und Morbidität beim Neugeborenen. Als Hauptgrund hierfür zählt insbesondere auch das so genannte neonatale „respiratory distress syndrome“ (RDS, im Deutschen entsprechend dem Atemnotsyndrom), welches bei Frühgeborenen auftreten kann. Das zugrunde liegende Problem ist hierbei ein Mangel an Surfactant, verursacht durch die

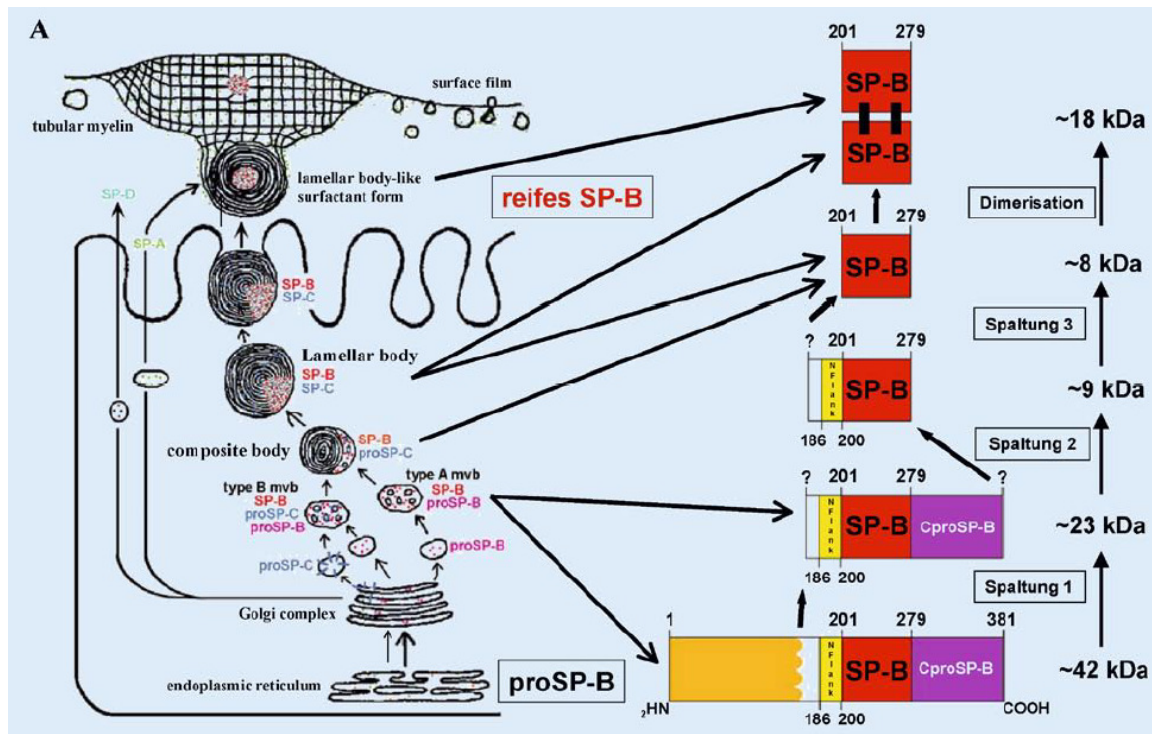
mangelnde Reife der kindlichen Lunge; erst ab der 34. Woche der Schwangerschaft wird endogen Surfactant gebildet⁴⁶. Bei Neugeborenen mit RDS zeigt sich als auffälligster Befund das Fehlen oder die stark erniedrigte Konzentration von Phosphatidylglycerol einhergehend mit erhöhter Oberflächenspannung und erniedrigtem totalem Phospholipidgehalt²¹.

Zudem können essentielle Bestandteile des Surfactant fehlen oder dysfunktional sein und zu verschiedenen RDS-ähnlichen Krankheitsbildern auch beim Reifgeborenen führen²⁰.

1.2 Struktur und Funktion der Surfactantproteine und Phospholipide

1.2.1 Surfactant-Protein B

SFTP B gehört zu den hydrophoben Proteinen des Surfactantgemisches. Das Gen für SP-B ist auf dem kurzen Arm des Chromosoms 2 (Position 2p12-p11.2) lokalisiert⁵⁵, es ist 9500 Basenpaare groß und besteht aus 11 Exons. Es entsteht durch proteolytische Prozessierung eines 42 kDa großen Vorläuferproteins welches als primäres Translationsprodukt entsteht. In Versuchen mit humanen fetalen Typ-II-Zellen konnte gezeigt werden, dass zunächst ein aus 381 AS bestehendes Peptid entsteht und dann nach weiterer Abspaltung eines 23 AS langen Signalpeptids das 42 kDa schwere Pro-SP-B. Danach wird der N-Terminus abgespalten und es entsteht ein 25 kDa schweres Zwischenprodukt. Es verbleibt dann, nach Abspaltung des C-Terminus, das reife SP-B, das aus 79 AS besteht und ein Molekulargewicht von 8,7 kDa aufweist²⁹. Es wird exprimiert in Typ II Alveolar- und Clarazellen, aber nur in Typ II Alveolarzellen wird proSP-B vollständig zu SP-B prozessiert³⁶. Die Hauptaufgabe von SP-B besteht darin, die Formierung des oberflächenaktiven Filmes zu beschleunigen, indem es die Adsorption der Lipide um einen Faktor >150 erhöht⁵⁴. Darüber hinaus spielt SP-B eine große Rolle bei der Bildung und Speicherung des Surfactants. Unter anderem ist es für die korrekte Lagerung der Phospholipide in Form von konzentrischen Lamellen in den Lammellarkörperchen verantwortlich⁴⁹. Der hydrophobe Charakter führt dazu, dass es sich leicht mit Phospholipiden verbindet¹⁸. SP-B liegt meist als Dimer vor. Die Monomere besitzen α -helikale Strukturen und sind über sechs Disulfidbrücken verknüpft⁵⁸.

Abbildung 1-3: Die Prozessierung der SP-B-Proform zum reifen SP-B⁷

1.2.2 Surfactant-Protein C

Das humane SP-C ist auf einem einzigen Gen kodiert welches sich auf dem kurzen Arm des Chromosoms 8 (Position 8p21) befindet. Das Genprodukt SP-C ist eines der hydrophobsten Proteine, es besteht aus einem 35-AS-reichen Polypeptid mit großem Anteil an Valin, Leucin und Isoleucin. Es entsteht zuerst ein AS-Vorläufer-Protein bestehend aus 197 AS. Die Proform von SP-C (proSP-C) ist ein integrales Membranprotein mit dem Bereich des reifen SP-C als Membranverankerungsdomäne. SP-C wird zusammen mit SP-B zu multivesikulären Körperchen transportiert, dort werden beide zu Lamellarkörperchen prozessiert und verpackt zur Sekretion mit PL in den Luftraum. Die Expression findet spezifisch in Typ II-Alveolarzellen statt⁶⁰. Wie in Abb. 1-4 zu sehen ist, hat das zu Beginn gebildete Pro-SP-C ein Molekulargewicht von 22 kDa und wird zuerst durch Abspaltung des C-Terminus zu einem 6 kDa schweren Zwischenprodukt, dann durch Abspaltung des N-Terminus zum reifen SP-C prozessiert, das ein Molekulargewicht von 4,2 kDa besitzt⁵². In Abwesenheit von SP-B wird der N-Terminus von proSP-C nicht vollständig entfernt^{57;58}. Die Bildung und Sekretion der SP bedingt sich also gegenseitig.

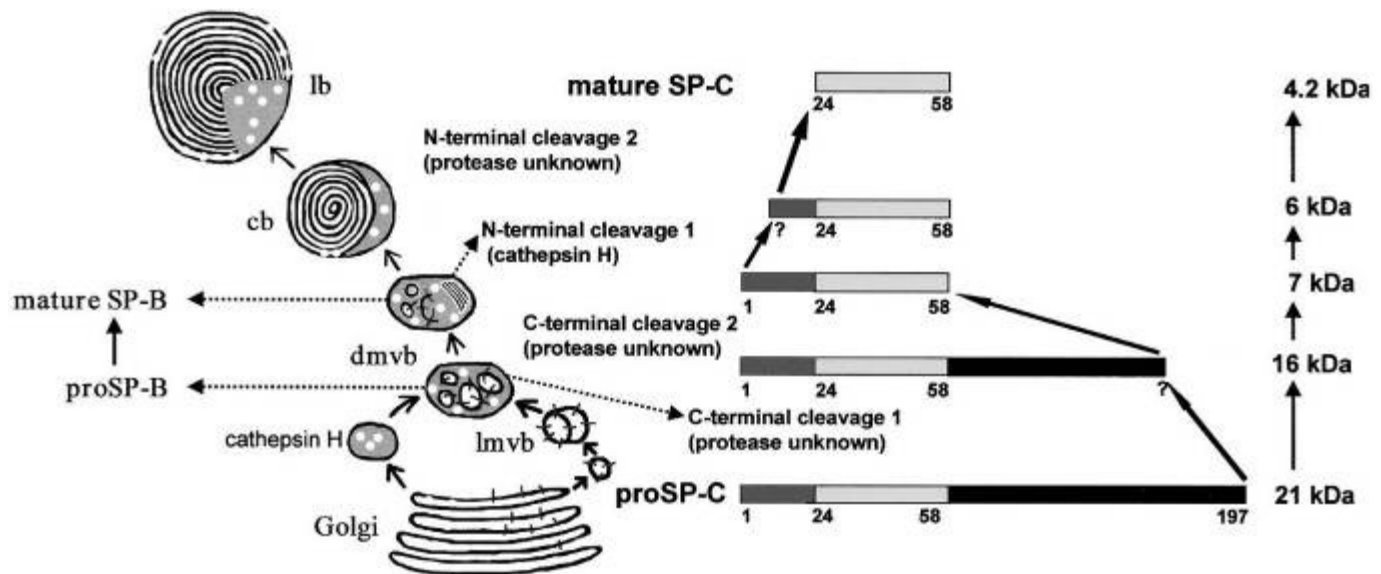


Abbildung 1-4: Die Prozessierung der SP-C-Proform zum reifen SP-C¹⁰

1.2.2.1 Surfactant-Protein-C-Defizienz

Auf experimenteller Ebene lässt sich im Tierversuch das neonatale RDS mit einer Mischung aus synthetischem SP-C und Surfactant-PL therapieren, hierdurch kommt es zu einer effektiven Senkung der Oberflächenspannung^{14;24;30;35}. Daher liegt die Annahme nahe, dass ein kompletter Mangel an SP-C zu schwerer respiratorischer Insuffizienz schon im Neugeborenenalter führen würde.

Dem ist jedoch nicht so, wie man in Versuchen mit genetisch veränderten SP-C-defizienten Mäusen gesehen hat. Sie entwickeln kein RDS. Dies lässt vermuten, dass SP-C nicht absolut essentiell ist für eine normale neonatale respiratorische Anpassungsreaktion. Nichtsdestotrotz ist der von diesen SP-C-defizienten Mäusen gewonnene Surfactant nicht stabil¹⁹, vor allem nicht bei geringen Volumina.

Es wird angenommen, dass ein Mangel an SP-C indes verantwortlich für chronische ILE bei Kindern und Erwachsenen ist. Es konnten verschiedene Mutationen im SP-C-Gen eindeutig mit Lungenerkrankungen in Verbindung gebracht werden. In einer Arbeit von Noguee et al. wurde bei einem Kind mit autosomal vererbter familiärer Lungenerkrankung, eine Mutation in Exon 4 gefunden, welche in einer Verkürzung der SP-C mRNA sowie auch des Präproteins resultierte³⁹. Da die Mutation auf nur einem Allel für die Expression der Krankheit ausreicht, liegt vermutlich ein dominant-negativer Effekt des mutierten auf das normale Allel vor³⁷. Abb. 1-5 zeigt ein Modell der Pathogenese von ILE assoziiert mit SP-C-Defekten.

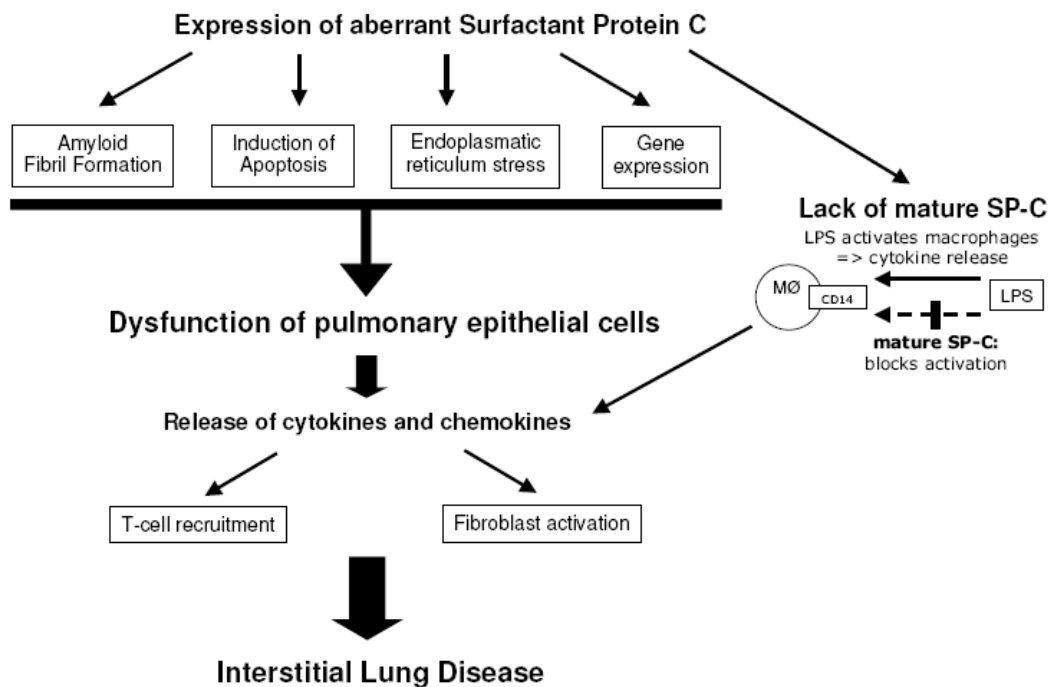


Abbildung 1-5: Pathogenese der SP-C-assoziierten ILE. (LPS=Lipopolysaccharid, MØ=Makrophage)²⁶

1.2.3 Phospholipide

Neunzig Prozent des Surfactant-Komplexes besteht aus spezifischen Lipiden angereichert mit Dipalmitoyl-Phosphatidylcholin. Hieraus besteht der Surfactantfilm an der Wasser-Luft-Kontaktfläche. Von den vier Surfactantproteinen binden drei (die hydrophoben SP-B und C sowie das Kollektin-SP-A) an die Surfactantlipide²⁵.

Die Phospholipide des menschlichen Surfactantfilmes werden ab der 26. SSW, in genügendem Maße aber erst ab der 35.SSW gebildet. Diese Phospholipide sind eine Hauptkomponente der Lipidmembranen aller Eukaryonten und damit auch des Menschen. Dazu gehören hauptsächlich das Phosphatidylcholin (PC) und das Sphingosin-basierte Sphingomyelin (SPM). Diese Lipide variieren in ihrem Grad der Sättigung sowie der Kettenlänge des Fettsäureanteils⁵⁶. Es gibt außerdem eine weitere kleinere PC-Fraktion; sie enthält eine Ether-Bindung anstatt einer Esther-Bindung an der Stelle sn-1⁴⁰. Diese könnte als ein Vorläufer für den plättchenaktivierenden Faktor (PAF), einem sehr potenten Lipidmediator agieren⁴³. Dieser strukturelle Unterschied hat vermutlich einen großen Einfluss auf die Eigenschaften der Zellmembranen⁴⁵.

1.3 Chronische interstitielle Lungenerkrankungen im Kindesalter

1.3.1 Allgemeines

Bei den interstitiellen Lungenerkrankungen im Kindesalter handelt es sich um eine heterogene Gruppe von chronischen Erkrankungen, die initial häufig nicht erkannt werden und oftmals nicht in eine definitive diagnostische Kategorie eingeordnet werden können. Diese Erkrankungen zeichnen sich durch eine restriktive Komponente sowie in der Bildgebung durch diffuse Infiltrate in der Lunge aus. Die betroffenen Kinder werden für gewöhnlich zuerst auffällig mit trockenem Husten, Dyspnoe und Tachypnoe. In der körperlichen Untersuchung findet sich zumeist eine erhöhte Atemfrequenz in Ruhe, sowie Rasselgeräusche oder ein Knistern über der Lunge²⁶. Ihr Auftreten ist im Kindesalter weit weniger häufig als bei Erwachsenen. Darüber hinaus gibt es kindliche Ausprägungsformen mit sehr unterschiedlichen klinischen Verläufen die bei Erwachsenen noch nicht beschrieben worden sind. ILE sind vergesellschaftet mit entzündlichen Vorgängen in der Lunge, wie monozytäre Infiltration, Fibrose, Obliteration der belüfteten Anteile, alveoläres Remodelling (Umbauprozesse) und Dysplasie von Typ II Epithelzellen⁶⁰. Zum Teil können sich diese Veränderungen zurückbilden. Die Gründe für die verschiedenen Verläufe sind noch nicht komplett verstanden, nahe liegt ein kombinierter Einfluss von Umgebungsfaktoren und genetischen Faktoren.

Insgesamt sind Aussagen zur absoluten Häufigkeit von ILE im Kindesalter aus verschiedenen Gründen eher schwer zu treffen. Eine Studie in New Mexico zeigte eine Prävalenz der pädiatrischen ILE von 80.9/ 100.000, im Gegensatz dazu fanden Pädiater in Großbritannien in einer Übersichtsuntersuchung eine Prävalenz von 0.36/ 100.000, in diesem Falle allerdings durch Biopsie definierter ILE¹⁷. Dies deutet darauf hin, dass PILE insgesamt sehr selten sind, bis jetzt durchgeführte Studien konnten immer nur eine sehr limitierte Anzahl von Kindern untersuchen. Es wurden noch keine randomisierten, kontrollierten Studien durchgeführt welche die aktuellen Therapiemöglichkeiten evaluierten²⁶. Keines der existierenden Klassifikationssysteme ist zufriedenstellend für die Einteilung der pädiatrischen ILE, bis heute ist noch kein einheitlicher Konsens gefunden worden. Tabelle 1-1 fasst die von der American Thoracic Society gemeinsam mit der European Respiratory Society

erarbeitete „International Consensus Classification of the idiopathic interstitial pneumonias“ zusammen.

Tabelle 1-1: Klassifikation der idiopathischen Lungenerkrankungen beim Erwachsenen

Histologische Muster	Klinische, radiologische, pathologische Diagnosen
Usual interstitial pneumonitis	Lungenfibrose, kryptogene fibrosierende Alveolitis (UIP)
Nonspecific interstitial pneumonia	Nichtspezifische interstitielle Pneumonie (NSIP)
Organizing pneumonia	Kryptogene organisierende Pneumonie (entsprechend BOOP)
Diffuse alveolar damage	Akute interstitielle Pneumonie
Respiratory bronchiolitis	Respiratorische Bronchiolitis
Desquamative interstitial pneumonia	Desquamative Interstitielle Pneumonie
Lymphoid interstitial pneumonia	Lymphoide Interstitielle Pneumonie

Mit Ausnahme der respiratorischen Bronchiolitis (*respiratory bronchiolitis*) die bei rauchenden Erwachsenen auftritt, wurden alle der aufgezählten ILE bei Kindern bereits beobachtet. Bis vor kurzem fehlte auch noch der Nachweis der UIP beim Kind; kürzlich berichteten Young et al. dann von einem 15-jährigen Jungen mit den für UIP typischen histologischen Kennzeichen bei Mutationen im ABCA3-Gen⁶¹. Zudem gibt es eine größere Anzahl von ILE die von primären Lungenprozessen ausgehen oder im Rahmen von systemischen Erkrankungen entstehen. Diese sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

Tabelle 1-2: PILE, primäre pulmonale Defekte und sekundäre bei systemischen Krankheiten¹⁷

Primäre pulmonale Erkrankungen	Sekundär bei systemischen Erkrankungen mit pulmonaler Beteiligung
Alveoläre hämorrhagische Syndrome	Bindegeweberkrankungen
Medikamentös- oder bestrahlungsinduzierte ILE	Histiozytose
Aspirationssyndrome	Lipidspeicherkrankheiten
Hypersensitivity pneumonitis	Neurokutane Syndrome
Infektiöse oder postinfektiöse chronische Lungenerkrankung	Maligne Neubildungen
Pulmonale Alveolarproteinose	Sarkoidose
Pulmonale Infiltrate bei Eosinophilie	Andere angeborene Stoffwechselstörungen
Pulmonale lymphatische Erkrankungen	
Pulmonale Microlithiasis	
Pulmonale Gefäßerkrankungen	

Weiterhin wurden von Fan et al. ILE beschrieben die nahezu ausschließlich bei Kindern vorzukommen, diese sind aufgelistet in Tabelle 1-3¹⁷.

Tabelle 1-3: Formen der ILE die nur im Kindesalter auftreten¹⁷

PILE
Erkrankungen des Wachstums und der Entwicklung der Lunge
Neuroendocrine cell hyperplasia of infancy/ persistent tachypnea of infancy
Follikuläre Bronchitis/ Bronchiolitis
Zelluläre interstitielle Pneumonitis/ Pulmonale interstitielle Glycogenose
Akute idiopathische pulmonale Hämorrhagie
Chronische infantile Pneumonitis/ Genetische Defekte der Surfactantfunktion

Von den erwähnten PILE wurden in dieser Arbeit mehrere identifiziert bzw. untersucht, welche im Folgenden näher beschrieben werden.

1.3.2 NSIP

NSIP steht für "nonspecific interstitial pneumonia". Bei dieser Unterform finden sich in den Wänden der Alveolen Zeichen von Entzündung und Fibrose in verschiedener Ausprägung, meist überwiegt eine der beiden Komponenten. Der Unterschied zur UIP (Usual Interstitial Pneumonia) besteht in der relativen Einheitlichkeit der Veränderungen, der Abwesenheit von Honigwabenmustern sowie dem Fehlen von sogenannten *Fibroblast foci*. Die Erkrankung spricht im Allgemeinen sehr gut auf Therapie mit Steroiden an².

Diese Diagnose ist nur unter Zuhilfenahme einer Lungenbiopsie zu stellen. Es ist demnach anzunehmen, dass bei Erhöhung der Anzahl der Probenentnahmen aus der Lunge im diagnostischen Weg bei ILE auch die Anzahl der diagnostizierten NSIP's ansteigen wird.

1.3.3 Cholesteroidpneumonie

Die Cholesteroidpneumonie ist eine sehr seltene Erkrankung. Auch diese Diagnose kann nur mit einer Lungenbiopsie bestätigt werden. In der konventionellen Bildgebung, sowie um einiges deutlicher im HRCT, zeigt sich hierbei ein feinwabiges Muster mit Betonung der perilobulären Septen, sowie ein diffuses, nicht lobulär oder segmental angeordnetes Milchglasmuster.

Die Untersuchung von Lungengewebe zeigt makroskopisch weiches gelb-goldenes und graues Gewebe mit Nekrosen. Mikroskopisch finden sich fibrotische und verdichtete Anteile mit Verlegung der belüfteten Bereiche durch Cholesterol-beladene Makrophagen¹².

1.3.4 Wilson-Mikity

Das Wilson-Mikity Syndrom (WMS) wurde zum ersten Mal vor beinahe 50 Jahren beschrieben und beschreibt eine chronische, atypische PILE die vor allem Frühgeborene unter der 30. SSW betrifft. Hierbei ist typischerweise keine längere Beatmung vorausgegangen, eine infektiöse Komponente besteht nicht. Trotz dieser

fehlenden Schädigung entwickeln Kinder mit WMS bereits einige Tage postpartal Bereiche mit zystischem Emphysem welche sich zu einer chronischen ILE entwickeln. Charakteristisch für diese zystische Lungenerkrankung ist das Vorkommen von Atelektasen im Rahmen der röntgenologischen Untersuchungen, diese sind richtungsweisend bei der Diagnosestellung.^{31;32}

1.3.5 ABCA-3-Transporter-Defekt

Die ATP-binding-cassette (ABC)-Transporter sind eine Gruppe von großen Membranproteinen welche diverse Stoffe unter ATP-Verbrauch gegen einen Konzentrationsgradienten transportieren können. Von 48 bekannten ABC-Genen haben 16 eine bekannte Funktion, von 14 ist ein definitiver Zusammenhang mit Erkrankungen beim Menschen bekannt. Hauptaufgabe dieser Membranproteine ist der Transport von Gallosalzen, Fetten und Peptiden⁵.

Der ABCA-3-Transporter wird, wie aus Abb. 2 ersichtlich, an mehreren Stellen exprimiert. Dazu gehören die luminalen Plasmamembranen der Typ-II-Pneumozyten, sowie die äußeren Membranen der darin enthaltenen Lamellarkörperchen und der multivesikulären Körperchen²⁵.

Es wird vermutet, dass der ABCA-3-Transporter die den Surfactant enthaltenden Vesikel in Richtung der Lamellarkörperchen steuert. Die Lamellarkörperchen spielen eine sehr wichtige Rolle im Zusammenhang mit dem Erhalt der Zusammensetzung des Surfactant bis zur Sekretion der Bestandteile. Die Lamellarkörperchen entstehen durch Fusion mehrerer multivesikulärer Körperchen, die Lipiddoppelmembranen werden zu tubulärem Myelin umgebaut in dem Moment in dem das Lamellarkörperchen sezerniert wird. Hierzu wird SP-A benötigt, welches selber auf einem anderen Weg sezerniert wird, der keine Lamellarkörperchen benötigt. Dieses tubuläre Myelin ist eine Vorstufe des Surfactants wie er später an der Luft-Wasser-Oberfläche vorhanden ist. SP-B und oder SP-C erleichtern den Eintritt von Dipalmitoylphosphatidylcholine in die Lipidschicht an der Luft-Wasser-Grenzfläche. Dieser unter Proteinaustritt komprimierbare Proteolipidfilm senkt die ansonsten hohe Oberflächenspannung der Alveolen.

In letzter Zeit wurde, neben den bekannten für hereditäre Surfactantdefizienz ursächlichen Mutation in den Genen SFTPC und SFTPB, eine weitere genetische Ursache gefunden; die rezessiv vererbte Mutation in den Genen die für die ABCA-3-

Transporter kodieren. Klinisch präsentieren sich Kinder mit ABCA-3-Defekten meist mit frühem postpartalem respiratorischem Versagen, mit Intubationspflichtigkeit, schlechtem Ansprechen auf Surfactantgabe und meist fatalem Ausgang⁴⁸. Das pathologische Korrelat sind kleine, abnormale intrazelluläre Lamellarkörperchen. Diese Entdeckung führte zur der Annahme, dass der ABCA-3-Transporter essentiell sei für die Bildung dieser Lamellarkörperchen²⁵.

Es sind einige andere Krankheiten bekannt, die mit *loss-of-function*-Mutationen in ABCA-Genen einhergehen, dazu gehören beispielsweise die Tangier – Erkrankung (ABCA1), die zu einer Störung des Cholesterintransports mit niedrigen HDL-Levels sowie charakteristischen vergrößerten Tonsillen, Leber und Milz führt. Außerdem die Stargardt – Erkrankung (ABCA4), die einhergeht mit einer Visusverschlechterung bei Makuladystrophie aufgrund der Fehlfunktion eines Membrantransportproteins. Das Vorhandensein von ABCA-3-Transporten an den Membranen der Typ-II-Pneumocyten, der Lamellarkörperchen sowie der multivesikulären Körperchen unterstreicht die Annahme, dass auch dieser für den Transport über Lipidmembranen verantwortlich ist, und damit für die Steuerung der Surfactant-enthaltenden Vesikel zu den Lamellarkörperchen⁵.

1.4 Unklare respiratorische Insuffizienz

Die unklare respiratorische Insuffizienz an sich ist eine Ausschlussdiagnose. Es handelt sich wie bereits von Tredano et al. beschrieben um meist reife Neugeborene die postnatal, bei komplikationsloser Schwangerschaft und Geburt, eine zunehmende respiratorische Insuffizienz entwickeln⁵³. Bei diesen Kindern wurde mit üblicher Diagnostik wie BAL, Bildgebung und verschiedenen weiteren Untersuchungsmethoden keine endgültige Diagnose gestellt. Ferner und seltener als in der Neonatalperiode treten ätiologisch unklare, praktisch nie weiter klassifizierte respiratorische Insuffizienzen im Kindesalter auf.

1.5 Zielsetzung der Arbeit

Ziel dieser Arbeit war es bei Neugeborenen, Säuglingen und Kindern mit unklaren interstitiellen Lungenerkrankungen die hydrophoben Surfactantproteine in der bronchoalveolären Lavage zu untersuchen und ihren Beitrag zur Diagnosestellung zu beschreiben. Ferner sollte der kurzzeitige klinische Verlauf der Patienten auf der Basis der in den verschiedenen auswärtigen Kliniken durchgeführten Untersuchungsergebnissen retrospektiv charakterisiert werden.

Die Hypothese war, dass sich durch qualitative und quantitative Auswertung der Ergebnisse in den Lungenlavagen, mit einem besonderen Augenmerk auf sehr niedrige bis gar keine Signale für die Surfactantproteine, eine Aussage treffen lässt über die Wertigkeit dieser Diagnostik. Durch Untersuchung der hydrophoben Surfactantproteine SP-B und SP-C in der bronchoalveolären Lavage sollte möglichst eine Patientengruppe identifiziert werden, die von dieser weiterführenden Diagnostik profitiert.

2 Material und Methoden

2.1 Patientenauswahl und Kontrollgruppe

Untersucht wurden diagnostische Bronchiallavagen von zu Beginn 95 Kindern mit Verdacht auf unklare interstitielle Lungenerkrankung im Alter von einem Tag bis zu 15 Jahren die zwischen den Jahren 1997 bis Oktober 2005 im Dr. von Haunerschen Kinderspital lavagiert wurden, bzw. deren Lavagen in diesem Zeitraum zur Diagnostik eingeschickt wurden. Die Kinder waren kaukasischer (primär europäischer), südostasiatischer, türkischer sowie arabischer Herkunft.

Die Auswahl und Einteilung wurde nach bestehenden, in Arztbriefen dokumentierten diagnostizierten Erkrankungen getroffen. In den Fällen in denen keine endgültige Diagnose bestand, wurde eine Kategorisierung nach vorherrschender klinischer Symptomatik vorgenommen. In die Untersuchung aufgenommen wurden in Tabelle 2-1 aufgeführte Gruppen.

Tabelle 2-1: Häufigkeiten der verschiedenen Gruppen

Diagnose	Häufigkeit (n)	Prozent (%)
Interstitielle Lungenerkrankungen (ILE)	53	55,7
Unklare respiratorische Insuffizienz bei Neugeborenen	36	37,8
Unklare respiratorische Insuffizienz bei Nicht-Neugeborenen	7	6,5
Gesamt	95	100

2.1.1 Gruppe Interstitielle Lungenerkrankungen

Die sehr heterogene Gruppe der interstitiellen Lungenkrankheiten war klinisch charakterisiert durch eine chronische pulmonale Symptomatik, die durch folgende Merkmale gekennzeichnet war:

- Klinische Symptome wie trockener Husten und Dyspnoe über mehr als 6 Wochen
- Eine restriktive Lungenfunktionseinschränkung
- Beidseitige, chronische diffuse Infiltrate und interstitielle Zeichnungsvermehrung in der Bildgebung
- In der körperlichen Untersuchung erhöhte Ruheatemfrequenz, sowie Rasselgeräusche/ Knistern, Trommelschlegelfinger, Zyanose oder Gedeihstörung

Die Gruppe bestand zu Beginn der Untersuchung aus 53 Kindern mit verschiedenen interstitiellen Lungenerkrankungen. Davon konnte von drei auswärtigen Kindern

weder durch Anrufe noch Weiterverfolgung per Brief ein zufriedenstellender Informationsstand über den Verlauf bis zur BAL noch zum darauf folgenden Zeitraum gewonnen werden. Aus diesem Grund wurden sie nicht in die Untersuchung miteinbezogen. Eine Probe stammte von einer bei Beginn der Symptomatik bereits erwachsenen Patientin und wurde aus diesem Grund nicht in die Studie miteinbezogen.

Weitere zwei Patienten wurden bereits mit den Ergebnissen der Westernblotanalyse in anderen Arbeiten unserer Arbeitsgruppe veröffentlicht und werden deshalb hier nicht noch mal beschrieben.

Tabelle 2-2: Häufigkeiten in dieser Arbeit von ILE absolut und in Prozent

Diagnose	Häufigkeit (n)	Prozent (%)
Gesamt	47	100
NSIP	3	6
Cholesteroidpneumonie	2	4
Wilson-Mikity	2	4
ABCA3-Defekt	5	10
SP-C-Defizienz	2	4
Chronic Pneumonitis of Infancy	1	2
Keine Diagnosestellung, unklare ILE	32	68

Demnach wurden 47 Kinder in dieser Gruppe näher untersucht. Wie aus Tabelle 2-2 ersichtlich, ist dies eine sehr heterogene Gruppe. Tabellen 6-1 bis 6-3 im Anhang (6.3) zeigen die klinischen Verläufe der Kinder aus dieser Gruppe, jeweils vor, zum Diagnosezeitpunkt und danach.

2.1.2 Gruppe unklare respiratorische Insuffizienz

Eine weitere Gruppe setzt sich zusammen aus 43 Kindern mit unklarer schwerer respiratorischer Insuffizienz, davon 36 Neugeborene (per definitionem < 28 Tage alt bei BAL), sowie sieben Kinder die zum Zeitpunkt der BAL zwischen 29 Tagen und eineinhalb Jahren alt waren. Bei diesen Kindern wurde im Gegensatz zur o.g. Gruppe keine ILE, auch keine unklarer Herkunft mit den genannten Einschlusskriterien diagnostiziert.

2.1.2.1 Neugeborene Kinder

Zu Beginn der Untersuchung umfasste diese Gruppe 36 Kinder. Von acht BAL-Proben die aus Frankreich zugesandt worden waren, fehlt trotz intensiver Recherche weiterhin jegliche Information über den klinischen Verlauf. Aus diesem Grund

wurden diese Proben aus der Untersuchung herausgenommen. Bei zwei der verbleibenden Neugeborenen wurde im Laufe der Untersuchung ein Defekt des ABCA3-Transporters festgestellt, diese wurden daraufhin in die Kategorie ILE in die Untergruppe ABCA-3-Defekt eingeteilt, auch die Darstellung der Ergebnisse findet sich in dieser Gruppe.

Demnach bestand diese Gruppe aus 26 Kindern. Auch dies ist eine sehr heterogene Gruppe. Die Kinder waren zwischen der 24. bis 41. Schwangerschaftswoche geboren worden, in der Mehrzahl jedoch reife Neugeborene (n= 26, Altersmedian 34. SSW bei Geburt). Sie litten an persistierender respiratorischer Insuffizienz für die bis zum Zeitpunkt der Untersuchung keine Erklärung gefunden wurde. Der Beginn der Symptome lag fast durchgehend bei wenigen Minuten bis einigen Stunden postpartal. Die Mehrzahl der Kinder zeigte klinische Zeichen wie Tachydyspnoe und Einziehungen sowie radiologische wie interstitielle Verdichtung und Transparenzminderungen die vereinbar gewesen wären mit einer Surfactant-Defizienz.

Tabellen 6-4 bis 6-6 im Anhang (6.3) zeigen die klinischen Verläufe der Kinder aus dieser Gruppe, jeweils vor, zum Diagnosezeitpunkt und danach.

2.1.2.2 Nicht neugeborene Kinder

Diese Gruppe bestand wie oben bereits erwähnt aus sieben Kindern. Von diesen wurden zwei wegen fehlender Information über den klinischen Verlauf herausgenommen. Tabellen 6-7 bis 6-9 im Anhang (6.3) zeigen die klinischen Verläufe der Kinder aus dieser Gruppe, jeweils vor, zum Diagnosezeitpunkt und danach. Die klinische Symptomatik war bis auf den späteren Zeitpunkt der BAL und damit der Diagnosestellung. Dies schließt nicht aus, dass die Symptome schon früher begonnen haben.

2.1.3 Kontrollgruppe

Die Kontrollgruppe besteht aus zehn Kindern im Alter von 0,5 bis 10,8 Jahren sowie 4 junge Erwachsene im Alter von 22,6 bis 26,8 Jahren dar (Median 7,6 Jahre), bei denen eine Lungenerkrankung ausgeschlossen werden konnte und die sich elektiven chirurgischen, dermatologischen oder Eingriffen im HNO-Bereich in

Intubationsnarkose unterzogen haben. Die Patienten und die Eltern wurden über das Vorgehen aufgeklärt, und es wurde eine Einverständniserklärung eingeholt bevor an die Operation anschließend eine bronchoalveoläre Lavage durchgeführt wurde.

Tabelle 6-10 im Anhang (6.3) zeigt klinische Daten der Kinder aus dieser Gruppe.

Die Untersuchung der Kontrollgruppe war ebenso wie die Untersuchung der erkrankten Kinder von der Ethikkommission der LMU genehmigt worden.

2.2 Bronchoalveoläre Lavage (BAL)

Bei den beatmeten Neugeborenen und Kindern erfolgte die BAL über den Endotrachealtubus. Bei nicht beatmeten Patienten, wurde die BAL im Rahmen einer Narkose meist durch eine flexible Bronchoskopie durchgeführt. Dazu wurde entweder ein Endlochkatheter oder ein Bronchoskop in ein Subsegment des Mittellappens, der Lingula oder in die betroffene Region der entsprechenden Lungenhälfte lumenverschießend („Wedge Position“) eingeführt. Auf Körpertemperatur angewärmtes NaCl 0,9% wurde in der Menge 1 ml/kg Körpergewicht instilliert und abgesaugt, wobei dies viermal durchgeführt wurde. Das Volumen der ersten Spülung (1. Fraktion) wurde getrennt von den weiteren drei Spülungen (gepoolte 2. - 4. Fraktion) aufbereitet und untersucht.

Bei Patienten der lungengesunden Kontrollgruppe erfolgte die Lavage unmittelbar nach Intubation für einen anderweitig notwendigen Eingriff (kleiner Operationen wie Lipomentfernung, Leistenhernienoperation, u.ä.) über einen durch den liegenden Tubus eingeführten Absaugkatheter mit Endloch.

Zunächst wurde in den meisten Fällen ein Aliquot der ersten Fraktion für die mikrobiologische und virologische Untersuchung entnommen. Die erste Fraktion und Pool Fraktion wurden separat über sterilisierte Gaze-Filter gereinigt. Dabei wurden Schleimfetzen beseitigt. Dann wurde die Gesamtzellzahl mikroskopisch bestimmt. Die Zellen wurden zur Zelldifferenzierung nach May-Grünwald-Giemsa gefärbt. Diese Untersuchung erfolgte sowohl für die erste Fraktion als auch für die Pool Fraktion. Die erste Fraktion enthält den überwiegenden Teil der abgeschilferten Epithelzellen⁴⁴ und die Pool Fraktionen einen etwas höheren Anteil an Lymphozyten⁴². Die Untersuchung der Surfactantparameter erfolgte in der Pool-Fraktion.

Die Gewinnung und Verwendung der Lavageproben war von der Ethikkommission der LMU genehmigt worden. Das schriftliche Einverständnis zur Durchführung der Untersuchungen der jeweiligen Patienten bzw. ihrer Erziehungsberechtigten lag ebenfalls vor.

Das Material wurde bei -70 ° eingefroren und aufbewahrt.

2.3 Quantitative Proteinbestimmung

Material:

- Bio-Rad Farbstoffreagenz für Proteinassay (Bio-Rad Laboratories GmbH No. 500-0006)
- Mikrotiterplatten (Greiner, niedrigaffin, 96 Vertiefungen, transparent)
- Bovines Serum Albumin V, BSA (Paesel und Lorei No. 100568)
- Anthos HT 3 Photometer (Anthos Labtec Instruments, Typ 12600)
- Filterpapier
- Aqua ad injectabilia (Braun Melsungen AG, No. 3703452)
- Puffer: PBS-Puffer (siehe Tab.6)

Tabelle 2-3: Zusammensetzung des PBS-Puffers

Na ₂ HPO ₄	0,178 g
NaH ₂ PO ₄	1,560 g
NaCl	8,760 g
H ₂ O (Aqua ad.inj.)	in 1000 ml lösen und mit NaOH/ HCl auf pH 7,4 titrieren

Methode:

Die Gesamtproteinkonzentration in den Proben wurde nach der Methode von Bradford⁶ bestimmt. Das Bio-Rad Farbstoff-Konzentrat wurde zunächst mit Aqua ad injectabilia 1:5 verdünnt und anschließend durch einen Papierfilter filtriert, um es von Präzipitaten zu befreien.

Für den Standard wurde eine Verdünnungsreihe einer Ausgangslösung (100 mg BSA in 10 ml PBS-Puffer) mit abnehmenden Konzentrationen von BSA in PBS Puffer hergestellt: 5000 µg/ml, 2500 µg /ml, 1250 µg /ml, 625 µg /ml, 312,5 µg /ml, 156,3 µg /ml, 78,13 µg /ml. Zusätzlich wurde bei jeder Messung reiner PBS-Puffer als Leerwert mitgeführt. Es erfolgte eine Doppelbestimmung der einzelnen Standardkonzentrationen und eine Dreifachbestimmung der Proben mit jeweils 5 µl. Zum Anfärben der Proben und Standardlösungen wurden diese mit jeweils 100 µl des Farbstoffreagenzes versetzt. Im Photometer wurde die Absorption bei 600 nm abzüglich des Leerwertes (Leerwert = Bio-Rad Reagenz + BSA) ermittelt und mit Hilfe der Standardreihe in (Gesamt-) Proteinkonzentrationen umgerechnet.

2.4 Gelelektrophorese und Westernblotting

Material:

- Eppendorf Reaktionsgefäße 0,5 ml
- Bachhofer Vakuumzentrifuge (Bachhofer GmbH, Typ BA-VC 300H)
- Vakuumpumpe (WKF, Typ L 05-60)
- Wasserbad Julabo Paratherm S100
- Gelkammer Novex XCell II Mini Cell (Invitrogen, EI 9001)
- Blotkammer Novex XCell II Blot Module (Invitrogen, EI 9051)
- Netzgerät Novex Powerease 500 (Invitrogen, EI 8700)
- Nitrocellulosemembranen (Millipore, Immobilon IPVH 00010)
- Filterpapier (Whatman, Nr. 1003-917)
- Sponge Pad Schwämme (Invitrogen, EI 9052)
- MGW Laser- und Kopierfolie
- Entwicklungskassette (Amersham, RPN 11642)
- Röntgenfilme (Amersham, RPN 3103K)
- Entwicklungsmaschine (AGFA, CP 1000)
- NuPage 10% Bis-Tris Gel 1,0 mm (Invitrogen, NP 0301)
- NuPage Antioxidant (Invitrogen NP 0005)
- Teleostean Fischgelatine (SIGMA, Nr. 232-554-6)
- Aqua ad injectabilia (Braun Melsungen AG, Nr. 3703452)
- ECL Chemilumineszenzlösung (Amersham RPN 2209)

Puffer: Probenpuffer, MOPS-Puffer, Transferpuffer, TBS, PBS-Puffer
(Zusammensetzungen siehe folgenden Tabellen)

Tabelle 2-4: Probenpuffer

10%	NuPAGE 10x Reducing Agent (Invitrogen NP 0004)
25%	NuPAGE LDS Sample Buffer (Invitrogen NP 0007)
65%	Aqua ad Inj. (Braun, Melsungen)

Tabelle 2-5: NuPAGE MOPS Running Buffer

5%	NuPAGE 20x MOPS Running Buffer
10%	Aqua ad Inj. (Braun, Melsungen)

Tabelle 2-6: Transfer Puffer

5%	NuPAGE Transfer Buffer (Invitrogen NP 0006)
20%	Methanol (MERCK)
75%	Aqua ad Inj. (Braun, Melsungen)

Tabelle 2-7: PBS-Puffer

1704 mg/l	Na ₂ HPO ₄ (MERCK)
414 mg/l	NaH ₂ PO ₄ x 1 H ₂ O (MERCK)
8766 mg/l	NaCl (MERCK)
In 1l H ₂ O (Aqua ad Inj.) gelöst, auf pH 7,4 titriert	

Tabelle 2-8: TBS-Puffer

484,6 mg/l	NH ₂ C(CH ₂ OH) ₃ Tris
5844 mg/l	NaCl
0,5 g/l	Tween 20 (SIGMA, Nr.9005-64-5)
In 1l H ₂ O (Aqua ad Inj.) gelöst, auf pH 7,4 titriert	

Tabelle 2-9: Verwendete Antikörper (Buchstaben in den eckigen Klammern stehen für die Herkunft)

Antikörper gegen	Charge	Konzentration	durchgeführt bei
SP-B [D], rekombinant, anti-human, vom Kaninchen	C329	1:10000	Kontrollen, ILD, NG, nNG
SP-C [C], rekombinant, anti-human, vom Kaninchen	22/96	1:10000	Kontrollen, ILD, NG, nNG
Pro-SP-B CTERMB [B] rekombinant, anti-human, vom Kaninchen, C-terminal	1/24/00	1:5000	Kontrollen, ILD, NG, nNG
Pro-SP-C NPROSP-C2 [A] rekombinant, anti-human, vom Kaninchen, N-terminal	D3219	1:5000	Kontrollen, ILD, NG, nNG

- A: Prof. M. Beers, Department of Medicine, Univ. Pennsylvania, Philadelphia, USA
- B: Prof. S. Guttentag, Children's Hospital, Univ. Pennsylvania, Philadelphia, USA
- C, D: Prof. K. Schäfer, Byk-Gulden AG (heute Nycomed), Konstanz

Methode:

Probenvorbereitung: Nach Bestimmung des Proteingehalts der nativen BAL-Proben mit der o.g. Methode nach Bradford wurde das errechnete Probenvolumen für 5- 10 µg Gesamtprotein in Eppendorfgefäße pipettiert. In der Regel wurden 10 µg aufgetragen, wenn nicht wurde dies gesondert gekennzeichnet. Die Proben wurden in der Vakuumzentrifuge lyophilisiert (Bachhofer Vakuumkonzentrator) und dann in jeweils 22 µl Probenpuffer aufgenommen und zusammen mit einem SP-B- (20 ng) oder einem SP-C-Standard (25 ng rSP-C Surfactant, Byk Gulden) sowie mit einer Leerprobe (22 µl Probenpuffer ohne Probe) für 10 Minuten im Wasserbad bei 70°C erwärmt. Der LDS Sample Buffer im Probenpuffer sorgte durch den Gehalt an LDS für eine Denaturierung der Proteine.

Gelelektrophorese: Pro Gel wurden neben sieben Patientenproben MultiMark Standard (Invitrogen, LC 5725) als Molekulargewichtsmarker sowie die jeweiligen Standardproben für SP-B und Pro-SP-B bzw. SP-C und Pro-SP-C aufgetragen.

Die Elektrophorese erfolgte in den Mini Cell Gelkammern bei 200 V und 100 mA für 40 Minuten. Für stabile Bedingungen sorgte die vorherige Zugabe von Antioxidant zum MES-Laufpuffer.

Tabelle 2-10: verwendete Standards

Standard	Typ	Herkunft
SP-B	SP-B human-dimer	Dr.Schmidt, Gießen (Innere Medizin)
SP-C	Rekombinantes humanes SP-C	Byk, Gulden (Konstanz)
Pro-SP-B/ Pro-SP-C	BAL-Material eines Patienten mit PAP	Dr.von Haunersches Kinderspital (München)

Westernblotting: Der Proteintransfer auf eine Nitrocellulosemembran wurde im „SemiDry“-Verfahren mit Transferpuffer durchgeführt. Die Transferzeit in den Blotkammern betrug 60 Minuten für SP-B / Pro-SP-B bzw. 120 Minuten für SP-C / Pro-SP-C bei 30 V und 170 mA.

Immunodetektion: Nach dem Westernblot wurden die Membranen für 3 Stunden in PBS-Puffer mit 3% Fischgelatine inkubiert, um eine Absättigung der freien Proteinbindungsstellen zu erreichen. Über Nacht erfolgte die Inkubation mit dem 1.Antikörper in PBS-Puffer (Verdünnung 1:10000 bzw. 1:5000 bei Antikörpern gegen Pro-Formen). Dabei wurden Membranen mit reduzierten Patientenproben je nach aufgetragener Standardprobe zunächst mit Anti-Pro-SP-B oder Anti-SP-C, Membranen mit nicht reduzierten Proben mit Anti-SP-B bzw. Anti-SP-C inkubiert. Nach Entfernen von überschüssigen, nicht gebundenen Antikörpern durch Waschen mit TBS für 4 mal 15 Minuten wurde mit dem 2.Antikörper in TBS (Verdünnung 1:100000) für 2 Stunden inkubiert. Die Membranen wurden erneut 4 mal 15 Minuten mit TBS gewaschen und danach für jeweils eine Minute mit Chemilumineszenzlösung aktiviert. Anschließend erfolgte die Entwicklung der Röntgenfilme nach Belichtungszeiten von ein bis drei Minuten.

Membranen mit Patientenproben in reduzierter Form wurden nach kurzer Reinigung in PBS-Puffer erneut mit dem 1. Antikörper (diesmal Anti-SP-B oder Anti-Pro-SP-C) inkubiert und wie oben beschrieben weiter bearbeitet. Membranen mit nicht reduzierten Proben erfuhren keine weitere Inkubation und wurden in PBS-Puffer bei 4° C gelagert.

Danach wurden die vorhandenen eingescannten Blots am Computer untersucht und das Signal der Probe zum Standardsignal in Relation gesetzt. Auf jedem Gel zum Nachweis von SP-B und SP-C wurden ein interner SP-B-Standard mit 20 ng Surfactantprotein und ein interner SP-C-Standard mit 25 ng aufgetragen.

Abbildung 2-1 zeigt beispielhaft eine erste grobe Abschätzung der Bandenstärke im Westernblotting:

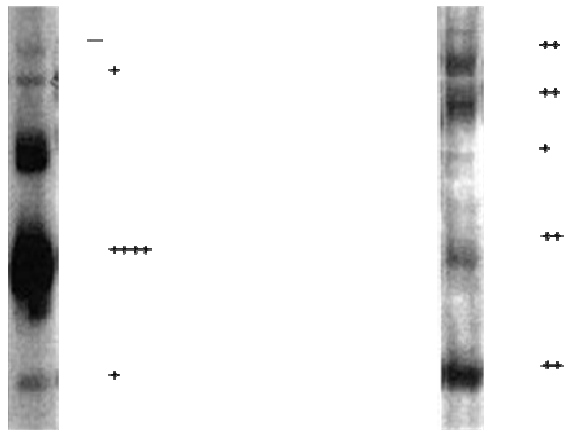


Abbildung 2-1: Definition der Abschätzung für die Qualitative Bandenstärke im Westernblot

Ab ++ war das Signal als eindeutig positiv gesehen worden, d.h. der Bereich der am meisten Unsicherheit bzw. Spielraum zuließ war bei den schwächeren Signalen.

Die Banden wurden nach ihrer Intensität eingeteilt. Die Bandenintensität wurde nach folgendem Schema (Abb. 2-11) beurteilt:

Tabelle 2-11: Beurteilung der Bandenintensität

++++	Stärker sichtbar als Standard
+++	Vergleichbar mit Standard
++	Schwächer sichtbar als Standard
+	Gerade noch sichtbar
-	Nicht sichtbar

2.5 Quantitative Abschätzung der Menge an Surfactantprotein

Zur annähernden Abschätzung der Menge an Surfactantprotein haben wir die Fläche des jeweiligen Signals der Probe und des Standards ausgemessen und miteinander verglichen. Dabei wurde zuerst mit Millimeterpapier die Fläche des Signals des Standards gemessen, dies ist dann gleich den 25 ng des internen Standards von SP-C bzw. 20 ng des internen Standards von SP-B gesetzt worden. Als nächstes wurde die Fläche der jeweiligen Probe bemessen und im Verhältnis zur Fläche des Standards und seinem bekannten SP-C-Gehalt die Menge an Surfactantprotein der jeweiligen Probe im Dreisatz berechnet.

Bei Proben bei denen keine Signale sichtbar waren, wurde eine Null als gemessener Wert angegeben, die untere Messgrenze war demnach durch das gerade nicht mehr sichtbare Signal, diese wurde in Verdünnungsreihen ermittelt und belief sich auf 1 ng pro Bande für SP-B und 0,5ng pro Bande für SP-C.

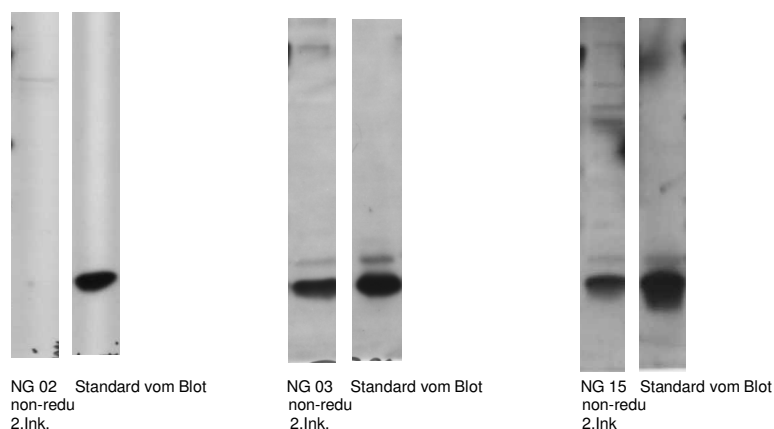


Abbildung 2-2 Exemplarische Blots mit jeweiligem Standard

Die folgende Tabelle zeigt die Ergebnisse dieser Berechnung beispielhaft für SP-C. Es wird im Vergleich der Proben NG 03 und 15 deutlich, dass je nach Stärke des Standards und absoluter Menge an Protein, zwei SP-C-Signale für sehr verschiedene SP-Mengen stehen können.

Tabelle 2-1 SP-C in ng/ml ermittelt mit Flächenberechnung (nicht-reduziert)

Code	mm ² Standard (=25 ng SP-C)	mm ² Probe	Protein (µg/ml)	SP-C (ng)	SP-C ng/ml
NG 02	10	0	632,1	0	0
NG 03	21	15	120,2	17,85	215
NG 15	36	19,25	780,7	13	1045

Tabelle 2-13 und 2-14 zeigen die mm^2 -Werte der Standardreihen. Die Steigungen der Standardkurven verlaufen zu Beginn, d.h. bei ng-Werten bis ca. 30 ng linear. Bei höheren ng-Werten flacht die Kurve ab, das bedeutet, dass hier die Genauigkeit nachlässt. Bei Flächen die größer als der Standard (20 ng bei SP-B und 25 bei SP-C) sind, wurde dies beachtet, allerdings war es bei kaum einer der Proben der Fall.

Tabelle 2-2: mm^2 und ng-Werte aus Standardreihe a

ng	mm^2
2,5	40
5	48
10	60
20	68
25	72
50	76

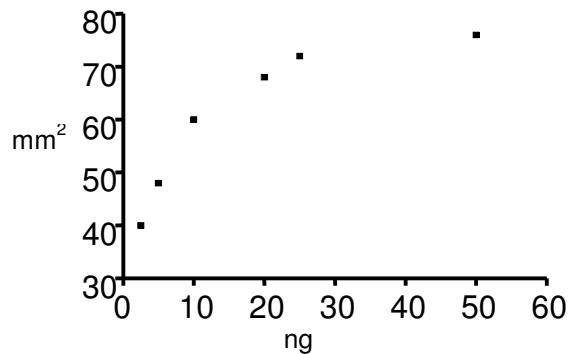


Abbildung 2-3: Standardkurve SP-C a

Tabelle 2-3: mm^2 und ng-Werte aus Standardreihe b

ng	mm^2
1	-
2	5
5	12
10	18
20	24
40	32
60	36
80	42

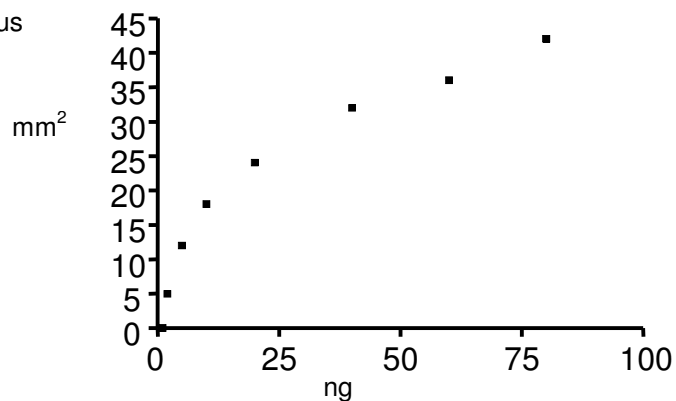


Abbildung 2-4: Standardkurve SP-C b

Bei der Berechnung von Pro-SP-B wurde die Probe eines Kindes mit PAP als Referenzwert benutzt, da kein interner Pro-SP-B-Standard zur Verfügung stand. Die Menge an Pro-SP-B dieser Probe ist nicht bekannt, es wurde deshalb das Signal der Probe als Vielfaches des Signals der Referenzprobe in % angegeben, wie beispielhaft in Abb. 2-5 gezeigt. Hier ist bei 25-26 bei der Probe (→) sowohl als auch beim Referenzblot ein Signal von 30 mm^2 zu sehen, dieses wurde dann in der Spalte Pro-SP-B der Probe in % vom Referenzwert als 100% angegeben.

2 Material und Methoden

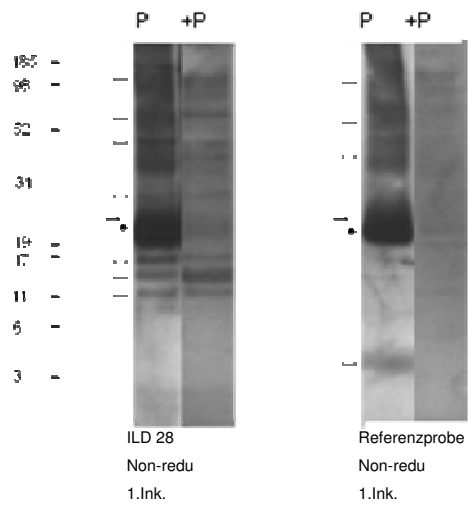


Abbildung 2-5: Probe und Referenzblot zur Berechnung von Pro-SP-B

2.6 Genetische Untersuchungen

2.6.1 DNA-Gewinnung

Zur Sequenzierung von SP-C und SP-B wurde aus den vorhandenen Materialien DNA gewonnen. Es stand eine unterschiedliche Auswahl zur Verfügung; im Einzelnen EDTA-Blut, bronchoalveoläre Lavage sowie Trachealsekret.

Es wurde mit dem QIAamp DNA Mini Kit und QIAamp DNA Blood Mini Kit 02/2003 sowohl aus der eher zellarmen BAL, als auch aus TS (zellreicher) DNA isoliert. Dazu, sowie für das Blut wurde das *Blood and Body Fluid Spin Protocol* verwendet.

Tabelle 2-4: Inhalt des QIAamp DNA Mini Kits und des and QIAamp DNA Blood Mini Kits

Katalog Nr.	QIAamp DNA Blood Mini Kit		QIAamp DNA Mini Kit	
	51104	51106	51304	51306
Anzahl der Vorbereitungen	50	250	50	250
QIAamp Mischsäulen (Spin Columns)	50	250	50	250
Sammelröhrchen (2ml)	150	750	150	750
Puffer AL	12	54	12	54
Puffer ATL	-	-	10	50
Puffer AW1 (Konzentrat)	19	95	19	95
Puffer AW2 (Konzentrat)	13	66	13	66
Puffer AE	12	60	22	110
QIAGEN Protease	1 vial	1 vial	-	-
Protease Lösung (Solvent)	1,2 ml	5,5 ml	-	-
Proteinase K	-	-	1,25 ml	6 ml

Material:

- Ethanol (96–100%)
- 1.5 ml microcentrifuge tubes
- Pipet tips with aerosol barrier
- Microcentrifuge (with rotor for 2 ml tubes)
- Vacuum manifold
- QIAamp Vac Accessory Set
- Vacuum pump capable of producing a vacuum of –800 to –900 mbar
- Vacuum regulator, optional
- RNase A (DNase-free; optional)
- Extension tubes
- 200 µl Probe

Puffer

- PBS-Puffer (zusätzlich zu den vom Hersteller gelieferten; siehe Tabelle 2-15)
- Mitgelieferte Puffer: Buffer AL* 12 ml 54 ml 12 ml 54 ml, Buffer ATL 10 ml 50 ml, Buffer AW1* (concentrate) 19 ml 95 ml 19 ml 95 ml, Buffer AW2† (concentrate) 13 ml 66 ml 13 ml 66 ml, Buffer AE 12 ml 60 ml 22 ml 110 ml

Methode:

Die Probe wurde auf Raumtemperatur gebracht, ebenso der AE Puffer. Ein Wasserbad wurde auf 56° erwärmt. Zuvor wurden die Puffer AW1 und AW2 vor der ersten Benutzung dem Protokoll folgend mit Ethanol verdünnt und bei Raumtemperatur bereitgestellt. Die QIAGEN Protease wurde mit der mitgelieferten Proteaselösung verdünnt und bei 2-8 ° aufbewahrt.

Es wurden 20 µl QIAGEN Protease auf den Grund eines 1.5 ml Röhrchens pipettiert. 200 µl Probe wurden hinzugefügt, bei weniger Material wurde mit PBS-Puffer auf 200 µl aufgefüllt. Danach wurden 200 µl AL Puffer hinzugefügt, 15 Sekunden gevortext und für 10 Minuten bei 56 °C inkubiert. Um Tropfen von Deckel oder Wand zu lösen wurde kurz zentrifugiert, ebenso noch einmal nach Hinzufügen von 200 µl Ethanol. Diese Mischung wurde in die QIAamp Spin Column (Mischsäule) pipettiert und bei 6000 x *g* (8000 rpm) für eine Minute zentrifugiert. Diese wurde in eines der 2ml-Röhrchen platziert und das Röhrchen mit dem Filtrat verworfen. Dann wurden 500 µl Buffer AW1 zugefügt und zentrifugiert bei 6000 x *g* für eine Minute. Dieses Gemisch wurde wieder in ein 2 ml-Röhrchen gegeben. Daraufhin wurden 500 µl Puffer AW2 zugefügt und bei voller Geschwindigkeit zentrifugiert für 3 min. Als letzter Schritt wurden 200 µl Puffer AE oder Aqua dest. zugefügt, für eine Minute bei Raumtemperatur inkubiert und daraufhin zentrifugiert bei 6000 x *g* für eine Minute. Eine 200 µl Probe von menschlichem Blut erzeugt typischerweise etwa 6 µg DNA in 200 µl Wasser (30 ng/µl).

2.6.2 Sequenzierung

Die Sequenzierungen der eingesandten DNA wurde freundlicherweise von Herrn Prof. Lohse (Klinikum Grosshadern, LMU) für SFTPC und SFTPB und von Herrn Prof. Schmitz und Herrn Prof. Aslanidis (Universität Regensburg, Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin) für ABCA3 vorgenommen.

2.7 Statistik

Die statistische Datenanalyse erfolgte mit Graph Pad Prism Version 4.01 (San Diego, CA, USA) sowie Microsoft Excel 2007 (San Francisco, CA, USA).

3 Ergebnisse

3.1 Qualitative Auswertung von Gelelektrophorese und Western Blotting

3.1.1 Pro – SP – B

3.1.1.1 Gruppe unklare respiratorische Insuffizienz

3.1.1.1.1 Neugeborene Kinder

In der Gruppe unklare respiratorische Insuffizienz bei Neugeborenen wurden bei 18 von 20 Proben Proformen des SP-B im Bereich von 13 bis 42 kDa detektiert. Pro-SP-B wird vom AK CTERM-B üblicherweise bei folgenden Molekulargewichten detektiert: 12-13 kDa , 14-15 kDa, 19-21 kDa, 24-26 kDa, 34-36 kDa und 40-42 kDa.

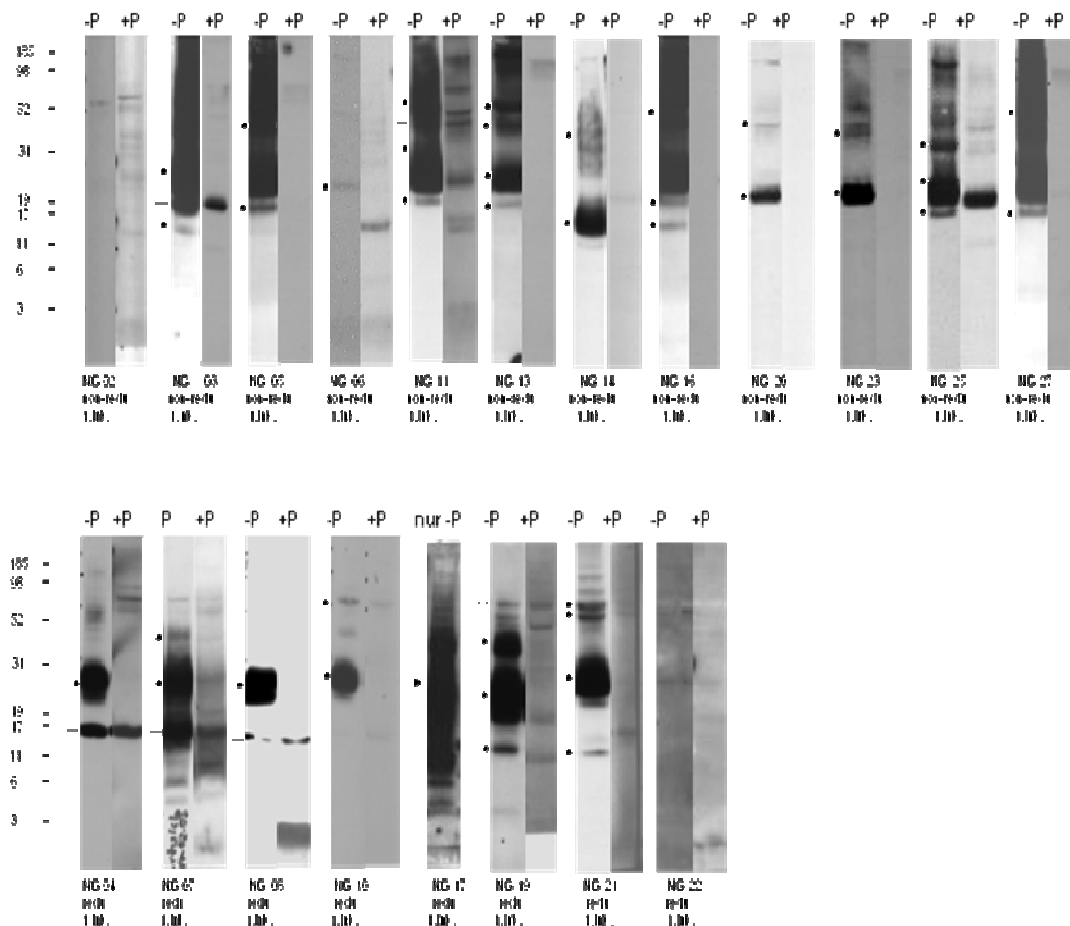


Abbildung 3-1: Inkubation der nativen Bronchiallavagen der Gruppe Neugeborene mit unklarer respiratorischer Insuffizienz mit dem C-TERMB- Antikörper gegen Pro-SP-B. Bei 18 von 20 Kindern wurde die Proform von SP-B mit einem Molekulargewicht von 13 bis 42 kDa detektiert. Jeweils die linke Bande ohne Peptid, die rechte nach Blockierung durch ein spezifisches Peptid
 ● Pro-SP-B, nach Blockierung durch spezifisches Peptid nicht mehr detektierbar
 — unspezifische Bande, nach Blockierung durch spezifisches Peptid noch sichtbar
 ►unklare Bande

Beschreibung der Ergebnisse nicht-reduzierte Proben (n=12)

Bei allen Proben war dies die erste Inkubation, d.h. alle dargestellten Banden sind durch die Inkubation mit dem spezifischen Antikörper gegen Pro-SP-B entstanden. Parallel wurde ein identischer Blot mit einem spezifischen Peptid inkubiert, um zu überprüfen, ob die dargestellten Signale tatsächlich durch Pro-SP-B-Moleküle entstanden sind. Da dieses Peptid mit Pro-SP-B um die Bindung der Antikörper konkurriert, kommen die definitiven Pro-SP-B-Signale nach Inkubation mit dem Peptid nicht mehr zur Darstellung. In dieser Gruppe der nicht-reduzierten Proben konnten wir bei elf von zwölf Proben die Proform von Surfactantprotein B detektieren. Die eindeutigen Banden zeigten sich zwischen 12 und 60 kDa.

NG 02 zeigte kein Signal, es wurde 10 µg Protein aufgetragen, dies macht ein Fehlen des Signals wegen zu niedriger Proteinkonzentration unwahrscheinlich.

Beim NG 03 zeigte sich bei 19-21 kDa eine Bande die aufgrund ihres Molekulargewichtes sowie des Verhaltens in Anwesenheit des Pro-SP-B-Peptides als unspezifische Antikörperreaktionen interpretiert wurde.

Beschreibung der Ergebnisse reduzierte Proben (n=8)

In dieser Gruppe der Proben die unter reduzierenden Bedingungen gemessen wurden, konnten wir bei sieben der acht Proben Pro-SP-B sicher nachweisen.

Probe NG 17 wurde nur einmal inkubiert. Aus diesem Grunde können die detektierten Banden bei 19-21, 24-25, 34-36 und 40-42 kDa nicht sicher als Pro-SP-B identifiziert werden. Da die Banden aber genau an den Stellen auftreten an denen typischerweise Pro-SP-B detektiert wird, werden diese Banden auch als solches interpretiert.

Unspezifische Banden zeigten sich bei NG 04, 07, 08 (14-17 kDa) sowie NG 19 (52-60 kDa).

Die Probe NG 22 zeigte keinerlei spezifische Signale für Pro-SP-B. Auch hier wurden 10 µg Protein aufgetragen, dies macht ein Fehlen des Signals wegen zu niedriger Proteinkonzentration unwahrscheinlich.

Vergleich von reduzierten und nicht reduzierten Proben

Es wurden in dieser Arbeit Proben parallel verwendet und verglichen, welche zum Teil unter reduzierenden Bedingungen gemessen wurden und zum Teil unter nicht-reduzierenden.

3 Ergebnisse

Dies hat auf die Auswertung insofern keinen Einfluss, als dass durch die Reduktion bestehende Dimere zu Monomeren aufgetrennt werden. Das bedeutet, dass in den nicht reduzierten Proben dimere und polymere Formen auftreten, in den reduzierten eher niedermolekulare monomere Formen.

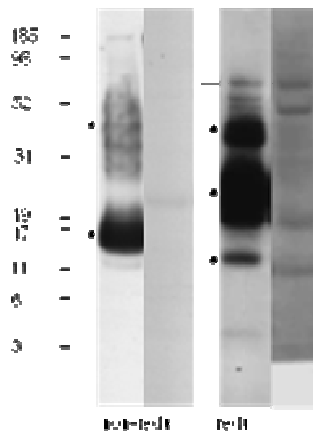


Abbildung 3-2: Pro-SP-B: zwei Proben, links nicht reduziert sowie rechts reduziert. Die nicht reduzierte Probe zeigt ein deutliches Signal bei 13-16 kDa und weitere schwächere Signale ab 24 bis hinzu 42 kDa. Die reduzierte Probe im Vergleich, zeigt, beginnend bei 12 kDa, durchgehend stärkere Signale bei höhermolekularen Banden

Semiquantitative Auswertung der Westernblotanalyse anhand des Standards

Tabelle 3-1 Ergebnisse der Westernblotanalyse mit dem Antikörper gegen Pro-SP-B

Code	Reduktion	13-16 kDa	19-21 kDa	25-26 kDa	34-36 kDa	40-42 kDa	Zusätzliche Banden
Kontrollwerte	-	0%	7%	80%	0%	7%	-
Ergebnis	-	30%	50%	70%	40%	55%	-
NG 02	non-redu	-	-	-	-	-	-
NG 03	non-redu	+	-	+++	-	-	19-21 kDa unspezifische Bande
NG 05	non-redu	-	++	-	-	+++	-
NG 06	non-redu	-	-	+	-	-	-
NG 11	non-redu	-	+	-	++	++	52-60 kDa spezifische Bande
NG 13	non-redu	-	+	+++	+++	+++	52-60 kDa unspezifische Bande
NG 14	non-redu	+++	-	++	++	++	-
NG 16	non-redu	+	+	+++	+++	+++	-
NG 20	non-redu	-	+++	-	-	+	-
NG 23	non-redu	-	++++	-	-	++	-
NG 25	non-redu	-	++	+++	++	-	52-53,98 kDa unspezifische Banden
NG 27	non-redu	++	+++	+++	+++	+++	Ab 19 kDa durchgehend
NG 04	redu	-	-	++++	-	-	13-16 kDa unspezifische Bande
NG 07	redu	-	-	++++	-	+++	13-16 kDa unspezifische Bande
NG 08	redu	-	-	++++	-	-	14-17 kDa unspezifische Bande
NG 10	redu	-	-	+++	-	-	52-60 kDa spezifische Bande
NG 17	redu	-	++	++	++	++	Unklar, ohne Peptid
NG 19	redu	++	+++	+++	+++	+++	-
NG 21	redu	++	-	++++	-	-	52-53 kDa spezifische Bande
NG 22	redu	-	-	-	-	-	-

Hierbei wurde besonderes Augenmerk auch auf die Patienten ohne Pro-SP-B sowie auf die mit gerade noch sichtbaren Banden (+) gelegt. Die angegebenen Referenzwerte von Pro-SP-B beziehen sich auf von Griese et al. ermittelte Werte, daraus die Kontrollgruppe Kinder ohne Lungenerkrankung²².

Klinische Charakterisierung der Kinder ohne Proformen von Surfactantprotein B

NG 02

Das Kind NG 02 ist ein ehemaliges hypotrophes Frühgeborenes der 28. Schwangerschaftswoche, welches per Notsectio aufgrund schwerer Präeklampsie der Mutter entbunden wurde. Respiratorische Komplikationen traten direkt nach der Geburt auf und führten zur baldigen Beatmungspflichtigkeit. Die mehrmalige Surfactantgabe führte nur zu kurzzeitiger Besserung, mit nachlassender Tendenz. Das Neugeborenen screening war unauffällig, es bestanden keine Infektzeichen.

Die Eltern des Kindes sind nicht blutsverwandt, es waren bis dahin bei Geschwistern oder in der näheren Verwandtschaft keine ähnlichen Erkrankungen aufgetreten.

Im Röntgen-Thorax zeigte sich beim NG 02 bereits im Alter von wenigen Lebenstagen eine granuläre Lungenstrukturverdichtung sowie eine Transparenzverminderung als Ausdruck hyaliner Membranen, weiterhin Zeichen einer zunehmenden bronchopulmonalen Dysplasie (BPD). Im weiteren Verlauf kam es röntgenologisch zum Vollbild einer so genannten weißen Lunge. Das Kind bekam zu diesem Zeitpunkt systemisch Steroide was zu einer deutlichen Besserung der Lungenfunktion führte.

An extrapulmonaler Problematik bestand ein persistierender Ductus arteriosus botalli der problemlos mit Indometacin verschlossen wurde. Das Kind wurde über den Zeitraum von einem Monat hinaus beatmet, es verstarb im Alter von 1,5 Monaten unter Beatmung an respiratorischer Insuffizienz.

Dieser Verlauf, vor allem wegen des niedrigen Gestationsalters bei Geburt, legt nahe, dass die respiratorische Insuffizienz durch die Unreife der Lunge bedingt war. Trotzdem ist der Befund der Westernblotanalyse einer Trachealsekretprobe die am 37. Lebenstag entnommen wurde, dadurch nicht erklärbar.

NG 22

Das Kind NG 22 ist ein reifes NG der 38. Schwangerschaftswoche. Direkt postpartal wirkte das Kind stabil, erschöpfte sich aber dann schnell und musste nach 20 Lebensminuten intubiert werden. Das abgesaugte Trachealsekret war immer weißlich und dünnflüssig. Surfactant wurde nicht verabreicht.

Die Eltern des Kindes sind blutsverwandt, es waren bis dahin bei Geschwistern oder in der näher nicht en Verwandtschaft keine ähnlichen Erkrankungen aufgetreten. Im Alter von 10 Tagen wurde die diagnostische BAL durchgeführt.

An weiterer Diagnostik wurde ein Röntgen des Thorax durchgeführt, hier zeigten sich keinerlei Infiltrate oder andere richtungsweisende Veränderungen.

Obwohl keine eindeutigen Infektzeichen bestanden, wurde empirisch mit Antibiotika therapiert.

Der weitere Verlauf ließ sich leider trotz intensiver Nachforschung nicht eruieren.

3.1.1.1.2 Nicht neugeborene Kinder

In der Gruppe unklare respiratorische Insuffizienz bei nicht Neugeborenen wurden bei allen fünf Lavagen Proformen von Surfactantprotein B auf den Höhen von 19-21, 25-26, 34-36, 40-42 sowie 52-60 kDa nachgewiesen. Bei 13-16 kDa wurden in dieser kleinen Gruppe keine Banden gefunden.

Proformen von SP-B werden vom Antikörper CTERM-B üblicherweise bei folgenden Molekulargewichten detektiert: 12-13 kDa , 14-15 kDa, 19-21 kDa, 24-26 kDa, 34-36 kDa und 40-42 kDa.

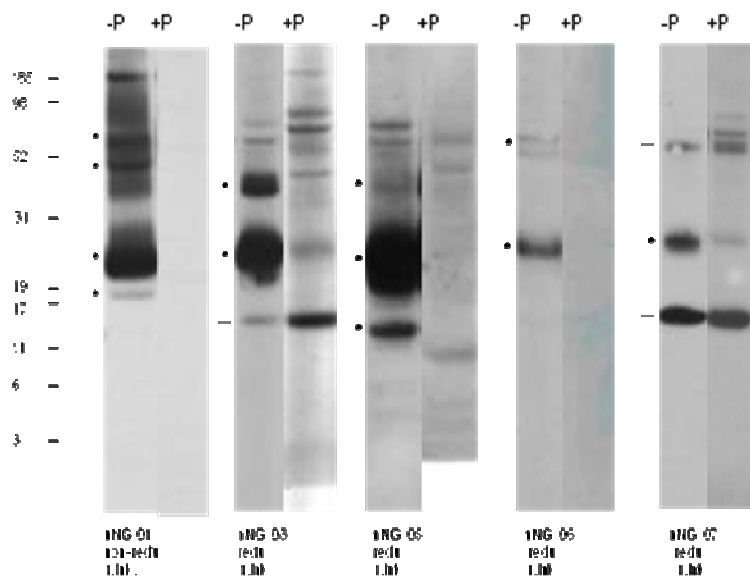


Abbildung 3-3: Inkubation der nativen Bronchiallavagen der Gruppe nicht Neugeborene mit respiratorischer Insuffizienz mit dem C-TERMB- Antikörper gegen Pro-SP-B. Bei allen fünf Kindern wurde die Proform von SP-B mit einem Molekulargewicht von 12 bis 60 kDa detektiert. Jeweils die linke Bande ohne Peptid, die rechte nach Blockierung durch ein spezifisches Peptid ● Pro-SP-B, nach Blockierung durch spezifisches Peptid nicht mehr detektierbar — unspezifische Bande, nach Blockierung durch spezifisches Peptid noch sichtbar ▶unklare Bande

Beschreibung der Ergebnisse nicht-reduzierte Probe (n = 1)

Beim Kind nNG 01 fanden sich Pro-B- Signale zwischen 19 und 60 kDa. Die höhermolekularen Signale bei 52-60 kDa sind auch als Pro-B gewertet worden, da es sich hier um die erste Inkubation handelt.

Beschreibung der Ergebnisse reduzierte Proben (n = 4)

Signale für Pro-SP-B fanden sich bei 19 bis 60 kDa. Bei den folgenden Blots zeigten sich Banden die als unspezifische Antikörperreaktionen interpretiert wurden. Bei der Probe nNG 03 bei 13-16 kDa, sowie beim nNG 07 und zwar bei 13-16 und 52-60

3 Ergebnisse

kDa. Zusammenfassend fanden sich in dieser Gruppe keine ungewöhnlichen, aberranten Banden.

Semiquantitative Auswertung der Ergebnisse der Westernblotanalyse

Tabelle 3-2: Ergebnisse der Westernblotanalyse mit dem Antikörper gegen Pro-SP-B

Code	Reduktion	13-16 kDa	19-21 kDa	25-26 kDa	34-36 kDa	40-42 kDa	Zusätzliche Banden
Kontrollwerte	-	0%	7%	80%	0%	7%	-
Ergebnis	-	0%	40%	100%	40%	60%	
nNG 01	non-redu	-	+	+++	++	++	52-60 ++ spezifische Bande
nNG 03	redu	-	-	+++	-	+++	13-16 + unspezifische Bande
nNG 05	redu	-	+	+	+	+	
nNG 06	redu	-	-	+	-	-	52-60 ++ spezifische Bande
nNG 07	redu	-	-	++	-	-	13-16 und 52-60 kDa ++ unspezifische Banden

3.1.1.2 Gruppe interstitielle Lungenerkrankungen

In dieser Gruppe wurde bei 36 von 37 Proben Pro-SP-B detektiert (32 Proben nicht-reduziert, fünf Proben reduziert).

Nicht-reduzierte Proben

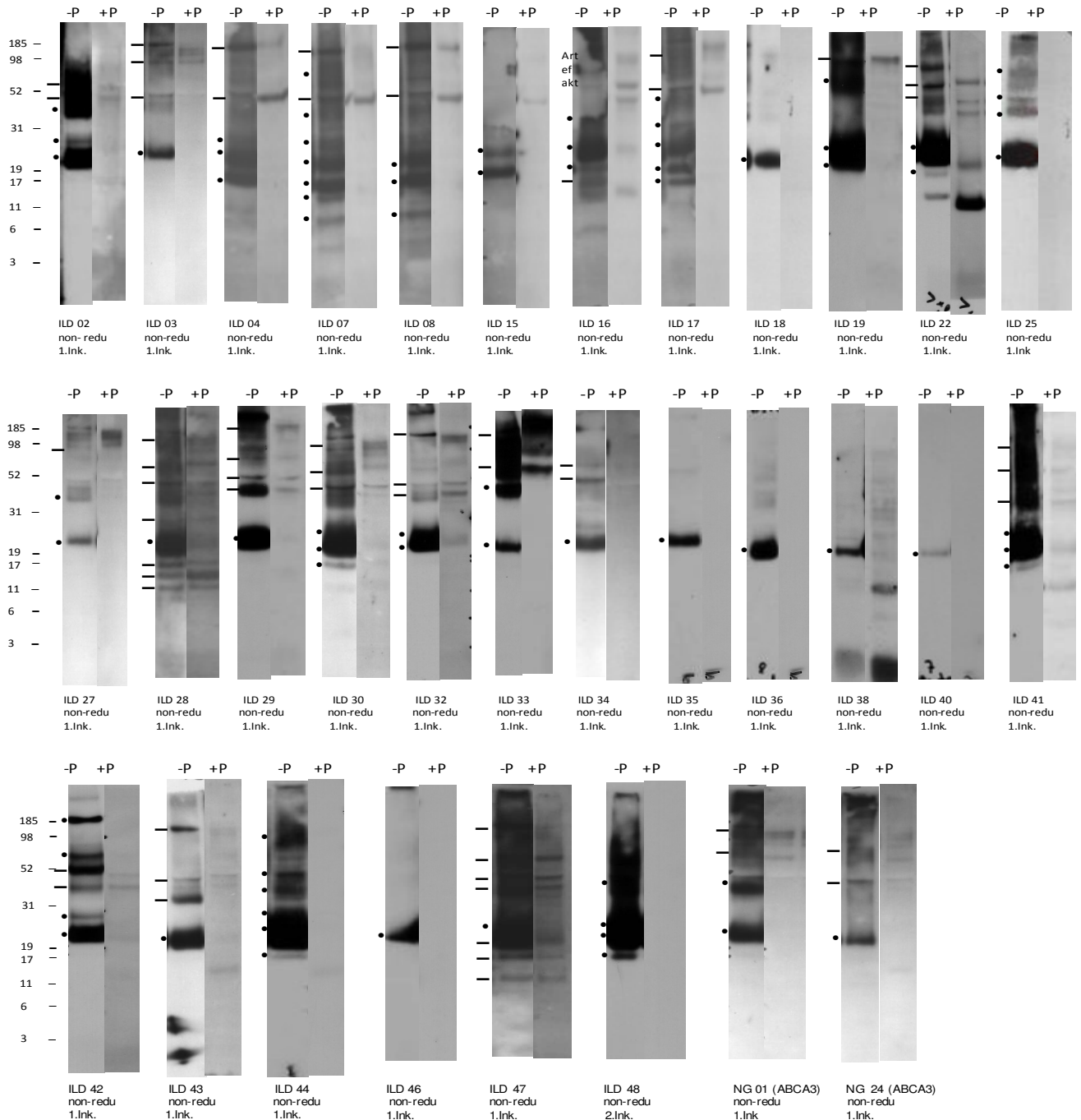


Abbildung 3-4: Nicht-reduzierte Proben. Inkubation der nativen Bronchiallavagen der Gruppe ILE mit dem C-TERMB- Antikörper gegen Pro-SP-B. Bei 36 von 37 Kindern wurde die Proform von SP-B mit einem Molekulargewicht von 12 bis 42 kDa detektiert. Jeweils die linke Bande ohne Peptid, die rechte nach Blockierung durch ein spezifisches Peptid.

- Pro-SP-B, nach Blockierung durch spezifisches Peptid nicht mehr detektierbar
- unspezifische Bande, nach Blockierung durch spezifisches Peptid noch sichtbar
- unklare Bande

Reduzierte Proben

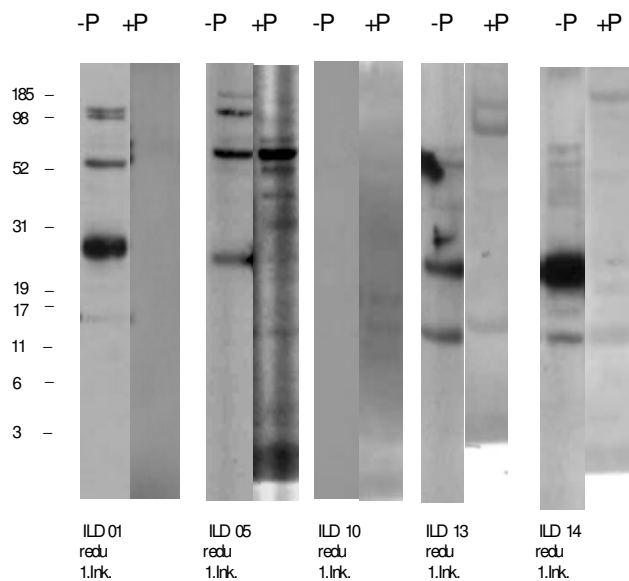


Abbildung 3-5: Reduzierte Proben. Inkubation der nativen Bronchiallavagen der Gruppe ILE mit dem C-TERMB- Antikörper gegen Pro-SP-B. Bei vier von fünf Kindern wurde die Proform von SP-B mit einem Molekulargewicht von 12 bis 42 kDa detektiert. Jeweils die linke Bande ohne Peptid, die rechte nach Blockierung durch ein spezifisches Peptid.
 • Pro-SP-B, nach Blockierung durch spezifisches Peptid nicht mehr detektierbar
 — unspezifische Bande, nach Blockierung durch spezifisches Peptid noch sichtbar
 ► unklare Bande

Beschreibung der Ergebnisse nicht reduzierte Proben (n = 32)

In dieser Gruppe der unter nicht-reduzierenden Bedingungen gemessenen Proben konnten wir bei allen Kindern Proformen von Surfactantprotein B nachweisen.

Die nachgewiesenen Bandenstärken befanden sich zwischen 13 und 98 kDa.

Es wurde immer zwischen 5 und 10 µg Protein aufgetragen.

Die genauen Banden und die Häufigkeit ihres Vorkommens finden sich in Tab. 21.

Beschreibung der Ergebnisse reduzierte Proben (n = 5)

In dieser Gruppe konnten wir bei vier von fünf Kindern Banden mit Proformen von Surfactantprotein B zeigen.

In der Lavage eines Kindes (ILD 10) konnten wir keine Proformen nachweisen. Allerdings zeigten sich auch keinerlei andere Banden in dieser Probe. Hier wurden 5 µg Protein aufgetragen.

Semiquantitative Auswertung der Ergebnisse der Westernblotanalyse

Tabelle 3-3: Ergebnisse der Westernblotanalyse mit dem Antikörper gegen Pro-SP-B der Gruppe ILE

Code	Reduktion	13-16 kDa	19-21 kDa	25-26 kDa	34-36 kDa	40-42 kDa	Zusätzliche Banden
Kontrollwerte	-	0%	7%	80%	0%	7%	-
Ergebnis	-	24	73	62	12	12	
ILD 02	non-redu	-	+++	++	-	+++	46-60+++ kDa unspezifische Banden
ILD 03	non-redu	-	++	-	-	-	46-48+, 98+, 185 kDa+ unspezifische Banden
ILD 04	non-redu	++	++	++	-	-	46-48+, 170++ unspezifische Banden
ILD 07	non-redu	++	++	++	++	++	6-7+, ~70++ spezifische Banden, 46-48++ und 135++ unspezifische Banden
ILD 08	non-redu	++	++	-	-	-	6-7++ spezifische Bande, 46-48++, 185++ unspezifische Banden
ILD 15	non-redu	-	+++	++	-	-	-
ILD 16	non-redu	-	++	+++	+++	-	unspezifische Bande bei 16-17 +++
ILD 17	non-redu	++	++	++	++	++	-
ILD 18	non-redu	-	+++	-	-	-	-
ILD 19	non-redu	-	++++	++++	-	-	52-60++++ spezifische Banden
ILD 22	non-redu	+	+++	-	-	-	34-36+, 52+, 60++, 90+ unspezifische Banden
ILD 25	non-redu	-	-	+++	-	++	52+, 90+ kDa spezifische Banden
ILD 27	non-redu	-	-	++	+	-	98+ unspezifische Bande
ILD 28	non-redu	-	-	+++	-	-	11+, 13-14+, 16+, 29+, 50+, 60+, ~100+ unspezifische Banden
ILD 29	non-redu	-	-	++++	-	-	36-38++, 44-46+, 50+, 60-70+, 185++ kDa unspezifische Banden
ILD 30	non-redu	+	+++	+++	-	-	36-38+, 52+, 98+ kDa unspezifische Banden
ILD 32	non-redu	-	+++	+++	-	-	34-36+, 37-38+, 160++ unspezifische Banden
ILD 33	non-redu	-	+++	-	+++	-	60+++ , 160+++ unspezifische Banden
ILD 34	non-redu	-	++	-	-	-	44-46++, 60+ unspezifische Banden
ILD 35	non-redu	-	+++	-	-	-	-
ILD 36	non-redu	-	+++	-	-	-	-
ILD 38	non-redu	-	+++	-	-	-	-
ILD 40	non-redu	-	++	-	-	-	-
ILD 41	non-redu	+	+++	+++	-	-	26-28+++ spezifisch, 40++++, 60++++, 135+++ unspezifische Banden
ILD 42	non-redu	-	+++	+	-	-	26-28+++ , 60+++ , 185+++ spezifische Banden, 40+++ unspezifische Banden
ILD 43	non-redu	-	+++	-	-	-	31+++ , 42-46+ , 135+++ unspezifische Banden
ILD 44	non-redu	+	+++	+++	-	+++	30+++ , 50++ , 98++ spezifische Bande
ILD 46	non-redu	-	+++	-	-	-	-
ILD 47	non-redu	-	-	+++	-	-	12+, 17+, 19-21+, 40-42+, 44-46+, 60+, 135+ unspezifische Banden
ILD 48	non-redu	+++	+++	+++	-	+++	-
NG 01	non-redu	-	-	++	++	-	-
NG 24	non-redu	-	++	-	-	-	60-185 kDa unspezifische Bande
ILD 01	redu	-	-	+++	-	-	52-53+, 92-94+ spezifische Banden
ILD 05	redu	-	-	++	-	-	60-62++, 98++, 185+ unspezifische Banden
ILD 10	redu	-	-	-	-	-	-
ILD 13	redu	-	-	+++	-	-	52-55 kDa ++ spezifische Bande, 13-16+ unspezifische Bande
ILD 14	redu	-	+++	+++	-	-	12-13 kDa ++ unspezifische Bande, 52-60+ spezifische Banden

Klinische Charakterisierung des Kindes ILD 10

Das Kind ILD 10 ist ein ehemaliges Frühgeborenes der 36.Schwangerschaftswoche. Bei Geburt war es hypotroph (SGA) bei vorhergegangenem Nikotinabusus der Mutter. Ab dem 10. Lebenstag kam es zunehmend zu Tachypnoe, grauem Hautkolorit und konsekutiv zur Intubationspflichtigkeit. Im weiteren Verlauf kam es zu rezidivierenden Pneumothoraces, mehrmalige Surfactantsubstitution blieb wirkungslos. Die Eltern der Kinder sind nicht blutsverwandt und es traten bis dahin in der Familie noch keine ähnlichen Krankheitsbilder auf. Am 40. Lebenstag wurde eine diagnostische BAL durchgeführt, bis zu diesem Zeitpunkt hatte das Kind sich von Körpergröße und Gewicht gut entwickelt (52 cm, 3919g), die respiratorische Situation hatte sich hingegen nicht verbessert, das Kind war weiter beatmet. An kardialen Problemen gab es einen persistierenden Rechts-Links-Shunt auf Vorhofebene (ASD), eine Trikuspidalinsuffizienz I-II. Grades, sowie eine Mitralinsuffizienz I. Grades. Die kardiale Problematik lieferte jedoch keine ausreichende Erklärung für die respiratorische Situation. Ein CT des Thorax zeigte streifige und kleinfleckige Verschattungen. Eine Lungenbiopsie wurde nicht durchgeführt, ebenso wurde keine genetische Analyse auf Defekte der Surfactantproteine unternommen. Das Kind wurde mit Antibiotika und Antimykotika therapiert. Im Alter von acht Wochen kam es zu weiterer Verschlechterung des klinischen Zustandes und das Kind verstarb im kardiorespiratorischen Versagen.

3 Ergebnisse

3.1.2 SP – B

3.1.2.1 Gruppe unklare respiratorische Insuffizienz

3.1.2.1.1 Neugeborene Kinder

Nicht reduzierte Proben (n=13)

In dieser Gruppe wurde bei allen Proben reifes SP-B gefunden.

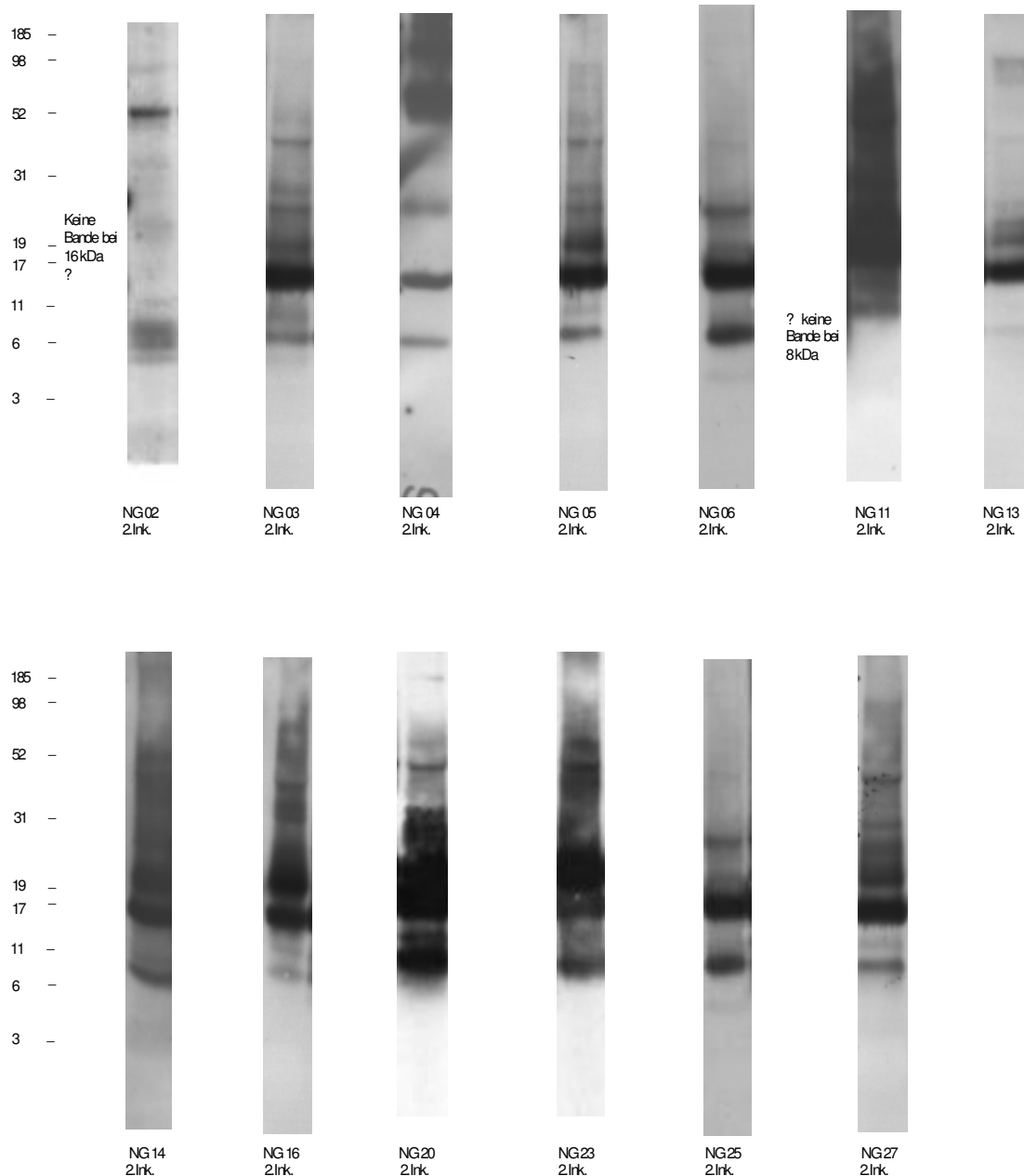


Abbildung 3-6: Inkubation der nativen Bronchiallavagen der Gruppe unklare respiratorische Insuffizienz bei NG mit dem Antikörper gegen SP-B, vorher wurde jeweils mit CTERM-B, dem Antikörper gegen Pro-SP-B inkubiert. Die Proben wurden nicht reduziert, in den Proben wurden von Surfactantprotein SP-B Banden bei 8 kDa, sowie 16 kDa nachgewiesen.

● reifes SP-B

— durch die vorherige Inkubation mit dem Antikörper gegen die Proform von SP-B entstandene Banden

Beschreibung der Ergebnisse nicht-reduzierte Proben (n=13)

In dieser Gruppe fanden sich bei 11 Proben Banden sowohl bei 8 kDa als auch 16 kDa. Diese Signale entsprechen der dimeren Form des reifen Surfactantprotein B.

Als reifes SP-B wurden alle Banden gewertet die neu durch die Inkubation mit dem Antikörper gegen SP-B entstanden sind und nicht durch die vorherige, erste Inkubation mit dem Antikörper gegen die Proform von SP-B.

Bei einem Kind fand sich nur eine Bande von 8 kDa, bei einem anderen nur von 16 kDa. Bei vier Proben (NG 02, 06, 20, 23) wurden die höhermolekularen Banden im Bereich von 21 bis 60 kDa als spezifische SP-B-Bindungen interpretiert, da sie erst durch die Inkubation mit dem SP-B-Antikörper entstanden sind.

Des Weiteren fand sich eine auffällige Probe (NG 02) deren Signale für SP-B sehr schwach waren. Außerdem als auffällig wurden die Proben 20 und 23 gewertet, hier war das Signal ungewöhnlich stark, zudem zeigten sich sehr viele Banden.

Semiquantitative Auswertung der Westernblotanalyse

Tabelle 3-4: Ergebnisse der Westernblotanalyse mit dem Antikörper gegen SP-B der Gruppe NG

Code	Reduktion	8 kDa	16 kDa	21-25 kDa	42 kDa	52-60 kDa	Unspez. Banden
NG 02	non-redu	+ (schwach)	-	-	-	++	
NG 03	non-redu	++	+++	-	-	-	25-26 ++, 40-42 ++
NG 04	non-redu	+	+	-	-	-	25-26 ++
NG 05	non-redu	++	+++	-	-	-	19-21 ++, 25-26 ++
NG 06	non-redu	+++	+++	++	-	-	-
NG 11	non-redu	-	+	-	-	-	19-185 ++ durchgehend
NG 13	non-redu	++	+++	-	-	-	19-25 ++
NG 14	non-redu	++	++	-	-	-	19-185 ++ durchgehend
NG 16	non-redu	++	+++	-	-	-	-
NG 20	non-redu	+++ (stark)	++++ (stark)	++++ (stark)	++++ (stark)	-	-
NG 23	non-redu	+	++++ (stark)	++++ (stark)	++++ (stark)	++	-
NG 25	non-redu	+++	+++	-	-	-	25-26 ++
NG 27	non-redu	++	+++	-	-	-	19-98 +++ durchgehend

Reduzierte Proben (n =8)

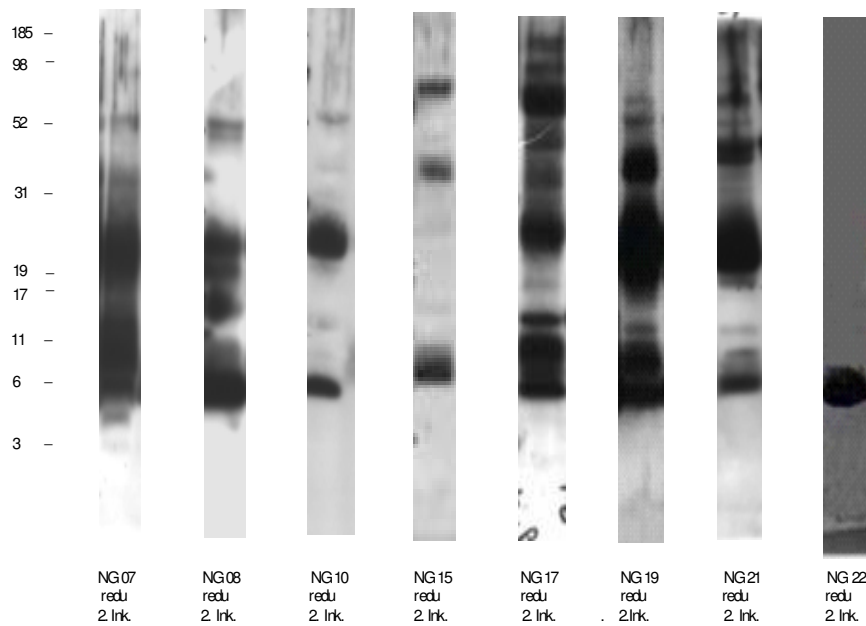


Abbildung 3-7: Inkubation der nativen Bronchiallavagen der Gruppe unklare respiratorische Insuffizienz bei Neugeborenen mit dem Antikörper gegen SP-B, vorher wurde jeweils mit CTERM-B, dem Antikörper gegen Surfactantprotein Pro-SP-B inkubiert Die Proben wurden reduziert, in allen Proben konnten Monomere von Surfactantprotein SP-B bei 8 kDa nachgewiesen werden.

● reifes SP-B

— durch die vorherige Inkubation mit dem Antikörper gegen die Proform von SP-B entstandene Banden

► unklare Bande

Darstellung der Ergebnisse reduzierte Proben (n=8)

Die Lavagen dieser Gruppe wurden unter reduzierenden Bedingungen analysiert. Bei allen Proben fanden sich Banden die eindeutig als monomere Form des reifen Surfactantprotein B gewertet wurden. Ungewöhnlich waren die Proben 17, 19 und 21, hier war das Signal sehr stark, zudem zeigten sich sehr viele Banden. Die genauen Ergebnisse finden sich in der Tabelle 24.

Semiquantitative Auswertung der Westernblotanalyse

Tabelle 3-5: Ergebnisse der Westernblotanalyse mit dem Antikörper gegen SP-B der Gruppe NG

Code	Redukt.	4-6 kDa	8 kDa	12 kDa	16 kDa	21-23 kDa	29-31 kDa	42 kDa	52 kDa	Unspez. Banden
NG 07	redu	-	+++	+++	-	+++	-	-	-	-
NG 08	redu	-	+++	+++	+	-	-	-	+	25-28 +++
NG 10	redu	-	++	-	+ (schwach)	-	++	-	-	-
NG 15	redu	-	++	-	-	-	-	+	-	-
NG 17	redu	-	++	++	-	-	++	+	-	Unklare höhermolekulare Banden
NG 19	redu	-	++	++	+	-	-	-	-	19-185 ++
NG 21	redu	-	++	+	-	-	-	-	-	21-23+,, 29-31 ++, 42-52 ++
NG 22	redu	-	++++	-	-	-	-	-	-	-

Tabelle 3-6: Häufigkeit der Banden in % aller Signale

Ergebnis	%	Anzahl
4-6 kDa	-	-
8 kDa	100	8
12 kDa	62,5	5
16 kDa	37,5	3
8 und 16 kDa	37,5	3
21-23 kDa	12,5	1
29-31 kDa	25	2
42 kDa	25	2
52 kDa	12,5	1
Weitere unspezifische Banden	50	4

3.1.2.1.2 Nicht Neugeborene Kinder

Es konnte in allen fünf Proben dieser Gruppe der nicht neugeborenen Kinder mit respiratorischer Insuffizienz reifes SP-B nachgewiesen werden. Bei insgesamt fünf Proben und einer nicht reduzierten, wurde nicht nach Reduktion getrennt dargestellt.

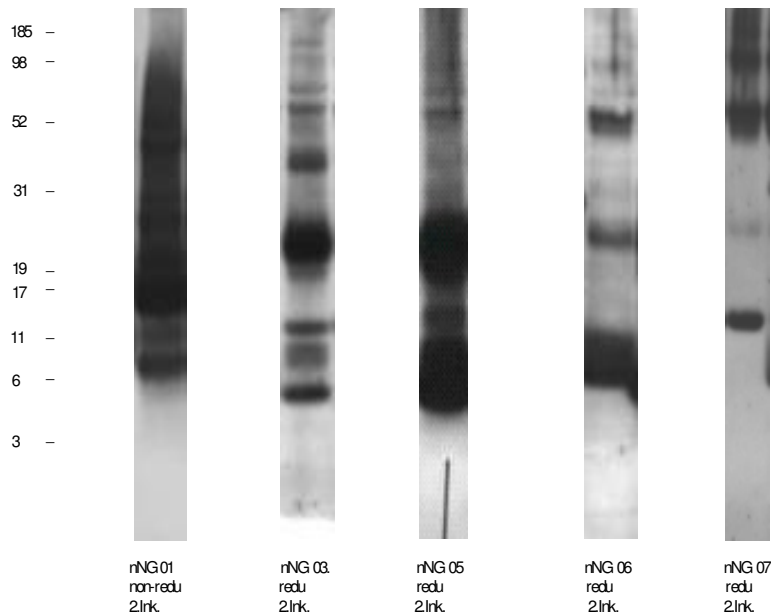


Abbildung 3-8: Inkubation der nativen Bronchiallavagen der Gruppe unklare respiratorische Insuffizienz bei nicht NG mit dem Antikörper gegen SP-B, vorher wurde jeweils mit dem Antikörper gegen Pro-SP-B inkubiert. Die Proben wurden bis auf eine reduziert, in allen Proben konnte SP-B nachgewiesen werden.

- reifes SP-B
- durch die vorherige Inkubation mit dem Antikörper gegen die Proform von SP-B entstandene Banden
- unklare Bande

Darstellung der Ergebnisse reduzierte und nicht reduzierte Proben (n=5)

Es fanden sich bei keiner Probe auffällige Banden. Eine genaue Auflistung der detektierten Banden findet sich in der folgenden Tabelle 25.

Semiquantitative Auswertung der Westernblotanalyse

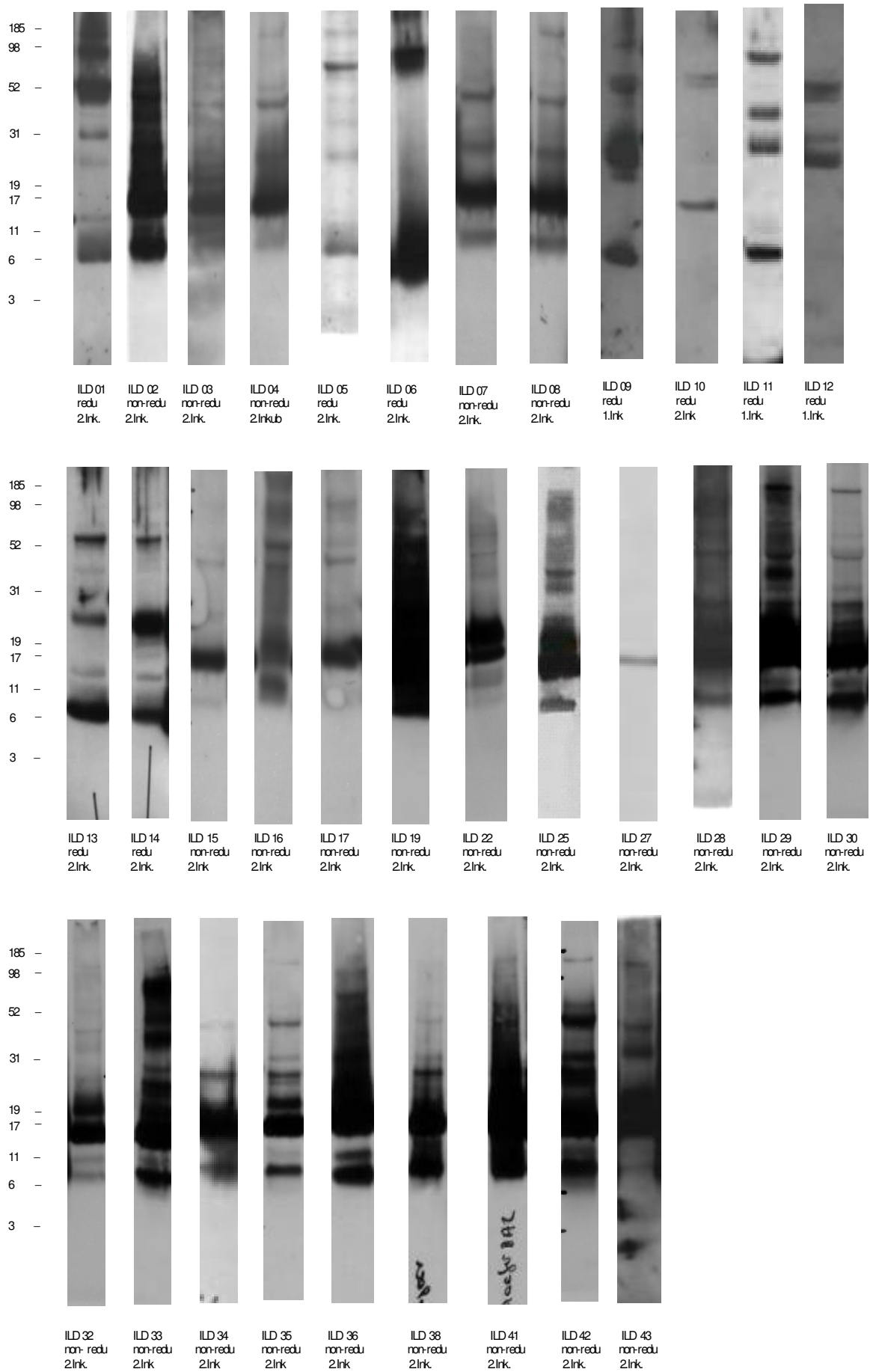
Tabelle 3-7: Ergebnisse der Westernblotanalyse mit dem AK gegen SP-B der Gruppe nicht NG

Code	Reduktion	4 kDa	8 kDa	12 kDa	16 kDa	21-24 kDa	Unspezifische Banden
nNG 01	non-redu	-	+++	-	+++	-	19-185 +++ kDa
nNG 03	redu	++	+	+	-	-	24-25 +++, 40-42 ++, 52-60 ++ kDa
nNG 05	redu	-	+++	+++	+++	-	19-185 +++ kDa
nNG 06	redu	-	+++	-	-	-	24-25 ++, 52-60 ++ kDa
nNG 07	redu	-	-	++	-	-	-

3.1.2.2 Gruppe interstitielle Lungenerkrankungen

In dieser Gruppe konnte bei allen 38 Proben reifes SP-B nachgewiesen werden.

3 Ergebnisse



3 Ergebnisse

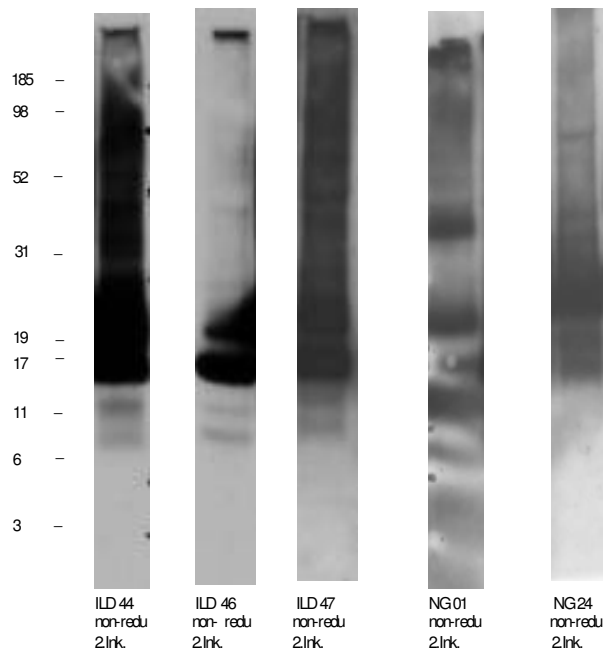


Abbildung 3-9: Inkubation der nativen Bronchiallavagen der Gruppe unklare ILE mit dem Antikörper gegen SP-B, vorher wurde jeweils mit dem Antikörper gegen Pro-SP-B inkubiert.

- reifes SP-B
- durch die vorherige Inkubation mit dem Antikörper gegen die Proform von SP-B entstandene Banden
- unklare Bande

Darstellung der Ergebnisse (n =38)

Bei allen Proben wurde SP-B gefunden. Es fanden sich einige Proben mit auffällig niedriger Signalstärke (ILD 03, 04, 10, 27, 32 und 34, NG 01 und 24).

Semiquantitative Auswertung der Westernblotanalyse

Tabelle 3-8: Ergebnisse der Westernblotanalyse der Gruppe ILE mit dem AK gegen SP-B

	Reduktion	8 kDa	16-18 kDa	21-26 kDa	29-31 kDa	Zusätzliche Banden
ILD 02	non-redu	+++	+++	+++	+++	Durchgehend im höhermol. Bereich
ILD 03	non-redu	+ (schwach)	++	-	-	-
ILD 04	non-redu	+ (schwach)	+++	-	-	48 kDa++
ILD 07	non-redu	++	+++	-	++	48 kDa++
ILD 08	non-redu	++	+++	-	++	48 kDa++
ILD 15	non-redu	-	+++	-	-	-
ILD 16	non-redu	-	++	-	-	-
ILD 17	non-redu	-	+++	-	-	-
ILD 19	non-redu	++++	++++	-	-	-
ILD 22	non-redu	-	-	+++	-	-
ILD 25	non-redu	++	+++	+++	-	-
ILD 27	non-redu	-	+ (schwach)	-	-	-
ILD 28	non-redu	++	++	-	-	Durchgehend im höhermol. Bereich

3 Ergebnisse

ILD 29	non-redu	+++	+++	+++	-	Durchgehend im höhermol. Bereich
ILD 30	non-redu	+++	+++	+++	-	28kDa+ unspezifische Bande
ILD 32	non-redu	+ (schwach)	+++	+++	-	-
ILD 33	non-redu	+++	+++	+++	++	34++ , 90++ unspezifische Banden
ILD 34	non-redu	+ (schwach)	+++	-	++	-
ILD 35	non-redu	+++	+++	+++	++	-
ILD 36	non-redu	+++	+++	-	-	12kDa++ spez. Bande, und durchgehend unspez. Banden im höhermol. Bereich
ILD 38	non-redu	+++	+++	-	-	-
ILD 41	non-redu	+++	+++	-	-	-
ILD 42	non-redu	+++	+++	++	-	34++ , 52++ kDa unspezifische Banden
ILD 43	non-redu	-	+++	+++	-	34+ , 50+ kDa unspezifische Banden
ILD 44	non-redu	-	+++	+++	+++	-
ILD 46	non-redu	-	+++	+++	-	-
ILD 47	non-redu	-	++	++	-	-
NG 01	non-redu	+ (schwach)	+++	-	-	21-23 ++ , 42 ++
NG 24	non-redu	+ (schwach)	+ (schwach)	-	-	19-185 ++ durchgehend
ILD 01	redu	++	-	-	++	-
ILD 05	redu	++	-	-	-	-
ILD 06	redu	++++	-	-	-	-
ILD 09	redu	++	-	-	++	-
ILD 10	redu	-	+ (schwach)	-	-	-
ILD 12	redu	-	-	+++	-	54 kDa +++ spezifische Bande
ILD 11	redu	+++	-	-	++	42++ , 98++ spezifische Bande
ILD 13	redu	+++	-	++	-	54 kDa ++ unspezifische Bande
ILD 14	redu	+++	-	+++	-	54 kDa ++ unspezifische Bande

Tabelle 3-9: Häufigkeit der Banden in % aller Signale

Ergebnis	%	Anzahl
Gesamt	100	39
8 kDa	71	27
16-18 kDa	76	29
8 und 16 kDa	52	20
21-26 kDa	41	16
29-31 kDa	26	10
Weitere unspezifische Banden	47	18

3.1.3 SP – C

3.1.3.1 Gruppe unklare respiratorische Insuffizienz

3.1.3.1.1 Neugeborene Kinder

Bei 18 von 23 neugeborenen Kindern mit unklarer postpartaler respiratorischer Insuffizienz ließ sich Surfactantprotein C in der BAL sowohl unter reduzierenden als auch unter nicht reduzierenden Bedingungen in monomerer oder polymerer Form nachweisen.

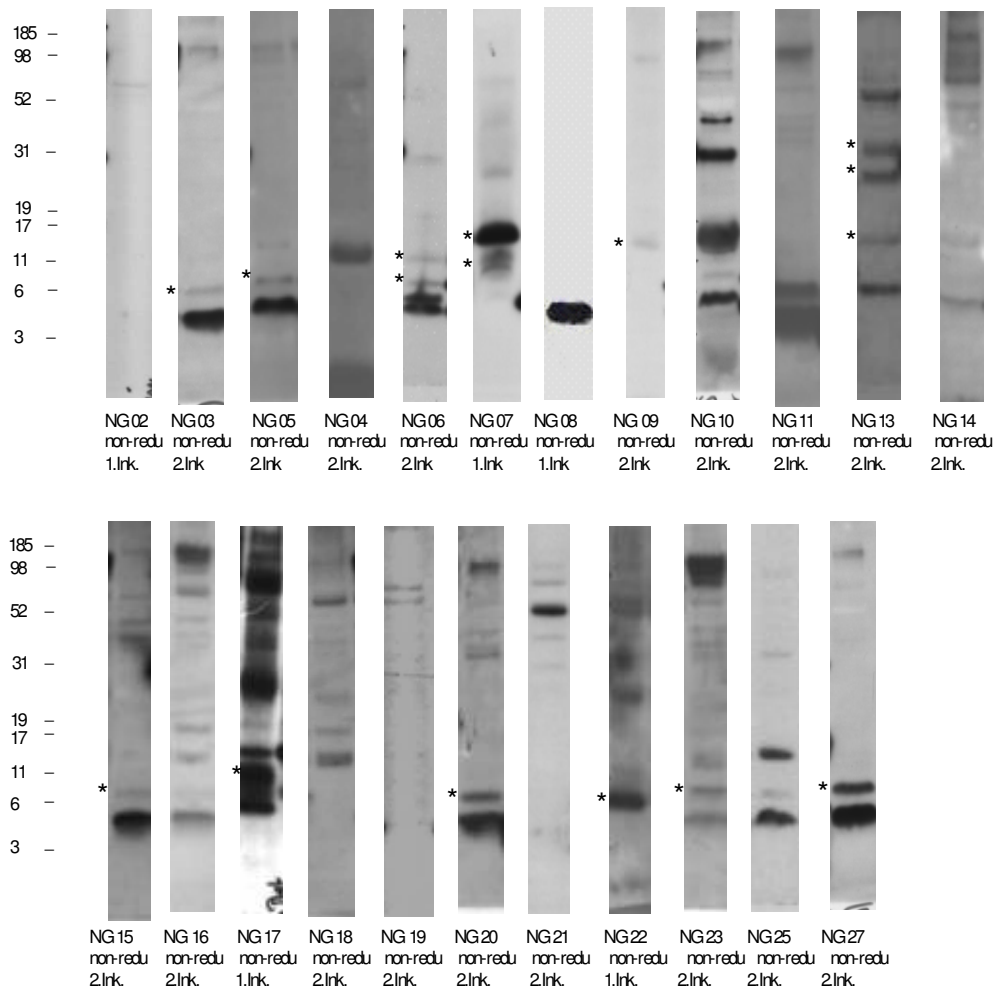


Abbildung 3-10: Inkubation der nativen Bronchiallavagen der Gruppe unklare respiratorische Insuffizienz bei Neugeborenen mit dem Antikörper gegen SP-C. Bei 18 von 23 Kindern wurde Surfactantprotein C mit einem Molekulargewicht von 4 bis 31 kDa detektiert.

- reifes SP-C bei 4-5 kDa
- Bande erklärbar durch vorherige Inkubation mit dem Antikörper gegen die Proform von SP-C
- * Dimeres oder polymeres Vorliegen von SP-C
- ▶ Unklare Bande

Beschreibung der Ergebnisse

SP-C-Monomere

Die Proben der Kinder NG 08, 10, 14, 16 und 25 zeigten Banden für SP-C nur bei 4-6 kDa. Diese Banden wurden als reifes Surfactantprotein C, vorliegend in monomerer Form, interpretiert.

SP-C-Dimere

Alleiniges dimeres Vorliegen fanden wir bei der Probe NG 22 bei 8 kDa.

SP-C-Trimere

NG 04 zeigte ein nur sehr schwaches Signal bei 12-13 kDa, dies wurde nicht sicher als reifes SP-C (in trimerer Form) gesehen. Dieses Signal wurde erst beim Auftragen von 20µg detektiert, bei vorherigen Versuchen mit 10 µg zeigte sich keinerlei Signal.

Monomere, Dimere, Trimere und Polymere

Eine größere Gruppe; NG 03, 05, 11, 15, 20, 23, 27, zeigte Monomere bei 4-6 und zusätzlich dimere Banden von SP-C bei 7 bis 8 kDa.

NG 06 zeigte monomere und polymere Banden bei 12 und 14-16kDa. NG 07 zeigte dimeres und polymeres SP-C jedoch keine monomeren Formen.

Sonderfall

Das Kind NG 17 zeigte monomeres SP-C bei 4-6 sowie polymeres Vorliegen bei 11-12 kDa. Außerdem fanden sich hier im höhermolekularen Bereich einige unklare Banden die weder sicher als reifes SP-C noch als durch vorherige Inkubation entstanden bezeichnet werden konnten. Diese Probe wurde –anders als sonst üblich- mit dem Antikörper gegen reifes SP-C inkubiert, danach erst mit dem Antikörper gegen die Proform. Trotzdem zeigen sich hier höhermolekulare Signale zwischen 25 und 185 kDa, diese werden als unspezifische Antikörperreaktionen interpretiert.

Banden erklärbar durch die vorherige Inkubation mit dem AK gegen Pro-SP-C

Alle Blots werden vor der Inkubation mit dem Antikörper gegen reifes SP-C, mit einem spezifischen Antikörper gegen die Proform von SP-C inkubiert (*N-Pro-SP-C-C2 von Davids*). Es werden zwei identische Blots angefertigt, davon wird einer nach

Zugabe des Antikörpers mit einem spezifischen Peptid inkubiert. Diejenigen Banden, die nach dieser Peptidzugabe verschwinden, sind als Pro-SP-C anzusehen.

Es treten mit dem Antikörper gegen Pro-SP-C auch unspezifische Antikörperreaktionen auf, diese bleiben auch nach Peptidzugabe sichtbar. Die Blots werden dann, vor der Inkubation mit dem Antikörper gegen reifes SP-C, viermal gewaschen. Trotzdem bleiben manche dieser unspezifischen Banden sichtbar und sind dann auch nach der Inkubation mit dem Antikörper gegen reifes SP-C noch zu sehen. Folgenden Proben zeigen solche unspezifischen Reaktionen:

NG 04, 10, 11, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 20, 21, 23, 25 und 27. Diese Banden zeigten sich zwischen 12 und 185 kDa.

Keine bzw. sehr schwache Banden für SP-C

NG 09 zeigte polymeres Vorliegen, allerdings nur ein sehr schwaches Signal, dieses wurde aber trotzdem als reifes SP-C gewertet.

Die Westernblots der Patienten NG 02, 04, 18, 19 und 21 zeigten bei Auftragen von 10 µg Proteinmenge keine oder eine verschwindend geringe Reaktion mit dem Antikörper gegen Surfactantprotein C.

Die Probe des Kindes NG 02 zeigt keine Reaktion mit dem Antikörper gegen SP-C.

Beim NG 18 finden sich Bandensignale bei 12, 17, 20-21 und 52 kDa. Diese sind durch die vorherige Inkubation mit dem Antikörper gegen die Proform von SP-C entstanden. Wir konnten bei dieser Inkubation weder mono- noch polymeres Vorliegen von Surfactantprotein C nachweisen.

Bei der Probe NG 04 zeigte sich nur ein Signal bei 12-13 kDa, dieses war durch Inkubation mit dem Antikörper gegen Pro-SP-C entstanden.

Ebenso zeigten sich bei der Probe NG 19 keine Banden im Bereich von SP-C. Die detektierten Banden bei 52 und 60 kDa waren eindeutig durch die vorherige Inkubation mit dem Antikörper gegen die Proform von SP-C entstanden.

NG 21 zeigte eine Bande bei 52 kDa. Auch diese war durch vorherige Inkubation mit dem Antikörper gegen Pro-SP-C entstanden.

Bei allen Proben wurden 10 µg Protein aufgetragen. Das Fehlen des Signals wegen zu wenig Proteins ist somit sehr unwahrscheinlich.

Mit diesem Ergebnis liegt bei fünf Kindern biochemisch eine SP-C-Defizienz vor. Diese werden deshalb im Folgenden näher beschrieben.

Semiquantitative Auswertung der Westernblotanalyse

Tabelle 3-10: Ergebnisse der Westernblotanalyse mit dem AK gegen SP-C der Gruppe NG

Code	Reduktion	4-6 kDa (monomer)	Dimere	Polymere	Zusätzliche Banden durch Inkubation mit Pro C erklärbar	Zusätzliche Banden
NG 02	non-redu	-	-	-	-	-
NG 03	non-redu	+++	7+	-	130+	-
NG 04	non-redu	-	-	-	12-13++	-
NG 05	non-redu	+++	8-9++	-	-	-
NG 06	non-redu	+++	-	12++, 14-16+++	-	-
NG 07	non-redu	-	++	+++	-	-
NG 08	non-redu	++++	-	-	-	-
NG 09	non-redu	-	-	12-13+ (schwach)	-	-
NG 10	non-redu	++	-	-	13-16++, 30-31++, 41-42++, 98++	-
NG 11	non-redu	++	++	-	98++	-
NG 13	non-redu	+	-	12-13++	24-25++, 30-31++	-
NG 14	non-redu	++	-	-	50-185++	-
NG 15	non-redu	+++	8+	-	40-41+, 60+, 185+	-
NG 16	non-redu	++	-	-	12-13++, 17-19++, 60++, 99++	-
NG 17	non-redu	+++	-	11-12+++	-	14++, 26++, 40-185++
NG 18	non-redu	-	-	-	12+++, 17++, 20-21++, 52++	-
NG 19	non-redu	-	-	-	55+, 60+	-
NG 20	non-redu	+++	7-8++	-	32++, 98++	-
NG 21	non-redu	-	-	-	52+++	-
NG 22	non-redu	-	8+++	-	-	-
NG 23	non-redu	+	7-8+	-	12+, 40+, 60+, 98+++	-
NG 25	non-redu	++	-	-	15-16++	-
NG 27	non-redu	+++	7-8++	-	130+	-

Klinische Charakterisierung der Patienten mit fehlendem SP-C

NG 02 siehe klinische Beschreibung in Kapitel 3.1.1.1.1.

NG 04

Das Kind ist ein ehemaliges Frühgeborenes der 26.SSW. Bei postpartalem ANS II wurde eine CPAP-Beatmung begonnen, eine Intubation war initial nicht erforderlich. Unter mehreren Steroidkursen besserte sich die Symptomatik teilweise, im weiteren Verlauf wurden immer wieder hochdosierte Steroidgaben verabreicht. Im Alter von drei Monaten (korr.) kam es zu einer erneuten Verschlechterung mit Intubationspflichtigkeit bei hohem Sauerstoffbedarf und Hyperkapnie. Ein angefertigtes CT des Thorax zeigte eine deutliche Destruktion des Lungengewebes mit Überblähung und zystischem Umbau. Es wurde eine HFO-Beatmung begonnen welche zu keiner Besserung der Oxygenierung führte. Bei ansteigendem rechtsventrikulärem Druck wurde eine NO-Beatmung begonnen, was zu einer minimalen Verbesserung der O₂-Sättigungswerte führte. Ein Erregernachweis als Hinweis auf eine Infektion konnte nicht erbracht werden. Im Alter von korr. 3 Monaten verstarb das Kind, eine Autopsie wurde seitens der Eltern abgelehnt.

NG 18

Das Kind NG 18 wurde nach 37. Schwangerschaftswochen wegen frühzeitigen Blasensprungs als hypotrophes Neugeborenes entbunden. Sofort postpartal war das Kind zyanotisch und schlapp, entwickelte sich dann aber zuerst gut. Nach zwei Stunden musste wegen zunehmendem O₂-Bedarf (unter CPAP-Anlage) intubiert werden. Die Familie des Kindes stammt aus dem Libanon, über den Verwandtschaftsgrad der Eltern ist uns nichts bekannt. Ein Geschwisterkind ist ein ehemaliges Frühgeborenes.

Bei diesem Kind lag zudem eine Gallengangsatresie vor. Im CT des Thorax war ein zystisch-wabiger Lungengerüstumbau zu sehen

Das Kind wurde dann zur weiteren Diagnostik von der Geburtsklinik nach München verlegt. Eine Verbesserung der Beatmungssituation konnte im Rahmen des stationären Aufenthaltes nicht erreicht werden. Es kam zu einer zunehmenden Verschlechterung der respiratorischen Funktion. Die mitgebrachten CT-Bilder wurden hier als Hinweis auf eine pulmonale Lymphangiektasie beurteilt. Das Kind war zum Zeitpunkt dieser Diagnostik 6 Wochen alt.

Es wurde eine Leber- und eine Lungenbiopsie durchgeführt. Die Leber zeigte eine grün-bräunliche, derb-höckrige Konsistenz. Eine Gallenblase war nicht vorhanden. Die Lunge war entzündlich verändert mit verbackenen Lappengrenzen und ließ sich nicht blähen.

Unter Berücksichtigung des histopathologischen Befundes und den CT-Bildern wurde das Biopsat vom Pathologen als diffuse pulmonale Lymphangiektasie mit sekundären alveolarseptalen Veränderungen wie bei einem Wilson-Mikity-Syndrom beurteilt.

Der weitere Verlauf war gekennzeichnet von Hyperkapnie und respiratorischer Azidose, mit Aszitesbildung und daraus resultierendem Zwerchfellhochstand. Eine weitere Erhöhung des Beatmungsdruckes führte nur zu mehr Überblähung ohne den Gasaustausch zu verbessern. Das Kind verstarb im Alter von zwei Monaten im hypoxischem Herz-Kreislaufversagen.

NG 19

Das Kind NG 19 kam als reifes Neugeborenes der 37. Schwangerschaftswoche zur Welt. Die Eltern des Kindes sind nicht blutsverwandt, es waren bis dahin bei Geschwistern oder in der näheren Verwandtschaft keine ähnlichen Erkrankungen aufgetreten.

Es kam unter Sauerstoffvorlage von 2,5 l/min zu Beginn auf gute Sättigungswerte. Später wurde bei respiratorischer Verschlechterung Surfactant appliziert, dies führte jedoch nur zu kurzfristiger Besserung der Symptomatik.

Im CT-Thorax zeigten sich hyaline Membranen als Hinweis auf ein ARDS; das Kind war kein ehemaliges Frühgeborenes. Dieses Kind musste nach der bronchoalveolären Lavage im Alter von wenigen Tagen weiter mit künstlichen Surfactant versorgt werden, auch sonst bestand klinisch keine Besserung.

NG 21

Das Kind kam als reifes Neugeborenes der 38. SSW zur Welt. Die Eltern sind nicht blutsverwandt, es waren bis dahin bei Geschwistern oder in der näheren Verwandtschaft keine ähnlichen Erkrankungen aufgetreten.

Es zeigte postpartal klinisch Zeichen einer Pneumonie und wurde dementsprechend mit Antibiotika (Gentamicin, Ampicillin und Penicillin) behandelt. Im weiteren Verlauf entwickelte sich dann eine zunehmende Tachydyspnoe, es bildete sich ein Pneumothorax aus. Es wurde im Verlauf Surfactant appliziert, dies führte jedoch nur zu kurzfristiger Besserung der Symptomatik.

Bei persistierender Hyperkapnie musste das Kind intubiert werden. Nach fünf Tagen konnte problemlos extubiert werden. Zum Zeitpunkt der Intubation waren im Röntgen-Thorax des Kindes fein- bis grobgranuläre, konfluierende, inhomogene Verschattungen mit perihilärem Luftbronchogramm und leichter Überblähung zu sehen. Bis zur Entlassung kam es zur weitgehenden Rückbildung des Befundes.

An extrapulmonaler Symptomatik zeigte sich bei der Herzechokardiographie ein offenes Foramen ovale mit Links-Rechts-Shunt.

Wegen zunehmender Besserung wurde bis auf die BAL keine weitere, invasivere Diagnostik mehr durchgeführt, im Alter von 15 Lebenstagen konnte das Kind ohne Medikation oder Sauerstoffbedarf nach Hause entlassen werden.

Bei keinem der Kinder wurde ein Zytospin durchgeführt.

3 Ergebnisse

Die folgende Abbildung zeigt noch einmal die Proben mit fehlendem SP-C-Signal.

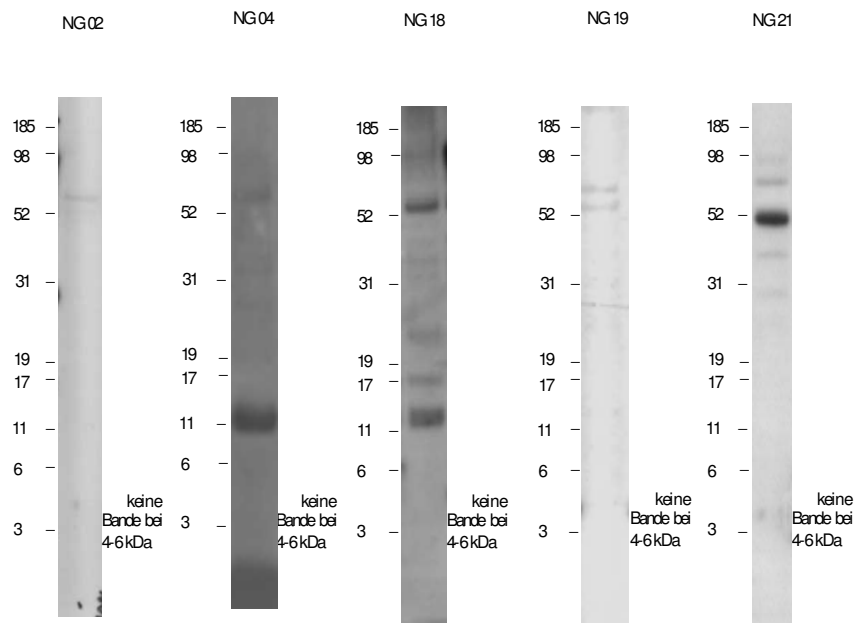


Abbildung 3-11: Westernblotanalysen der NG-Proben 02, 04, 18, 19 und 21 nach Inkubation mit dem Antikörper gegen Surfactantprotein C.

— unspezifische Bande, erklärbar durch vorherige Inkubation mit dem AK gegen Pro-SP-C

3.1.3.1.2 Nicht Neugeborene Kinder

In dieser Gruppe von fünf Kindern mit respiratorischer Insuffizienz wurden bei drei von fünf Kindern Banden von 4-5 kDa detektiert und damit der Nachweis von reifem Surfactantprotein C erbracht. In einer Probe fanden wir nur höhermolekulare Formen von SP-C. Ebenfalls in einer Probe konnten wir keinerlei SP-C nachweisen.

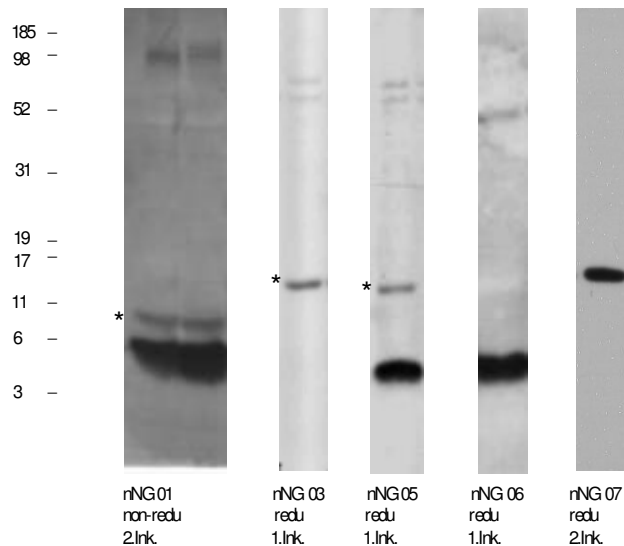


Abbildung 3-12: Inkubation der nativen Bronchiallavagen der Gruppe unklare respiratorische Insuffizienz bei nicht NG mit dem AK gegen SP-C. Bei 4 von 5 Kindern wurde SP-C detektiert.

- reifes SP-C bei 4-5 kDa
- Bande erklärbar durch vorherige Inkubation mit dem Antikörper gegen Pro-SP-C
- * Dimeres oder polymeres Vorliegen von SP-C
- ▶ Unklare Bande

Beschreibung der Ergebnisse

SP-C-Monomere

Bei einer Probe nNG 06 lag nur ein SP-Monomer bei 4-5 kDa vor.

SP-C-Dimere

Proben mit alleinigem Vorliegen von Dimeren gab es in dieser Gruppe keine.

SP-C-Trimere

Das Kind nNG 03 zeigte nur eine Bande bei 12-13 kDa und somit ein Trimer, es handelt sich hierbei um die erste Inkubation unter reduzierenden Bedingungen.

Monomere, Dimere, Trimere und Polymere

nNG 01 zeigte ein Monomer bei 4-5 kDa sowie ein Dimer bei 7-8 kDa. nNG05 zeigte monomere Formen bei 4-5 und trimere Formen bei 12-13 kDa.

Banden erklärbar durch die vorherige Inkubation mit dem AK gegen Pro-SP-C

Wie im vorherigen Kapitel beschrieben manchmal unspezifische Banden sichtbar auch nach der Inkubation mit dem Antikörper gegen reifes SP-C. Probe nNG 07 zeigte ein solches Signal bei 16-17 kDa.

Keine Banden für SP-C

Die Bande beim nNG 07 bei 16-17 kDa wird nicht als Dimer von SP-C interpretiert. Es liegt eher eine unspezifische Reaktion mit dem Antikörper gegen die Proform von Surfactantprotein C vor. Die Begründung für diese Annahme ist, dass genau diese Bande nach der ersten Inkubation mit dem Antikörper gegen die Proform von SP-C bereits vorlag. Bei diesem Kind konnten wir demnach kein reifes Surfactantprotein C nachweisen.

Somit haben vier der fünf Kinder ein normales Bandenmuster.

Klinische Charakterisierung der Patienten nNG 03 und nNG 07

nNG 03

Das Kind wurde nach normaler Schwangerschaft in der 39. Schwangerschaftswoche komplikationslos als eutrophes Neugeborenes zur Welt gebracht. Sofort postpartal setzte eine respiratorische Anpassungsstörung im Sinne eines ARDS ein. Das Kind wurde beatmet und künstlicher Surfactant musste appliziert werden. Dies führte nicht zu einer klinischen Besserung. Nach 7-monatiger Beatmungsdauer verstarb das Kind bei respiratorischer Erschöpfung.

nNG 07

Beim nNG 07 handelt es sich um ehemaliges Frühgeborenes der 36. Schwangerschaftswoche, die Geburt wurde wegen frühzeitigen Blasensprunges eingeleitet. Die Eltern sind blutsverwandt (Cousin und Cousine I.Grades).

Bereits in der 18. SSW erfolgte die sonographische Feststellung von Verkürzung der Extremitäten. Es wurde die Diagnose disproportionierte Wachstumsretardierung gestellt. Ein Abbruch wurde angeraten, von den Eltern jedoch abgelehnt. In der 30.SSW sah man eine deutliche Verbiegung der Röhrenknochen und mangelhafte Ossifikation des Schädelknochens.

3 Ergebnisse

Auch dieses Kind wurde sofort postpartal respiratorisch insuffizient. Es wurde ein Tracheostoma angelegt und eine Langzeitbeatmung begonnen. Im weiteren Verlauf entwickelte das Kind vermehrt pulmonale Infekte im Rahmen der Dauerbeatmung. In bildgebenden Verfahren zeigten sich wiederholt wechselnde Atelektasen in der Lunge, sowie eine Mineralisationsstörung der Knochen. Es wurde die Diagnose einer neonatalen Hypophosphatasie gestellt. Im Alter von 1,5 Jahren wurde das Kind zur weiteren Versorgung verlegt. Es war weiterhin beatmet sowie wegen Schluckunfähigkeit dauersondiert mit einer PEG-Sonde.

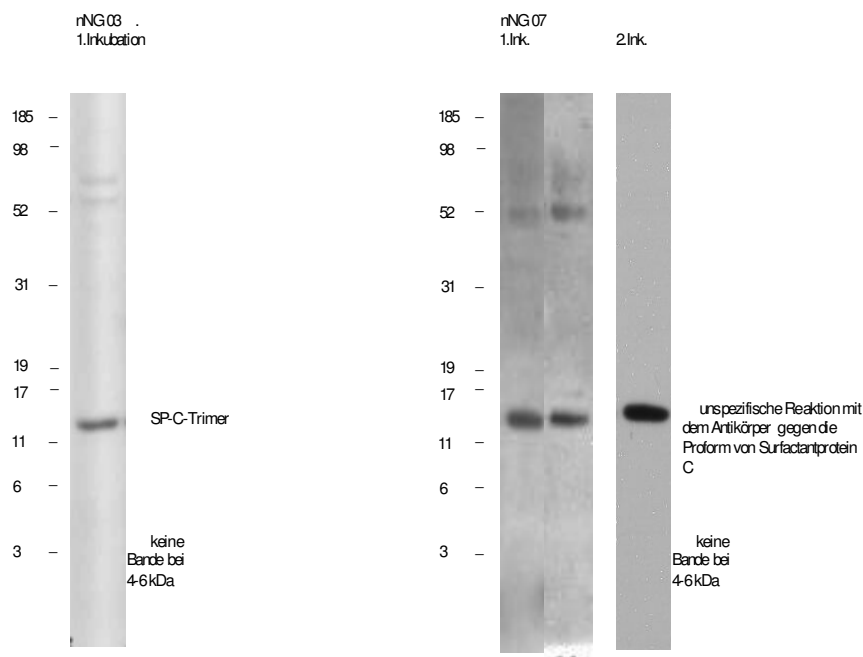


Abbildung 3-13: Westernblotanalysen der Proben 03 und 07 nach Inkubation mit dem AK gegen SP-C

Semiquantitative Auswertung der Westernblotanalyse

Tabelle 3-11: Ergebnisse der Westernblotanalyse mit dem AK gegen SP-C der Gruppe nNG

Code	Reduktion	4-6 kDa (monomer)	Dimere	Polymere	Zusätzliche Banden durch Inkubation mit Pro C erklärbar	Unklare zusätzliche Banden
nNG 01	non-redu	+++	7-8++	-	98++	-
nNG 03	redu	-	-	12-13++	-	-
nNG 05	redu	+++	-	12-13++	-	-
nNG 06	redu	+++	-	-	-	-
nNG 07	redu	-	-	-	16-17++	-

3 Ergebnisse

3.1.3.2 Gruppe interstitielle Lungenerkrankungen

In dieser Gruppe von 39 Kindern fanden wir bei 34 Proben entweder unter reduzierenden oder unter nicht reduzierenden Bedingungen SP-C-immunreaktive Banden.

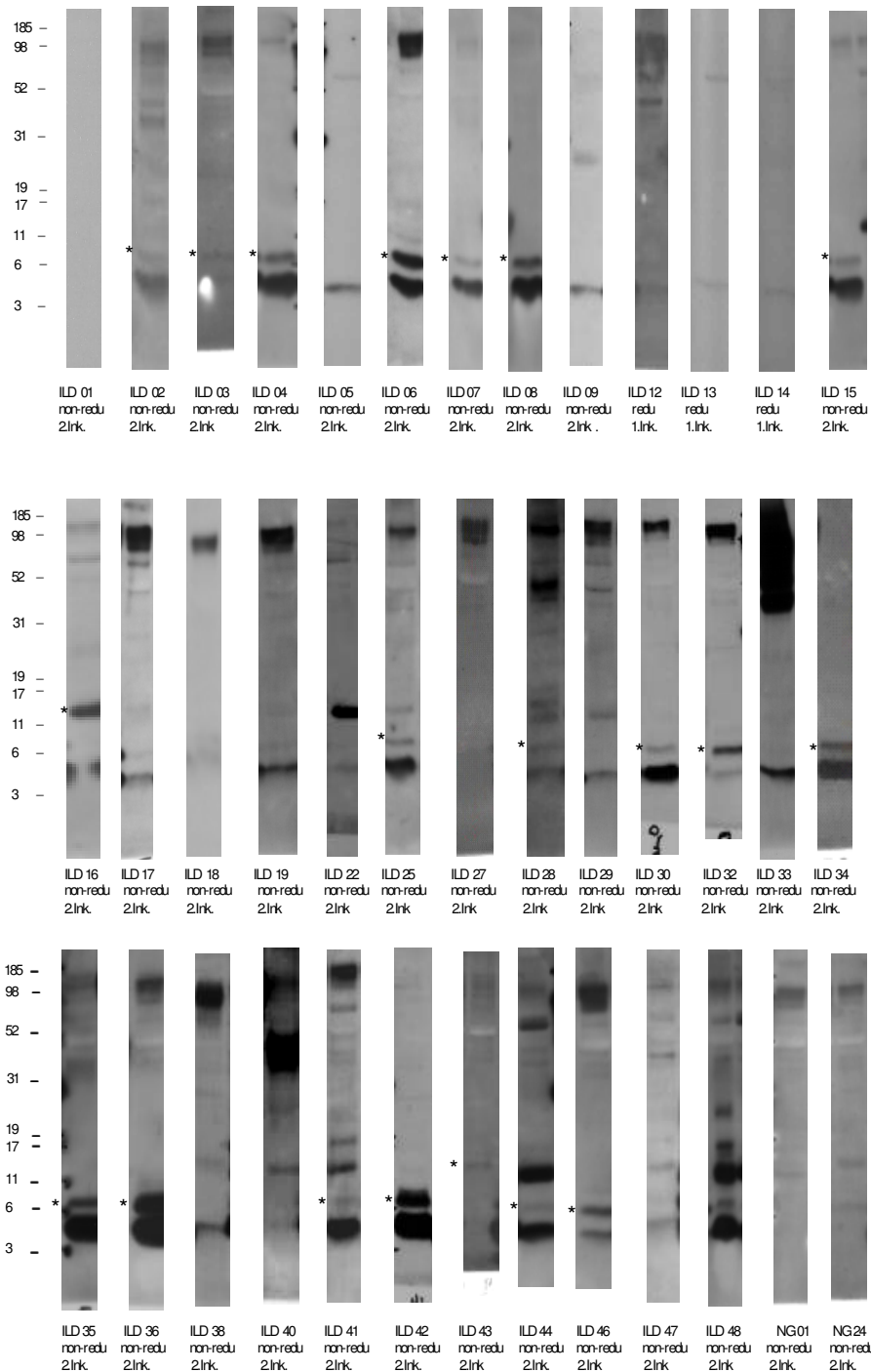


Abbildung 3-14: Inkubation der Bronchiallavagen der Gruppe ILE mit dem Antikörper gegen SP-C.

- reifes SP-C bei 4-5 kDa
- Bande erklärbar durch vorherige Inkubation mit dem Antikörper gegen Pro-SP-C
- * Dimeres oder polymeres Vorliegen von SP-C
- ▶ Unklare Bande

Beschreibung der Ergebnisse

SP-C-Monomere

Bei den Proben ILD 05, 09, 12, 13, 14, 17, 19, 22, 29, 33, 38, 40 und 47 fanden wir reifes SP-C nur in monomerer Form.

Davon waren die Proben ILD 12, 13, 14, 22, 40 und 47 auffällig dadurch, dadurch dass sie sehr schwache Signale zeigten.

SP-C-Dimere

Das Kind ILD 03 zeigte nur SP-C-Dimere im Bereich von 7 bis 8 kDa, das Signal war sehr schwach.

SP-C-Trimere

ILD 16 und ILD 43 hatten nur trimere Formen von SP-C in der BAL vorliegen, im Bereich von 11 bis 14 kDa. Das Signal der Probe ILD 43 war sehr schwach.

Monomere, Dimere, Trimere und Polymere

In dieser Gruppe fanden wir bei einer großen Zahl von Kindern monomere und polymere Formen von SP-C. Es handelt sich dabei um folgende Proben; ILD 02, 04, 06, 07, 08, 15, 25, 28, 30, 31, 32, 34, 35, 36, 41, 42, 44, 46 und 48.

Banden erklärbar durch die vorherige Inkubation mit dem AK gegen Pro-SP-C

Folgenden Proben zeigten unspezifischen Reaktionen: ILD 02, 03, 04, 06, 16, 17, 18, 19, 22, 25, 27, 28, 29, 30, 32, 33, 35, 36, 38, 40, 41, 43, 44, 46, 47, NG 01 und 24.

Unklare Banden

In der Probe ILD 12 fanden wir ebenso zusätzlich zum reifen Surfactantprotein C höhermolekulare Banden bei 34 sowie bei 52-98 kDa. Da diese die erste Inkubation war, das heißt es fand zuvor keine Inkubation mit dem Antikörper gegen die Proform von Surfactantprotein C statt, werden diese Banden als unspezifische Reaktionen mit dem Antikörper gegen Surfactantprotein C interpretiert.

Eventuell kann die Bande bei 34 kDa auch als polymeres SP-C gedeutet werden.

Keine bzw. sehr schwache Banden für SP-C

Einige Proben (ILD 12, 13, 14, 22, 40, 47) zeigten an monomerer oder polymerer Stelle nur sehr schwache Signale. Diese Proben zeigten als einzige Reaktion auf den SP-C-Antikörper ein sehr schwaches Signal.

Bei fünf Kindern (ILD 01, 18 und 27, NG 01 und 24) fanden wir keinerlei Signale für reifes SP-C.

Die Probe ILD 01 wurde aus Materialknappheit nur mit 5 µg inkubiert, dies gibt dem Fehlen der Bande eine geringere Aussagekraft.

Die Probe ILD 18 zeigt nur eine unspezifische Reaktion gegen den Antikörper gegen Pro-SP-C im Bereich von 98 kDa. Die Probe ILD 27 zeigte ebenfalls nur unspezifische Reaktionen gegen den Antikörper gegen Pro-SP-C im Bereich von 98 kDa.

Das Kind NG 01 zeigt kein Signal im Bereich von 4-6 kDa. Auch höhermolekulares Vorliegen von SP-C konnte nicht nachgewiesen werden. Das Signal im Bereich von 185 kDa wird als unspezifische Antikörperreaktion interpretiert. NG 24 zeigte nur unspezifische Reaktionen; bei 15-16 und 98 kDa.

Abb. 3-15 zeigt die Proben mit fehlendem SP-C-Nachweis.

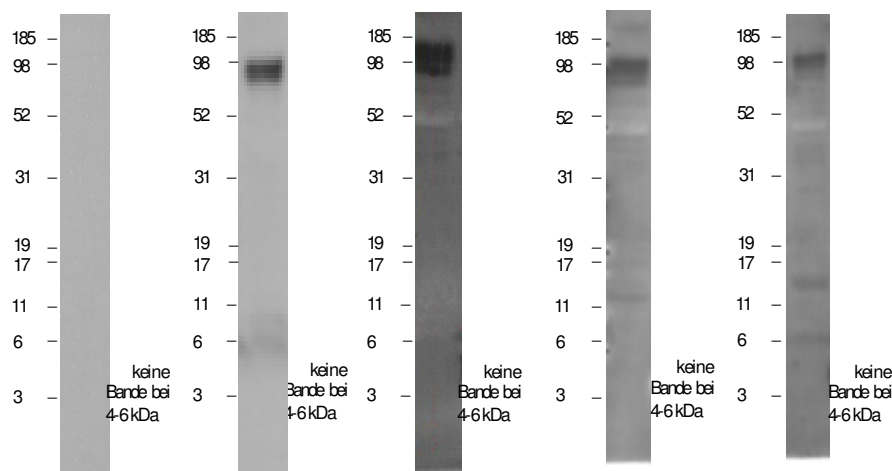


Abbildung 3-15: Westerblotanalysen der Proben ILD 01, 18, 27 sowie NG 01 und 24 nach der Inkubation mit dem Antikörper gegen Surfactantprotein C

Klinische Charakterisierung der Kinder ohne SP-C-Nachweis

ILD 01

Das Kind ILD 01 leidet unter einer bis zum Beginn der Untersuchung unklaren interstitiellen Lungenerkrankung. Es wurde in einer Klinik in England entbunden und auch dort behandelt, die folgenden Angaben sind den Unterlagen entnommen, die von dieser Klinik zusammen mit der BAL-Probe zur Diagnostik geschickt wurden.

Das Kind ILD 01 ist ein ehemaliges hypotrophes Frühgeborenes der 33. Schwangerschaftswoche. Die Familie stammt aus dem Oman, die Eltern sind konsanguine Cousins ersten Verwandtschaftsgrades. Laut Angaben der Eltern gab es in der Verwandtschaft bis dahin noch keine ähnlichen Erkrankungen. Das Kind selbst ist das erste Kind der Eltern (Mutter G0 P0). Der Beginn der respiratorischen Probleme war sofort nach der Geburt, das Kind musste nach anfänglicher Sauerstoffvorlage intubiert werden. Im Röntgen-Thorax zeigten sich zu diesem Zeitpunkt bereits pulmonale Verdichtungen mit Ausbildung einer weißen Lunge. Auch im weiteren Verlauf persistierte eine interstitielle Verdichtung mit Überblähung der Lunge. Weiterhin wurden ein pulmonaler Hypertonus, eine dilatative Kardiomyopathie sowie eine zerebrale Atrophie diagnostiziert. In der bronchoalveolären Lavage fanden sich im Zytospin laut Arztbrief vermehrt neutrophile Granulozyten als Hinweis auf entzündlichen Prozess. Es wurden jedoch keine Werte angegeben. An Medikation wurden in dieser Klinik systemisch Kortikosteroide, L-Thyroxin und Clotrimazol (TMP-SMX) gegeben. Über den weiteren Verlauf ist leider nichts bekannt.

ILD 18

Das Kind ILD 18 leidet unter einer Cholesteroidpneumonie. Zum ersten Mal auffällig wurde es im Alter von sechs Jahren als bei einem Routine-Röntgen-Thorax im Rahmen der OP-Vorbereitung zum Verschluss eines Atrium-Septum-Defektes streifige Verschattungen entdeckt wurden. In der angeschlossenen Lungenfunktionsuntersuchung zeigte sich eine deutliche restriktive Ventilationsstörung.

In der Vorgeschichte ergab sich, dass das Kind im Prinzip seit früher Kleinkindzeit von der Belastbarkeit her eingeschränkt war, seit längerer Zeit bestünden schon Uhrglasnägel. Beides erklärten sich die Eltern mit dem bestehenden ASD, deshalb wurde auch keine weitere Diagnostik angestrebt. Husten oder gehäufte pulmonale

Infekte wurden verneint. Im Rahmen der Untersuchungen wegen des Atrium-Septum-Defektes war ein leichter pulmonaler Hypertonus aufgefallen. Zudem besteht bei dem Kind eine konnatale Hypothyreose, die mit L-Thyroxin eingestellt wurde. Zu diesem Zeitpunkt sowie im weiteren Verlauf war der Junge stets sehr schlank, mit 4,3 kg (fast 20%) unter seinem Sollgewicht. Über der Lunge war ein normales Atemgeräusch sowie basal ein endexpiratorisches Knistern zu hören. Zusätzlich zu den aufgefallenen Uhrglasnägeln fanden sich ausgeprägte Trommelschlegelfinger.

Der LDH-Wert im Serum betrug zu diesem Zeitpunkt 398 U/L (Normwert bei Kindern bis 300 U/L). In der Zytologie der BAL fanden sich 400 Zellen/ μ l (86% Makrophagen teilweise auffallend groß und schaumig, 8% Lymphozyten, 5% Segmentkernige, 1% Eosinophile, keine Keime, Fettmakrophagen 0%, reichlich Siderophagen).

Im weiteren Verlauf vermehrten sich die diffusen alveolären Infiltrate in der Bildgebung. Die Lungenbiopsie ergab den Befund einer Cholesteroidpneumonie, in der BAL zeigte sich ebenso eine ausgeprägte Fettspeicherung der Makrophagen. Seit dem ersten Lebensjahr ist bei dem Kind eine Erhöhung der Serum-Cholesterinwerte bekannt, es wurde jedoch weder angeborene Fettstoffwechselstörung, gastro-ösophagealer Reflux oder die Einnahme lipidhaltiger Medikamente festgestellt die die Genese der Erkrankung erklären könnten.

Als Therapieversuch wurden therapeutische Lungenlavagen begonnen. Das heutige Befinden des Kindes ist leider nicht bekannt. In einer Analyse des Blutes auf einen Defekt im codierenden Bereich für den ABCA3-Transporter wurde keine Mutation gefunden.

ILD 27

Das Kind ILD 27 ist ein reifes Neugeborenes. Wenige Stunden postpartal kam es zu einer zunehmende respiratorischen Verschlechterung und zu einer deutlichen Zyanose. Das Kind wurde intubiert, darunter kam es zur Besserung der Symptomatik, im Laufe der Zeit auch zu einer BPD.

Der ältere Bruder litt nach der Geburt unter ähnlichen Symptomen, ist heute im Alter von 13 Jahren aber in einem guten Zustand.

NG 01

Dieses Kind ist ein Reifgeborenes der 39.SSW. Es zeigte unmittelbar postpartal keine Spontanatmung und wurde nochwährend der Erstversorgung intubiert. Es entwickelte außerdem einen Pneumothorax. Wegen Zunahme der respiratorischen Verschlechterung erfolgte die einmalige Surfactantgabe ohne deutliche Besserung. Anamnestisch ist die Mutter Raucherin.

Die Eltern stammen aus der Türkei, sie sind konsanguin. Es wurde berichtet, dass zwei Kinder in der Vergangenheit früh verstarben an einer PAP-Symptomatik (zwei Jungen, Geburtsjahr 1996 und 1998). Ein weiterer Junge (geboren 2000) war zu diesem Zeitpunkt ca. zwei Jahre alt und gesund.

Im Röntgen-Thorax zeigte sich zum Zeitpunkt der Symptomatik eine homogene Verschattung beider Lungen, ein CT wurde nicht durchgeführt.

Es wurden systemisch Steroide gegeben. Im Verlauf bestanden weiterhin extreme O₂-Sättigungsschwankungen. Die Beatmung wurde am 17. LT abgestellt mit Einverständnis der Eltern. Post mortem wurde über genetische Analytik ein Defekt des ABCA-3-Transporters festgestellt.

NG 24

Hier wurde die Probe aus dem europäischen Ausland zu uns versandt. Im Zuge dessen war es schwierig eine komplette medizinische Vorgeschichte zu erhalten. Folgendes ist bekannt.

Das Kind ist ein eutrophes NG (SSW nicht bekannt, kein FG). Postpartal entwickelte es ein ANS, war auf O₂-Zufuhr angewiesen. Es wurde bei Verdacht auf PAP eine BAL durchgeführt. Die Diagnose hyaline membrane disease wurde gestellt. Der weitere Verlauf unbekannt.

Später wurde über genetische Analytik ein Defekt des ABCA-3-Transporters festgestellt.

Semiquantitative Auswertung der Westernblotanalyse

Tabelle 3-12: Ergebnisse der Westernblotanalyse mit dem Antikörper gegen SP-C der Gruppe ILE

Code	Reduktion	4-6 kDa (monomer)	Dimere	Polymere	Banden (durch Inkubation mit NProSP-C erklärbar)	Unklare Banden	Proteinmenge (µg)
ILD 01	non-redu	-	-	-	++	-	5
ILD 02	non-redu	++	+	-	33-36+, 97-98+	-	10
ILD 03	non-redu	-	+	-	40+, 98+	-	10
ILD 04	non-redu	+++	+	-	98+	-	10
ILD 05	non-redu	++	-	-	-	-	5
ILD 06	non-redu	+++	+++	-	98+++	-	5
ILD 07	non-redu	++	+	-	-	-	10
ILD 08	non-redu	+++	++	-	-	-	10
ILD 09	non-redu	++	-	-	-	-	5
ILD 12	redu	+ (schwach)	-	-	-	34+,52-98+	5
ILD 13	redu	+	-	-	-	-	5
ILD 14	redu	+	-	-	-	-	5
ILD 15	non-redu	+++	++	-	-	-	10
ILD 16	non-redu	-	-	++	60+, 98-185+	-	10
ILD 17	non-redu	++	-	-	60+, 98+	-	10
ILD 18	non-redu	-	-	-	98+	-	10
ILD 19	non-redu	+++	-	-	98+++	-	10
ILD 22	non-redu	+ (schwach)	-	-	11-12++ geht nicht weg durch Peptidzugabe	-	10
ILD 25	non-redu	+++	++	-	11-12++ geht nicht weg durch Peptidzugabe	-	10
ILD 27	non-redu	-	-	-	98++	-	10
ILD 28	non-redu	++	+	-	11-17+,45+,98+	-	10
ILD 29	non-redu	++	-	-	12+, 40+, 98+++	-	10
ILD 30	non-redu	+++	++	-	98++	-	10
ILD 31	non-redu	++	+	-	40-52+, 98-185	-	10
ILD 32	non-redu	+	++	-	98+++	-	10
ILD 33	non-redu	+++	-	-	98-185+++	-	10
ILD 34	non-redu	++	++	-	-	-	10
ILD 35	non-redu	+++	++	-	-	-	10
ILD 36	non-redu	+++	+++	-	98+	-	10
ILD 38	non-redu	++	-	-	98+	-	10
ILD 40	non-redu	+ (schwach)	-	-	11-12++ geht nicht weg durch Peptidzugabe, 40+++ , 98+++	-	10
ILD 41	non-redu	+++	+	-	12-13+, 17-18+,70+,185++	-	10
ILD 42	non-redu	+++	+++	-	-	-	10
ILD 43	non-redu	-	-	13-14+	40+, 98+	-	10
ILD 44	non-redu	+++	+	-	11-13++ geht nicht weg durch Peptidzugabe	-	10
ILD 46	non-redu	++	++	-	60+++	-	10
ILD 47	non-redu	+ (schwach)	-	-	40+,98+	14+	10
ILD 48	non-redu	+++	+	-	14++, 18++	-	10
NG 01	non-redu	-	-	-	185++	-	10
NG 24	non-redu	-	-	-	15-16++,98+	-	10

3.2 Quantitative Auswertung

Im Folgenden sind die Ergebnisse der Quantifizierung von Pro-SP-B, SP-B, SP-C der untersuchten Gruppen sowie einer Kontrollgruppe aufgeführt. Die Berechnungen beziehen sich auf die Anzahl der monomeren bzw. polymeren Moleküle. Abbildungen befinden sich im Anhang (6.2).

3.2.1 Gruppe unklare respiratorische Insuffizienz

3.2.1.1 Neugeborene Kinder

Tabelle 3-13: SP-C-Werte der Gruppe NG mit respiratorischer Insuffizienz

Code	mm ² Standard (=25 ng SP-C)	mm ² Probe (monomer)	mm ² Probe (Dimer, Polymer)	SP-C ng (monomer)	SP-C ng (Dimer, Polymer)	Protein µg/ml	SP-C ng/ml (monomer)	SP-C ng/ml (Dimer, Polymer)
NG 02	10	0	0	0	0	632,1	0	0
NG 03	21	15	6	17,85	7,2	120,2	215	86,7
NG 04	32	0	0	0	0	1036,2	0	0
NG 05	42	14	5	8,3	3	96,4	80	28,8
NG 06	18	12	5	17	7	147,5	250	103
			5		7	147,5		103
NG 07	26,25	-	10	18,6	9,5	112,8	209	97
			12		11,5	112,8		117
NG 08	21	15	0	17,85	0	105,3	188	0
NG 09	24	3	0	3,2	0	281,4	90	0
NG 10	19,5	9	0	11,5	0	198,2	228	0
NG 11	42	27	9	16	6,4	1064	1702	1280
NG 13	9	6	5	16,7	14	321,3	537	452
			5		14	321,3		452
			7,5		21	321,3		677
NG 14	42	6	0	4	0	82,07	33	0
NG 15	36	19,25	4	13,4	2,8	780,7	1045	215
NG 16	35	6	0	4,3	0	422,9	182	0
NG 17	20	7,5	15	9,4	18,7	384,2	361,5	719
NG 18	42	0	0	0	0	361,5	0	0
NG 19	21	0	0	0	0	137,9	0	0
NG 20	30	18	6	15	5	376,28	564	185
NG 21	28	0	0	0	0	657,3	0	0
NG 22	12	0	10	0	21	629,1	0	1321
NG 23	26	6	4	6	3,8	554,77	333	211
NG 25	21	14	0	16,7	0	213,8	143	0
NG 27	22,75	21	6	23	6,6	209,2	481	137,5

SP-C ng (monomere)		SP-C ng (dimere, polymere)	
n	23	n	27
Mittelwert ±SE	9,513 ± 1,608	Mittelwert ±SE	5,87 ± 1,311
Median (25.;75.P)	9,4 (0;16,7)	Median (25.;75.P)	3,8 (5,7;14)
[Min-Max]	30-23	[Min-Max]	21-21

SP-C ng/ml (monomere)		SP-C ng/ml (dimere, polymere)	
n	23	n	27
Mittelwert ±SE	288,8 ± 82,68	Mittelwert ±SE	229,1 ± 71,08
Median (25.;75.P)	188 (0; 361,5)	Median (25.;75.P)	97 (0; 215,0)
[Min-Max]	0-1702	[Min-Max]	0-1321

3 Ergebnisse

Tabelle 3-14: Summe SP-C (ng) aus mono-, -di und trimeren Molekülen

Code	Summe aller SP's (ng)	SP-C gesamt/Protein (ng/mg)	% monomere Formen von Gesamt-SP pro Probe	% dimere, polymere Formen von Gesamt SP pro Probe
NG 02	0	0	100	
NG 03	25,05	2502	40	60
NG 04	0	0	33,3	66,7
NG 05	11,3	1130	38,7	61,3
NG 06	31	3100	32	68
NG 07	39,6	3960		100
NG 08	17,85	1785	22,2	77,8
NG 09	3,2	320	40,6	59,4
NG 10	11,5	1150	30,5	69,5
NG 11	22,4	2240	27,1	72,9
NG 13	65,7	6570	21,8	78,2
NG 14	4	400	100	
NG 15	16,2	1620	40	60
NG 16	4,3	430	100	
NG 17	28,1	2810	40	60
NG 18	0	0	33,3	66,7
NG 19	0	0	38,7	61,3
NG 20	20	2000	32	68
NG 21	0	0		100
NG 22	21	2100	22,2	77,8
NG 23	9,8	980	40,6	59,4
NG 25	16,7	1670	30,5	69,5
NG 27	29,6	2960	27,1	72,9

Tabelle 3-15: Auswertung der Summen von SP-C ng aus mono-, -di und trimeren Molekülen

Code	SP-C/ Protein (ng/mg)	% monomere Formen	% dimere, polymere Formen
n	23	21	20
Mittelwert ±SE	1640± 331,3	42,41± 5,429	70,47± 2,669
Median (25.,75.P)	1620 (320; 2502)	33,3 (28,8; 40,3)	68 (60,65; 75,35)
[Min-Max]	0-6570	21,8-100	59,4-100

Tabelle 3-16: Pro-SP-B-Werte der Gruppe NG mit respiratorischer Insuffizienz, reduziert und nicht-reduziert

Code	mm ² Referenz-Probe (kDa)	mm ² Probe (kDa)	Pro-SP-B der Probe in % vom Referenzwert
NG 02	3 (19-21)	0	- (*)
	20 (25-26)	0	-
NG 03	0,5 (13-16)	4 (13-16)	800 (13-16)
	35 (19-42)	35 (19-42)	100 (19-42)
NG 04	5 (19-21)	5 (19-21)	100 (19-21)
	20 (25-26)	25 (25-26)	125 (25-26)
NG 05	5 (19-21)	5 (19-21)	100 (19-21)
	höhermolekular komplette Schwärzung	höhermolekular komplette Schwärzung	höhermolekular komplette Schwärzung
NG 06	5 (19-21)	10 (19-21)	50 (19-21)
NG 07	20 (19-21)	35 (19-21)	175 (19-21)
	0 (34-36)	4 (34-36)	- (34-36) (**)
NG 08	15 (25-26)	25 (25-26)	100 (25-26)
NG 10	12 (25-26)	24 (25-26)	200 (25-26)
	2 (52-60)	3 (52-60)	150 (52-60)
NG 11	0,5 (19-21)	5 (19-21)	1000 (19-21)
	5 (52-60)	20 (52-60)	400 (52-60)
NG 13	5 (19-21)	5 (19-21)	100 (19-21)
	20 (25-26)	20 (25-26)	100 (25-26)
	15 (34-36)	10 (34-36)	67 (34-36)
	10 (40-42)	5 (40-42)	50 (40-42)
NG 14	12 (13-16)	20 (13-16)	166 (13-16)
	60 (34-36)	50 (34-26)	83 (34-26)
NG 16	Kein Signal (13-16)	5 (13-16)	- (13-16) (**)

3 Ergebnisse

	5 (19-21)	5 (19-21);	100 (19-21)
	höhermolekular komplette Schwärzung	höhermolekular komplette Schwärzung	höhermolekular komplette Schwärzung
NG 17	Komplette Schwärzung	Komplette Schwärzung	-
NG 19	3 (13-16)	5 (13-16)	166 (13-16)
	42 (19-36)	42 (19-36)	100 (19-36);
	4 (40-42)	20 (40-42)	500 (40-42)
NG 20	12 (19-21)	10 (19-21)	83 (19-21)
	5 (40-42)	5 (40-42)	100 (40-42)
NG 21	Kein Signal (13-16);	5 (13-16)	- (13-16) (**)
	35 (25-26)	35 (25-26)	100 (25-26)
	5 (50);	5 (50);	100 (50);
	5 (52)	5 (52)	100 (52)
NG 22	20 (19-21)	0	- (*)
NG 23	19,5 (19-21)	18 (19-21)	92 (19-21)
	10 (34-36)	10 (34-36)	100 (34-36)
NG 25	Kein Signal (19-21)	5 (19-21)	- (**)
	Kein Signal (25-26)	25 (25-26)	- (**)
	Kein Signal (34-36)	10 (34-36)	- (**)
	Kein Signal (40-42)	10 (40-42)	- (**)
	Kein Signal 5 (98)	5 (98)	- (**)
NG 27	4 (13-16)	6 (13-16)	150 (13-16)
	höhermolekular komplette Schwärzung	höhermolekular komplette Schwärzung	höhermolekular komplette Schwärzung

(*) Hier wurde bei der Probe kein Signal detektiert, deshalb – als Wert.

(**) Hier wurde bei der Referenzprobe kein Signal bei dem betreffenden Molekulargewicht detektiert, deshalb ist die Berechnung eines prozentualen Anteils nicht möglich

Hier wurde als Bezugswert das Signal der Probe eines bekannten Kindes mit PAP benutzt; wie im Methodenteil (2.5) besprochen und zu sehen ist.

Wert der Probe	
N	45
Mittelwert ±SE	13,2 ± 1,945
Median (25.;75.P)	6 (5; 20)
[Min-Max]	0-50

Tabelle 3-17: SP-B-Werte der Gruppe NG mit respiratorischer Insuffizienz, nicht-reduziert

Code	mm ² Stand (=20 ng)	mm ² Probe 8 kDa	mm ² Probe 16 kDa	mm ² weitere Banden	SP-B ng 8 kDa	SP-B ng 16 kDa	SP-B ng weitere Banden	Protein µg/ ml	SP-B ng/ml (8 kDa)	SP-B ng/ml (16 kDa)	SP-B ng/ml (weitere Banden)	Bemerkungen
NG 02	9	21	0	0	47	0	0	632,1	2937	0	0	-
NG 03	18	10,5	18	0	12	18	0	120,2	144,6	217	0	-
NG 04	14	7	14	0	10	20	0	1036,2	1000	2000	0	-
NG 05	15	9	14	0	12	19	0	96,4	115	183	0	-
NG 06	21	24	36	16 (21-26)	23	34	15	147,5	338	500	221	-
NG 11	24	0	40	0	0	33	0	1064	0	3666	0	-
NG 13	28	7	24,5	0	5	17,5	0	321,3	161	564	0	-
NG 14	24	14	21	0	12	17,5	0	82,0	98	143	0	-
NG 16	29,25	10,5	24	0	7,2	16,4	0	422,9	300	683	0	-
NG 20	32	32	36	36 (21-25)	20	22,5	22,5	376,3	740	833	833	-
				14 (42)			8,7	376,3			322	-
NG 23	24,5	18	14	14 (21-25)	15	11,4	11,4	554,77	833	633	0	Starke Schwärzung
				14 (42)			11,4	554,7		633		-

3 Ergebnisse

				10 (52-60)			8,2	554,7		456		-
NG 25	20	18	21	18	21	0	0	213,8	447	0	0	Starke Schwärzung
NG 27	24	14	21	0	11,7	17,5	0	209,2	244	365	0	-

SP-B non-redu ng (monomere)	
n	13
Mittelwert ±SE	15,07 ± 3,2
Median (25.;75.P)	12 (8,6;20,5)
[Min-Max]	0-47

SP-B non-redu ng	dimere	höhermolekular
n	13	16
Mittelwert ±SE	17,45 ± 2,77	4,825 ± 1,781
Median (25.;75.P)	17,5 (13,9;21,25)	0 (0;10,05)
[Min-Max]	0-34	0-22,5

SP-B non-redu ng/ml (monomere)	
n	13
Mittelwert ±SE	566 ± 215,4
Median (25.;75.P)	300 (129,8;786,5)
[Min-Max]	0-2937

SP-B non-redu ng/ml	dimere	höhermolekular
n	13	16
Mittelwert ±SE	836,6 ± 269,3	98,29 ± 62,51
Median (25.;75.P)	500 (183; 683)	0 (0; 110,5)
[Min-Max]	0-3666	0-833,0

Tabelle 3-18: Summe SP-B aus mono-, -di und trimeren Molekülen, nicht-reduziert

Code	SP-B gesamt/Protein (ng/mg), nicht-reduziert	% monomere Formen von Gesamt-SP pro Probe	% dimere, polymere Formen von Gesamt SP pro Probe
NG 02	4700	100	-
NG 03	3000	40	60
NG 04	3000	33,3	66,7
NG 05	3100	38,7	61,3
NG 06	7200	32	68
NG 11	3300	-	100
NG 13	2250	22,2	77,8
NG 14	2950	40,6	59,4
NG 16	2360	30,5	69,5
NG 20	7370	27,1	72,9
NG 23	6880	21,8	78,2
NG 25	2100	100	
NG 27	2920	40	60

Tabelle 3-19: Auswertung der Summen von SP-B aus mono-, -di und trimeren Molekülen

Code	SP-B/ Protein (ng/mg), nicht-reduziert	% monomere Formen	% dimere, polymere Formen
n	13	12	11
Mittelwert ±SE	3933 ± 538,6	43,85 ± 7,803	70,35 ± 3,616
Median (25; 75.P.)	3000 (2640; 5790)	36 (28,8; 40,3)	68 (60; 77,8)
[Min-Max]	2100-7370	21,80-100	59,4-100

Tabelle 3-20: SP-B-Werte der Gruppe NG mit respiratorischer Insuffizienz, reduziert

Code	mm ² Stand	mm ² Probe 8 kDa	mm ² Probe 16 kDa	mm ² weitere Banden	SP-B ng 8 kDa	SP-B ng 16 kDa	SP-B ng weitere Banden	Protein µg/ml	SP-B ng/ml (8 kDa)	SP-B ng/ml (16 kDa)	SP-B ng/ml (weitere Banden)	Bemerkungen
NG 07	16	21	21	21 (21-26)	26,25	26,25	26,25	112,8	268	268	268	Starke Schwärzung
NG 08	14	28	21	14 (12)	40	30	20	105,3	421	316	210	-
NG 10	10	17,5	7	39 (29-31)	35	14	78	198,2	700	280	1560	-
NG 15	12	28	0	12,5 (42)	46,7	0	21	780,7	3592	0	1615	-

3 Ergebnisse

NG 17	14	24	12	32 (29-31)	34	17	45,7	384,2	1307	653	1757	-
				12 (42)			17	384,2			653	-
NG 19	21	18	10	12 (16)	17	9,5	11,4	137,9	233	130	156	-
NG 21	8	14	0	7,5 (12)	35	0	18,7	657,3	2333	0	1247	-
NG 22	10	40	0	0	80	0	0	629,1	5000	0	0	-

SP-B redu ng (monomere)	
n	8
Mittelwert ±SE	39,24 ± 6,6
Median (25.;75.P)	35 (30,1;43,35)
[Min-Max]	17-80

SP-B -redu ng	dimere	höhermolekular
n	8	9
Mittelwert ±SE	12,09 ± 4,214	26,45 ± 7,615
Median (25.;75.P)	11,75 (0; 21,63)	20 (14,2;35,98)
[Min-Max]	9,5-30	0-78

SP-B redu ng/ml (monomere)	
n	8
Mittelwert ±SE	1732± 624,7
Median (25.;75.P)	1004 (344,5; 2963)
[Min-Max]	233-5000

SP-B redu ng/ml	dimere	höhermolekular
n	8	9
Mittelwert ±SE	205,9± 79,54	829,6± 237,4
Median (25.;75.P)	199 (0; 298,0)	653 (183;1588)
[Min-Max]	0-653	0-1757

Tabelle 3-21: Summe SP-B aus mono, -di und trimeren Molekülen, reduziert

Code	SP-B gesamt/Protein (ng/mg), reduziert	% monomere Formen von Gesamt-SP pro Probe	% dimere, polymere Formen von Gesamt SP pro Probe
NG 07	7875	33,33	66,66
NG 08	9000	44,5	55,5
NG 10	12700	27,6	72,4
NG 15	6770	69	31
NG 17	11370	30	70
NG 19	3790	44,8	55,2
NG 21	5370	65,2	34,8
NG 22	8000	100	

Tabelle 3-22: Auswertung der Summen von SP-B aus mono, -di und trimeren Molekülen

Code	SP-B/ Protein (ng/mg), reduziert	% monomere Formen	% dimere, polymere Formen
n	9	8	7
Mittelwert ±SE	8109 ± 1040	51,80 ± 8,766	55,08 ± 6,264
Median (25; 75.P.)	7938 (6070; 10185)	44,65 (31,67; 67,1)	55,5 (34,8;70)
[Min-Max]	3790-12700	27,6-100	31-72,4

3.2.1.2 Nicht Neugeborene Kinder

Tabelle 3-23: SP-C-Werte der Gruppe nicht NG mit respiratorischer Insuffizienz

Code	mm ² Standard (=25 ng SP-C)	mm ² Probe (monomer)	mm ² Probe (Dimer, Polymer)	SP-C ng (monomer)	SP-C ng (Dimer, Polymer)	Protein µg/ml	SP-C ng/ml (monomer)	SP-C ng/ml (Dimer, Polymer)
nNG 01	42	35	5	21	3	219	460	65
nNG 03	15	5	4	8,3	6,7	225	187	152
nNG 05	18	21	4	29,2	5,6	668,9	1046	373
nNG 06	40	21	0	13	0	84,2	109	0
nNG 07	12	0	0	0	0	169,9	0	0

SP-C ng (monomere)		SP-C ng (dimere, polymere)	
n	5	n	5
Mittelwert ±SE	14,3 ± 5,045	Mittelwert ±SE	3,06 ± 1,386
Median (25.;75.P)	13 (4,15;25,1)	Median (25.;75.P)	3 (0; 6,15)
[Min-Max]	0-29,2	[Min-Max]	3-6,7

SP-C ng/ml (monomere)		SP-C ng/ml (dimere, polymere)	
n	5	n	5
Mittelwert ±SE	360,4 ± 187,5	Mittelwert ±SE	118 ± 69,58
Median (25.;75.P)	187 (54,50; 753)	Median (25.;75.P)	65 (0; 262,5)
[Min-Max]	0-1046	[Min-Max]	0-373

Tabelle 3-24: Summe SP-C (ng) aus mono, -di und trimeren Molekülen

Code	Summe aller SP's (ng)	SP-C gesamt/Protein (ng/mg)	% monomere Formen von Gesamt-SP pro Probe	% dimere, polymere Formen von Gesamt SP pro Probe
nNG 01	24	2400	87,5	12,5
nNG 03	15	1500	55,33	44,67
nNG 05	34,8	1480	84,6	15,4
nNG 06	13	1300	100	0
nNG 07	0	0	-	-

Tabelle 3-25: Auswertung der Summen von SP-C ng aus mono, -di und trimeren Molekülen

Code	SP-C/ Protein (ng/mg)	% monomere Formen	% dimere, polymere Formen
n	5	4	3
Mittelwert ±SE	1336 ± 385,1	81,86 ± 9,453	24,19 ± 10,27
Median (25.;75.P)	1480 (650; 1950)	86,05 (69,97;93,75)	15,4 (-)
[Min-Max]	0-2400	55,33-100	12,5-44,67

Tabelle 3-26: Pro-SP-B-Werte der Gruppe nicht NG mit respiratorischer Insuffizienz, reduziert und nicht-reduziert

Code	mm ² Referenz-Probe	mm ² Probe (kDa)	Pro-SP-B der Probe in % vom Referenzwert
nNG 01	Kein Signal (19-21)	5 (19-21)	- (**)
	18 (25-31);	30 (25-31)	166 (25-31)
	5 (40-42)	5 (40-42)	100 (40-42)
	5 (52)	5 (52)	100 (52)
nNG 03	20 (25-26)	28 (25-26)	140 (25-26)
	Kein Signal (40-42)	8 (40-42)	- (**)
nNG 05	0,5 (13-16)	6 (13-16)	1200 (13-16)
	36 (26-26)	36 (26-26)	100 (26-26)
	5 (34-36)	5 (34-36)	100 (34-36)
nNG 06	25 (25-26)	9 (25-26)	36 (25-26)
	5 (52-60)	5 (52-60)	100 (52-60)
nNG 07	16 (25-26)	10 (25-26)	62 (25-26)

(**) Hier wurde bei der Referenzprobe kein Signal bei dem betreffenden Molekulargewicht detektiert, deshalb ist die Berechnung eines prozentualen Anteils nicht möglich

3 Ergebnisse

Es wurde als Bezugswert das Signal der Probe eines bekannten Kindes mit PAP benutzt; wie im Methodenteil besprochen und zu sehen ist.

Wert der Probe	
n	12
Mittelwert \pm SE	12,67 \pm 3,327
Median (25.;75.P)	7 (5;19)
[Min-Max]	5-36

Tabelle 3-27: SP-B-Werte der Gruppe nicht NG mit respiratorischer Insuffizienz, reduziert und nicht-reduziert

Code	mm ² Stand.	mm ² Probe 8 kDa	mm ² Probe 16 kDa	mm ² weitere Banden	SP-B ng 8 kDa	SP-B ng 16 kDa	SP-B ng (weitere Banden)	Protein μ g/ml	SP-B ng/ml 8 kDa	SP-B ng/ml 16 kDa	SP-B ng/ml (weitere Banden)	Bemerkungen
nNG01	12	17,5	24	0	29	40	0	219	630	869	0	-
nNG03	6	10	0	9 (4)	33	0	30	225	750	0	682	-
				6 (12)			20	225			454	
nNG05	7,5	24	24	10 (12)	64	64	26	668,9	4266	4266	1733	Starke Schwärzung
nNG06	10	24	0	0	48	0	0	84,2	403	0	0	Starke Schwärzung
nNG07	10,5	-	9	0	0	17	0	169,9	0	288	0	-

SP-B ng (monomere)	
n	5
Mittelwert \pm SE	34,8 \pm 10,66
Median (25.;75.P)	33 (14,5;56)
[Min-Max]	0-64

SP-B ng	dimere	höhermolekular
n	5	6
Mittelwert \pm SE	24,2 \pm 12,36	12,67 \pm 5,812
Median (25.;75.P)	17 (0;52)	10 (0; 28)
[Min-Max]	0-64	0-30

SP-B ng/ml (monomere)	
n	5
Mittelwert \pm SE	1210 \pm 774,7
Median (25.;75.P)	630 (201,5; 2508)
[Min-Max]	0- 4266

SP-B ng/ml	dimere	höhermolekular
n	5	6
Mittelwert \pm SE	1085 \pm 811	478,2 \pm 277
Median (25.;75.P)	288 (0; 2568)	227 (0; 1208)
[Min-Max]	0- 4266	0- 1733

Tabelle 3-28: Summe SP-B aus mono, -di und trimeren Molekülen, nicht-reduziert

Code	SP-B gesamt/Protein (ng/mg)	% monomere Formen von Gesamt-SP pro Probe	% dimere, polymere Formen von Gesamt SP pro Probe
nNG01	6900	42	58
nNG03	8300	39	61
nNG05	15400	41,6	58,4
nNG06	4800	100	
nNG07	1700		100

Tabelle 3-29: Auswertung der Summen von SP-B aus mono, -di und trimeren Molekülen

Code	SP-B/ Protein (ng/mg), nicht-reduziert	% monomere Formen	% dimere, polymere Formen
n	5	4	3
Mittelwert \pm SE	1336 \pm 385,1	81,86 \pm 9,453	24,19 \pm
Median (25; 75.P.)	1480 (650; 1950)	86,05 (69,97; 93,75)	15,4 (-)
[Min-Max]	0-2400	55,33-100	12,5-44,67

3.2.2 Gruppe interstitielle Lungenerkrankungen

Tabelle 3-30: SP-C-Werte der Gruppe interstitielle Lungenerkrankungen

Code	mm ² Standard (=25 ng SP-C)	mm ² Probe (monomer)	mm ² Probe (Dimer, Polymer)	SP-C ng (monomer)	SP-C ng (Dimer, Polymer)	Protein µg/ml	SP-C ng/ml (monomer)	SP-C ng/ml (Dimer, Polymer)	Bemerkung
ILD 01	12	0	0	0	0	95,6	0	0	-
ILD 02	18	16,5	5	23	7	377,2	867	259	-
ILD 03	28	0	5	0	4,5	1247	0	562,5	-
ILD 04	42	30	5	18	3	132,8	245	40	-
ILD 05	22,5	7	0	4	0	52,7	22	0	Standard 12,5 ng
ILD 06	24	17	10	18	10,4	116,4	209	121	-
ILD 07	30	10	4	8,5	3,3	125	106	41,25	-
ILD 08	39	21	6	14	3,8	79	110	30	-
ILD 09	30	6	0	5	0	569	278	0	-
ILD 11	36	0	6	0	4	493,1	0	197	-
ILD 12	36	6	0	4	0	371,6	0	0	-
ILD 13	15	4	0	3	0	80	0	0	Standard 12,5 ng
ILD 14	18	5	0	3,5	0	306,6	132	0	Standard 12,5 ng
ILD 15	36	24	5	17	3,4	290	500	100	-
ILD 16	55	0	14	0	6	637	0	382	-
ILD 17	24	5	0	5	0	241,8	121	0	-
ILD 18	32	-	0	0	0	87	0	0	-
ILD 19	37,5	13,5	0	9	0	176,9	160	0	-
ILD 22	35	12	0	8,6	0	781,7	673	0	-
ILD 25	42	18	6	11	3,5	315,45	347	109	-
ILD 27	24	0	0	0	0	462,1	0	0	-
ILD 28	49	10	4	5	2	330,47	165	66,7	-
ILD 29	40	7	0	4,5	0	775,6	350	0	-
ILD 30	30	21	5	17,5	4,2	232,3	406	100	-
ILD 32	29,25	6	5	5	4,2	603	301	247	-
ILD 33	32,5	15	0	12	0	77,7	93	0	-
ILD 34	24	24	5	25	5,2	162,2	405	83,8	-
ILD 35	36	40	6	28	4,2	132,4	371	55,3	-
ILD 36	42	35	18	21	10,7	286,4	601	305	-
ILD 38	35	6	0	5	0	1082	541	0	-
ILD 40	42	5	0	3	0	95,8	29	0	-
ILD 41	49	22,75	5	12	2,5	127,4	153	32	-
ILD 42	30	28	11	23	9,2	153,35	353	141,5	-
ILD 43	30	0	6	0	5	202,73	0	101	-
ILD 44	42	21	5	12,5	3	372,6	466	111	-
ILD 46	35	12	6	9	4,3	448,2	403	195,4	-
ILD 47	49	12	0	6	0	479,4	287	0	-
ILD 48	35	20	0	14,5	0	578,5	838	0	-
		6		4,3			253		
NG 01	24	0	0	0	0	590	0	0	-
NG 24	24	0	0	0	0	1372	0	0	-

SP-C ng (monomere)	
n	41
Mittelwert ±SE	8,754 ± 1,247
Median (25.;75.P)	5 (3;14,25)
[Min-Max]	0-28

SP-C ng (dimere, polymere)	
n	40
Mittelwert ±SE	2,585 ± 0,4818
Median (25.;75.P)	2,25 (0;4,2)
[Min-Max]	0-10,7

3 Ergebnisse

SP-C ng/ml (monomere)	
n	41
Mittelwert ±SE	238,7 ± 37,03
Median (25.;75.P)	165 (0; 387,0)
[Min-Max]	0-867

SP-C ng/ml (dimere, polymere)	
n	40
Mittelwert ±SE	82,01 ± 19,62
Median (25.;75.P)	31 (0;110)
[Min-Max]	0-562,5

Tabelle 3-31: Summe SP-C (ng) aus mono, -di und trimeren Molekülen

Code	Summe aller SP's (ng)	SP-C gesamt/Protein (ng/mg)	% monomere Formen von Gesamt-SP pro Probe	% dimere, polymere Formen von Gesamt SP pro Probe
ILD 01	0	0	0	0
ILD 02	30	3000	76,7	23,3
ILD 03	4,5	450	0	100
ILD 04	21	2100	85,7	14,3
ILD 05	4	400	100	0
ILD 06	28,4	2840	63,4	36,6
ILD 07	11,8	1180	72	28
ILD 08	17,8	1780	78,6	21,4
ILD 09	5	500	100	0
ILD 11	4	400	100	0
ILD 12	4	400	100	0
ILD 13	3	300	100	0
ILD 14	3,5	350	100	0
ILD 15	20,4	2040	83,3	16,7
ILD 16	6	600	0	100
ILD 17	5	500	100	0
ILD 18	0	0	0	0
ILD 19	9	900	100	0
ILD 22	8,6	860	100	0
ILD 25	14,5	1450	75,8	24,2
ILD 27	0	0	0	0
ILD 28	7	700	71,4	28,6
ILD 29	4,5	450	100	0
ILD 30	21,7	2170	80,6	19,4
ILD 32	9,2	920	54,4	45,6
ILD 33	12	1200	100	0
ILD 34	30,2	3020	82,7	17,3
ILD 35	32,2	3220	87	13
ILD 36	31,7	3170	66,3	33,7
ILD 38	5	500	100	0
ILD 40	3	300	100	0
ILD 41	14,5	1450	82,8	17,2
ILD 42	32,2	3220	71,4	28,6
ILD 43	5	500	0	100
ILD 44	15,5	1550	80,6	19,4
ILD 46	13,3	1330	67,7	32,3
ILD 47	6	600	100	0
ILD 48	18,8	1880	100	0
NG 01	0	0	0	0
NG 24	0	0	0	0

Tabelle 3-32: Auswertung der Summen von SP-C ng aus mono, -di und trimeren Molekülen

Code	SP-C/ Protein (ng/mg)	% monomere Formen	% dimere, polymere Formen
n	40	40	40
Mittelwert ±SE	1156 ± 161,2	69,51 ± 5,906	17,99 ± 4,286
Median (25.;75.P)	780 (400; 1830)	81,65 (64,85;100)	6,5 (0; 26,10)
[Min-Max]	0-3220	0-100	0-100

3 Ergebnisse

Tabelle 3-33: Pro-SP-B-Werte der Gruppe interstitielle Lungenerkrankungen, reduziert und nicht-reduziert

Code	mm ² Referenz-Probe	mm ² Probe (kDa)	Pro-SP-B der Probe in % vom Referenzwert
ILD 01	18 (25-26)	14 (25-26)	77 (25-26)
	4 (52-63)	6 (52-63)	150 (52-63)
	kein Signal (92-94)	9 (92-94)	- (**)
ILD 02	18 (19-21)	24 (19-21)	133 (19-21)
	10 (25-26)	5 (25-26)	50 (25-26)
	15 (40-42)	15 (40-42)	100 (40-42)
ILD 03	5 (25-26)	9 (25-26)	180 (25-26)
ILD 04	12 (13-16)	12 (13-16)	100 (13-16)
	12 (25-26)	12 (25-26);	100 (25-26)
	6 (34-36)	6 (34-36)	100 (34-36)
ILD 05	25 (25-26)	5 (25-26)	20 (25-26)
ILD 07	Kein Signal (6-7)	6 (6-7)	- (**)
	Kein Signal (12-13)	6 (12-13)	- (**)
	Kein Signal (16-17)	6 (16-17)	- (**)
	6 (19-21);	6 (19-21)	100 (19-21)
	6 (25-26)	6 (25-26)	100 (25-26)
	6 (36-36)	6 (34-36)	100 (36-36)
	6 (70)	6 (70)	100 (70)
ILD 08	Kein Signal (6-7)	6 (6-7)	- (**)
	Kein Signal (13-16)	18 (13-16)	- (**)
	6 (19-21)	12 (19-21)	200 (19-21)
ILD 13	4 (13-16)	6 (13-16)	150 (13-16)
	15 (25-26)	9 (25-26)	60 (25-26)
	3 (52-55)	6 (52-55)	200 (52-55)
ILD 14	15 (19-25)	13 (19-25)	86 (19-25)
ILD 15	12 (19-21); 12 (25-26)	12 (19-21); 6 (25-26)	100 (19-21); 50 (25-26)
ILD 16	12 (19-21)	6 (19-21)	50 (19-21)
	20 (25-16)	20 (25-16)	100 (25-16)
	6 (34-36)	6 (34-36)	100 (34-36)
ILD 17	5 (13-16)	5 (13-16)	100 (13-16)
	5 (19-21)	5 (19-21)	100 (19-21)
	10 (25-26)	10 (25-26)	100 (25-26)
	5 (34-36)	5 (34-36)	100 (34-36)
	5 (40-42)	5 (40-42)	100 (40-42)
ILD 18	20 (19-21)	10 (19-21)	50 (19-21)
ILD 19	49 (19-26)	49 (19-26)	100 (19-26)
	15 (52-60)	30 (52-60)	200 (52-60)
ILD 22	Kein Signal (13-16)	5 (13-16)	- (**)
	30 (19-21)	30 (19-21)	100 (19-21)
ILD 25	24 (25-26)	24 (25-26)	100 (25-26)
	6 (40)	6 (40)	100 (40)
	5 (52)	5 (52)	100 (52)
	5 (90)	5 (90)	100 (90)
ILD 27	5 (13-16)	5 (13-16)	100 (13-16)
	5 (34-36)	5 (34-36)	100 (34-36)
ILD 28	30 (25-26)	30 (25-26)	100 (25-26)
ILD 29	28 (25-26)	28 (25-26)	100 (25-26)
ILD 30	5 (13-16);	5 (13-16);	100 (13-16)
	42 (19-26)	42 (19-26)	100 (19-26)
ILD 32	30 (19 26)	30 (19 26)	100 (19 26)
ILD 33	20 (19-21)	9 (19-21)	45 (19-21)
	6 (34-36)	12 (34-36)	200 (34-36)
ILD 34	6 (19-21)	12 (19-21)	200 (19-21)
ILD 35	18 (19-21)	12 (19-21)	67 (19-21)
ILD 36	12 (25-26)	16 (25-26)	133 (25-26)
ILD 38	25 (25-26)	5 (25-26)	20 (25-26)
ILD 40	15 (25-26)	6 (25-26)	40 (25-26)
ILD 41	5 (13-16)	5 (13-16)	100 (13-16)
	höhermolekular komplette Schwärzung	höhermolekular komplette Schwärzung	höhermolekular komplette Schwärzung

3 Ergebnisse

ILD 42	15 (25-26)	15 (25-26)	100 (25-26)
	5 (26-28);	5 (26-28)	100 (26-28)
	4 (60)	5 (60)	125 (60)
	4 (185)	5 (185)	125 (185)
ILD 43	30 (19-21)	18 (19-21)	60 (19-21)
ILD 44	Kein Signal (13-16)	5 (13-16)	- (**)
	18 (19-21)	42 (19-30)	200 (19-30)
	Kein Signal (40)	10 (40)	- (**)
	Kein Signal (50)	10 (50);	- (**)
	Kein Signal (98)	10 (98)	- (**)
ILD 46	15 (19-21)	15 (19-21)	100 (19-21)
ILD 47	20 (25-26)	20 (25-26)	20 (25-26)
ILD 48	Kein Signal (13-16)	4 (13-16)	- (**)
	höhermolekular komplette Schwärzung	höhermolekular komplette Schwärzung	höhermolekular komplette Schwärzung
NG 01	7 (25-26)	28 (25-26)	400 (25-26)
	1 (34-36)	28 (34-36)	2800 (34-36)
NG 24	4 (19-21)	6 (19-21)	150 (19-21)

(*) Hier wurde bei der Probe kein Signal detektiert, deshalb – als Wert.

(**) Hier wurde bei der Referenzprobe kein Signal bei dem betreffenden Molekulargewicht detektiert, deshalb ist die Berechnung eines prozentualen Anteils nicht möglich

Es wurde als Bezugswert das Signal der Probe eines bekannten Kindes mit PAP verwendet; wie im Methodenteil (2.5) besprochen.

Wert der Probe	
n	76
Mittelwert ±SE	12,85 ± 1,214
Median (25.;75.P)	9 (6;15)
[Min-Max]	4-49

Tabelle 3-34: SP-B-Werte der Gruppe ILD

Code	mm ² Stand	mm ² Probe 8 kDa	mm ² Probe 16 kDa	mm ² weitere Banden (kDa)	SP-B ng 8 kDa	SP-B ng 16 kDa	SP ng weitere Banden	Protein µg/ml	SP-B ng/ml 8 kDa	SP-B ng/ml 16 kDa	SP-B ng/ml (weitere Band.)	Bemerkungen
ILD 01	7,5	18	0	6 (29-31)	48	0	16	95,6	457	0	152	-
ILD 02	18	18	24	24 (21-26)	20	26,7	26,7	377,2	740	988	988	Starke Schwärzung
				24 (29-31)			26,7	377,2			988	
ILD 03	18	12	18	0	13,3	20	0	1247	1662	2500	0	Starke Schwärzung
ILD 04	15	5	21	0	6,7	28	0	132,8	89	373	0	-
ILD 05	7,5	7	0	0	18,7	0	0	52,7	98	0	0	-
ILD 06	24	42	0	0	35	-	0	116,4	407	0	0	Starke Schwärzung
ILD 07	20	12	24	0	12	24	0	125	150	300	0	-
ILD 08	20	14	24	9 (29-31)	14	24	9	79	110	189	71	-
ILD 09	10	15	0	15 (29-31)	30	0	30	569	1666	0	1666	-
ILD 10	15	0	7	0	0	9,3	0	568,5	0	516	0	-
ILD 11	9	12	-	7,5 (29-31)	26,7	0	16,7	493,1	1335	0	835	-
				7,5 (40),			16,7	493,1			835	-

3 Ergebnisse

				7,5 (90)			16,7	493,1			835	-
ILD 12	14	0	0	12 (21-26)	0	0	17	371,6	0	0	629	-
				12 (54)			17	371,6			629	
ILD 13	10	0	20	9 (21-26)	0	40	18	80	0	320	144	-
ILD 14	9	10	0	24 (21-26)	22,2	53,3	0	306,6	672	1615	0	
ILD 15	22	0	18	0	0	16	0	290	0	470	0	
ILD 16	24	0	20	0	0	16,7	0	637	0	1043	0	Verschommene Banden
ILD 17	24	0	18	0	0	15	0	241,8	0	365	0	-
ILD 19	24	0	20	0	0	16,7	0	176,9	0	293	0	Starke Schwärzung
ILD 22	5	0	42	0	0	168	0	781,7	0	12923	0	Starke Schwärzung
ILD 25	5	12	56	0	48	224	0	315,45	1500	7000	0	Verschommene Banden
ILD 27	20	0	9	0	0	9	0	462,1	0	409	0	-
ILD 28	15	9	12	0	12	16	0	330,47	400	533	0	Verschommene Banden
ILD 29	6	12	24 (21-26)	0	40	80	0	775,6	3076	6153	0	-
ILD 30	10	18	18	18 (21-26)	36	36	36	232,3	837	837	837	Verschommene Banden
ILD 32	5	6	24	24 (21-26)	24	96	96	603	1411	5647	5647	Verschommene Banden
ILD 33	10	12	18	15 (21-26)	24	36	30	77,7	186	279	232,6	Verschommene Banden
				5 (29-31)			10	77,7			77	
ILD 34	12	10	30	6 (29-31)	16,7	50	10	162,2	269	806	161	-
ILD 35	5	9	18	12 (21-26)	36	72	48	132,4	473	947	631	-
				6 (29-31)			24	132,4			315	
ILD 36	9	14	-	9 (12)	31	0	20	286,4	885	0	571	Zu schwarz
ILD 38	6	18	18	0	60	60	0	1082	6666	6666	0	Verschommene Banden
ILD 41	-	0	0	0	0	0	0	127,4	0	0	0	Zu schwarz
ILD 42	5	18	18	18 (21-26)	72	72	72	153,35	1107	1107	1107	Verschommene Banden
ILD 43	10	0	18	18 (21-26)	0	36	36	202,73	0	734	734	Verschommene Banden
ILD 44	-	0	0	0	0	0	0	372,6	0	0	0	Zu schwarz
ILD 46	5	0	18	12 (21-26)	0	72	48	448,2	0	3272	2181	-

3 Ergebnisse

ILD 47	10	0	18	18 (21-26)	0	36	36	479,4	0	1714	1714	Verschwommene Banden
NG 01	15	7,5	15	0	0	10	20	590	0	588	1176	
NG 24	15	0	10	15 (21-26)	13	0	20	1372	1857	0	2857	Verschwommene Banden

SP-B ng (monomere)	
n	38
Mittelwert ±SE	17,35 ± 3,098
Median (25.;75.P)	13,15 (0;30,5)
[Min-Max]	0-72

SP-B ng	dimere	höhermolekular
n	38	44
Mittelwert ±SE	36,83 ± 7,736	16,28 ± 3,127
Median (25.;75.P)	24 (4,5;51,65)	13 (0;25,35)
[Min-Max]	0-224	0-96

SP-B ng/ml (monomere)	
n	38
Mittelwert ±SE	715,6 ± 196,1
Median (25.;75.P)	186 (0;1107)
[Min-Max]	0-6666

SP-B ng/ml	dimere	höhermolekular
n	38	44
Mittelwert ±SE	1542 ± 438,5	591,2 ± 153,9
Median (25.;75.P)	493 (0;1361)	148 (0; 835)
[Min-Max]	0-12923	0-5647

Tabelle 3-35: Summe SP-B aus mono-, -di und trimeren Molekülen, nicht-reduziert

Code	SP-B gesamt/Protein (ng/mg)	% monomere Formen von Gesamt-SP pro Probe	% dimere, polymere Formen von Gesamt SP pro Probe
ILD 01	6400	75	25
ILD 02	10010	19,98	80,02
ILD 03	3330	39,94	60,06
ILD 04	3470	19,308	80,692
ILD 05	1870	100	0
ILD 06	3500	100	0
ILD 07	3600	33,33	66,67
ILD 08	4700	29,787	51,064
ILD 09	6000	50	50
ILD 10	930	0	100
ILD 11	7680	34,766	65,234
ILD 12	3400	0	100
ILD 13	5800	0	100
ILD 14	7550	29,404	70,596
ILD 15	1600	0	100
ILD 16	1670	0	100
ILD 17	1500	0	100
ILD 19	1670	0	100
ILD 22	16800	0	100
ILD 25	27200	17,647	82,353
ILD 27	900	0	100
ILD 28	2800	42,857	57,143
ILD 29	12000	33,33	66,66
ILD 30	10800	33,33	66,66
ILD 32	21600	11,11	88,89
ILD 33	10000	24	76
ILD 34	7670	21,773	78,227
ILD 35	18000	20	80
ILD 36	5100	60,78	39,22
ILD 38	12000	50	50
ILD 41	0	0	0
ILD 42	21600	33,33	66,67
ILD 43	7200	0	100
ILD 44	0	0	0
ILD 46	12000	0	100
ILD 47	7200	0	100
NG 01	3000	0	100
NG 24	3300	39,394	60,606

3 Ergebnisse

Tabelle 3-36: Auswertung der Summen von SP-B aus mono, -di und trimeren Molekülen

Code	SP-B/ Protein (ng/mg), nicht-reduziert	% monomere Formen	% dimere, polymere Formen
n	38	38	38
Mittelwert ±SE	7207 ± 1065	24,19 ± 4,393	70,05 ± 5,115
Median (25; 75.P.)	5450 (2335; 10405)	19,99 (0; 37,08)	77,11 (54,1; 100)
[Min-Max]	0-27200	0-100	0-100

3.2.3 Kontrollgruppe

Tabelle 3-37: SP-C-Werte der Kontrollgruppe, nicht-reduziert

Code	mm ² Standard (=20 ng SP-C)	mm ² Probe (monomer)	mm ² Probe (Dimer, Polymer)	SP-C ng (monomer)	SP-C ng (Dimer, Polymer)	Protein µg/ml	SP-C ng/ml (monomer)	SP-C ng/ml (Dimer, Polymer)
K1	78	40	0	10,2	0	66	67,1	0
K2	78	16,5	0	4,2	0	47	19,72	0
K3	78	44	0	11,2	0	56	62,57	0
K4	78	90	0	23	0	67	154,4	0
K5	78	48	0	12,3	0	46,5	57,2	0
K6	78	50	0	12,8	0	70	89,5	0
K7	90	60	0	13,3	0	97,3	129,12	0
K8	78	48	0	12,3	0	38	46,8	0
K9	90	60	0	13,3	0	81,6	108,13	0
K10	78	48	0	12,3	0	56	68,7	0

SP-B ng (monomere)	
n	10
Mittelwert ±SE	12,49 ± 1,444
Median (25.;75.P)	12,3 (10,7; 13,3)
[Min-Max]	4,2-23

SP-B ng (dimere, polymere)	
n	0
Mittelwert ±SE	0 ±
Median (25.;75.P)	0 (;)
[Min-Max]	-

SP-C ng/ml (monomere)	
n	10
Mittelwert ±SE	80,32 ± 12,77
Median (25.;75.P)	67,9 (52; 118,6)
[Min-Max]	19,72-154,4

SP-C ng/ml (dimere, polymere)	
n	10
Mittelwert ±SE	0 ±
Median (25.;75.P)	0 (;)
[Min-Max]	-

Hier wurde ein SP-C Standard mit 20 ng SP benutzt (Byk), es wurden jeweils 5 µg Protein aufgetragen. Es wurden immer alle SP-C-Signale (monomere und dimere Formen) ausgewertet, davon jeweils die absolute Menge (ng) sowie die Menge bezogen auf den Proteingehalt (ng/ml).

Die Proben wurden nicht reduziert, daher lag SP-C nur in monomerer Form vor, also waren alle SP-C-Signale monomere Moleküle.

Tabelle 3-378: Summe SP-C aus mono-, -di und trimeren Molekülen

Code	Summe aller SP's (ng)	SP-C gesamt/Protein (ng/mg)	% monomere Formen von Gesamt-SP pro Probe
K1	10,2	204	100
K2	4,2	840	100
K3	11,2	2240	100
K4	23	4600	100
K5	12,3	2460	100
K6	12,8	2560	100
K7	13,3	2660	100
K8	12,3	2460	100
K9	13,3	2660	100
K10	12,3	2460	100

3 Ergebnisse

	SP-C/ Protein (ng/mg)
n	10
Mittelwert ±SE	2498± 288,8
Median (25.;75.P)	2460 (2140; 2660)
[Min-Max]	840-4600

Tabelle 3-38: Pro-SP-B-Werte der Kontrollgruppe, reduziert

Code	mm ² Referenz-Probe (kDa)	mm ² Probe (kDa)	Pro-SP-B der Probe in % vom Referenzwert
K1	72 (25-26)	10,5 (25-26)	14,5 (25-26)
K2	42 (25-26)	Kein Signal	- (*)
K3	42 (25-26)	Kein Signal	- (*)
K4	72 (25-26)	31 (25-26)	43 (25-26)
K5	72 (25-26)	20 (25-26)	28 (25-26)
K6	42 (25-26)	6 (25-26)	14,3 (25-26)
K7	45 (25-26)	22,5 (25-26)	50 (25-26)
K8	42 (25-26)	24 (25-26)	57 (25-26)
K9	45 (25-26)	27 (25-26)	60 (25-26)
K10	72 (25-26)	24 (25-26)	33 (25-26)

(*) Hier wurde bei der Probe kein Signal detektiert, deshalb – als Wert.

	mm ² Probe
n	10
Mittelwert ±SE	16,45 ± 3,618
Median (25.;75.P)	21,25 (3; 25,50)
[Min-Max]	0-31

Tabelle 3-39: SP-B-Werte der Kontrollgruppe, reduziert

Code	mm ² Standard (=20 ng)	mm ² Probe 8 kDa	mm ² Probe 16 kDa	mm ² weitere Banden	SP-B ng 8 kDa	SP-B ng 16 kDa	SP-B ng weitere Banden	Protein µg/ml	SP-B ng/ml (8 kDa)	SP-B ng/ml (16 kDa)	SP-B ng/ml (weitere Banden)
K1	40	44	0	0	22	0	0	66	144,7	0	0
K2	40	60	0	0	30	0	0	47	140,8	0	0
K3	40	78	0	0	39	0	0	56	217,9	0	0
K4	40	65	0	0	32,5	0	0	67	218,1	0	0
K5	40	44	0	0	22	0	0	46,5	102,3	0	0
K6	40	82	0	0	41	0	0	70	286,7	0	0
K7	60	72	0	0	24	0	0	97,3	233	0	0
K8	40	77	0	0	38,5	0	0	38	146,4	0	0
K9	60	72	0	0	24	0	0	81,6	195,12	0	0
K10	40	66	0	0	33	0	0	56	184,35	0	0

Code	SP-B (ng)
n	10
Mittelwert ±SE	30,6 ± 7,348
Median (25.;75.P)	31,25 (23; 38,75)
[Min-Max]	22-41

Code	SP-B (ng/ml)
n	10
Mittelwert ±SE	186,9 ± 17,26
Median (25.;75.P)	189,7 (142,8; 225,6)
[Min-Max]	102,3-286,7

Tabelle 3-41: Summe SP-B aus mono-, -di und trimeren Molekülen, reduziert

Code	Summe aller SP's (ng)	SP-B gesamt/Protein (ng/mg)	% monomere Formen von Gesamt-SP pro Probe
K1	22	4400	100
K2	30	6000	100
K3	39	7800	100
K4	32,5	6500	100
K5	22	4400	100
K6	41	8200	100

3 Ergebnisse

K7	24	4800	100
K8	38,5	7700	100
K9	24	4800	100
K10	33	6600	100

Tabelle 3-42: Auswertung der Summen von SP-B ng aus mono, -di und trimeren Molekülen

Code	SP-B/ Protein (ng/mg)
n	10
Mittelwert ±SE	6120± 464,71
Median (25.;75.P)	6250(4700;7725)
[Min-Max]	4400-8200

3.3 Sequenzierungen

Zusätzlich zur qualitativen Auswertung der Surfactantproteine wurde bei einigen Kindern aufgrund der klinischen Symptomatik und einem schwachen bis nicht sichtbaren Signal für die Surfactantproteine das Genom auf Defekte im codierenden Bereich für SP-B, SP-C und den ABCA3-Transporter analysiert.

3.3.1 Sequenzierung von SFTPC

Bei folgenden Kindern wurde Surfactantprotein C sequenziert im Hinblick auf Polymorphismen oder Mutationen im codierenden Bereich.

Tabelle 3-43: Liste der Proben bei denen SP-C sequenziert wurde

Code	SFTPC-Sequenzierung
NG 01	Keine Mutation der Exons 1-5, Polymorphismen Exon 4 und 5
ILD 02	Keine Mutation im Bereich der fünf Exons, der Exon-Intron-Grenzen, der 5'-nichttranslatierten Region und innerhalb von 230 Nukleotiden der Promotor-Region
ILD 19	Keine Mutation im Bereich der fünf Exons, der Exon-Intron-Grenzen, der 5'-nichttranslatierten Region und innerhalb von 110 Nukleotiden der Promotor-Region
ILD 22	Keine Mutation im Bereich der fünf Exons, der Exon-Intron-Grenzen, der 5'-nichttranslatierten Region und innerhalb von 110 Nukleotiden der Promotor-Region
ILD 23	Keine Mutation Keine Mutation im Bereich der fünf Exons, der Exon-Intron-Grenzen, der 5'-nichttranslatierten Region und innerhalb von 110 Nukleotiden der Promotor-Region
ILD 26	Keine Mutation
ILD 28	Heterozygote Isoleucin → 73-Threonin-Substitution auf Exon 3 (Neumutation bei drei eineiigen Zwillingen)
ILD 29	Keine Mutation
ILD 30	Keine Mutation
ILD 32	Keine Mutation im Bereich der fünf Exons, der Exon-Intron-Grenzen, der 5'-nichttranslatierten Region und innerhalb von 230 Nukleotiden der Promotor-Region
ILD 36	Keine Mutation im Bereich der fünf Exons, der Exon-Intron-Grenzen, der 5'-nichttranslatierten Region und innerhalb von 230 Nukleotiden der Promotor-Region
ILD 38	Keine Mutation
ILD 39	Keine Mutation
ILD 42	Keine Mutation
ILD 43	Keine Mutation
ILD 44	Keine Mutation
ILD 46	Keine Mutation
ILD 47	Keine Mutation
ILD 49	Heterozygote Trägerin einer Isoleucin → Threonin – Substitution (Exon 3)
ILD 50	Polymorphismus; heterozygote Mutation im Promotorbereich
ILD 51	Keine Mutation

3.3.2 Sequenzierung von SFTP B

Bei folgenden Kindern wurde Surfactantprotein B sequenziert im Hinblick auf Polymorphismen oder Mutationen im codierenden Bereich.

Tabelle 3-44: Liste der Proben bei denen SP-B sequenziert wurde

Code	SFTP B-Sequenzierung
ILD 11	Keine 121ins2 – Mutation
ILD 23	Keine Mutation im Bereich der zehn proteinkodierenden Exons, der Exon- und Intron-Grenzen, der 5'-nichttranslatierten Region und innerhalb von 200 Nukleotiden der Promoter-Region des SFTP B-Gens
ILD 32	Keine Mutation im Bereich der zehn proteinkodierenden Exons, der Exon- und Intron-Grenzen, der 5'-nichttranslatierten Region und innerhalb von 200 Nukleotiden der Promoter-Region des SFTP B-Gens
ILD 51	Keine 121ins2 Mutation

3.3.3 Sequenzierung von ABCA-3

Von zwölf Kindern wurden hier die im Folgenden aufgeführten Ergebnisse erhoben, mit Mutationen bei sechs Kindern.

Tabelle 3-45: Liste der Proben bei denen auf ABCA-3-Mutation untersucht wurde

Code	ABCA-3-Sequenzierung
ILD 03	Homozygote Mutation einer Exon splice site (Exon 16: 1897-1G>C)
ILD 06	Keine Mutation
ILD 09	Keine Mutation
ILD 14	Keine Mutation
ILD 18	ABCG1 keine Mutation
ILD 32	Heterozygote Veränderung auf Exon 5 c.94C>T Pro32Ser (CCA32TCA) sowie auf Exon 2 c.3941G>A Gly1314Glu (GGG1314GAG)
ILD 41	E292V negativ
ILD 50	Homozygote Mutation c.4681 Arg 1561 Ter (CGA1561TGA) 11 561Ter (CGAI 561TG)
ILD 51	Homozygote Mutation c.2429-2430delTT Rasterverschiebung Phe810 (TTT>T)
NG 01	Homozygote Mutation c.4877-8delAG
NG 10	Keine Mutation
NG 24	Heterozygote Mutation c.1736 T>C (het), c 3813 Gdel (het)

In der Diskussion werden diese Ergebnisse näher besprochen.

3.4 Beurteilung der durchgeführten Diagnostik am Kollektiv

Das Gesamtkollektiv von 72 Kindern, welche in diese retrospektive Beobachtung miteinbezogen wurden, war im Laufe der Diagnosestellung sehr unterschiedlich behandelt worden. Im Folgenden wurde aufgearbeitet, welche Methoden (Röntgen-Thorax, CT, HRCT, Lungenbiopsie, BAL etc.) von den behandelnden Ärzten eingesetzt wurden und wie deren Nutzen für die Diagnosestellung ist.

Viele ILE im Kindesalter haben eine schlechte Prognose weshalb eine frühe und präzise Diagnose und spezifische Therapie notwendig ist.

Die Einteilung in Gruppen (ILD, NG, nNG) bestand zu Beginn nicht, sondern wurde im Verlauf der Untersuchung vorgenommen. Die BAL-Proben der untersuchten Kinder waren zum Großteil von außerhalb zugeschickt worden, jedoch auch Proben aus dem Dr.von Haunerschen Kinderspital erhielten wir meist ohne definitive Diagnose. Wir haben daraufhin die Patienten in Kategorien eingeteilt aufgrund der Informationen die wir aus Arztbriefen erhalten hatten sowie der Ergebnisse der biochemischen Analyse.

3.4.1 Gruppe unklare respiratorische Insuffizienz

3.4.1.1 Neugeborene Kinder

Tabelle 3-46: Durchgeführte Diagnostik bei NG (n=25)

Durchgeführte Diagnostik	Häufigkeit (n)	Prozent (%)
BAL-Zytologie	4	16
BAL-Surfactantanalyse	25	100
Röntgen-Thorax	16	64
CT, HRCT	4	16
Lungenbiopsie	3	12
Genetische Analytik	1	0

3.4.1.2 Nicht Neugeborene Kinder

Tabelle 3-40: Durchgeführte Diagnostik bei nicht NG (n=5)

Durchgeführte Diagnostik	Häufigkeit (n)	Prozent (%)
BAL-Zytologie	0	0
BAL-Surfactantanalyse	5	100
Röntgen-Thorax	3	60
CT, HRCT	0	0
Lungenbiopsie	0	0
Genetische Analytik	3	60

3.4.2 Gruppe interstitielle Lungenerkrankungen

Tabelle 3-48: Durchgeführte Diagnostik bei ILD (n=48)

Durchgeführte Diagnostik	Häufigkeit (n)	Prozent (%)
BAL-Zytologie	9	18,75
BAL-Surfactantanalyse	46	95,8
Röntgen-Thorax	33	68,75
CT, HRCT	14	29
Lungenbiopsie	19	39,6
Genetische Analytik	12	25

Diese Ergebnisse zeigen, dass invasivere Verfahren, die zu einer definitiven Diagnose führen, wie eine Lungenbiopsie oder kostspielige Verfahren, wie die Sequenzierung von Genen, kaum eingesetzt wurden.

4 Diskussion

In dieser Arbeit wurden die Surfactantproteine B und C mit ihren jeweiligen Vorstufen aus der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit von insgesamt 72 Probanden der Patientengruppen „unklare interstitielle Lungenerkrankungen“, „Neugeborene mit respiratorischer Insuffizienz“ und „nicht Neugeborene mit respiratorischer Insuffizienz“ untersucht und mit einer lungengesunden Kontrollgruppe verglichen. Es erfolgte die qualitative Auswertung, außerdem eine genauere quantitative die den SP-Gehalt in ng und ng/ml ermittelte.

Es wurde bei allen Kindern SP-B und Vorstufen detektiert. Pro SP-C-Formen wurden wie erwartet bei keiner der eindeutig Proben identifiziert, eine biochemische SP-C-Defizienz fanden wir bei 11 Kindern. Es wurde insgesamt bei 21 Kindern eine Sequenzierung von SFTPC vorgenommen, da dies auch zusätzlich zu den erwähnten 11 bei weiteren Kindern mit klinischer Auffälligkeit und normaler biochemischer Analyse durchgeführt wurde. Bei drei Kindern wurde eine krankheitsverursachende Mutation nachgewiesen. Bei weiteren sechs Kindern fand sich ein Defekt des ABCA-3-Gens, eines der 11 Kinder mit biochemischer SP-C-Defizienz wies eine compound heterozygote Konstellation im ABCA3-Gen auf. Zudem hatte ein Kind eine homozygote Veränderung.

Auch wenn die Untersuchung zum Teil aufgrund von Material- oder Informationsmangel unvollständig ist, deuten die Ergebnisse darauf hin, dass die Westernblotanalyse als erster Schritt im Algorithmus zur Diagnosestellung bei unklarer respiratorischer Insuffizienz und unklaren interstitiellen Lungenerkrankungen eine sinnvolle Methode ist. Fehlende oder niedrige Signale der SP gehen wahrscheinlicher mit Aberrationen der kodierenden Gene einher.

Weiterhin wurde im Verlauf festgestellt, dass eine Mindestmenge an Gesamtprotein pro aufgetragene Probe notwendig ist um die Wahrscheinlichkeit zu minimieren kein Signal zu detektieren aufgrund von absolut zu wenig Protein. In unserem Fall wählten wir eine Auftragemenge von 10 µg. Bei einer Detektionsgrenze von 1ng kann noch SP-B (Standardreihe 1-6ng) gefunden werden. Dasselbe gilt bei 0,5ng für SP-C (Standardreihe 0,5-5ng) (beides 1 min Entwicklungszeit). Damit beträgt der Relativanteil von SP-B am Gesamtprotein 1:10.000 (bei 1ng sichtbarem SP-B in 10µg (10.000ng) sowie von 1:20.000 bei SP-C (0,5ng SP-C in 10µg Gesamtprotein). Üblicherweise machen SP-B und SP-C etwa 2% der Gesamtsurfactantmenge aus²⁸.

4.1 Qualitative Auswertung

4.1.1 Proform des Surfactantprotein B

Pro-SP-B wurde in insgesamt 59 der 62 untersuchten Lavageproben unter reduzierenden sowie zum Teil unter nicht reduzierenden Bedingungen in Form einer oder mehrerer Banden nachgewiesen (Abbildung 3-1, 3-2, 3-3, 3-4 und 6.3; Tab. 3-1, 3-2, 3-3).

In der Gruppe der Neugeborenen (NG) zeigten 11 von 12 nicht-reduzierten und sieben von acht reduzierten Proben Signale. Die Proben NG 02 und 22 zeigten keine Pro-B-Signale, beide jedoch zeigten normales reifes SP-B in der darauf folgenden Analyse. Keines der Kinder hat exogenen Surfactant erhalten, es kann sich also bei dem Signal auch nicht um Reste von exogenem Surfactant handeln. Beide Proben zeigten biochemisch kein SP-C-Signal. Aufgrund von Materialmangel konnte keine genetische Analyse auf Defekte im SFTPB-Gen vorgenommen werden. Bei beiden Proben war das verwendete Material TS, eventuell kann also das Signal für SP-B ein Artefakt sein und die Proben enthielten –aufgrund der Entnahmetechnik- kein SP-B.

In der Gruppe der nicht Neugeborenen (nNG) zeigten alle Proben Signale für Pro-SP-B.

In der Gruppe der interstitiellen Lungenerkrankungen (ILD) hatten in der nicht-reduzierten Gruppe alle Proben Pro-SP-B-Signale, in der reduzierten eine nicht.

Pro SP-B in höhermolekularen Formen bei 19-21 und 25-26 kDa war reichlich vorhanden. Dies deckt sich mit der Arbeit von Griese et al.²², hier waren diese Banden mit dem gleichen AK in der Gruppe der Kontrollen und der pulmonalen Alveolarproteinose detektiert worden, die Bande bei 19-21 seltener in der Gruppe der unklaren respiratorischen Insuffizienz. Die in der vorliegenden Arbeit häufiger gefundenen Banden bei 40-42 kDa, waren ebenso gefunden worden. Auch weitere Arbeiten unserer Gruppe decken sich mit den Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung; alle hier vorliegenden Signale wurden dort –mit demselben Antikörper-, in etwas anderen Mengenanteilen, detektiert⁴⁷. Dies lässt den Rückschluss zu, dass die es sich bei den Signalen tatsächlich um Pro-SP-B handelt. Der verwendete Antikörper CTERM-B (Guttentag) wurde schon in vielen Arbeitsgruppen verwendet und in Publikationen beschrieben^{16;36;59}. In einer neueren

Arbeit von Guttentag et al. wurde dieser Antikörper bei humanen T2-Zellkulturen eingesetzt. Hier wurde der Schluss gezogen, dass die auch bei uns vorkommenden Bande bei 43 kDa das Produkt von alternativen Translationsprozessen ist. In der Massenspektrometrie erkannte der CTERM-B-Antikörper hier nur die 16-KDa – Bande.

Ingesamt zeigte die Mehrzahl der Proben normale Bandenmuster, bei keiner der Proben mit fehlendem Pro-SP-B konnte in darauffolgender Analyse (biochemisch und/ oder genetisch) ein SP-B-Mangel detektiert werden.

4.1.2 Surfactantprotein B

SP-B konnte in allen 59 untersuchten Proben detektiert werden (Abbildungen 3-6 bis 3-9 und Tabellen 3-4 bis 3-9), teilweise in reduziertem, meist aber in nicht-reduziertem Zustand.

Der Unterschied in der Auswertung zwischen diesen beiden Methoden besteht darin, dass bei der Reduktion im Analyseprozess die Moleküle zu Monomeren reduziert werden. Somit können hier keine polymeren Formen auftreten, das regelhafte Vorkommen ist demnach monomeres SP-B. Bei nicht-reduzierten Proben können demzufolge regelhaft auch höhermolekulare Formen vorliegen. Aus diesem Grunde wurden die reduzierten sowie die nicht-reduzierten Proben nur jeweils untereinander verglichen.

In unseren Proben stellte sich in reduzierter Form das SP-B-Monomer als einzelne Bande bei 8 kDa dar, wie in der Literatur beschrieben. In nicht reduziertem Zustand zeigte sich vor allem die in vivo hauptsächlich vorliegende dimere Form des Proteins mit Medianen der Molekulargewichte von 16,86 bis 17,09 kDa^{4;15}, sowie die monomere Form. Zusätzlich ließen sich bei einigen Proben weitere Banden im Bereich von 21-25, 29-31, 42 und 52-60 kDa als Hinweis auf ebenfalls vorliegende monomere und oligomere Formen des Proteins nachweisen. Letztere wurden bisher vor allem bei Rindern und Schafen beschrieben^{1;11}. Außerdem wurden höhermolekulare unspezifische Banden die durch die vorherige Inkubation mit dem AK gegen Pro-SP-B entstanden sind, nachgewiesen. Diese Banden wurden klar identifiziert als unspezifische Banden die nicht SP-B darstellen, da sie seit der ersten Inkubation bestanden und durch Blockade des Antikörpers mit einem spezifischen Peptid nicht verschwunden sind. Da die Banden schon seit der ersten Inkubation

vorhanden waren, handelt es sich auch nicht um Kreuzreaktionen mit dem Antikörper gegen SP-B.

Dies war in allen Bereichen, von 12 bis 185 kDa der Fall, bei insgesamt 34 von 68 untersuchten Lavagen. Diese Blots wurden aber nicht komplett aus der Interpretation herausgenommen, da dies zum Einen bei der Hälfte aller Lavagen vorkam und somit zuviel Material nicht beachtet werden hätte können und zum Anderen bei allen Blots die unspezifischen Banden eindeutig abzugrenzen waren.

In reduziertem Zustand fanden sich hauptsächlich monomere Formen, sowie einige höhermolekulare Banden zwischen 16 und 52 kDa. Diese waren als reifes SP-B gedeutet worden, da sie nicht durch die vorherige Inkubation mit dem AK gegen Pro-SP-B entstanden waren. Dieses höhermolekulare Vorliegen fand sich in anderen Studien nicht.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass von 59 untersuchten Lavagen in allen SP-B nachgewiesen werden konnte. Bei vier Proben wurde im Verlauf eine Mutationsanalyse des SP-B –Gens durchgeführt, hier zeigten sich keine Mutationen.

4.1.3 Proform des Surfactantprotein C

Die Proform von Surfactantprotein C taucht beim Gesunden in der BAL nicht auf, sein Vorliegen deutet auf mögliche Mutationen im SFTPC oder SPTPB – Gen hin^{22;37}. Keines der Kinder in dieser Arbeit hatte Pro-SP-C-Formen.

Die Kinder mit SP-C-Mutationen (ILD 28, und 50) zeigten folgende Pro-SP-C-Signale. Die Probe ILD 28 zeigte Signale und zwar bei 12, 14 und 17 kDa. Dieses könnten aberrante Pro-SP-C-Formen sein, entstanden durch inkomplette Prozessierung des Pro-SP-C wie von Nogee beschrieben³⁷, hier war das Vorliegen dieser inkomplett prozessierten Form von Pro-SP-C allerdings bei SP-B-Defizienz aufgetreten, die Größe der Signale war bei 6 bis 12 kDa und damit niedriger als bei der hier untersuchten Probe. Eine weitere Möglichkeit ist die Bildung von „selbst-assoziierten“ Pro-SP-C-Molekülen wie im Falle von SP-C-Defizienz im selben Bericht beschrieben³⁷. Da jedoch die vorliegenden Signale dieser Probe nach Blockierung mit spezifischem Peptid immer noch zu sehen waren, sind diese Banden höchstwahrscheinlich unspezifische Signale und deuten nicht auf vorliegendes Pro-SP-C hin.

Die Probe ILD 50 zeigte eindeutig keine Pro-SP-C-Formen in der BAL, auch hier waren die Signale die durch die erste Inkubation entstanden, auch nach Blockierung mit spezifischem Peptid noch weiterhin sichtbar.

Einen Sonderfall bildet hier die Probe ILD 49, hier erfolgte keine BAL wegen fehlender Zustimmung der Eltern. Die Diagnose der SP-C-Defizienz erfolgte durch genetische Untersuchung. Hier kann deshalb keine Aussage zum biochemischen Pro-SP-C-Signal getroffen werden.

Von unseren drei Proben mit Veränderungen am SP-C-Gen zeigten demnach zwei, bei denen dies untersucht wurde, keine spezifische Reaktionen auf den Pro-C-Antikörper. Dies ist ungewöhnlich und nicht eindeutig zu erklären, da im Falle von SP-C-Mutationen in der vorliegenden Literatur auch aberrantes Pro-SP-C gefunden wurde, diesem wird eine toxische Wirkung zugeschrieben die ausschlaggebend ist für die Entwicklung von ILE bei den betroffenen Patienten³⁷⁻³⁹.

4.1.4 Surfactantprotein C

SP-C wurde in insgesamt 56 der 67 untersuchten Lavageproben unter reduzierenden oder unter nicht reduzierenden Bedingungen in Form einer oder mehrerer Banden nachgewiesen (Abbildungen 3-10 bis 3-15 und Tabellen 3-10 bis 3-12).

Die Mediane der Molekulargewichte lagen bei 4-5 kDa um den in der Literatur angegebenen Durchschnittswert der SP-C-Monomere von 4,2 kDa⁵⁰.

SP-C wurde nur unter nicht-reduzierenden Bedingungen untersucht, somit wurden zusätzliche Banden die sich bei einigen Proben mit Molekulargewichten bei 8 kDa darstellten, als dimeres Vorliegen (zweifache Größe des SP-C-Moleküls von 4 kDa) gedeutet. Das Gleiche gilt für polymeres SP-C welches um 14-16 kDa vorlag.

Biochemisch komplette SP-C-Defizienz

In elf Lavageproben (Patienten NG 02, 04, 18, 19, 21, nNG 07, und ILD 01, 18, 27, NG 01 und 24) wurde SP-C nicht detektiert.

Bei der Probe NG 01 wurde eine genetische Analyse auf einen Defekt des SFPTC-Gens durchgeführt, welche negativ ausfiel. Eine daraufhin ausgeführte Analyse auf einen Defekt des ABCA3-Transporters ergab eine homozygot vorliegende Mutation.

Beim Kind NG 24 wurden ebenfalls zwei heterozygote ABCA3-Mutationen festgestellt. Das Gen für SFTPC wurde nicht untersucht.

Bei den anderen Proben konnte aufgrund von Materialmangel leider keine Analyse des SFTPC-Gens durchgeführt werden

Biochemisch niedrige SP-C-Menge

Bei den Proben NG 09 und ILD 12, 13, 14, 22, 40 und 47 zeigten sich nur sehr schwache Signale für SP-C. Dies kann ein Hinweis auf einen Defekt in der SP-C-Herstellung- oder Prozessierung wie ein Defekt des ABCA3-Transporters sein. In einer Untersuchung von Brasch et al. wurden bei zehn Kindern mit URDS und ABCA-3-Mutationen ebenfalls niedrige Mengen an SFTPC gefunden. Die Mutationen gingen einher mit gestörter Prozessierung und Transport der Surfactantproteine und Störungen der Surfactanthomöostase und führten so zum URDS⁸.

Genetische Untersuchung unserer Proben ILD 22 und 47 ergab keinen genetischen Defekt des SFTPC-Gens. Es wurde bei keiner Probe nach ABCA-3-Mutation untersucht, aufgrund Materialmangels.

Insgesamt konnten wir bei der Mehrheit (83%) der Proben SP-C biochemisch nachweisen. Zwei von elf Kindern mit fehlendem SP-C-Signal hatten ABCA-3-Mutationen, bei niedrigem Signal wurde nur eine der Proben auf ABCA3-Defekt untersucht, mit negativem Ergebnis.

Hieraus ergibt sich unserer Meinung nach die Empfehlung, bei fehlendem oder niedrigem biochemischen Signal für SP-C eine genetische Untersuchung auf Defekte des SFTPC- sowie des ABCA3-Gens vorzunehmen.

4.2 Quantitative Auswertung

Um quantitative Vergleiche zwischen den Blots zu ermöglichen, wurde das jeweilige Blotsignal mit einem immer mitgeführten internen Standard verglichen und angenäherte Angaben in ng und ng/ml ermittelt. Auch dieses Vorgehen ist mit einem bestimmten Fehler behaftet, da das Signal nur in einem definierten (s. Abb. 2-4, 2-5) linear zur aufgetragenen Menge ist und insbesondere höhere Konzentrationen eher unterschätzt werden. Das Verfahren eignet sich aber relativ gut gerade für den unteren Konzentrationsbereich, auf den es hier ankommt, da dort eine gute Linearität besteht.

4.2.1 Proform des Surfactantprotein B

Hier konnten wie im Methodenteil beschrieben keine absoluten Werte sondern nur Vergleiche (in %) zu einem Referenzpatienten erhoben werden. Tabelle 4-3 zeigt die Mittelwerte für alle Gruppen.

Tabelle 4-1: Werte für Pro-SP-B (mm^2) (s. Kap.3.2, Tab. 3-13 bis 3-43)

Gruppe	Mittelwert; n (Anzahl Werte)	Signifikanz (Monomere)
Kontrollen	20,7 ± 3; 8	n.s.
NG	13,2 ± 1,9; 41	n.s.
nNG	12,67 ± 3,3; 12	n.s.
ILD	12,9 ± 1,2; 75	n.s.

Signifikanztestung: Mann-Whitney-Test für unverbundene Stichproben bei Nicht-Normalverteilung der Werte, Signifikanzniveau $p < 0,05$

Hier zeigte sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Stichprobengruppen und der Kontrollgruppe, tendenziell jedoch niedrigere Werte für alle drei Testgruppen.

4.2.2 Surfactantprotein -B

Ermittelt wurden die Menge an SP-B die sich auf den jeweiligen Blots befand und die Konzentration an SP-B in der Lavageflüssigkeit.

Tabellen 4-4 und 4-4 zeigen die Mittelwerte der Mengen an SP-B für alle Gruppen, einmal absolut (ng) sowie als Menge in Lavageflüssigkeit (ng/ml).

Tabelle 4-2: Absolute Werte für SP-B (ng) (s. Kap.3.2, Tab. 3-13 bis 3-43)

Gruppe	Mittelwert Monomere (+/- SE); n (Anzahl Werte) (nur reduziert)	Signifikanz (Monomere)	Mittelwert Dimere, Polymere (+/- SE); n (Anzahl Werte)	Mittelwert höhermolekulare Banden (+/- SE); n (Anzahl Werte)
Kontrollen	30,6 ± 7,4; 8		-	
NG	39,2 ± 6,6; 8	n.s.	12,1 ± 4,2; 8	26,4 ± 7,6; 9
nNG	36,2 ± 13,6; 4	n.s.	20,2 ± 15,1; 4	15,20 ± 6,4; 5
ILD	87,7 ± 35,5; 9	n.s.	83,2 ± 65,31; 8	50 ± 20,6; 12

Signifikanztestung: t-test bei Normalverteilung, Signifikanzniveau $p < 0,05$ (Testung nicht möglich für Dimere und Polymere)

Tabelle 4-3: Relative Werte für SP-B (ng/ml) (s. Kap.3.2, Tab. 3-13 bis 3-43)

Gruppe	Mittelwert Monomere (+/- SE); n (Anzahl Werte) (nur reduziert)	Signifikanz (Monomere)	Mittelwert Dimere, Polymere (+/- SE); n (Anzahl Signale)	Mittelwert höhermolekulare Banden (+/- SE); n (Anzahl Signale)
Kontrollen	187 ± 17,26; 10			
NG	1732 ± 625; 8	signifikant	206 ± 79,5; 8	829,6 ± 237,4; 9
nNG	1355 ± 982,4; 4	n.s.	1139 ± 1045	573,8 ± 318,5
ILD	515 ± 204; 9	n.s.	272,3 ± 179	477 ± 150

In der Berechnung der absoluten Werte (ng) ergaben sich keine signifikanten Unterschiede. Abbildungen befinden sich im Anhang (6.2).

Bei der Messung in ng/ml ergab sich ein signifikanter Unterschied zwischen der Gruppe ILD und der Kontrollgruppe. Dieser deutliche Unterschied ergibt sich aus einigen sehr hohen Ausreißerwerten. Die kleinen Stichprobengrößen ergeben sich aus der Tatsache, dass die Kontrollgruppe nur reduziert gemessen worden war und somit auch nur reduzierte Testwerte verglichen werden konnten.

Als schwierig stellte sich zudem heraus, dass die Banden zwischen 8, 16 kDa und höhermolekularen Bereichen oft miteinander verschmolzen waren, d.h. ineinander übergingen. Das bedeutet, dass zwar die qualitative Aussage über das Vorhandensein von Banden gut getroffen werden konnte, schwieriger jedoch war die Aussage über die genauen Grenzen der Banden, d.h. die Auseinanderhaltung von verschiedenen Molekülen.

Somit finden sich in der Messung der SP-B-Mengen keine –belastbaren– Unterschiede zwischen den Gruppen.

4.2.3 Surfactantprotein C

Ermittelt wurden die Menge an SP-C die sich auf den jeweiligen Blots befand und die Konzentration an SP-C in der Lavageflüssigkeit, nach Bezug der ermittelten Menge auf ihr zugehöriges Volumen an Lavage, aus der die Menge stammte.

Tabellen 4-1 und 4-2 zeigen die Mittelwerte der Mengen an SP-C für alle Gruppen, einmal absolut (ng) sowie als Menge in Lavageflüssigkeit (ng/ml).

Tabelle 4-4: Absolute Werte für SP-C (ng) (s. Kap.3.2, Tab. 3-13 bis 3-43)

Gruppe	Mittelwert Monomere (+/- SE); n (Anzahl Werte)	Signifikanz (Monomere)	Mittelwert Dimere, Polymere (+/- SE); n (Anzahl Signale)
Kontrollen	12,5 ± 1,4; 10		-
NG	9,5 ± 1,6; 23	n.s.	5,9 ± 1,3; 27
nNG	14,3 ± 5; 5	n.s.	3,1 ± 1,4; 5
ILD	8,8 ± 1,3; 41*	n.s.	2,6 ± 0,5; 40

Signifikanztestung: t-test bei Normalverteilung, Signifikanzniveau $p < 0,05$ (Testung nicht möglich für Dimere und Polymere)

Tabelle 4-5: Relative Werte für SP-C (ng/ml) (s. Kap.3.2, Tab. 3-13 bis 3-43)

Gruppe	Mittelwert Monomere (+/- SE); n (Anzahl Werte)	Signifikanz (Monomere)	Mittelwert Dimere, Polymere (+/- SE); n (Anzahl Werte)
Kontrollen	80,3 ± 12,8; 10		-
NG	289 ± 82,7; 23	n.s.	229 71,1; 27
nNG	360 ± 187; 5	signifikant	118 ± 69,6; 5
ILD	239 ± 37; 41	signifikant	80 ± 19,6; 40

In den elf beschriebenen Proben die kein Signal für SP-C zeigten, wurde auch quantitativ ebenfalls kein Wert oberhalb des unteren Detektionsbereichs von 0,5 ng SP-C ermittelt.

Die absoluten Werte ergaben keine signifikanten Unterschiede zwischen der Kontrollgruppe und den drei Testgruppen. Die Werte lagen im Bereich der Kontrollen.

Signifikante Unterschiede ergaben sich bei den Gruppen nNG und ILD im Vergleich der SP-C-Menge in Lavageflüssigkeit (ng/ml) i.S. von deutlichen höheren Mengen bei den Testgruppen. Auch in der Gruppe NG waren deutlich höhere Konzentrationen vorhanden.

In einer weiteren Arbeit aus unserer Arbeitsgruppe ergaben sich bei der gesunden Kontrollgruppe ähnliche Werte für SP-C-Gehalt wie in unserer Testgruppe; von $362 \pm 60 \text{ ng/ml}^{47}$. Im Vergleich dazu sind die hier gefundenen Werte als normal einzuordnen.

Insgesamt fanden wir signifikante Unterschiede der Mittelwerte nur in den Gruppen nNG und ILD beim SP-C-Gehalt in ng/ml. Diese Ergebnisse müssen aber unter Vorbehalt betrachtet werden, da die Quantifizierungsmethode per Hand wie bereits beschrieben subjektiven Fehlereinflüssen unterliegen kann.

4.3 Sequenzierung von SP-C

Es wurde bei einer Gruppe von insgesamt 20 Kindern bei drei Proben eine Mutation auf dem SFTPC-Gen gefunden

Die Pathophysiologie der mit SP-C-Mutationen assoziierten Lungenerkrankungen ist bis heute nicht komplett verstanden. Es hat sich gezeigt, dass ein Mangel an reifem SP-C zu Atelektasen, Entzündungsaktivität und möglicher Fibrose führen kann, und zwar über einen dominant-negativen Effekt auf den SP-C-Metabolismus. Die meisten bis heute bekannten SP-C-Mutationen resultieren in der Produktion eines abnormalen Pro-SP-C-Moleküls^{37;51}.

Das Kind ILD 28 ist eines von drei eineiigen Zwillingen mit einer Neumutation, und zwar einer heterozygot vorliegenden Isoleucin > Threonin-Substitution auf Exon 3 (I73T). Es lagen in der BAL-Analytik unklare Pro-SP-C-Formen vor.

Wie in Kapitel 4.1.3 beschrieben, sind diese Banden höchstwahrscheinlich unspezifische Signale und deuten nicht auf vorliegendes Pro-SP-C hin da die vorliegenden Signale dieser Probe nach Blockierung mit spezifischem Peptid immer noch zu sehen waren.

Bei ILD 49 liegt dieselbe Mutation vor, ebenfalls heterozygot auf Exon 3. Hier wurde nur die genetische Analyse von EDTA-Blut vorgenommen ohne vorherige BAL-Analytik.

Diese SP-C-Mutation gehört zu den häufigeren Mutationen und ist als Ursache einer autosomal-dominant vererbten ILE bekannt⁸. Das defekte Allel führt zu defekter Faltung und geändertem intrazellulären Transport der SP-C Präkursoren und zu Stress im endoplasmatischen Retikulum und Apoptose.

Das Kind ILD 51 hat eine homozygote Mutation auf dem ABCA3-Gen sowie auf dem SFTPC-Gen einen Polymorphismus (heterozygote Mutation im Promotorbereich), wobei wohl eher ersteres pathologische Relevanz hat. Auch hier keine Pro-SP-C-Formen in der BALF.

Das Kind ILD 01 hatte keine Mutationen auf dem SFTPC-Gen, jedoch wurde ein Polymorphismus auf Exon 4 in homozygoter Form gefunden (Asn 138 AAT/AAT). Auf Exon 5 befindet sich ein A > G Basenveränderung die zu einer heterozygoten AS-Veränderung im C-terminalen Bereich von Pro-SP-C führt (Ser 186 Asn). Außerdem befindet sich eine heterozygote Basenveränderung im Intron vor Exon 2

(Position -21 (c/t). Dies sind jedoch alle bekannte Polymorphismen die sich nicht in den proteinkodierenden Bereichen befinden²⁷.

Die Inzidenz und Prävalenz von PILE die mit SP-C assoziiert sind, sind weiterhin unklar. In der vorliegenden Arbeit konnten primär aus Materialmangel leider nur sporadisch bei wenigen klinischen Fällen SP-C-Mutationen untersucht. Wünschenswert ist sicher eine weitergehende Analyse und Korrelation der biochemischen mit den genetischen Daten.

4.4 Sequenzierung von SP-B

Hier wurde lediglich bei vier Proben auf die häufigste, die 121ins2-Mutation hin untersucht, diese wurde nicht gefunden.

Aufgrund der durchweg normalen und gut nachweisbaren Mengen und molekularen Formen an SP-B wurde auf eine Sequenzierung verzichtet. Ferner fehlten bei einem großen Teil der Probanden geeignete DNA Mengen oder es lag keine Einverständniserklärung vor.

4.5 Sequenzierung von ABCA3

Es wurden zwölf Patienten, deren Klinik für eine ABCA3-Mutation sprach, auf Mutationen im ABCA3-Gen hin untersucht, sechs wurden gefunden.

Beim Kind ILD 03 fand sich eine homozygote Mutation einer Exon splice site (Exon 16: 1897-1 G>C). Das Exon 16 kodiert für einen intrazellulär gelegenen Bereich des ABCA3-Transporters. Dies führte höchstwahrscheinlich zu einem „frameshift“ in der Basenabfolge und somit zu Veränderungen in der nachfolgenden Proteinsequenz wie in der Literatur beschrieben⁸.

Beim Kind ILD 32 fanden sich zwei heterozygote Veränderungen auf Exon 5 und 26. Diese heterozygote Veränderungen sind bislang weder als kausale Mutationen, noch als Polymorphismen in der Literatur beschrieben. Es wurde daher von Prof. Schmitz von der Universität in Regensburg diese beiden Positionen im ABCA3-Gen von 50 gesunden Probanden analysiert wobei keiner der Probanden diese Sequenzveränderung zeigte. Daher lässt sich nicht mit Sicherheit sagen, dass es sich um kausale Mutationen handelt.

Beim Kind ILD 50 wurde die folgende homozygote Mutation nach Sequenzierung aller kodierenden Exons des ABCA3-Gens gefunden; c.4681Arg1561Ter (CGA1561TGA). Es handelt sich hierbei um ein prämaures Stopcodon bei AS-Position 1561 das wahrscheinlich zu einem defekten ABCA3-Protein führt. Diese Mutation ist in der Literatur bisher noch nicht beschrieben.

Das Kind ILD 51 wurde bereits zuvor erwähnt, da hier auch eine Veränderung am SFTPC-Gen besteht. Im ABCA3-Gen wurde eine homozygote Mutation an der Stelle c.2429-2430delTT mit Rasterverschiebung Phe810 (TTT>T) gefunden. Das bedeutet, dass beiden Allelen zwei T's im Codon 810 fehlen mit dem Resultat einer Rasterverschiebung mit dysfunktionellem Protein⁹.

Beim Kind NG 24 liegt eine heterozygote Mutation im Bereich c.1736 T>C mit AS-Austausch Leucin zu Prolin, sowie eine Frameshift-Mutation (c. 3813 Gdel) vor. Letztere führt laut zur Verfügung stehendem Befund zu einem dysfunktionellen Protein, hierzu wurde keine Publikation gefunden. Zudem ist es möglich, dass eine Compound-Heterozygotie der beiden Mutationen zum klinischen Bild geführt hat. Der Vater ist heterozygoter Träger der AS-Austauschmutation, die Mutter der Frameshift-Mutation.

Beim Kind NG 01 wurde eine heterozygote Mutation im Bereich c4877-8delAG gefunden, dies führt zu einer nonsense Frameshift – Mutation am C-Terminus^{8;8}.

4.6 Beurteilung der durchgeführten Diagnostik am Kollektiv

Da uns die Patientenmaterialien zur Lavage und z.T. zur genetischen Diagnostik zugeschickt wurden, war zu erwarten, dass eine BAL-Analytik mittels Western Blotting von fast allen Kindern (n=70 von 72) durchgeführt worden war. Eine zytologische Untersuchung der BAL wurde hingegen nur bei 13 Kindern (18%) vorgenommen, dies betraf vor allem die Proben die aus unserem Haus eingesandt worden waren. Nur wenige Kinder 18% (n=13) hatten trotz schwerer Lungenerkrankung eine CT-Untersuchung des Thorax erhalten, davon wurden nur bei einem Kind HRCT-Schichten erstellt. Mitursache ist sicherlich der hohe Anteil an beatmeten Neugeborenen, die traditionell selten mittels CT untersucht werden. Ferner ist zu beachten, dass sicher auch weitere Untersuchungen nach dem Zeitpunkt der Durchführung der Lavageuntersuchungen erfolgt sind. HRCT Untersuchungen gelten als hervorragende Möglichkeit der Diagnostik der interstitieller Veränderungen in der Lungen insbesondere bei Kindern gilt¹³.

Nur bei 10 Kindern (14%) wurden in dieser Kohorte Lungenbiopsien (nach Methode der Gewinnung, also offen, transbronchial, video-assistiert, HRCT mit Feinnadelaspiration wurde nicht unterschieden) durchgeführt. Dies ist überraschend, da sie ein relativ sicheres, wenn auch invasives Verfahren darstellen und den Goldstandard zur Diagnose von ILE repräsentieren^{33;34}. Ein etwas anderes Bild zeigte sich in einer Erhebung von Barbato et al.³. Hier wurde eine histologische Diagnose in 74,8% der Fälle erreicht, eine Diagnose allein durch nicht-invasive Techniken wurde in 3,8%. Ein möglicher Grund hierfür, auch im Unterschied zu unserer Erhebung in der alle eingesandten Fälle berücksichtigt wurden, dass bei Barbato et al. nur solche Fälle europaweit gemeldet wurden, bei denen die Diagnose -durch Biopsie- gesichert war. Genetische Analysen wurden bei 20 Kindern (28%) durchgeführt.

Empfohlener Algorithmus bei Verdacht auf ILD

In einem 1. Schritt sollten alle Erkrankungen identifiziert werden, die durch (A) exogene Noxen (z.B. EAA) oder (B) sekundär bei Systemerkrankungen (z.B. M. Crohn) auftreten. Hierfür ist (neben den üblichen Verfahren) eine bronchoalveoläre Lavage notwendig zum Nachweis von Krankheitserregern, Inflammation, Hämosiderose, Aspirationen, Alveolarproteinose, Langerhans-Histiozytose. Der zellfreie Überstand der Lavage kann für Surfactantanalytik eingefroren werden.

Im 2. Schritt sollten Untersuchung auf durch (C) endogene Noxen bedingte Erkrankungen (molekular definierte Surfactantstoffwechseldefekte; histologisch differenzierbare Formen) durchgeführt werden. Hierzu sollte eine Sequenzierung von Surfactantprotein C und bei Neonaten auch von Surfactantprotein B (nach Ausschluss der häufigsten Mutation 121ins2) erfolgen. Dann kann entweder sofort weiter das sehr große Gen für ABCA3 sequenziert werden, oder der tiefgefrorene BAL Überstand biochemisch untersucht werden und, falls SP-C erniedrigt ist, dann ABCA3 untersucht werden. Falls diese Untersuchungen ohne Ergebnis bleiben, erfolgt der 3. Schritt, die Lungenbiopsie; je nach Resultat kann, falls noch nicht erfolgt, ABCA3 sequenziert werden.

Ist eine Diagnose gestellt, können präzisere Aussagen zur Prognose gemacht und die erfolgversprechendste Therapie begonnen werden. Wichtig ist eine systematische Evaluation der Behandlungsergebnisse, am Besten durch freiwillige Teilnahme am Verlaufsregister für pädiatrische ILE.

5 Zusammenfassung

Veränderungen des intrazellulären Metabolismus der Surfactantproteine SP-C und SP-B sowie ihrer Vorstufen, sind in manchen Fällen verantwortlich für chronische interstitielle Lungenerkrankungen sowie unklare respiratorische Insuffizienz im Kindesalter. Um Häufigkeit und mögliche diagnostische Bedeutung dieser Veränderung zu untersuchen, analysierten wir die bronchoalveolären Lavagen von Kindern mit unklaren ILE (ILD n=49), unklarer respiratorischer Insuffizienz bei Neugeborenen (NG n=36) und unklarer respiratorischer Insuffizienz bei nicht Neugeborenen (n=7), im Vergleich zu Kindern ohne Lungenerkrankungen (n=12). Matures SP-B fand sich in allen untersuchten Fällen und schloss so eine SP-Defizienz biochemisch bei diesen Kindern aus. Die Vorformen von SP-B, pro-SP-B fanden sich bei der überwiegenden Mehrzahl der Kinder, neue oder unerwartete Banden ließen sich nicht nachweisen.

Eine biochemisches Fehlen von SP-C fanden wir bei elf Proben; von diesen wurde eine genetisch auf Mutationen im SP-C Gen untersucht, eine genetische SP-C-Defizienz ließ sich nicht nachweisen. Zwei der elf Proben wurden für Mutationen im ABCA-3-Transporter untersucht, diese ließen sich bei beiden nachweisen. Des Weiteren zeigten sich bei vier Kindern Mutationen im ABCA-3-Transporter ohne das SP-C biochemisch untersucht worden war, sodass wir insgesamt bei sechs Kindern Mutationen im codierenden Bereich für den ABCA-3-Transporter nachweisen konnten. Fehlendes oder erniedrigtes SP-C in der Lavage weist bei entsprechender Klinik auf Defekte im SP-C oder ABCA-3-Gen hin. Normalerweise findet sich kein pro-SP-C in der Lavage; wir konnten allerdings Signale nachweisen. Bei einem der drei Patienten mit genetisch determinierter SP-C-Defizienz zeigte die Probe Signale. Die quantitative Auswertung der Surfactantproteinmengen ergab keine Unterschiede zwischen den Gruppen. Leider wurde (und konnte aufgrund fehlender DNA oder Einverständniserklärungen) nur bei einem kleinen Teil der Kinder eine genetische Untersuchung durchgeführt.

Ebenso zeigte unsere Auswertung der durchgeführten Diagnostik, dass viel zu selten weiterführende diagnostische Maßnahmen wie HR-CT oder Biopsien vorgenommen wurden. Bei persistierender Symptomatik sollte auch in dieser Altersgruppe entgegen der aktuellen klinischen Alltagsvorgehensweise, nach Ausschluss exogener Ursachen sowie von Systemerkrankungen, eine definitive

Diagnosestellung vorangetrieben werden. Nur so kann eine ätiologische Einordnung erfolgen und es können rationale Therapieeinsätze geplant werden.

6 **Anhang**

6.1 Literaturverzeichnis

1. Baatz, J. E., B. Elledge, and J. A. Whitsett. 1990. Surfactant protein SP-B induces ordering at the surface of model membrane bilayers. *Biochemistry* 29:6714-6720.
2. Barbato, A. and C. Panizzolo. 2000. Chronic interstitial lung disease in children. *Paediatr.Respir.Rev.* 1:172-178.
3. Barbato, A., C. Panizzolo, A. Cracco, J. De Blic, R. Dinwiddie, and M. Zach. 2000. Interstitial lung disease in children: a multicentre survey on diagnostic approach. *Eur.Respir.J.* 16:509-513.
4. Beck, D. C., M. Ikegami, C. L. Na, S. Zaltash, J. Johansson, J. A. Whitsett, and T. E. Weaver. 2000. The role of homodimers in surfactant protein B function in vivo. *J.Biol.Chem.* 275:3365-3370.
5. Borst, P. and R. O. Elferink. 2002. Mammalian ABC transporters in health and disease. *Annu.Rev.Biochem.* 71:537-592.
6. Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal.Biochem.* 72:248-254.
7. Brasch, F., J. Birzele, M. Ochs, S. H. Guttentag, O. D. Schoch, A. Boehler, M. F. Beers, K. M. Muller, S. Hawgood, and G. Johnen. 2004. Surfactant proteins in pulmonary alveolar proteinosis in adults. *Eur.Respir.J.* 24:426-435.
8. Brasch, F., S. Schimanski, C. Muhlfeld, S. Barlage, T. Langmann, C. Aslanidis, A. Boettcher, A. Dada, H. Schroten, E. Mildemberger, E. Prueter, M. Ballmann, M. Ochs, G. Johnen, M. Griese, and G. Schmitz. 2006. Alteration of

- the pulmonary surfactant system in full-term infants with hereditary ABCA3 deficiency. *Am.J.Respir.Crit Care Med.* 174:571-580.
9. Brasch, F., S. Schimanski, C. Muhlfeld, S. Barlage, T. Langmann, C. Aslanidis, A. Boettcher, A. Dada, H. Schroten, E. Mildenerger, E. Prueter, M. Ballmann, M. Ochs, G. Johnen, M. Griese, and G. Schmitz. 2006. Alteration of the pulmonary surfactant system in full-term infants with hereditary ABCA3 deficiency. *Am.J.Respir.Crit Care Med.* 174:571-580.
 10. Brasch, F., A. Ten Brinke, G. Johnen, M. Ochs, N. Kapp, K. M. Muller, M. F. Beers, H. Fehrenbach, J. Richter, J. J. Batenburg, and F. Buhling. 2002. Involvement of cathepsin H in the processing of the hydrophobic surfactant-associated protein C in type II pneumocytes. *Am.J.Respir.Cell Mol.Biol.* 26:659-670.
 11. Bunger, H. and U. Pison. 1995. Quantitative analysis of pulmonary surfactant phospholipids by high-performance liquid chromatography and light-scattering detection. *J.Chromatogr.B Biomed.Appl.* 672:25-31.
 12. Cheung, D., Tso JW, Saing H, Aung Khin M, and Mok CK. 1987. Case reports: Idiopathic Cholesterol pneumonitis as a diagnostic problem in a child. *Journal of the Hong Kong Medical Association* 39.
 13. Copley, S. J., M. Coren, A. G. Nicholson, M. B. Rubens, A. Bush, and D. M. Hansell. 2000. Diagnostic accuracy of thin-section CT and chest radiography of pediatric interstitial lung disease. *AJR Am.J.Roentgenol.* 174:549-554.
 14. Davis, A. J., A. H. Jobe, D. Hafner, and M. Ikegami. 1998. Lung function in premature lambs and rabbits treated with a recombinant SP-C surfactant. *Am.J.Respir.Crit Care Med.* 157:553-559.

15. Diemel, R. V., D. Bader, M. Walch, B. Hotter, L. M. van Golde, A. Amann, H. P. Haagsman, and G. Putz. 2001. Functional tests for the characterization of surfactant protein B (SP-B) and a fluorescent SP-B analog. *Arch.Biochem.Biophys.* 385:338-347.
16. Dunbar, A. E., III, S. E. Wert, M. Ikegami, J. A. Whitsett, A. Hamvas, F. V. White, B. Piedboeuf, C. Jobin, S. Guttentag, and L. M. Noguee. 2000. Prolonged survival in hereditary surfactant protein B (SP-B) deficiency associated with a novel splicing mutation. *Pediatr.Res.* 48:275-282.
17. Fan, L. L., R. R. Deterding, and C. Langston. 2004. Pediatric interstitial lung disease revisited. *Pediatr.Pulmonol.* 38:369-378.
18. Gerson, K. D., C. D. Foster, P. Zhang, Z. Zhang, M. M. Rosenblatt, and S. H. Guttentag. 2008. Pepsinogen C proteolytic processing of surfactant protein B. *J.Biol.Chem.* 283:10330-10338.
19. Glasser, S. W., M. S. Burhans, T. R. Korfhagen, C. L. Na, P. D. Sly, G. F. Ross, M. Ikegami, and J. A. Whitsett. 2001. Altered stability of pulmonary surfactant in SP-C-deficient mice. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 98:6366-6371.
20. Griese, M. 1999. Pulmonary surfactant in health and human lung diseases: state of the art. *Eur.Respir.J.* 13:1455-1476.
21. Griese, M., P. Dietrich, and D. Reinhardt. 1995. Pharmacokinetics of bovine surfactant in neonatal respiratory distress syndrome. *Am.J.Respir.Crit Care Med.* 152:1050-1054.
22. Griese, M., S. Schumacher, M. Tredano, M. Steinecker, A. Braun, S. Guttentag, M. F. Beers, and M. Bahuau. 2005. Expression profiles of hydrophobic surfactant proteins in children with diffuse chronic lung disease. *Respir.Res.* 6:80.

23. Haagsman, H. P. and R. V. Diemel. 2001. Surfactant-associated proteins: functions and structural variation. *Comp Biochem.Physiol A Mol.Integr.Physiol* 129:91-108.
24. Hafner, D., P. G. Germann, and D. Hauschke. 1998. Effects of rSP-C surfactant on oxygenation and histology in a rat-lung-lavage model of acute lung injury. *Am.J.Respir.Crit Care Med.* 158:270-278.
25. Hallman, M. 2004. Lung surfactant, respiratory failure, and genes. *N.Engl.J.Med.* 350:1278-1280.
26. Hartl, D. and M. Griese. 2005. Interstitial lung disease in children -- genetic background and associated phenotypes. *Respir.Res.* 6:32.
27. Hatzis, D., G. Deiter, D. E. deMello, and J. Floros. 1994. Human surfactant protein-C: genetic homogeneity and expression in RDS; comparison with other species. *Exp.Lung Res.* 20:57-72.
28. Hawgood, S. 2004. Surfactant protein B: structure and function. *Biol.Neonate* 85:285-289.
29. Hawgood, S., D. Latham, J. Borchelt, D. Damm, T. White, B. Benson, and J. R. Wright. 1993. Cell-specific posttranslational processing of the surfactant-associated protein SP-B. *Am.J.Physiol* 264:L290-L299.
30. Hawgood, S., A. Ogawa, K. Yukitake, M. Schlueter, C. Brown, T. White, D. Buckley, D. Lesikar, and B. Benson. 1996. Lung function in premature rabbits treated with recombinant human surfactant protein-C. *Am.J.Respir.Crit Care Med.* 154:484-490.
31. Hodgman, J. E. 2003. Relationship between Wilson-Mikity syndrome and the new bronchopulmonary dysplasia. *Pediatrics* 112:1414-1415.

32. Hoepker, A., M. Seear, A. Petrocheilou, D. Hayes, Jr., A. Nair, J. Deodhar, S. Kadam, and J. O'Toole. 2008. Wilson-Mikity syndrome: updated diagnostic criteria based on nine cases and a review of the literature. *Pediatr.Pulmonol.* 43:1004-1012.
33. Katzenstein, A. L. and J. L. Myers. 1998. Idiopathic pulmonary fibrosis: clinical relevance of pathologic classification. *Am.J.Respir.Crit Care Med.* 157:1301-1315.
34. Kramer, M. R., N. Berkman, B. Mintz, S. Godfrey, M. Saute, and G. Amir. 1998. The role of open lung biopsy in the management and outcome of patients with diffuse lung disease. *Ann.Thorac.Surg.* 65:198-202.
35. Lewis, J., L. McCaig, D. Hafner, R. Spragg, R. Veldhuizen, and C. Kerr. 1999. Dosing and delivery of a recombinant surfactant in lung-injured adult sheep. *Am.J.Respir.Crit Care Med.* 159:741-747.
36. Lin, S., K. S. Phillips, M. R. Wilder, and T. E. Weaver. 1996. Structural requirements for intracellular transport of pulmonary surfactant protein B (SP-B). *Biochim.Biophys.Acta* 1312:177-185.
37. Nogee, L. M. 2004. Alterations in SP-B and SP-C expression in neonatal lung disease. *Annu.Rev.Physiol* 66:601-623.
38. Nogee, L. M., A. E. Dunbar, III, S. Wert, F. Askin, A. Hamvas, and J. A. Whitsett. 2002. Mutations in the surfactant protein C gene associated with interstitial lung disease. *Chest* 121:20S-21S.
39. Nogee, L. M., A. E. Dunbar, III, S. E. Wert, F. Askin, A. Hamvas, and J. A. Whitsett. 2001. A mutation in the surfactant protein C gene associated with familial interstitial lung disease. *N.Engl.J.Med.* 344:573-579.

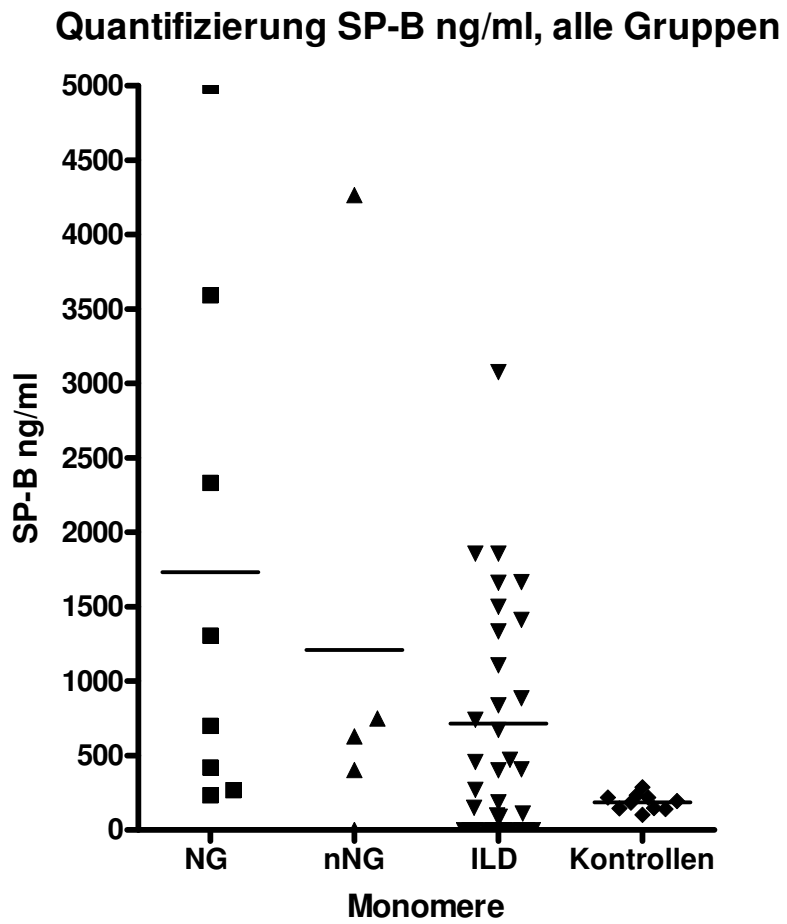
40. Paltauf, F. 1994. Ether lipids in biomembranes. *Chem.Phys.Lipids* 74:101-139.
41. Perez-Gil, J. 2002. Molecular interactions in pulmonary surfactant films. *Biol.Neonate* 81 Suppl 1:6-15.
42. Pohunek, P., H. Pokorna, and I. Striz. 1996. Comparison of cell profiles in separately evaluated fractions of bronchoalveolar lavage (BAL) fluid in children. *Thorax* 51:615-618.
43. Prescott, S. M., G. A. Zimmerman, D. M. Stafforini, and T. M. McIntyre. 2000. Platelet-activating factor and related lipid mediators. *Annu.Rev.Biochem.* 69:419-445.
44. Riedler, J., J. Grigg, C. Stone, G. Tauro, and C. F. Robertson. 1995. Bronchoalveolar lavage cellularity in healthy children. *Am.J.Respir.Crit Care Med.* 152:163-168.
45. Rietveld, A. and K. Simons. 1998. The differential miscibility of lipids as the basis for the formation of functional membrane rafts. *Biochim.Biophys.Acta* 1376:467-479.
46. Roos, R. and Boroviczeny O. 2003. Checkliste Neonatologie, Das Neo-ABC (Checklisten der aktuellen Medizin), 2 überarb. A. ed. Thieme, Stuttgart.
47. Schumacher, S. Die Surfactant-Proteine B und C und ihre Vorstufen in bronchoalveolärer Lavage von Kindern mit verschiedenen Lungenkrankheiten. Dissertation zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin an der Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität zu München. 2006.

48. Shulenin, S., L. M. Noguee, T. Annilo, S. E. Wert, J. A. Whitsett, and M. Dean. 2004. ABCA3 gene mutations in newborns with fatal surfactant deficiency. *N.Engl.J.Med.* 350:1296-1303.
49. Stahlman, M. T., M. P. Gray, M. W. Falconieri, J. A. Whitsett, and T. E. Weaver. 2000. Lamellar body formation in normal and surfactant protein B-deficient fetal mice. *Lab Invest* 80:395-403.
50. Ten Brinke, A., L. M. van Golde, and J. J. Batenburg. 2002. Palmitoylation and processing of the lipopeptide surfactant protein C. *Biochim.Biophys.Acta* 1583:253-265.
51. Thomas, A. Q., K. Lane, J. Phillips, III, M. Prince, C. Markin, M. Speer, D. A. Schwartz, R. Gaddipati, A. Marney, J. Johnson, R. Roberts, J. Haines, M. Stahlman, and J. E. Loyd. 2002. Heterozygosity for a surfactant protein C gene mutation associated with usual interstitial pneumonitis and cellular nonspecific interstitial pneumonitis in one kindred. *Am.J.Respir.Crit Care Med.* 165:1322-1328.
52. Tredano, M., J. De Blic, M. Griese, J. C. Fournet, J. Elion, and M. Bahuau. 2001. Clinical biological and genetic heterogeneity of the inborn errors of pulmonary surfactant metabolism. *Clin.Chem.Lab Med.* 39:90-108.
53. Tredano, M., M. Griese, J. De Blic, T. Lorant, C. Houdayer, S. Schumacher, F. Cartault, F. Capron, L. Boccon-Gibod, T. Lacaze-Masmonteil, S. Renolleau, B. Delaisi, J. Elion, R. Couderc, and M. Bahuau. 2003. Analysis of 40 sporadic or familial neonatal and pediatric cases with severe unexplained respiratory distress: relationship to SFTPB. *Am.J.Med.Genet.A* 119:324-339.
54. Tredano, M., R. M. van Elburg, A. G. Kaspers, L. J. Zimmermann, C. Houdayer, P. Aymard, W. M. Hull, J. A. Whitsett, J. Elion, M. Griese, and M.

- Bahuau. 1999. Compound SFTP3 1549C-->GAA (121ins2) and 457delC heterozygosity in severe congenital lung disease and surfactant protein B (SP-B) deficiency. *Hum.Mutat.* 14:502-509.
55. Vamvakopoulos, N. C., W. S. Modi, and J. Floros. 1995. Mapping the human pulmonary surfactant-associated protein B gene (SFTP3) to chromosome 2p12-->p11.2. *Cytogenet.Cell Genet.* 68:8-10.
56. Vance JE and Vance DE. 1996. *Glycerolipid Biosynthesis in Eukaryotes*, Elsevier, Amsterdam. 153-182.
57. Vorbroker, D. K., S. A. Profitt, L. M. Noguee, and J. A. Whitsett. 1995. Aberrant processing of surfactant protein C in hereditary SP-B deficiency. *Am.J.Physiol* 268:L647-L656.
58. Weaver, T. E. and J. J. Conkright. 2001. Function of surfactant proteins B and C. *Annu.Rev.Physiol* 63:555-578.
59. Weaver, T. E. and J. A. Whitsett. 1989. Processing of hydrophobic pulmonary surfactant protein B in rat type II cells. *Am.J.Physiol* 257:L100-L108.
60. Whitsett, J. A. and T. E. Weaver. 2002. Hydrophobic surfactant proteins in lung function and disease. *N.Engl.J.Med.* 347:2141-2148.
61. Young, L. R., L. M. Noguee, B. Barnett, R. J. Panos, T. V. Colby, and G. H. Deutsch. 2008. Usual interstitial pneumonia in an adolescent with ABCA3 mutations. *Chest* 134:192-195.

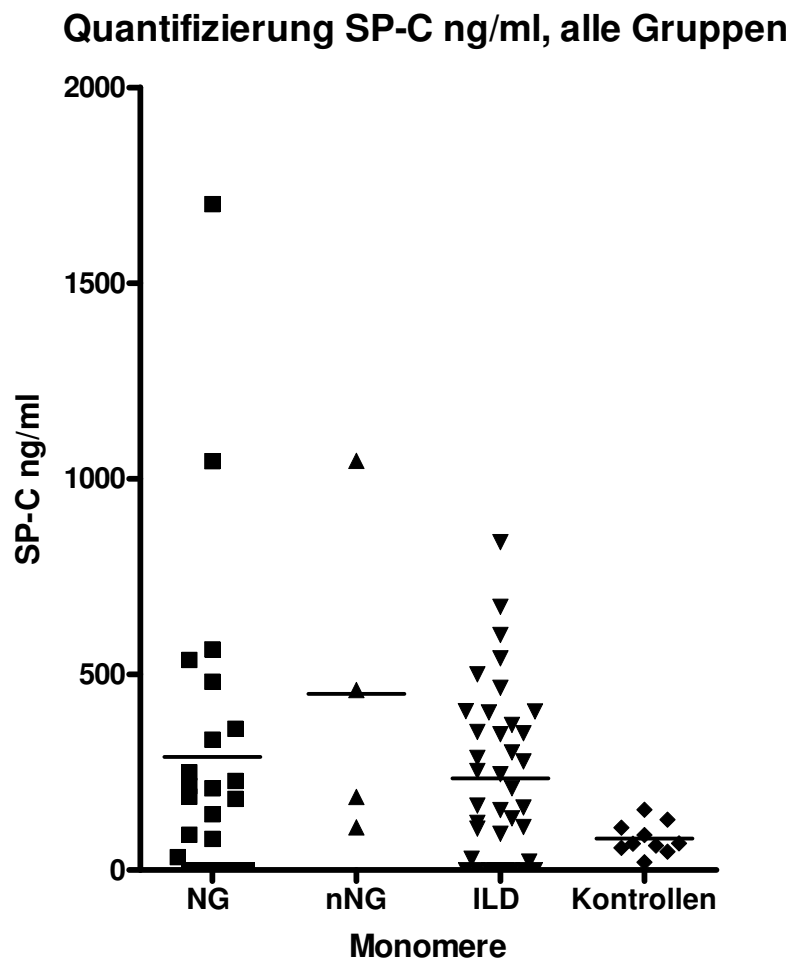
6.2 Abbildungen

6.2.1 Quantifizierung SP-B



6-1 Quantifizierung SP-B

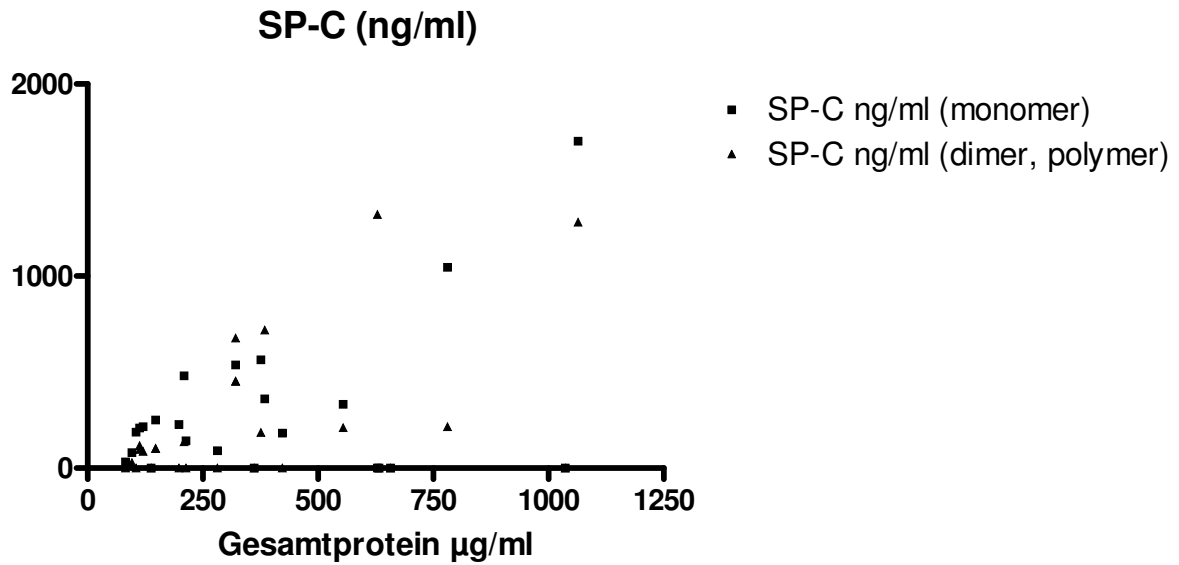
6.2.2 Quantifizierung SP-C



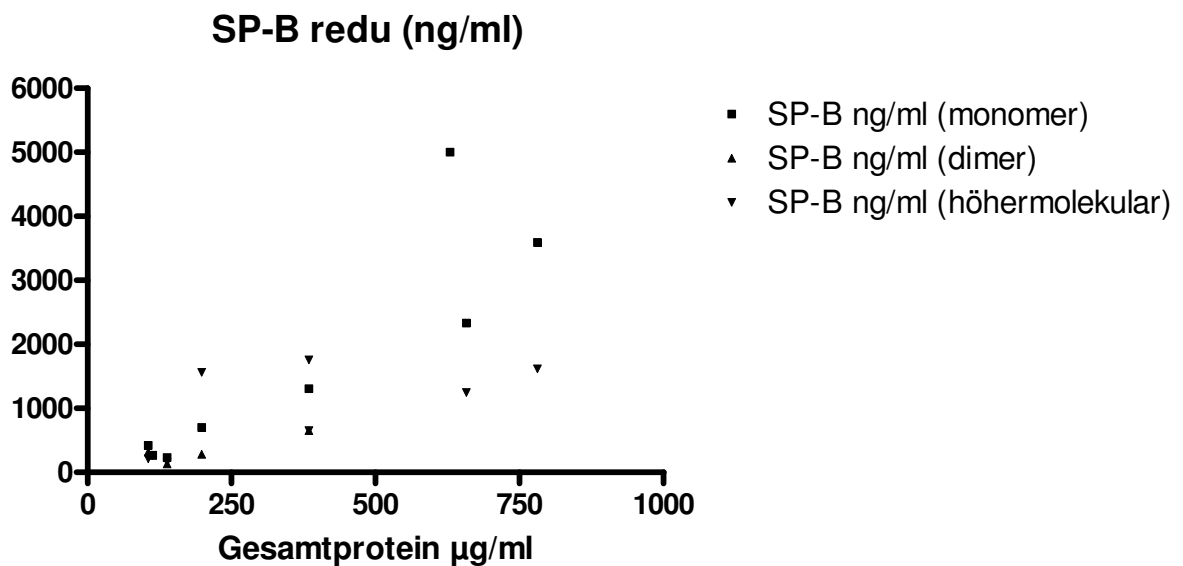
6-2 Quantifizierung SP-C

6.2.3 Gruppe unklare respiratorische Insuffizienz

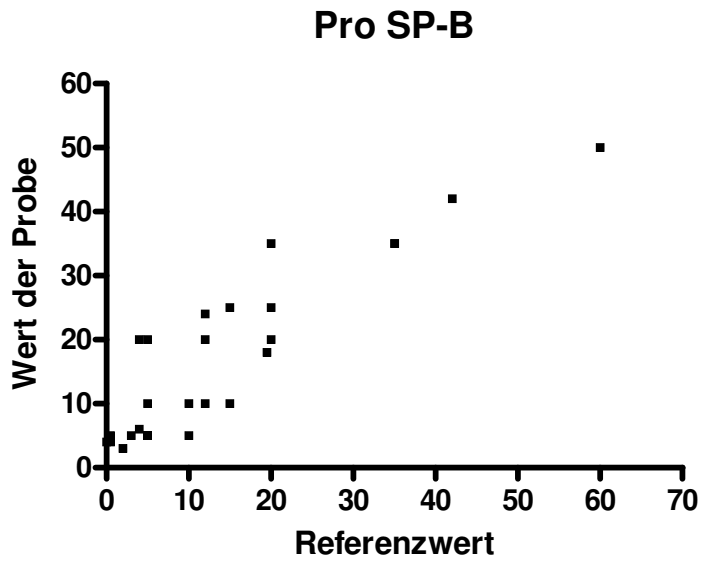
6.2.3.1 Neugeborene Kinder



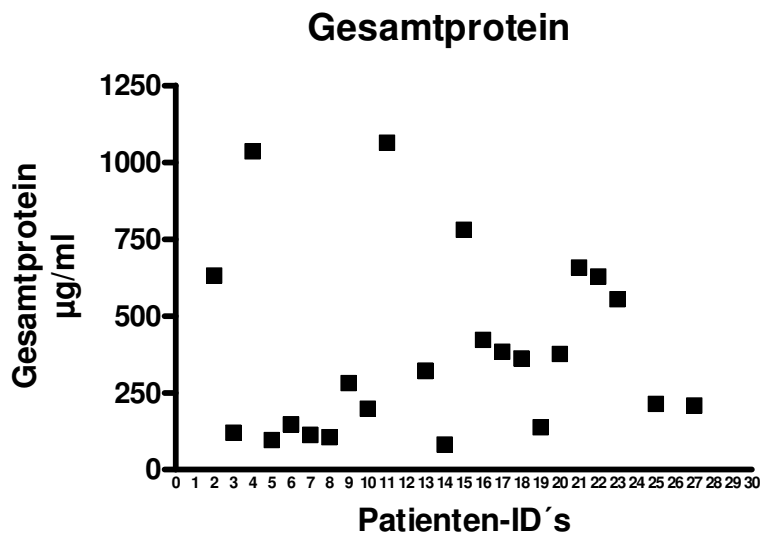
6-3 SP-C (ng/ml) pro Gesamtprotein



6-4 SP-B (ng/ml) pro Gesamtprotein

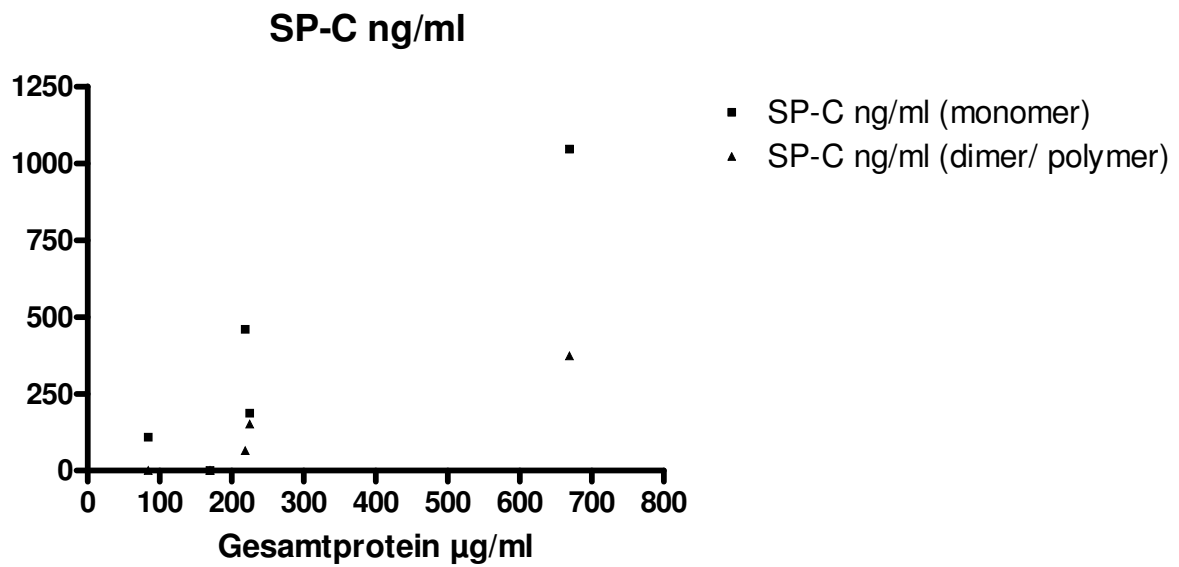


6-5 Pro-SP-B

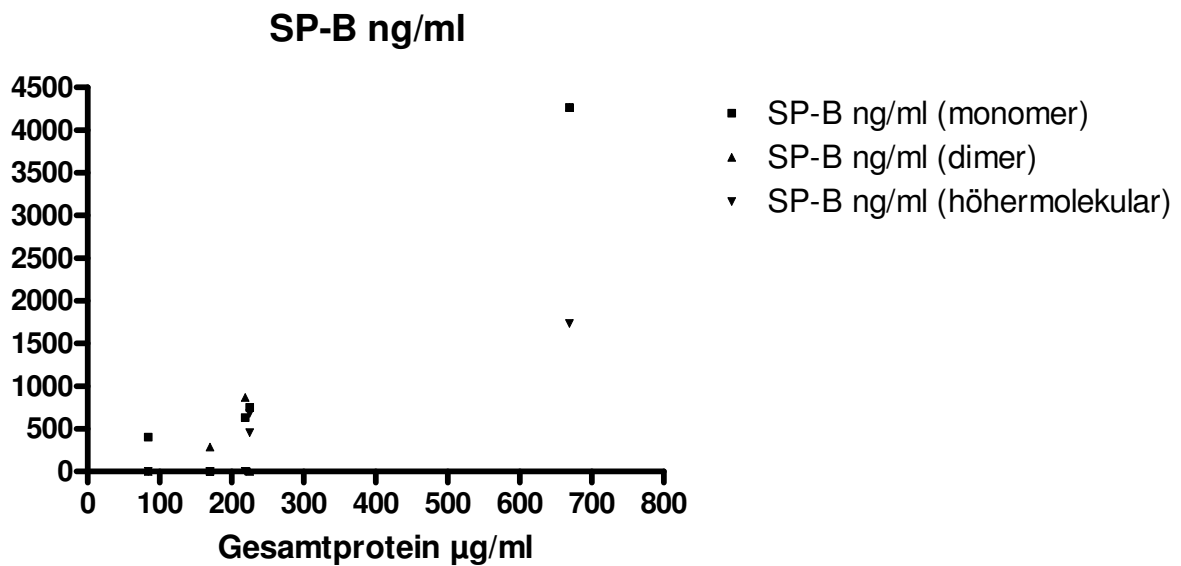


6-6 Patienten-ID's und Gesamtprotein

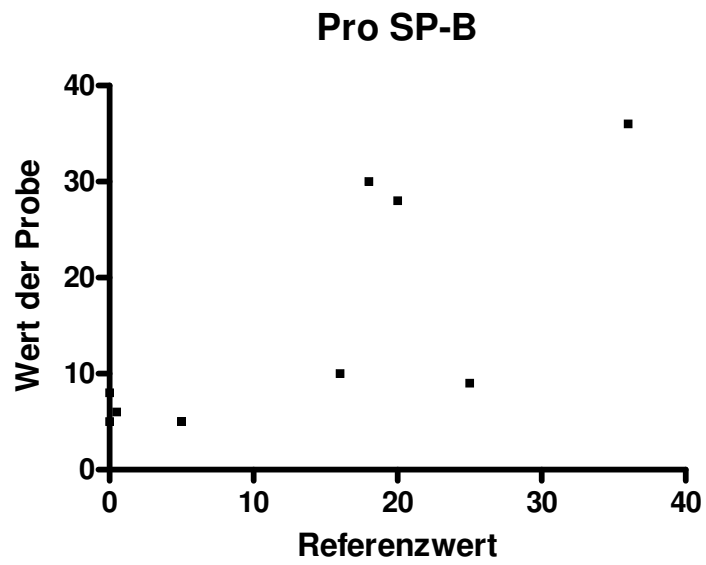
6.2.3.2 Nicht neugeborene Kinder



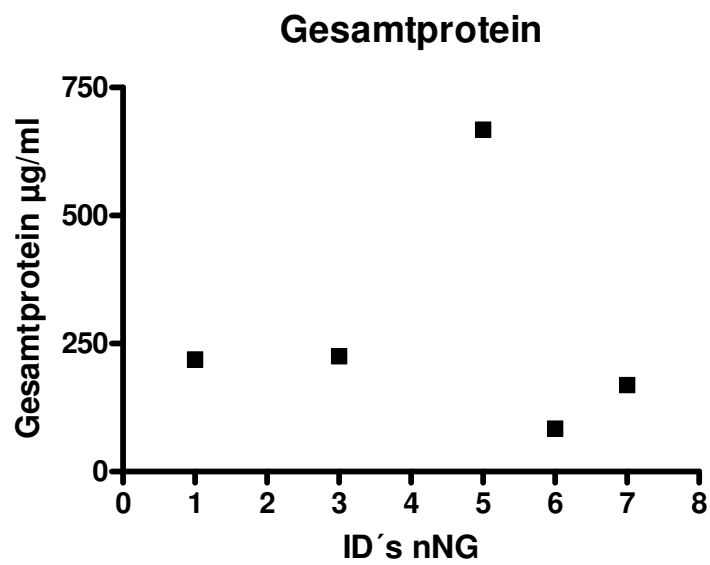
6-7 SP-C (ng/ml) pro Gesamtprotein



6-8 SP-B (ng/ml) pro Gesamtprotein

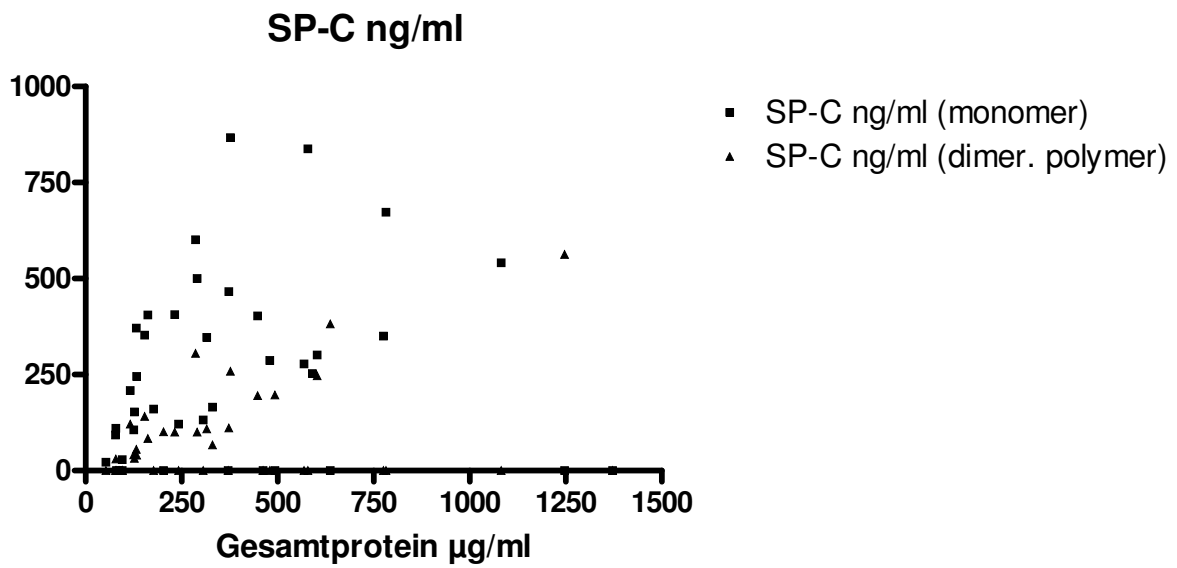


6-9 Pro-SP-B

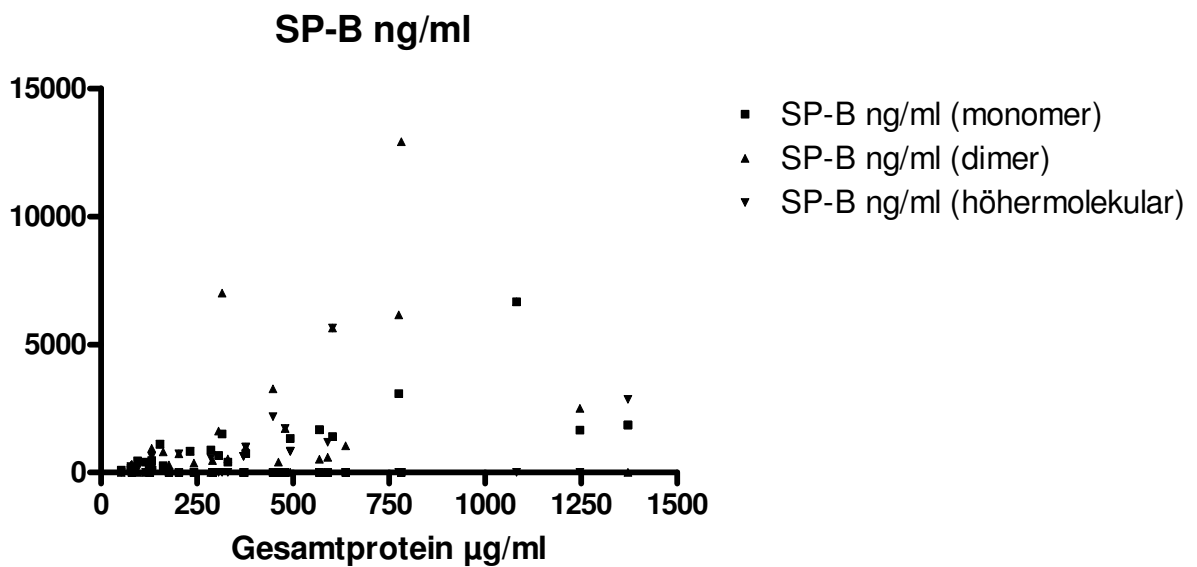


6-10 Patienten-ID's und Gesamtprotein

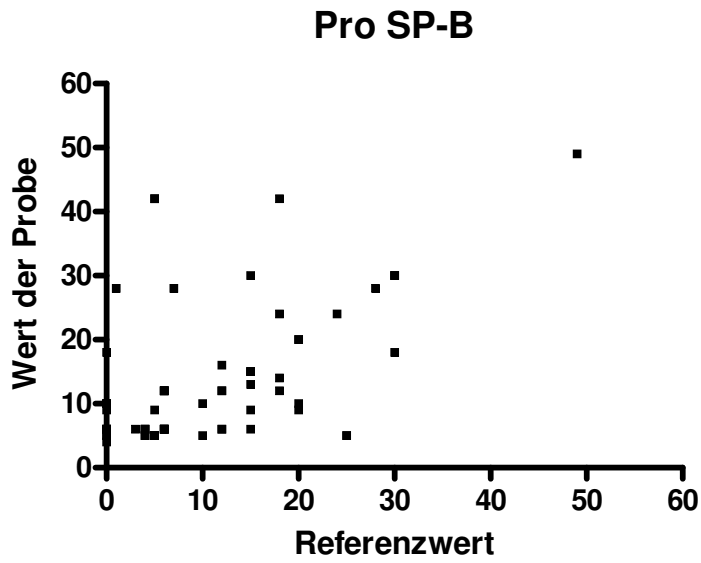
6.2.4 Gruppe interstitielle Lungenerkrankungen



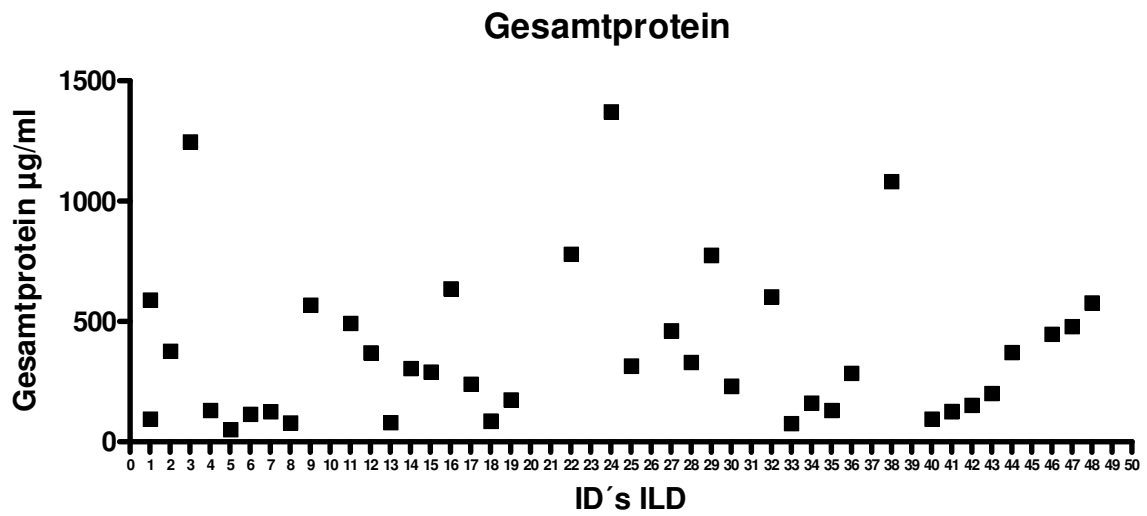
6-11 SP-C (ng/ml) pro Gesamtprotein



6-12 SP-B (ng/ml) pro Gesamtprotein

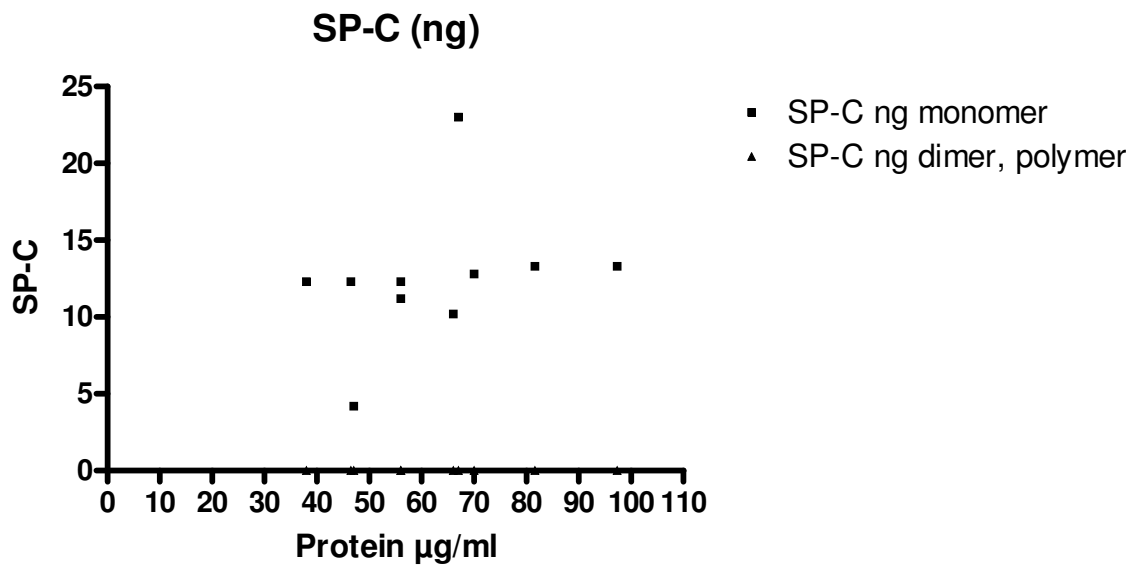


6-13 Pro-SP-B

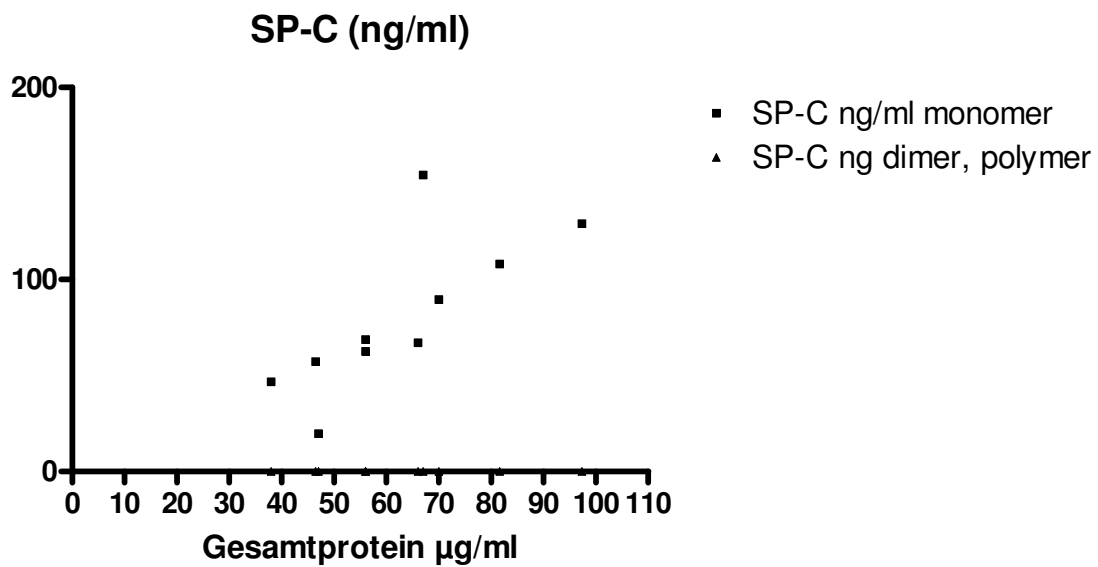


6-14 Patienten-ID's und Gesamtprotein

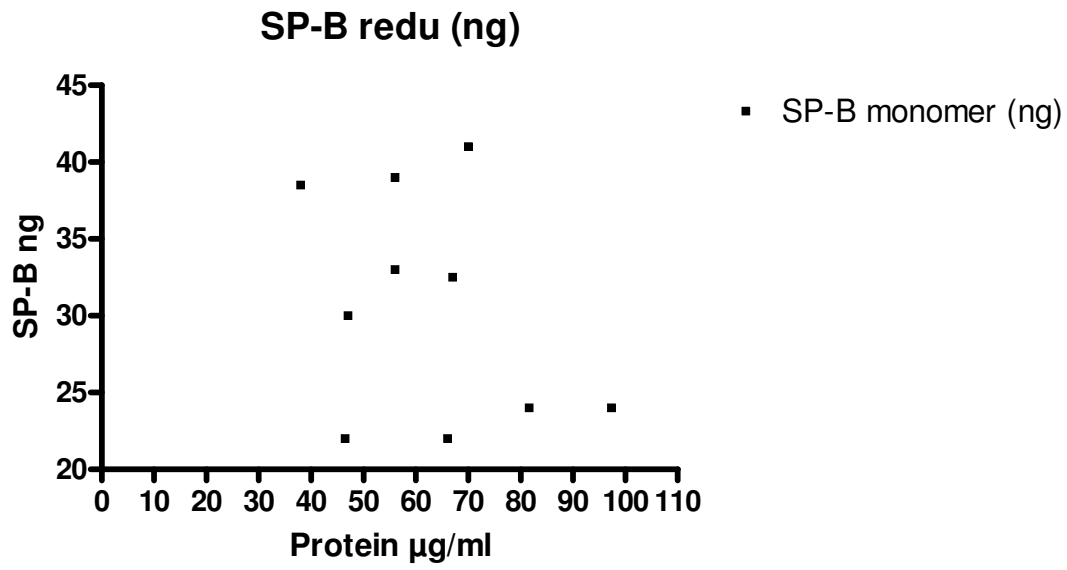
6.2.5 Kontrollgruppe



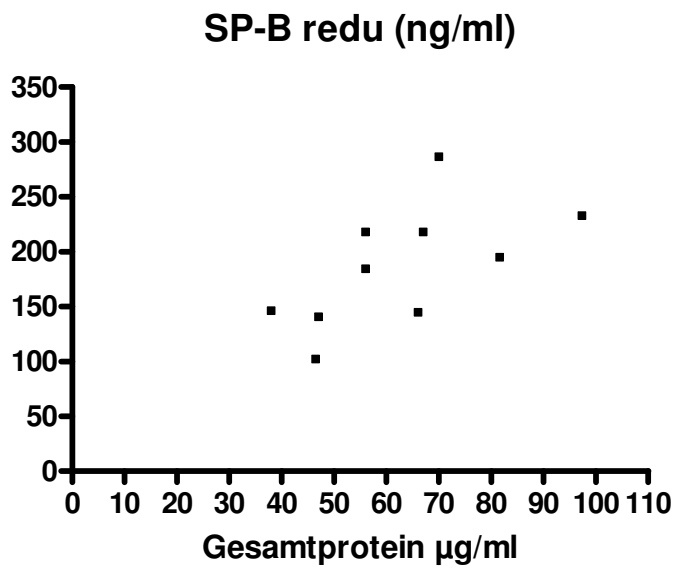
6-15 SP-C (ng) pro Gesamtprotein



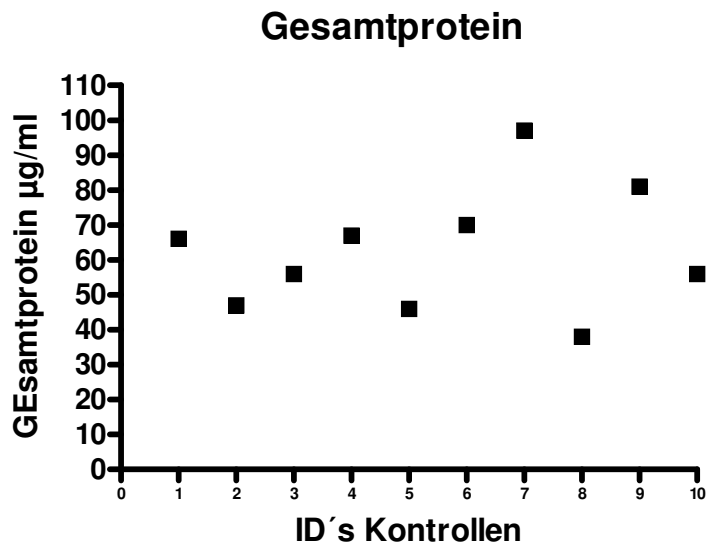
6-16 SP-C (ng/ml) pro Gesamtprotein



6-17 SP-B (ng) pro Gesamtprotein



6-18 SP-B (ng/ml) pro Gesamtprotein



6-19 Patienten-ID's und Gesamtprotein

6.3 Tabellen

Die Tabellen mit klinischen Daten der Kinder befinden sich im Querformat auf den folgenden Seiten.

6 Anhang

Tabelle 6-1: Klinische Daten der Patientengruppe ILE, vor Diagnose

Code	Geschlecht	GA, Neonatalzeit	Alter bei Beginn der Symptome	Ethnische Zugehörigkeit/ Herkunft	Konsanguinität, Sporadisch/ Familiär	Chron. Atemwegsinfekt	Pneumonien	Gedeihstörung/ Gewichtsverlust
ILD 01	Weiblich	33.SSW, dystroph GG 1,75 kg, postnatal Chylothorax, Intubation 25. LT	12.LT resp. Insuff, Ödeme	Oman	Ja, Sporadisch	Nein	Nein	Ja/ Nein
ILD 02	Weiblich	Reifes NG	n.b.	Kaukasisch	Nein, Sporadisch	n.b.	n.b.	n.b.
ILD 03	Weiblich	Reifes NG, SS und Geburt normal, seit Geburt „komische Hustengeräusche“, Einziehungen, Beatmung bis LTX	Postpartal, Intubationspflichtig 2.LM	Türkisch	Ja, Sporadisch	Nein	Nein	Ja/ Nein
ILD 04	Männlich	38. SSW, normale SS und Geburt	6.LM	Kaukasisch	Nein, Sporadisch	Nein	Einmal 6.LM	Nein/ Nein
ILD 05	Weiblich	38+5 SSW, elektive Sectio	Ab 3,5 LM Tachypnoe, RG's subkostale Einziehungen	Kaukasisch	Nein, Sporadisch	Nein	Nein	Nein/ Nein
ILD 06	Männlich	38	5 Wochen	Kaukasisch	Nein, Sporadisch	Nein	Nein	Ja/ Ja
ILD 07	Weiblich	Ehemaliges FG der 33.SSW, ab 1.LD Beatmung bei respiratorischer Insuffizienz	Postpartal	Kaukasisch	Nein, Sporadisch	Chron.Rhinitis	Einmal ca. im 4. LM	Ja/ Nein
ILD 08	Männlich	38.SSW, Sectio bei pathologischem CTG, Beatmung über mehrere Monate, mehrfache Reintubation	Postpartal	Kaukasisch	Nein, Sporadisch	Nein	Chronische Pneumonie	Nein/ Nein
ILD 09	Weiblich	36.SSW, RDS I°, Langzeitbeatmung, TS-Anlage	Postpartal	Kaukasisch	Nein, Sporadisch	Nein	Einmal	Ja/ Nein
ILD 10	Weiblich	36.SSW, SGA, Nikotinabusus der Mutter, graues Hautkolorit	ab 10.LT Tachypnoe, Intubation, rez. Pneu's, Surfactant wirkungslos	Kaukasisch	Nein, Sporadisch	Nein	Nein	Nein/ Nein
ILD 11	Männlich	38.SSW Sectio, ursprünglich Zwillings-SS, missed abortion 10.SSW, vorzeitige Wehen	Postpartal	Schweiz	Nein, Sporadisch	Nein	Nein	Nein/ Nein
ILD 12	Weiblich	38	11. LJ	Kaukasisch	Nein, Sporadisch	Nein	Nein	Nein/ Nein
ILD 13	Männlich	FG 27 SSW, CPAP erste 6 LW, BPD (keine Langzeit-Beatmung)	Postpartal	Kaukasisch	Nein, Sporadisch	Nein	Nein	Nein/ Nein
ILD 14	Weiblich	Spontangeburt nach 33. SSW, komplizierte SS, frühzeitige Wehen und Zervixinsuffizienz	Postpartal	Kaukasisch	Nein, Sporadisch	Nein	Nein	Nein/ Nein
ILD 15	Weiblich	34	postpartal Probleme, dann wieder mit 5 Jahren	Kaukasisch	Nein, Sporadisch	Ja	Nein	Nein/ Nein
ILD 16	Männlich	Über SSW und Geburt n.b. pulmonale Hypertonie seit 1.LJ	8.LJ	Kaukasisch	Nein, Sporadisch	Nein	Nein	Nein/ Nein
ILD 17	Männlich	38	8.LJ	Kaukasisch	Nein, Sporadisch	Nein	Nein	Nein/ Ja
ILD 18	Männlich	38.SSW, progrediente Belastungsintoleranz, leichte pulm. Hypertonie, Lipidpneumonie	8.LJ	Kaukasisch	Nein, Sporadisch	Nein	Ja	Nein/ Nein
ILD 19	Männlich	38.SSW, sekundäre Sectio wg. Geburtsstillstand, Tachypnoe ab Geburt, ab 2.LT. O2-Bedarf	Postpartal	Arabisch	Nein, Sporadisch	Nein	Nein	Nein/ Nein
ILD 22	Weiblich	38.SSW, am 2.LT intubiert wg. Zyanose und kontrolliert beatmet, blass-livides Kolorit, Surfactantgabe führte nicht zu Besserung, persistierende pulmonale Hypertonie	2.LT	Arabisch	Nein, Sporadisch	Nein	Nein	Nein/ Nein

6 Anhang

ILD 23	Weiblich	n.b.	Beginn der Symptome interstit. Pneumopathie	Arabisch	Nein, Bruder verstorben an CPI als Säugling	Nein	Nein	Nein/ Nein
ILD 25	Männlich	38 reifes NG, unklare Hypoxämie	Postpartal	Kaukasisch	Nein, Sporadisch	Nein	Nein	Nein/ Nein
ILD 26	Männlich	38	Postpartal	Kaukasisch	Nein, Sporadisch	Nein	Nein	Nein/ Nein
ILD 27	Männlich	38.SSW, ab 4 h pp Zyanose und resp. Insuffizienz mit Intubation	Postpartal	Kaukasisch	Bruder hatte ähnliche Erkr.	Nein	Nein	Nein/ Nein
ILD 28	Weiblich	ehemaliges Drillings-FG der 36.SSW, postpartal keine Probleme	ab 5.LM Husten, Dyspnoe, Trinkschwäche, Aspirationspneumonien, Apnoen, O2, Intubation, Surfactantgabe kaum Besserung	Kaukasisch	Eineiige Zwillinge, alle ähnliche Symptomatik	Ja	Ja	Ja/ Nein
ILD 29	Weiblich	39 SSW., postpartal Trinkschwäche, erhöhte Infektanfälligkeit mit rez. Pneumonien	obstruktive Bronchitiden ab 2.LJ, 10.LJ RG's	Kaukasisch	Nein, Sporadisch	Ja	4-5/ Jahr	Ja/ Nein
ILD 30	Männlich	38 reifes NG, Neonatalzeit unauffällig	18.LM	Kaukasisch	Nein, Sporadisch	Rez. Bronch.	8.LW	Ja/ Nein
ILD 32	Weiblich	38.SSW, postpartal keine Probleme	ab 6.LM Gedeihstörung, 13. LM Hustenattacken, ab 2.LJ Trommelschlegelfinger	Kaukasisch	Nein, Sporadisch	Ja	Einmal mit 1,5 Jahren	Ja/ Nein
ILD 33	Männlich	FG 34.SSW, Notsectio bei schlechtem CTG	Postpartal Intubation	Kaukasisch	Nein, Sporadisch	Nein	Nein	Nein/ Nein
ILD 34	Männlich	Zwillings-FG der 33.SSW, konnatale Pneumonie, Beatmung, keine Entwöhnung möglich	Postpartal	Kaukasisch	Nein, Sporadisch	Nein	Klebsiellen-Pneumonie	Nein/ Nein
ILD 35	Männlich	39. SSW, seit Geburt bestehende juguläre Einziehungen, fauchendes AG, Husten	Postpartal	Kaukasisch	Nein, Sporadisch	Allergie Hühnereiweiß	Nein	Nein/ Nein
ILD 36	Weiblich	38. SSW, resp. Anpassungsstörung, O2-Bedarf, Tachydyspnoe	Postpartal	Kaukasisch	Nein, Sporadisch	Nein	Konnatale Pneumonie	Nein/ Nein
ILD 38	Männlich	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	Nein	Nein	Nein/ Nein
ILD 39	Männlich	39. SSW, dystrophes NG, Intubation, Beatmung, pulmonale Hypertonie, V.a. Lungenhypoplasie	Postpartal	Arabisch	Ja, Sporadisch	Nein	Nein	Nein/ Nein
ILD 40	Weiblich	37+3 SSW, IUGR, fetale Alkoholembyopathie, resp. Insuff. ab 3.LD., CPAP-Bedarf, BPD	3.LD	Kaukasisch	Nein, Sporadisch	Reizhusten	Rez. Pneum.	Nein/ Nein
ILD 41	Männlich	39+4 SSW, schlechte Adaptation, Intubation, kaum Besserung auf Surfactant, NO Beatmung	Postpartal	Kaukasisch	Ja, Sporadisch	Nein	Nein	Nein/ Nein
ILD 42	Männlich	40.SSW, normale SS und Geburt,	3.LM Husten, klinisch deutliche Tachydyspnoe, pulmonales Knistern, bläss, O2-Bedarf	Kaukasisch	Nein, Sporadisch	Nein	Pneumon. Infiltrate	Nein/ Nein
ILD 43	Weiblich	Reifes NG, Floppy Infant, resp. Insuffizienz	Postpartal	Kaukasisch	Nein, Sporadisch	Nein	Nein	Nein/ Nein
ILD 44	Weiblich	Ehem. FG 25. SSW, V.a. schwere BPD, Intermittierende pulmonale Hypertonie, Beatmung, RSV- Pneumonie, Pseudomonas-Nachweis im TS	Postpartal	Kaukasisch	Nein, Sporadisch	Nein	RSV-Pneumonie	Nein/ Nein
ILD 45	Männlich	38.SSW postpartal unauffällig	Ab 3.LM mehrfach	Kaukasisch	Nein, Sporadisch	Nein	Nein	Nein/ Nein

6 Anhang

			Episoden mit Husten und Tachydyspnoe, AB-Therapie					
ILD 46	Weiblich	40. SSW, normale SS und Geburt	Vorstellung im 9.LM, Beginn evtl. früher, da Kind nicht gedieh, Trommelschlegelfinger	Kaukasisch	Nein, Sporadisch	Nein	Nein	Ja/ Ja
ILD 47	Weiblich	37.SSW, ANS IV. Grades, Langzeitbeatmung, keine Besserung durch NO und Surfactant, Klumpfüße bds., auffällige Facies	Postpartal	Türkisch	Ein Kind verstarb im Alter von 4 Mo an resp. Insuff.	Nein	Nein	Nein/ Nein
ILD 48	Weiblich	FG 32. SSW, ANS III-IV.Grades, Weaning nicht möglich	Postpartal	Kaukasisch	Nein, Sporadisch	Nein	Nein	Ja/ Nein
ILD 49	Weiblich	Reifes NG, keine Probleme	3.LM Tachypnoe, RG's, Husten	Kaukasisch	Nein, Sporadisch	Nein	Nein	Nein/ Nein
ILD 50	Männlich	39.SSW, resp. Anpassungsstörung mit O2-Bedarf, klinische Verschlechterung Surfactantgabe und ECMO	Postpartal	Arabisch	N/ ein Geschwister an resp. Insuff. verstorben	Ja	Nein	Nein/ Nein
ILD 51	Männlich	38.SSW, seit Geburt O2-Bedarf, Einziehungen und Stöhnen	Postpartal	Kurdisch	Ja / Sporadisch	Nein	Staph.aureus-Pneumonie	Nein/ Nein
NG 01	Männlich	39.SSW, keine Spontanatmung,	3.LT. Intubation, respiratorische Verschlechterung und Surfactantgabe	Türkisch	Ja/ Familiär (2 Aborte, ein verstorbenes Geschw.)	Nein	Nein	Nein/ Nein
NG 24	Weiblich	eutrophes NG, hyaline membrane disease, O2-Gabe, ANS	n.b.	Kaukasisch	n.b.	Nein	Nein	Nein/ Nein

6 Anhang

Tabelle 6-2: Klinische Daten der Patientengruppe ILE, zum Diagnosezeitpunkt

Code	Größe, Gewicht	AF, Trommelschlegelfinger (J/N)	O2-Bedarf (l/min), FEV1, FVC	LDH (U/l), Hb (g/dl)	Anderes	Ergebnisse Bildgebung und anderer Untersuchungen (CXR, CT-Scan, Histologie)	Durchgeführte Diagnostik (TBB, BAL, Genetik, Bildgebung)	Medikation zum Zeitpunkt der Diagnose
ILD 01	n.b., 2,17	Eupnoe/N	O2	224, 11,7	Dilatative Kardiomyopathie, pulmonaler HT, zerebrale Atrophie	CXR: pulmonale Verdichtungen, weiße Lunge, interst. Verdichtung mit Überblähung Histo: nicht spez.chron.Pneumontis	BAL, CXR, Genetik, Biopsie	Steroide systemisch, AB im Verlauf
ILD 02	96 cm, 13 kg	30/m/N	O2-Vorlage	LDH normwertig, Hb n.b.	N	Histo: NSIP, keine unreifen oder deformierten lamellar bodies	BAL, CXR, OLB	Steroide, Hydroxychloroquin
ILD 03	n.b., 4,765 kg	Tachydyspnoe/N (Lippenzyanose)	Beatmung	LDH1213, Hb 14	N	CXR: weiße Lunge mit pos. Bronchogramm, Überblähung Histo: interst. fibrosierend, sehr zellreich, ähnlich PAP Typ II	BAL, CXR, OLB, Genetik	AB, Steroide systemisch, zweimal Surfactant
ILD 04	68cm, 8 kg	58/m /N	O2	LDH normwertig, Hb 11,6	anti-CMV IgM (diaplazentar von der Mutter)	CXR: feinfleckige Zeichnungsvermehrung, CT: milchglasartig Verdichtung	BAL, CXR, CT	Rectodelt, Steroide
ILD 05	dystroph	80/min/N	N	n.b.	in der OLB: herdförmige Verm. glykogensp. interstitieller Zellen	CT: milchglasartige Trübung	BAL, CT, Biopsie	Steroide systemisch
ILD 06	105 cm, 13,5 kg	48/m/N	1-1,5l/m	LDH 579, Hb 10,1	GÖR; Muskelhypotonie; faziale Dysmorphie; V.a. PDA, pulmonale Hypertonie	Histo: diffuseILD mit beginnendem fibrotischem Umbau, kein Infiltrat	BAL, OLB, CT	Steroide systemisch
ILD 07	126 cm, 26,8 kg	26/m/N	N	LDH 299, Hb 13	Mitralklappenprolaps mit geringer Insuffizienz	CXR: Überblähung OLB: lymphoide Alveolitis, massive Aktivierung des mukosaassoziierten lymphatischen Systems	BAL, CXR, OLB	Steroide systemisch
ILD 08	62 cm, 6530g	40-80/m/N	N	295, 11,8	Z.n. kleinem muskulärem VSD, Z.n. ASD secundum, PDA	CXR: ausgedehnte alveoläre und interstitielle Infiltrate Histo: wie DIP, keine PAS-Ablagerungen	BAL, CXR, Biopsie	Antibiotika
ILD 09	95cm, 13kg	Ruhedyspnoe/J	O2 1,5l/m	LDH n.b., Hb 12,9	rez. Pneumothoraces, Lymphadenopathie	CT: ausgeprägte interstitielle und alveoläre Zeichnungsvermehrung, diffuse Transparenzverminderung	BAL, CT	Steroide systemisch, AB
ILD 10	52 cm, 3919g	n.b./N	O2, Beatmung	LDH n.b., Hb 14,3	Re-Li-Shunt Vorhofebene, Trikuspl. Insuff. I-II, Mitralsuff. I	CXR: streifige und kleinfleckige Verschattungen	BAL, CXR	AB, Antimykotika
ILD 11	50cm, 3110g	n.b./N	O2, Beatmung.	beides normwertig	Spannungspneu rechts	CXR: diffuse schwere interst. Lungenerkrankung	BAL, CXR	AB, Dopamin, Diuretika
ILD 12	148,2 cm, 46,6kg	n.b./N	Kein O2, FEV 171,6, FVC 69	n.b.	N	CXR: diskrete interst. Veränderungen	BAL, OLB, CXR	Azathioprin
ILD 13	n.b.	n.b./N	N	n.b.	Retinopathia praematorum bds. III°	CXR: keine Infiltrate, BPD	BAL, CXR	n.b.

6 Anhang

ILD 14	47cm, 2640g	n.b./N	O2, Beatmung	LDH n.b./Hb 7,5	Z.n. UU Infektion, V.a.Wilson- Mikity	CXR: Schwielenbildung bds. , Zeichen einer BPD	BAL, CXR	Steroide systemisch
ILD 15	101cm, 13kg	18/m/N	N	LDH norm, Hb 11,4	N	Bronchoskopie	BAL	Steroide systemisch
ILD 16	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	N	n.b.	BAL	n.b.
ILD 17	mäßiger AZ und EZ	Eupnoe/N	N	LDH 326, Hb 11	Mixed connective tissue disease, Hauterscheinungen, Arthralgien, Apathen, pulmonale Hypertonie, abgelaufene Lungenhämorrhagie	N	BAL	Steroide , Nystatin
ILD 18	173 cm 45,5 kg (16 LJ)	Tachypnoe/J	N	LDH 398, Hb 11,5	Echo: Zeichen der Druckerhöhung in der pulmonalen Strombahn Konnatale Hypothyreose	OLB: herdförmiger Prozess, Ablagerung von Cholesterin, mit mehrkern. Riesenzellen, Makrophagen: lobuläre Cholesterinpneumonie.	BAL, CXR, Genetik, OLB	L-Thyroxin
ILD 19	53 cm, 3,8 kg	bis 100/min/N	bis 45% O2-Bedarf	LDH n.b. Hb 13,2	N	CXR: Transparenzminderung, keine Infiltrate/ Atelektase, milchglasartige Trübung	BAL, CXR, Genetik	Keine
ILD 22	Größe und Gewicht > 97.P	beatmet/N	Beatmung	LDH n.b., Hb 21,8	V.a. neonatale Sepsis	CXR: Transparenzminderung, streifige Zeichnungsvermehrung, Infiltrat DD Dystelektase, wie ARDS .	BAL, CXR	O2, AB
ILD 23	n.b.	n.b./N	Beatmung	n.b.	N	n.b.	Genetik, keine BAL, wurde abgelehnt von den Eltern	n.b.
ILD 25	n93 cm, 15,6 kg	lockerer Husten/ N	N	LDH n.b., Hb 12,5	N	HRCT: Hinweis auf eine pulmonale Hypertension. Narbige Veränderungen bds., kein Nachweis einer generalisierten Lungenparenchymkr. Vergr. re. Ventrikel und Vorhof	BAL, HRCT	O2
ILD 26	n.b.	n.b./N	Beatmung	n.b.	N	Biopsie: wie PAP	BAL, CXR, Biopsie	n.b.
ILD 27	48 cm, 4,3 kg	n.b./N	Beatmung	LDH n.b., Hb 17,9	N	n.b.	BAL	n.b.
ILD 28	Gedeih- störung	Tachypnoe/ N	O2 (4-8 l Bedarf in Ruhe)	n.b.	GÖR	CXR: milchglasartige Verschattungen im Sinne eines RDS, zunehmende Atelektasen Histo: Chronische Pneumonitis (CPI)	BAL, CXR, Biopsie	Colchizin, AB, Sedativa, Diuretika
ILD 29	150cm, 32 kg	45/m/ N	N	Beides normwertig	GÖR	CXR: interst. Zeichnungsvermehrung CT: Bronchiektasen mit interst. Zeichnungsvermehrung	BAL, CXR,CT	Budenosid, AB
ILD 30	Gewicht, Größe: > 97.P	Tachypnoe/ N	N	LDH 324, Hb 12,8	N	CT: Milchglastrübe Abschnitte, trapped-air- Bezirken, streifige Atelektasen Histo: nicht das Bild einer PAP	BAL, Biopsie, CT	Prednison intermittierend , AB- Dauertherapie

6 Anhang

ILD 32	Gewicht und Größe < 3.P.	Tachypnoe./ J	N	Beides normwertig	Ventilations-Perfusions-Szinti: deutliche Minderperfusion und Minderventilation der gesamten linken Lunge, kein trapped air Nachweis., ph-metrisch bestätigter GÖR	CXR: Transparenzminderung Überblähung TBB: typische desquamative interstitielle Pneumonie CT: überwiegenden alveoläre bis feinretikuläre Eintrübung	BAL, Szinti, TBB, CXR, CT	Steroide systemisch, O2
ILD 33	Gewicht und Größe < 3.P.	Eupnoe/N	N	LDH n.n., Hb 10,5	GÖR, Entw.verzögerung, autonom.Dysregulationsyndrom	CXR: Überblähung, kein Infiltrat	BAL, CXR	AB
ILD 34	53cm, 3615g	n.b./ N	O2, Beatmung	n.b.	Anfallsartige Ereignisse mit tonischer Armhebung und perioralen Automatismen	HRCT: bullöse Veränderungen, Atelektasen, interstitielle Gewebeerzm. Histo: Fibrose	BAL, TBB, HRCT	Steroide systemisch, Surfactant
ILD 35	Guter AZ, EZ	Tachypnoeisch /N	N	Beides normwertig	N	CXR: Überblähung, streifige Zeichnungsvermehrung	BAL, CXR, Genetik	Steroide inhalativ
ILD 36	51cm, 3,6 kg	90/min/N	O2-Bedarf	LDH n.b., Hb 17,6	N	CXR: diffuse alveolären Belüftungsstörung	BAL, CXR, Genetik	AB, O2
ILD 38	n.b.	n.b./N	n.b.	n.b.	N	n.b.	BAL	n.b.
ILD 39	40cm, 1,3 kg	Vor Beatmung tachypnoeisch/ N	Beatmung	LDH 737, Hb 10	V.a. Cutis laxa – Syndrom,	CXR: Transparenzmind. Atelektasen CT: Überblähung, Verdichtung, pulm. Hypertension Histo: Kombinationsbefunde PAP, NSIP und Mikroangiopathie	BAL, CXR, CT, Biopsie	Prostaglandine
ILD 40	41cm, 1,7kg	beatmet/N	O2, Beatmung	LDH norm, Hb 10,2	PDA wurde op. Verschlussen, NEC versorgt	CXR: Herz vergrößert, Lungenüberflutung	BAL, CXR	Diuretika
ILD 41	4kg	beatmet/N	40% FiO2, Beatmung	N/N	N	CXR: Atelektase rechts CT: nicht typisch für Mekoniumasp. oder neonatale Pneumonie	BAL, CXR, CT	Analgesedierung
ILD 42	64cm, 6 kg	Tachypnoeisch /N	O2-Vorlage	LDh norm, Hb 8	Echo: kein Vitium cordis als Ursache für Tachydyspnoe	CXR: pneum. Infiltrate CT: Belüftungsstörungen	BAL, CXR, CT	Salbutamol
ILD 43	Gewicht 3.P, Größe 3.-10. P.	beatmet/N	Beatmung	Beides normwertig	Neuromusk. Entw.verzögerung, Herzkatheter: pulmonalarterielle Druckerhöhung	CXR: kleinfleckige Infiltrate	BAL, Herzkatheter, CXR	Steroide systemisch
ILD 44	n.b.	beatmet/N	Beatmung	n.b.	N	CXR: V.a. schwere BPD	BAL, CXR	n.b.
ILD 45	Gewicht 25.P, Größe 50.P.	Sternale und jug.Einziehung/ N	N	LDH n.b., Hb 13,5	N	CXR: mündlich: interstitielle Pneumonie Histo: Nachweis von P. jiroveci	BAL, OLB, CXR	n.b.
ILD 46	0,87, 8kg	40/J	Beatmung, FiO2 60%	253 U, Hb 10,7	N	Histo: NSIP und PAP CXR: mediastinale LAD	BAL, TBB, CXR, Genetik	Steroide systemisch

6 Anhang

ILD 47	54 cm, 4,97 kg	beatmet/N	FiO2 50%	LDH 355, Hb 12,4	N	CXR: diffuse Verschattung, chronischen Minderbelüftung Muskelbiopsie: Kein Hinweis auf eine neuromusk. Erkr. CT: alveoläre fleckige und interstitielle Verdichtungen	BAL, CXR, CT, TBB	Katecholamine, Steroide systemisch
ILD 48	n.b.	n.b./N	N	n.b.	Doppelnieren bds., Nierenbeckenerweiterung, ASD, VSD, erweiterte äußere Liquorräume, unreife Gyrierung	N	BAL	n.b.
ILD 49	Größe 50.P, Gewicht 25.P.	Eupnoe/N	N	LDH 363, Hb 11	N	CXR: retikuläres Infiltrat CT: homogene milchglasartige Eintrübung, Bronchiektasen	Genetik, keine BAL, CXR, CT	Steroide systemisch
ILD 50	n.b.	beatmet./N	Beatmung	n.b./NG- Anämie	PDA und PFO, nicht hämodynamisch relevant, NG-Infektion mit E.coli	CXR: ANS II.-III. Grades	BAL, CXR	AB, Fentanyl, Dopamin
ILD 51	51 cm, 2,9 kg	beatmet/N	Beatmung	LDH 524, Hb 13,3	Patho: mikroskopisch Mischbild einer PAP und nicht spezifischer interstitieller Pneumonie, Echo: PDA, PFO, leichter pulm Hochdruck	CXR: wie ANS III° CT: Milchglastrübung, Mosaikmuster, Bronchiektasen, interstit. und alveoläre Zeichungsvermehrung Histo: CPI (Kombinationsbefund einer NSIP und PAP)	BAL;CXR;CT;TB B, OLB, Genetik	Theophyllin, Morphin, Eisen, Chloralhydrat
NG 01	49 cm, 2530g	n.b./N	Beatmung	n.b.	Polyzythämie	Rö-Tx: Homogene Verschattung beider Lungen	BAL, Genetik, CXR	Steroide systemisch, Surfactant
NG 24	n.b.	beatmet/N	Beatmung	n.b.	N	n.b.	BAL, Genetik	Surfactant

6 Anhang

Tabelle 6-3: Klinische Daten der Patientengruppe ILE, nach Diagnose

Code	Medikation	Komplikationen	Zeitraum follow-up	Klinische und radiologische Zeichen bei Ende follow-up	Endgültige Diagnose
ILD 01	L-Thyroxin, Prednison	schlechtes Gedeihen	24 Tage	klinisch Stabilisierung, weiter dystroph, radiol. interstitielle Verdichtung mit Überblähung	Nonspecific chronic pneumonitis of infancy, FG
ILD 02	n.b.	n.b.	verstorben	n.b.	NSIP
ILD 03	Budenosid, AB, Fortecortin	schlechtes Gedeihen	21.LM	Verstorben 21.LM an lymphoproliferativer Erkrankung nach Lungentransplantation	ABCA3-Defekt
ILD 04	O2 nächtlich	N	4 Jahre	Patient in gutem AZ, unter nächtlicher O2-Gabe gute Sättigung	NG, unklare ILD und M.Osler-Weber Rendu
ILD 05	Steroide ausgeschlichen	N	2 Jahre	Gedeihstörung, weiterhin interst. Zeichnungsvermehrung, Tachypnoe, RGs	Säugling, unklare ILD
ILD 06	LTX	chron. Transplantat-abstoßung	> 6Jahre	Keine Besserung	Säugling, Cholesteroidpneumonie
ILD 07	Steroide werden ausgeschlichen	Steroid-NW	8 Jahre	Nächtliche O2-Bedarf, Re- und Li-Herzbelastungszeichen	33 SSW FG, Kind, unklare ILD
ILD 08	AB	N	3 Jahre	Keine Besserung	NG, unklare ILD
ILD 09	Chloroquin, Budenosid, Ipratropiumbromid	N	3 Jahre	interst. und alv. teils fleckige Zeichnungsvermehrung, diffuse Transparenzminderung, klinisch Besserung	36. SSW FG, unklare ILD
ILD 10	Steroide, AB, Katecholamine	-	8 Wochen	Verstorben 8 Wochen im Herz-Kreislauf-Versagen	36 SSW FG, unklare ILD
ILD 11	AB, Spironolacton	N	1 Jahr	Verstorben 44 Tage	36 SSW FG, unklare ILD
ILD 12	Cortison, Budenosid	N	n.b.	n.b.	NSIP
ILD 13	Palivizumab	N	1 Jahr	stabiler AZ, gute Sättigungen, radiol. Besserung der BPD	Wilson-Mikity, 27 SSW FG
ILD 14	Steroide	N	1	Schlechtes Gedeihen	Wilson-Mikity, 33 SSW FG,
ILD 15	Steroide inh.	N	5 Jahre	guter AZ/ EZ, keine Dyspnoe	Ehem. FG, unklare ILD
ILD 16	Steroide	n.b.	7 Jahre	Kont.O2-Bedarf	NG, unklare ILD
ILD 17	Steroide, AZT, Nystatin	N	9 Jahre	Stabil	NG, unklare ILD, mixed connective tissue disease
ILD 18	L-Thyroxin	N	16 Jahre	Klinisch stabil	Cholesteroidpneumonie
ILD 19	Keine	N	2 Wochen	Wird weiter betreut, stabil	NG, unklare ILD
ILD 22	Antibiotika	Weaning schwierig	4 Wochen	Immer noch leichte Transparenzminderung, anhaltend hoher Beatmungsbedarf und pulm. Hypertension	NG, unklare ILD
ILD 23	n.b.	n.b.	4 Jahre	n.b.	NG, unklare ILD
ILD 25	Nachts O2	N	3 Jahre	Klinisch stabil, gedeiht	NG, unklare ILD
ILD 26	n.b.	n.b.	n.b.	verstorben 5 LM im respiratorischen Versagen	NG, unklare ILD
ILD 27	n.b.	n.b.	n.b.	jenseits der NG-Periode pulmonal unauffällig	NG, unklare ILD
ILD 28	Steroid-Stoßtherapie und Colchizin	Reflux	4 Monate	PEG-Sonde, statomotorisch gute Entwicklung	NG SP-C-Mutation, bei allen Drillingen, CPI

6 Anhang

ILD 29	Steroide, AB,	N	Kind 10 J alt	CXR: wie chron.Bronchitis, klinisch stabil	NG, unklareILD
ILD 30	Decortin, AB	N	2 Jahre	n.b.	unklareILD, Kind >1Jahr
ILD 32	PEG, Steroide, Chloroquin	Pneumothorax	3 Jahre	Verstorben 3,5 J	NG, unklareILD
ILD 33	AB, Steroide inh. und systemisch	N	5 J	Regelmäßig bei Kontrollen stabiler Zustand	NG unklareILD
ILD 34	Steroide	-	n.b.	Verstorben 4 Mo unter Beatmung	FG, unklareILD, Fehlbildung
ILD 35	Steroide inh.	N	1,5 J	Klinische Besserung unter Therapie	NG, unklareILD
ILD 36	N	N	4 W	Verlegt in gutem AZ mit O2-Bedarf	NG, unklareILD
ILD 38	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	NG unklareILD
ILD 39	Prostaglandine	N	8.LM	Verstorben 8.LM	NSIP
ILD 40	Steroidtherapie	Weaning schwierig	8 Monate	Schlechtes Gedeihen, 8 Monate alt, CPAP und O2 Bedarf	NG, unklareILD
ILD 41	Vitamin K oral	N	2 Wochen	Keine Besserung	NG, unklareILD
ILD 42	N	N	3 Monate	Keine Besserung	NG, unklareILD
ILD 43	Steroide	N	1,5 J	Klinisch stabil, intermittierend nachts O2-Bedarf	NG unklareILD
ILD 44	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	FG, BPD
ILD 45	Heim O2, interm. AB, Steroide	N	1,5 J	Klinisch stabil	Hyper-IgM-Syndrom, PCP, unklareILD beim Säugling
ILD 46	Steroide syst.	N	3 J	Verstorben mit 3 J im kardioresp. Versagen	NG unklareILD
ILD 47	Steroidstöße	-	14 M	Verstorben 14. LM im septischen Kreislaufversagen	NG, unklareILD
ILD 48	n.b.	n.b.	n.b.	Klinisch Besserung	FG unklareILD
ILD 49	Steroide syst. AB intermittierend	N	2,5 J	Klinisch stabil bei regelm- Kontrollen	SP-C-Mutation
ILD 50	Chloroquin	-	3 M	Verstorben, Alter 3M	ABCA3-Defekt und SP-C-Polymorphismus
ILD 51	Chloroquin, Steroide syst.	N	3 W	Verstorben 3.Lebenswoche	ABCA3-Defekt
NG 01	O2, Antibiotika	extreme SO2 Schwankungen	n.b.	Verstorben 14. Lebenstag	ABCA3 Defekt
NG 24	Surfactant	N	42.LT	Verstorben 42.Lebenstag	ABCA3 Defekt

6 Anhang

Tabelle 6-4: Klinische Daten der Patientengruppe NG, vor Diagnose

Code	Geschlecht	GA, Neonatalzeit	Alter bei Beginn der Symptome	Ethnische Zugehörigkeit/ Herkunft	Konsanguinität, Sporadisch/ Familiär	Chronischer Atemwegsinfekt	Pneumonien	Gedeihstörung/ Gewichtsverlust
NG 02	Weiblich	Notsectio nach 28+6 SSW bei Präeklampsie	Postpartal zyanotisch, Maskenbeatmung	Asiatisch	N/S	N	N	J/N
NG 03	Männlich	Dystrophes FG 27.+4 SSW, ANS, BPD	Postpartal	Kaukasisch	N/S	N	N	J/N
NG 04	Weiblich	FG 26. SSW, ANS II°, Intubation bei SO2-Abfällen und Hyperkapnie	Postpartal	Kaukasisch	N/S	N	N	J/N
NG 05	Männlich	n.b.	n.b.	Kaukasisch	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
NG 06	Männlich	Reifes SSW., sek. PPHN, BPD	Postpartale Asphyxie	Kaukasisch	N/S	N/(Hühner- weißallergie)	N	N/N
NG 07	Männlich	27.SSW Sectio, wg. Eklampsie, resp. Insuff., Intub., ANS III, Surfactantgabe, keine Besserung, BPD	Postpartal	Kaukasisch	N/F	N	N	J/N
NG 08	Weiblich	25 SSW, Sectio wg Asphyxie und CRP-Anstieg	Postpartal	Kaukasisch	N/S	N	N	J/N
NG 09	Weiblich	34. SSW, Sectio wg. Gestose, RDS IV°, Emphysem, Surf.gabe nur leichte Besserung	Postpartal	Kaukasisch	N/S	N	N	N/N
NG 10	Männlich	39.SSW, hypotroph, Leukopenie ohne Infektnachweis, Entw. einer PPH	3. LT	Kaukasisch	N/S	N	N	J/N
NG 11	Weiblich	33.SSW, Geburt komplikationslos	postpartal resp. Insuffizienz und Intubation	Türkisch	J/F	N	N	N/N
NG 12	Männlich	28+3 SSW; postpartal zunächst rosig	8.LS resp. Insuff. und Reanimation	Kaukasisch	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
NG 13	Weiblich	34.SSW, Entwicklung eines RDS	Postpartal	Kaukasisch	N/S		N	J/N
NG 14	Männlich	37. SSW, Sectio (mütterl. Ind.) Zyanose und resp. Insuffizienz	Postpartal	Kaukasisch	N/S	N	N	n.b.
NG 15	Männlich	30.SSW, Sectio	Postpartal dyspnoeisch, Beatmung 6 Mo	Kaukasisch	N/S	N	Rez. Pneumonien	J/N
NG 16	Männlich	37.SSW, Sectio (mütterl. Ind.),	Postpartal RDS III°, Intubation	Kaukasisch	N/F	N	N	N/N
NG 17	Männlich	41 SSW, Sectio, resp. Insuffizienz, Beatmung	Postpartal	Kaukasisch	N/S	N	N	N/N
NG 18	Männlich	37.SSW, hypotrophes NG	Postpartal	Libanon	N/F	N	N	J/N
NG 19	Männlich	38.SSW, Surf.gabe führte zu keiner Besserung	Postpartal resp. Insuff.	Französisch	N/S	N	N	N/N
NG 20	Männlich	SSW n.b., RDS, Beatmung	Postpartal	Französisch	N/S	N	N	N/N
NG 21	Weiblich	NG 37+2 SSW, RDS, kein Ansprechen auf Surfactant	Postpartal	Kaukasisch	N/S	N	N	N/N
NG 22	Weiblich	Reifes NG, resp. Insuffizienz, Intubation, keine Surfactantgabe	Postpartal	Kaukasisch	N/S	N	N	N/N

6 Anhang

NG 23	Weiblich	FG 33 SSW bei vorzeitigen Wehen	Postpartal, resp. insuff., Intubation	Kaukasisch	N/S	N	N	N/N
NG 25	Weiblich	Reifes NG, Hypoxie, O2-Vorlage nötig	Ab 10.LT SO2-Abfälle und Intubation	Kaukasisch	N/S	N	N	N/N
NG 26	Weiblich	27+3 SSW, Beatmung 99 Tage	Postpartal ANS, Intubation	Kaukasisch	N/S	N	N	J/N
NG 27	Männlich	38.SSW, Sectio, ANS III°, tachypnoeisch, zyanotisch, Intubation	Postpartal	Kaukasisch	N/S	N	N	N/N

6 Anhang

Tabelle 6-5: Klinische Daten der Patientengruppe NG, zum Diagnosezeitpunkt

Code	Größe, Gewicht	AF, Trommelschlegelfinger (J/N)	O2 supplement (l/min),	LDH (U/l), Hb (mg/dl)	Anderes	Ergebnisse Bildgebung und anderer Untersuchungen (CXR, CT-Scan, Histologie)	Durchgeführte Diagnostik (TBB, BAL, Genetik, Bildgebung)	Medikation zum Zeitpunkt der Diagnose
NG 02	33cm, 800 g	n.b./N	O2, Beatmung	LDH norm, Hb 14,2	z.n. PDA, Z.n. Indometacin-Verschluss, Perikarderguss durch Dislokation ZVK, Frühgeborenenanämie	CXR: granuläre Lungenstrukturverdichtung, Transparenzverminderung als Ausdruck hyaliner Membranen, BPD	BAL, CXR	Steroide syst.
NG 03	60,5 cm, 6310g	40/m./N	O2 4-5 ltr/min	LDH 259, Hb 14,1	Zwei Episoden mit Hyperthermie, Transaminasenanstieg, CK Anstieg, Gerinnungsstörung, Hämaturie, Myoglobinurie	CXR: streifige Verdichtungen, Überblähung, Bullae	BAL, CXR	Steroide syst.
NG 04	36cm, 980 g	Tachydyspnoe/N	O2, Beatmung, 0,5 l/m	LDH n.b./18,4	N	CT: Lungendestruktion mit Überblähung, zystischer Umbau, BPD	BAL, CT	Steroide syst., AB
NG 05	n.b.	n.b./N	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	BAL	Steroide syst.
NG 06	63cm, 5400g	40/m./N	N	309, Hb 13,4	Rhinoviren in der BAL	CXR: Zeichnungsverminderung und Überblähung	BAL, CXR	Steroide inh.
NG 07	48cm, 4300g	beatmet/N	Masken CPAP	Beides normwertig	Thrombozytopenie, Hydrozephalus bds., interstitielles Emphysem	CXR: Infiltrate	BAL, CXR	Steroide syst.
NG 08	35,5cm, 1044g	beatmet/N	O2, Beatmung	LDH norm, Hb 12,6	Vergrößerter re. Ventrikel, ASD II, TI. I-II, ROP	CXR Atelektasen, interst. Verdichtungen, Überblähung, pneum. Infiltrate, BPD	BAL, CXR	Steroide syst.
NG 09	42cm/1,8kg	beatmet/N	Beatmung	LDH norm, Hb 18,2	PFO, PDA	CXR:RDS II, Entwicklung weißer Lunge trotz Surfactantgabe	BAL, CXR	AB
NG 10	53cm, 3360g	beatmet/N	Beatmung	n.b.	Hypospadiе, PDA, VSD	Histo: pulm. Reifungsstörung des alv. Lungenparenchyms	BAL, OLB, Genetik	Prostaglandine
NG 11	50cm, 3200g	beatmet/N	Beatmung	n.b.	Beidseits Anophthalmie	CXR: RDS II-III Histo: ACD ohne Lungenvenenfehleimündung	BAL, CXR	Steroide syst.
NG 12	50 cm, 3,3 kg	beatmet/N	Beatmung	LDH 649, Hb 13	Z.n. PFC-Syndr., Z.n. PDA, Z.n. DIC; Z.n. Zerebrale Krampfanfälle; TI IV°;ASD II (Hypertrophie re. Hinterwand + Septum)	CXR: rez. Totalatektasen	BAL, CXR	Surfactant, AB, Prostaglandine
NG 13	n.b., 1220g	beatmet/N	Heimbeatmung über Trachealkanüle	LDH 256, Hb 10,3	ASD II, Duodenalatresie, Retrognathie, Makroglossie	CXR: Atelektasen	BAL, CXR	O2
NG 14	49 cm, 2,5 kg	beatmet/N	Beatmung	LDH normwertig, HB 12,2	N	CXR: feines retikulär granuläres Muster über beiden Lungenflügeln	BAL, CXR	AB
NG 15	n.b.	beatmet/N	Beatmung	n.b.	ASD II, Prothrombinmutation	CXR: rez. Atelektasen, streifige	BAL, CXR	n.b.

6 Anhang

						Zeichnungsvermehrung		
NG 16	51cm, 2790g	50-70/min/N	O2 6l/m	LDH norm., Hb 15,8	N	CXR: reticogranuläre Lungenmuster, Aerobronchogramm, Transparenzminderung	BAL, CXR	N
NG 17	54cm, 3400g	beatmet/N	Beatmung	n.k./ Hb 15	PDA, ASD II, partielle Lungenfehlmündung	CXR hypoplastische Lunge, streifige Lungengefäßzeichnung Histo:	BAL, CXR, OLB	Vit.D
NG 18	48cm, 2350g	n.b./N	O2, Beatmung	LDH Hb norm	Gallengangsatresie,	CT: zystisch-wabiger Lungengerüstumbau OLB: Lymphangiektasie, sek. alveolarseptalen Veränderungen wie bei Wilson-Mikity-Syndrom	BAL, CT	Steroide syst., AB, Salbutamol, Ipratropiumbromi d
NG 19	Größe n.b., 2,8 kg	beatmet/N	Beatmung	LDH norm, Hb 10,5	Lactatazidose	CXR: Verdichtung CT: Hyaline Membranen	BAL, CXR, CT	Surfactant
NG 20	Größe n.b., 3830g	beatmet/N	Beatmung	n.b.	N	CXR: Bilaterale pulm. Infiltrate, CT: Alveoläre Infiltrate	BAL, CXR	Domperidon
NG 21	n.b.	beatmet/N	Beatmung	n.b.	n.b.	CXR: RDS II-III	BAL, CXR	AB
NG 22	Größe n.b., 3,8 kg	beatmet/N	Beatmung	Beides normwertig	N	CXR: unauffällig, keine Infiltrate	BAL, CXR	AB
NG 23	Größe und Gewicht < 50.P.	beatmet/N	Beatmung	Beides normwertig	Capillary leak, Dysmorphiesyndrom (Lungenhypoplasie, Nieren-, Uterus-, Blasenagenesie)	CXR: interst. Lungenemphysem, RDS	BAL, CXR	Steroide syst.
NG 25	51 cm, 3290 g	ruhige Eigenatmung/N	O2	n.b.	AV-Septum-Defekt (keine Stigmata für Tr. 21)	CXR: retik. Zeichnungsvermehrung, Transp.minderung Histo: alveolo-kapilläre Dysplasie mit missalignment of lung vessels	BAL, CXR, OLB	O2, Prostaglandine
NG 26	38cm, 1,13 kg,	beatmet/N	Beatmung	LDH norm, Hb 18	N	CXR: interst. Zeichnungsvermehrung i.S. einer BPD	BAL, CXR	Steroide syst, AB
NG 27	3120g,52 cm	n.b./N	O2 1/2l/m	LDH norm, Hb 13,5	Z.n. perinataler arterieller Hypertonie, und linksventr. Hypertrophie, APC- Resistenz, Mediateilinfarkt	CXR: diffuse Transp.minderung mit teilweise vermehrter retikulärer Zeichnung, CT: pulm. Flüssigkeitseinlagerung	BAL, CXR, CT	AB

6 Anhang

Tabelle 6-6: Klinische Daten der Patientengruppe NG, nach Diagnose

Code	Medikation	Komplikationen	Zeitraum follow-up	Klinische und radiologische Zeichen bei Ende follow-up	Endgültige Diagnose
NG 02	Steroide syst.	Weaning schwierig	2 LM	BPD, verstorben 1,5 Mo in der Klinik	FG, Unklare resp.Insuffizienz, SP-C-Defizienz
NG 03	Steroide syst.	N	8. LM	BPD, klinisch keine Besserung	FG, Unklare resp.Insuffizienz
NG 04	Steroide syst. intermittierend	-	7. LM.	BPD, verstorben 7 Mo	FG, Unklare resp.Insuffizienz
NG 05	N	N	n.b.	BPD	FG, Unklare resp.Insuffizienz
NG 06	Steroide inh, Salbutamol	N	14. Mo	Besserung, eupnoeisch, rez. Bronchitiden	Unklare resp.Insuffizienz
NG 07	Steroide syst.	N	6. LM.	BPD, verstorben 6 Mo	FG, URD
NG 08	Steroide syst.	N	4 LM	Verlegung mit 4 Mon. in gutem AZ	FG, URD, SP-C-Defizienz
NG 09	AB, Heim-O2	N	3.LM	Entlassung 3.LM in stabilem AZ	FG, URD
NG 10	Prostaglandine, NO-Beatmung	N	2.LM	Verstorben 2.LM	NG, Unklare resp.Insuffizienz
NG 11	Steroide systemisch	N	6.LM	Verstorben 6 LM im kardioresp. Versagen	FG, alveolo-kap. Dysplasie
NG 12	N	N	N	Entlassung nach Hause in gutem AZ, neurol. Betreuung	FG, URD
NG 13	Paracetamol, Furosemid	N	2 J	Heim O2	>32 SSW FG, URD
NG 14	AB	N	2.LM	Entlassung 2.LM in stabilem AZ	NG
NG 15	n.b.	n.b.	n.b.	Entlassung in häusliche Betreuung, Heim – O2	>30 SSW FG
NG 16	O2	N	3 Wo	Heim mit 3 Wo in gutem AZ	>30 SSW FG
NG 17	N	N	2 Wo	Entwicklungsneurologisch betreut	NG, URD
NG 18	Steroide syst, AB, Salbutamol, Ipratropiumbromid	N	4 Wo	Verstorben mit 2 Mo im hypoxischen Herz-Kreislaufversagen	37-SSW-NG, SP-C-Defizienz
NG 19	Surfactant	N	2 Wo	Noch stationär, Hypothyreose	NG, URD, SP-C-Defizienz
NG 20	N	N	2 Mo	O2 -abhängig, Dyspnoe	URD
NG 21	Surfactant	N	5.LT	Keine Besserung bis 5.LT	NG, URD,
NG 22	AB	N	4. LW	Keine Besserung bis 4.LW	NG, URD, SP-C-Defizienz
NG 23	Steroide syst.	N	4.LT	Verstorben 4.LT	URD
NG 25	Steroide syst.	N	1.LM	Verstorben Alter 1 Mo	NG , alveolo-kap. Dysplasie
NG 26	Steroide syst, AB	N	n.b.	Anlage Tracheostoma	FG, URD
NG 27	AB	N	n.b.	Keine Besserung	NG, URD

6 Anhang

Tabelle 6-7: Klinische Daten der Patientengruppe nicht NG, vor Diagnose

Code	Geschlecht	GA, Neonatalzeit	Alter bei Beginn der Symptome	Ethnische Zugehörigkeit/ Herkunft	Konsanguinität, Sporadisch/ Familiär	Chronischer Atemwegsinfekt	Pneumonien	Gedeihstörung/ Gewichtsverlust
nNG 01	Männlich	38.SSW, Weaning schwierig	Postpartal	Kaukasier	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
nNG 03	Männlich	39.SSW, RDS, nach Surfactantgabe keine Besserung	postpartal resp. insuffizient	Kaukasier	N/F (Schwester mit selber Erkr.)	N	N	N/N
nNG 05	Männlich	Reifes NG, dystroph	3.LT Intubation und pulmonale Hypertonie	Kaukasier	n.b.	n.b.	N	J/N
nNG 06	Weiblich	38.SSW, beatmungsbedürftig	postpartal	Kaukasier	N/F (2 Kinder verstorben)	N	J (eine)	J/N
nNG 07	Männlich	Dysproportionierte Wachstumsretardierung, Spontangeburt 36+5 SSW	postpartal zunehmend O2-Bedarf	Arabisch	J (Cousins 1.Grades)/N	N	viele pulm. Infekte im Rahmen der Dauerbeatmung	N/N

Tabelle 6-8: Klinische Daten der Patientengruppe nicht NG, zum Diagnosezeitpunkt

Code	Größe, Gewicht	AF, Trommelschlegelfinger (J/N)	O2 supplement (l/min),	LDH (U/l), Hb (mg/dl)	Anderes	Ergebnisse Bildgebung und anderer Untersuchungen (CXR, CT-Scan, Histologie)	Durchgeführte Diagnostik (TBB, BAL, Genetik, Bildgebung)	Medikation zum Zeitpunkt der Diagnose
nNG 01	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	BAL	n.b.
nNG 03	50 cm, 3180g	beatmet/N	Beatmung	n.b.	n	n.b.	BAL	n.b.
nNG 05	Größe n.b., 2,1 kg	beatmet/N	Beatmung	Beides normwertig	Situs solitus abdominalis, Duodenalatresie, Pankreas anulare, Malrotation	CXR: Transparenzminderung, Belüftungsstörungen und Stauung.	BAL, CXR	NO, Prostaglandine
nNG 06	50 cm, 3,4 kg	beatmet/N	Beatmung	LDH norm, Hb 15,1	Krampfanfälle im Zshg. mit Hirnödemen	CXR: diffuse weichfleckige Verdichtung	BAL, CXR	AB
nNG 07	Gewicht, und Größe <3.P.	beatmet/N	Beatmung	beides normwertig	Hypoposphatase	CXR: Atelektasen der Mineralisationsstörung der Knochen	BAL, CXR, Genetik	AB

6 Anhang

Tabelle 6-9: Klinische Daten der Patientengruppe nicht NG, nach Diagnose

Code	Medikation	Komplikationen	Zeitraum follow-up	Klinische und radiologische Zeichen bei Ende follow-up	Endgültige Diagnose
nNG 01	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	Nicht NG, unklare respiratorische Insuffizienz
nNG 03	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	Nicht NG, unklare respiratorische Insuffizienz
nNG 05	O2, NO, Prostaglandine	N	7.LW	Verstorben 7. LW Re-Herz-Dekompensation	Nicht NG, unklare respiratorische Insuffizienz, primär pulmonale Hypertonie
nNG 06	O2, Steroide	none	3 m	n.k.	Nicht NG, unklare respiratorische Insuffizienz
nNG 07	N	N	1.LM	Keine Besserung	Nicht NG, unklare respiratorische Insuffizienz, Hypophosphatasie

Tabelle 6-10: Klinische Daten der Kontrollgruppe

Code	Alter	Geschlecht
K1	1,6	Weiblich
K2	6,5	Weiblich
K3	26,8	Männlich
K4	9,2	Männlich
K5	4,8	Männlich
K6	10,8	Männlich
K7	0,5	Weiblich
K8	22,6	Männlich
K9	23,9	Männlich
K10	24,8	Männlich
K11	1,4	Weiblich
K12	4,7	Weiblich
K13	2,8	Männlich
K14	8,7	Männlich

6.4 Danksagung

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. Matthias Griese für die Bereitstellung des Themas, die fachliche Betreuung sowie für die kontinuierliche Unterstützung bei meiner Arbeit.

Außerdem herzlichen Dank an Dominik Hartl und Philip Latzin für die Mitbetreuung.

Sehr herzlichen Dank möchte ich ebenso an Frau Andrea Schams und Frau Stefanie Gruschka richten, die mir im Labor mit sehr großer Hilfsbereitschaft stets zur Seite standen. An Andrea Schams außerdem vielen Dank für die Bereitstellung ihrer Ergebnisse, die Hilfe bei der Auswertung und ihre kontinuierliche Unterstützung.

Des Weiteren bedanke ich mich herzlich bei meinen Mitdoktoranden Oliver Tafel, Vitaly Starosta, Asli Pamir, Christiane Sparr, Christian Paschen, Jan Ripper, Eva Bielecki, Maria Wassilewa, Eva Brack, Farhad Schabaz, Anette Bauer, Hanna Neumeier und sämtlichen Mitarbeitern der Forschungsgruppe Lunge, vor allem Dr. Markus Woischnik, Aki Hector und Stefanie Heinrich, für die Unterstützung und die gute Arbeitsatmosphäre.

Zuletzt gilt mein Dank Angelika Loiberstetter, Katrin Gebert, Jonna Schröder, Alexis Volovinis und Sebastian Voigt für die Durchsicht, sowie meiner Familie ohne deren Unterstützung und Motivation diese Arbeit nicht beendet worden wäre.

6.5 Lebenslauf

Persönliches

Name: Valerie Sara Kirchberger
Geburtstag- und ort: 15. Mai 1980 in Heidelberg
Staatsangehörigkeit: Deutsch
Adresse: Bergmannstr. 109, 10961 Berlin
Telefon: +49-30-63901818
+49-177-5265810
E-mail: valerie.kirchberger@gmx.de

Schule und Studium

10/2007 – 12/2008 Master of Science in Public Health, Charité Berlin, Ø 1,6
04/2007 – 06/2007 2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung Ø 1,5
03/2003 1. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung (Physikum) Ø 2,66
03/2001 – 06/2007 Medizinstudium an der Ludwig-Maximilians-Universität, München
07/1996 – 07/1999 Königin-Katharina-Stift, Gymnasium, Stuttgart, Abitur Ø 2,0
07/1986 – 07/1996 Michael-Bauer-Schule, Waldorfschule, Stuttgart

Praktische Erfahrungen

05/2009 – 07/2009 Freelance Consultant Roland Berger Strategy Consultants
01/2009 – 04/2009 Post-Graduierten-Praktikum Roland Berger Strategy Consultants,
Pharma und Healthcare Competence Center
05/2008 – 12/2008 Wissenschaftliche Mitarbeiterin, IGES-Institut für Gesundheits- und Sozialforschung,
Bereich Versorgungsforschung
04/2008 Praktikum IGES-Institut, Berlin
02/2006 – 02/2007 Praktisches Jahr
Pädiatrie, Klinikum der Universität München, Dr. von Haunersches Kinderspital
Innere Medizin, Harvard Medical School Boston, USA
Chirurgie, Klinikum der Universität München, Städtisches Krankenhaus Neuperlach
07/2003 – 09/2003 Famulatur Notfallmedizin, Kapstadt Südafrika
07/2004 – 09/2004 Famulatur Pädiatrie, Dr. von Haunersches Kinderspital München, Mukoviszidose –
Ambulanz
06/2005 – 07/2005 Famulatur Praxis für Kinderheilkunde Dr. Lange, Stuttgart
01/2001 – 10/2004 Regelmäßige Mitarbeit in Krankenpflegeabteilung, Furtbachkrankenhaus für Psychiatrie
und Psychotherapie, Stuttgart
08/1999 – 12/2000 Krankenpflegepraktika, Sprachreisen

6 Anhang

Wissenschaftliche Arbeit

06/2008 – 12/2008 Masterarbeit, Charité, Universitätsmedizin Berlin zum Thema „Environmental Health Concepts of Female Turkish Immigrants“

04/2004 – 05/2009 Medizinische Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität, München, Thema „Surfactantproteine und ihre Vorstufen bei interstitiellen Lungenerkrankungen im Kindesalter“,
Dr.von Haunersches Kinderspital

Stipendium

2006 Stipendium der Munich-Harvard Alliance for Medical Education, PJ-Tertial in Innerer Medizin an der Harvard Medical School

Sonstige Fähigkeiten

Sprachen	Deutsch	Muttersprache
	Englisch	Fließend in Wort und Schrift
	Französisch	Gute Kenntnisse
	Spanisch	Gute Kenntnisse

Computerkenntnisse MS Office, SPSS

Weitere Aktivitäten

01/2008 – andauernd Mitglied im IPPNW (International Physicians for the Prevention of Nuclear War)

04/2005 – 07/2005 Teilnahme am Benjamin-Franklin-Contest in Berlin, 2.Platz mit dem Team der LMU

04/2003 – 11/2003 Mitarbeit am "Medi-Kino-Projekt" der Fachschaft der LMU

Mitarbeit im "Teddy-Bear-Krankenhaus" der LMU

03/2002 – 09/2002 Coassistentin in der Mikroskopischen Anatomie

"All scientific work is incomplete – whether it be observational or experimental. All scientific work is liable to be upset or modified by advancing knowledge. That does not confer upon us a freedom to ignore the knowledge we already have, or to postpone the action that it appears to demand at a given time."

Sir Austin Bradford Hill, epidemiologist and statistician (1897–1991)