

Aus der Kinderklinik und Kinderpoliklinik im Dr. von Haunerschen Kinderspital
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Prof. Dr. Dr. Christoph Klein
&
der Neonatologie der Kinderklinik am
Perinatalzentrum der LMU München
Leiter: Prof. Dr. Andreas Schulze

Der Effekt von intravenösem Salbutamol auf das elektrische Potential der
Nasenschleimhaut von Frühgeborenen

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

vorgelegt von
Eva Johanna Raithel

aus
Gräfelfing

2012

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. Andreas Flemmer

Mitberichterstatter: Priv. Doz. Dr. Benedikt Berninger
Priv. Doz. Dr. Bernhard Olzowy

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Dr. med. Mathias Klemme

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h.c. M. Reiser, FACR,
FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 02.02.2012

Meinen lieben Eltern

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	4
Abkürzungsverzeichnis.....	7
1 Einleitung	9
1.1 Frühgeburtlichkeit und ihre Konsequenzen	9
1.2 Flüssigkeitstransport am fetalen Lungenepithel	11
1.3 Der Amilorid-sensitive epitheliale Natriumkanal (ENaC)	13
1.4 Die transepitheliale Nasenpotentialdifferenz	16
1.5 Das β_2 - Sympathomimetikum Salbutamol.....	17
2 Zielsetzung	19
3 Patienten, Material und Methoden.....	22
3.1 Studiendesign.....	22
3.2 Ethische Begutachtung	22
3.3 Patientenkollektiv	23
3.3.1 Einschlusskriterien	23
3.3.2 Ausschlusskriterien	23
3.4 Studienprotokoll.....	24
3.4.1 Randomisierung	24
3.4.2 Therapiegruppe.....	24
3.4.3 Kontrollgruppe	24
3.4.4 Beide Gruppen.....	24
3.4.5 Untersuchungen.....	25
3.4.6 Abbruchkriterien	25
3.5 Verwendete Studienlösungen.....	25
3.6 Technische Untersuchungen	26
3.6.1 Messung der transepithelialen Nasenpotentialdifferenz	26

3.7 Dokumentation und Datenerfassung.....	37
3.8 Statistik	39
4 Ergebnisse	40
4.1 Vergleich der Studiengruppen	40
4.2 Salbutamol-Infusion.....	42
4.2.1 Dosisfindung	42
4.2.2 Auswirkungen auf die Herzfrequenz.....	45
4.2.3 Auswirkungen auf Kalium und Blutzucker.....	46
4.3 Primäres Zielkriterium: Amilorid-sensitive Nasenpotentialdifferenz (Δ Amilorid)	48
4.4 Sekundäre Zielkriterien.....	51
4.4.1 Basale Nasenpotentialdifferenz (Basale PD)	51
4.4.2 Amilorid-sensitiver Anteil der Nasenpotentialdifferenz in %.....	53
4.4.3 Compliance und Resistance	54
4.4.5 Oxygenationsindex.....	56
4.4.6 Alveolo-arterielle Sauerstoffpartialdruckdifferenz (AaDO ₂)	57
4.5 Kurzzeit-Outcome.....	58
5 Diskussion	60
5.1 Zusammenfassung der Hauptergebnisse.....	60
5.2 Diskussion der Messmethodik	60
5.3 Medikamente	62
5.3.1 Salbutamol.....	62
5.3.2 Amilorid	65
5.4 Diskussion der Ergebnisse	66
5.5 Schlussfolgerung.....	71
6 Zusammenfassung.....	73
Literaturverzeichnis.....	75

Abbildungsverzeichnis	86
Tabellenverzeichnis	87
Anhang	88
Danksagung.....	98

Abkürzungsverzeichnis

AaDO ₂	Alveolo-arterielle Sauerstoffpartialdruckdifferenz
Δ Amilorid	Amilorid-sensitive Nasenpotentialdifferenz
Δ Amilorid (%)	Amilorid-sensitiver Anteil der Nasenpotentialdifferenz in %
AisPD	Amilorid-insensitive Nasenpotentialdifferenz
AIS	Amnioninfektionssyndrom
ANS	Atemnotsyndrom
AQP	Aquaporin
A/C	assistiert/kontrolliert
BE	base excess
BPD	Bronchopulmonale Dysplasie
c	Konzentration
C	Compliance
cAMP	zyklisches Adenosinmonophosphat
CPAP	kontinuierlicher positiver Atemwegsdruck
d	Tag
ECMO	extrakorporale Membranoxygenierung
EIT	Elektroimpedanztomographie
ENaC	epithelialer Natriumkanal
et al.	und andere
FG	Frühgeborenes
FiO ₂	inspiratorische Sauerstoffkonzentration
HFOV	Hochfrequenz-Oszillationsbeatmung
(S) IMV	(synchronisierte) intermittierend mandatorische Ventilation
IVH	intraventrikuläre Hämorrhagie
MAD	mittlerer Atemwegsdruck
Max	Maximum
Min	Minimum
mRNA	messenger-Ribonukleinsäure
mV	Millivolt
n	Anzahl
Na-pH	Nabelarterien-pH
OI	Oxygenationsindex

Abkürzungsverzeichnis

O ₂	Sauerstoff
p. m.	post menstruationem
PO ₂	Sauerstoffpartialdruck
PCO ₂	Kohlendioxidpartialdruck
P _a CO ₂	arterieller Kohlendioxidpartialdruck
P _a O ₂	arterieller Sauerstoffpartialdruck
P _A O ₂	alveolärer Sauerstoffpartialdruck
PDA	Persistierender Ductus arteriosus
PD	Potentialdifferenz
PEEP	positiv-endexpiratorischer Druck
PIP	inspiratorischer Maximaldruck
PPROM	preterm premature rupture of membranes
r	Korrelationskoeffizient
R	Resistance
RDS	respiratory distress syndrome
ROP	Retinopathia praematurorum
Sec	Sekunde
SEM	standard error of the mean
SSW	Schwangerschaftswoche
t	Zeit
UE	Untereinheit
\bar{x}	Mittelwert
\tilde{x}	Median

1 Einleitung

1.1 Frühgeburtlichkeit und ihre Konsequenzen

In den letzten zwanzig Jahren kam es zu einem signifikanten Anstieg der Überlebensraten von Frühgeborenen. Durch die Einführung neuer Techniken und Therapien in der intensivmedizinischen Versorgung, wie den standardisierten Einsatz von pränatalen Kortikosteroiden zur Induktion der Lungenreifung, die Verabreichung exogenen Surfactants oder die Einführung neuer Beatmungsmethoden, ist es möglich geworden, dass immer kleinere Frühgeborene überleben [1]. Gleichzeitig haben die höheren Überlebensraten extrem kleiner Frühgeborener mit einem Geburtsgewicht unter 1000 g und einem Gestationsalter von 24 bis 26 Schwangerschaftswochen zu einem Anstieg der Inzidenz der bronchopulmonalen Dysplasie, einer chronischen Lungenerkrankung Frühgeborener, geführt [2-4].

Frühgeborene leiden häufig am sogenannten Atemnotsyndrom (engl. RDS: respiratory distress syndrome, Synonym: hyalines Membransyndrom). Es äußert sich meist unmittelbar nach der Geburt mit zunehmender Atemnot mit sternalen und interkostalen Einziehungen, Nasenflügeln, expiratorischem Stöhnen und Zyanose. Das Atemnotsyndrom ist eine Folge der Lungenunreife, gekennzeichnet durch einen funktionellen, oder durch die Unreife der fetalen Lunge bedingten Mangel an oberflächenaktivem Surfactant [5]. Verglichen mit Frühgeborenen, die kein Atemnotsyndrom entwickeln, kommt es bei Patienten mit Atemnotsyndrom zu einer gestörten Resorption von Flüssigkeit aus der Lunge [6], was zu einem erhöhten Wassergehalt der Lunge führt [7, 8].

Eine der häufigsten Konsequenzen des Atemnotsyndroms ist die Entwicklung einer bronchopulmonalen Dysplasie (BPD).

Die bronchopulmonale Dysplasie (BPD, Synonym: chronische Lungenerkrankung, engl. CLD: chronic lung disease) wird nach der NIH-Konsensuskonferenz folgendermaßen definiert [9]:

Milde BPD	erhöhte FiO_2 mit 28 d, keine erhöhte FiO_2 mit 36 Wochen p.m. *
Moderate BPD	< 30 % O_2 mit 36 Wochen p.m. *
Schwere BPD	≥ 30 % O_2 und / oder Beatmung/CPAP mit 36 Wochen p.m. *

* bei $FG \geq 32$ SSW erhöhter FiO_2 mit postnatalem Alter von > 56 d, Abkürzungen: FiO_2 = inspiratorische Sauerstoffkonzentration, d = Lebensstage, p.m. = post menstruationem, CPAP = kontinuierlicher positiver Atemwegsdruck, SSW = Schwangerschaftswochen, BPD = Bronchopulmonale Dysplasie

Die früher üblichen Definitionen nach Bancalari ($FiO_2 > 0,21$ im Alter von 28 Lebenstagen, persistierende Atemnotsymptomatik, charakteristische radiologische Lungenveränderungen [10]) sowie nach Shennan ($FiO_2 > 0,21$ mit 36 Wochen postmenstruelles Alter [11]) wurden durch diese Beschreibung abgelöst.

Die Entstehung der BPD ist multifaktorieller Genese. Wesentliche Voraussetzung für die Entwicklung der Erkrankung stellt die Unreife der Lunge dar. Vor der Einführung von exogen appliziertem Surfactant in die Therapie des Atemnotsyndroms stellten maschinelle Beatmungsregime mit hohen Tidalvolumina und hoher Sauerstoffzufuhr die wesentlichen Ursachen für die Entstehung einer BPD dar [12, 13]. Die Einführung der Surfactant-Therapie ermöglichte zwar das Überleben von sehr kleinen Frühgeborenen und führte zu einer Reduktion des Einflusses der Beatmung und der Sauerstofftoxizität auf die unreife Lunge, die erhoffte Auswirkung auf die Inzidenz der BPD blieb jedoch aus [2]. Zusätzliche Faktoren wurden erkannt, die bei der Entstehung der BPD eine Rolle zu spielen scheinen. So werden Entzündungsvorgänge, alleine oder in Verbindung mit Infektionen [14-18], eine Flüssigkeitsüberladung der Lunge aufgrund eines persistierenden Ductus arteriosus botalli oder aufgrund hoher Flüssigkeitszufuhr, insbesondere in den ersten Lebenstagen [2, 19-21], Ernährungsfaktoren [22] oder auch eine frühe Nebennierenrindeninsuffizienz [23-25] als weitere pathogenetische Faktoren diskutiert. Ferner zeigen Untersuchungen, dass genetische bzw. familiäre Faktoren bei der Entwicklung der BPD bedeutsam sind [26, 27].

1.2 Flüssigkeitstransport am fetalen Lungenepithel

Im Mutterleib ist die fetale Lunge mit Flüssigkeit gefüllt. Dies ist von großer Bedeutung für das Wachstum der Lunge [28, 29]. Man weiß heute, dass diese Flüssigkeit durch aktive Sekretion von Chlorid-Ionen durch das fetale Lungenepithel in das Alveolarlumen produziert wird [30-32].

Eine in der basolateralen Zellmembran gelegene Na^+ -, K^+ - ATPase schafft einen extrazellulär-intrazellulären Na^+ - Gradienten. Ein ebenfalls in der basolateralen Membran gelegener Na^+ -, K^+ -, 2Cl^- - Cotransporter wird durch diesen Na^+ - Gradienten angetrieben und schafft Cl^- - Ionen in die Zelle. Mit dem K^+ , das die Zelle durch K^+ - Kanäle in der basolateralen Membran verlässt, und dem Na^+ , welches durch die Na^+ -, K^+ - ATPase nach extrazellulär transportiert wird, verlassen positive Ladungen die Zelle, so dass intrazellulär negative Ladungen im Überschuss vorliegen. Angetrieben hierdurch verlässt Cl^- die Zelle in Richtung Lumen. Na^+ und Wasser folgen entsprechend dem elektrochemischen bzw. osmotischen Gradienten, so dass Flüssigkeit ins Alveolarlumen sezerniert wird (siehe Abbildung 1) [33].

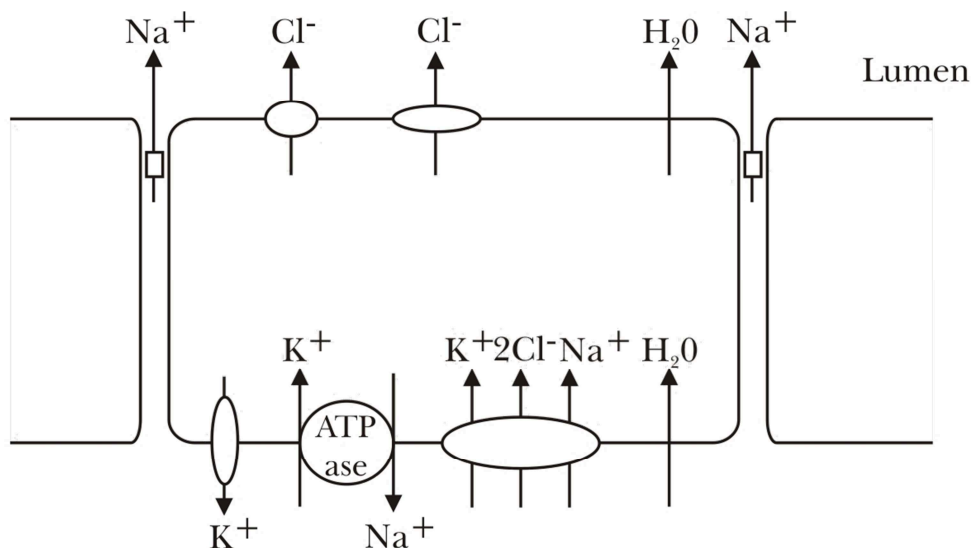


Abb. 1: Flüssigkeitssekretion des fetalen Lungenepithels (modifiziert nach Elias et al. [33])

Für einen effektiven Gasaustausch nach der Geburt ist es notwendig, dass diese Flüssigkeit rasch aus dem Alveolarlumen resorbiert wird, d.h. in der Lunge muss eine Umstellung von Flüssigkeitssekretion zu Flüssigkeitsabsorption stattfinden. Durch Untersuchungen an Schafen [30] und isolierten Rattenlungen [34] konnte gezeigt werden, dass die Entfernung der Flüssigkeit durch aktiven Na^+ -Transport aus dem Alveolarlumen in das Interstitium erfolgt. Wasser folgt entsprechend dem osmotischen Gradienten und wird weiter über die Blutgefäße abtransportiert. Verantwortlich für den Na^+ -Transport von der apikalen zur basolateralen Zelloberfläche sind die im Lungenepithel vorkommenden und für die Surfactantsekretion zuständigen Alveolarzellen Typ II [35-38]. Die in der basolateralen Zellmembran gelegene Na^+ -, K^+ -ATPase transportiert Na^+ -Ionen aktiv über die Zellmembran ins Interstitium. Der lumenseitige Eintritt der Na^+ -Ionen erfolgt über Na^+ -durchlässige Kanäle in der apikalen Zellmembran. K^+ verlässt die Zelle über basolaterale Kaliumkanäle, Chlorid-Ionen und Wasser folgen. Der transzelluläre Na^+ -Gradienten führt so zu einer Resorption von Flüssigkeit über das Epithel (siehe Abbildung 2) [39, 40].

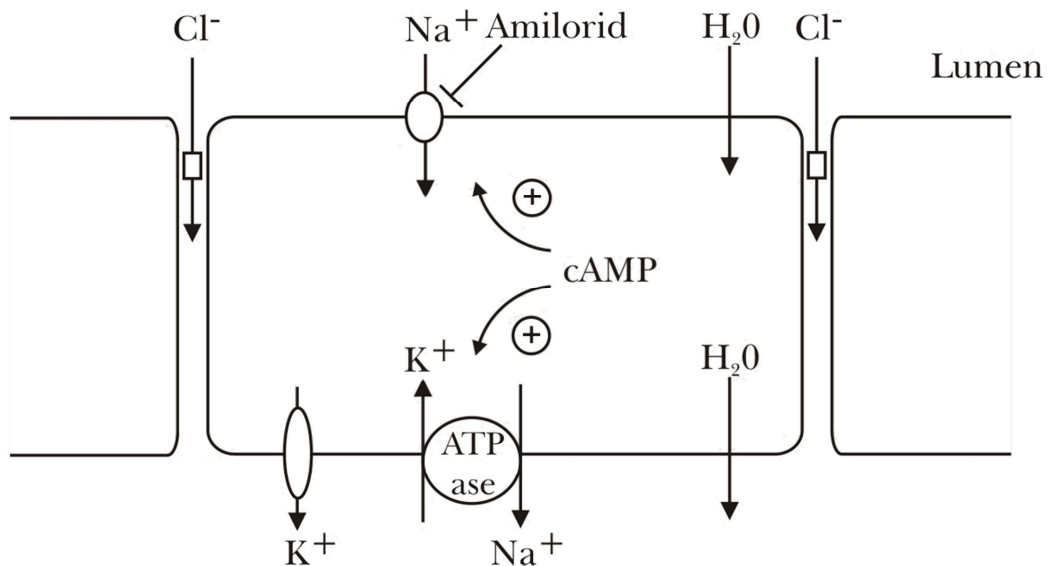


Abb. 2: Postnatale Flüssigkeitsabsorption des Lungenepithels (modifiziert nach Elias et al. [33])

1.3 Der Amilorid-sensitive epitheliale Natriumkanal (ENaC)

Bei den Na⁺- Kanälen in der apikalen Zellmembran handelt es sich hauptsächlich um Amilorid-sensitive epitheliale Natriumkanäle (ENaC). Ein weiterer Teil der Natrium-Ionen gelangt über Amilorid-insensitive Natriumkanäle in die Zelle [40].

ENaC ist ein selektiver, spannungsabhängiger Kationenkanal, welcher sich durch seine Sensitivität gegenüber dem K⁺- sparenden Diuretikum Amilorid auszeichnet [41]. Er ist Mitglied der ENaC/Degenerin Proteinfamilie und vermittelt den Na⁺- Transport über unterschiedliche Epithelien wie Niere, Darm, Schweißdrüsen und eben auch der Lunge [41]. Die molekulare Struktur des epithelialen Natriumkanals wurde erstmals 1993 am Beispiel des im distalen Kolon von Ratten lokalisierten ENaC beschrieben [42]. ENaC ist ein hetero-oligomeres Protein und besteht aus drei homologen Untereinheiten (α -, β - und γ -UE), welche erst in Kombination einen voll funktionsfähigen Kanal ausbilden [43, 44]. Allerdings scheint die α -UE allein bereits einen funktionsfähigen Kanal generieren zu können, während die β - und γ -Untereinheiten dem Proteinkomplex spezifische und regulatorische Eigenschaften verleihen [44]. Durch die Assoziation dieser beiden Untereinheiten mit der α -UE bilden sich Kanäle mit unterschiedlichen Eigenschaften, die die Affinität zum Natriumkanalblocker Amilorid, die Kanalkinetik und die Ionenselektivität betreffen, was darauf schließen lässt, dass durch unterschiedliche Kombination der einzelnen Untereinheiten Kanäle mit unterschiedlichen Eigenschaften entstehen [45, 46]. Bisher konnten ENaC von verschiedenen Spezies einschließlich Mensch [47], Huhn [48], Rind [49] und Frosch [50] kloniert werden. Natriumkanäle werden entlang des gesamten Respirationstraktes, vom Epithel der Nasenschleimhaut bis zu den Alveolen exprimiert [51]. Durch Einzelkanal-Studien wurden bisher mindestens vier verschiedene Typen Amilorid-sensitiver Natriumkanäle im Epithel der Lunge entdeckt, die sich unter anderem durch unterschiedliche Selektivität für Natrium- gegenüber Kalium-Ionen auszeichnen [52].

Die Permeabilität der Zellmembran wird durch sogenannte Aquaporine (AQP) erhöht. Diese finden sich in der Lunge im mikrovaskulären Endothel (AQP 1), in der basolateralen Membran des respiratorischen Epithels (AQP 4) sowie in der apikalen Membran von Alveolarzellen Typ I (AQP 5) [40]. Um den Zeitpunkt der Geburt kommt es zu einer zunehmenden Expression dieser Wasserkanäle, vor allem von Aquaporin 4 (AQP 4) [53, 54]. Allerdings konnte in Versuchen mit Aquaporin-knock-out-Mäusen

gezeigt werden, dass Aquaporine für die physiologische Flüssigkeitsclearance in der Lunge von Neugeborenen nicht erforderlich sind [55, 56].

In verschiedenen Tierexperimenten konnte hingegen gezeigt werden, dass der ENaC für die Flüssigkeitsabsorption in der Lunge essentiell ist. So führte die intratracheale Gabe der Na⁺-Kanalblocker Amilorid [57] oder Benzamil [58] bei neugeborenen Meerschweinchen zu einer verzögerten Flüssigkeitsclearance der Lunge, zu Hypoxie und respiratorischer Insuffizienz. Mäuse, die kein funktionstüchtiges Gen für die α -UE des ENaC besaßen, entwickelten ebenfalls eine respiratorische Insuffizienz und starben innerhalb von 40 Stunden nach der Geburt [59]. Versuche an Mäuse- und Rattenlungen haben gezeigt, dass der α ENaC mRNA-Gehalt mit steigendem Gestationsalter zunimmt [60, 61]. In der sich entwickelnden Mäuselunge konnte α ENaC mRNA erst in einem Gestationsalter von 16 Tagen (term = 20 Tage) nachgewiesen werden [62]. Untersuchungen an der fetalen Lunge des Menschen haben hingegen gezeigt, dass eine Expression aller drei ENaC-Untereinheiten schon in den frühesten Stadien der Lungenentwicklung nachgewiesen werden kann [63-65]. Dem stehen neueste Untersuchungen gegenüber, die die Expression von ENaC im Nasenepithel von Frühgeborenen untersuchten, die eine deutliche Abhängigkeit von Gestationsalter demonstrieren [66].

Um den Zeitpunkt der Geburt spielt nun die Regulation der ENaC-Expression und der ENaC-Aktivität eine wichtige Rolle für die postnatale Flüssigkeitsresorption, die eine effektive Gasatmung ermöglicht. Verschiedene Faktoren spielen hierbei eine Rolle: gegen Ende der Schwangerschaft kommt es unter dem Einfluss von Hormonen, insbesondere von Glukokortikoiden und Schilddrüsenhormonen, zu einer Zunahme der Expression des ENaC in der apikalen Zellmembran [67-69]. Gleichzeitig nimmt die Expression der basolateralen Na⁺-, K⁺-ATPase zu [70, 71]. Unter der Geburt kommt es unter dem Einfluss von Katecholaminen, insbesondere von Adrenalin, zu einer Aktivierung der exprimierten ENaC und zu einer zunehmenden Flüssigkeitsabsorption [30, 72, 73]. Es konnte gezeigt werden, dass dieser Effekt über eine Aktivierung von β -Adrenorezeptoren und einen Anstieg des intrazellulären cAMP-Gehaltes vermittelt wird [74]. So führen β - [72] und β_2 - Agonisten [75], aber auch cAMP-Analoga [76] und Phosphodiesterase-Inhibitoren [75] zu einer reversiblen Umstellung der fetalen Lunge von der Flüssigkeitssekretion zur Flüssigkeitsabsorption. Dieser Effekt von β -Agonisten auf die Natriumresorption konnte zudem direkt an Zellkulturen des distalen fetalen

Lungenepithels nachgewiesen werden [77]. Einen weiteren Faktor stellen die mit der Gasatmung auftretenden Änderungen des Sauerstoffpartialdruckes (pO_2) dar. So konnte in Versuchen mit Zellen des distalen fetalen Lungenepithels gezeigt werden, dass der perinatale Anstieg des Sauerstoffpartialdruckes zu einer Zunahme des mRNA-Gehaltes der α -, β - und γ -Untereinheit des ENaC und so zu einer zunehmenden Expression des Kanals führt [78]. Zudem können mütterliche Sexualhormone wie Östradiol und Progesteron eine vermehrte Expression von Natriumkanälen in der spätfetalen Lunge induzieren [79, 80]. Allerdings konnte auch gezeigt werden, dass der Effekt dieser Stimuli abhängig vom Gestationsalter ist. So ist die unreife Lunge noch nicht in der Lage von Flüssigkeitssekretion zu Flüssigkeitsabsorption zu wechseln [30, 72].

Diese Tatsache lässt vermuten, dass in der unreifen Lunge, neben einem Mangel an Surfactant, ein noch inadäquater Natriumtransport und damit eine konsekutive unzureichende Flüssigkeitsresorption zur Entstehung des Atemnotsyndroms beitragen [81, 82]. Helve et al. konnten zeigen, dass bei Frühgeborenen mit ANS die Expression aller drei ENaC-Untereinheiten im Vergleich zu gesunden, reifen Neugeborenen vermindert ist [83]. Durch Messung der nasalen transepithelialen Potentialdifferenz Frühgeborener konnte außerdem nachgewiesen werden, dass Frühgeborene, die ein Atemnotsyndrom entwickeln, am ersten Lebenstag ein weniger negatives Nasenpotential sowie eine geringere Amilorid-sensitive Potentialdifferenz als lungengesunde Frühgeborene haben und dass die Amilorid-sensitive Nasenpotentialdifferenz abhängig vom Gestationsalter ist [6]. Parallel zur Verbesserung der Atmung erreichen die Nasenpotentialdifferenz und der Amilorid-sensitive Anteil die Werte von gesunden Neugeborenen [6]. Auch bei Reifgeborenen mit transitorischer Tachypnoe, deren Ursache ein erhöhter Wassergehalt der Lunge bei verzögerter Flüssigkeitsabsorption ist, konnte ein verringerter Amilorid-sensitiver Potentialanteil nachgewiesen werden [84].

1.4 Die transepitheliale Nasenpotentialdifferenz

Aufgrund der geringen Größe der Alveolen ist das Potential des Lungenepithels in vivo technisch nicht zugänglich. Allerdings kann ein durch aktive und passive Ionentransportvorgänge verursachtes Potential auch an der Nasenschleimhaut, die sich ähnlich wie das Epithel der Lunge verhält, gemessen werden, was Rückschlüsse auf die Ionentransportvorgänge in den tieferen Atemwegen zulässt [85].

Knowles et al. führten die ersten in-vivo-Messungen der Potentialdifferenz am respiratorischen Epithel des Menschen durch und fanden dabei heraus, dass bei Patienten mit der Erbkrankheit Mukoviszidose eine deutlich negativere Potentialdifferenz gemessen werden konnte als bei gesunden Probanden [85-87]. Verantwortlich hierfür ist die exzessiv gesteigerte Na^+ -Absorption bei Mukoviszidose-Patienten, die aufgrund der gestörten Cl^- -Sekretion entsteht [88]. Folge ist eine gesteigerte Rückresorption positiver Valenzen von der luminalen Seite und somit eine Vergrößerung der Potentialdifferenz im Vergleich zu gesunden Probanden. Ein Effekt, der bei Kindern mit zystischer Fibrose bereits in der Neonatalperiode nachgewiesen werden kann [89]. Die Messung der nasalen transepithelialen Potentialdifferenz kann daher zur Objektivierung der Ionentransportstörung bei Mukoviszidose und zur Sicherung der Diagnose eingesetzt werden [90-94].

Bei Gesunden tragen Na^+ - Absorption und Cl^- - Sekretion zur gesamten Nasenpotentialdifferenz bei. Um beide Komponenten zu trennen kann die Messung in Anwesenheit des Na^+ - Kanalblockers Amilorid durchgeführt werden. Amilorid ist als kaliumsparendes Diuretikum bekannt. Durch reversible Blockade des ENaC führt Amilorid bei lokaler Anwendung in der Nase zu einer Positivierung des elektrischen Potentials [95, 96]. Die Differenz der gemessenen Potentiale vor und nach Applikation von Amilorid wird als „Amilorid-sensitiver Anteil der Nasenpotentialdifferenz“ bezeichnet. Er entspricht dem Anteil des durch Amilorid-sensitive Natriumkanäle, unter anderem des ENaC, erfolgten Transportes am Gesamtpotential und stellt somit einen geeigneten Parameter zur Erfassung des Na^+ - Transportes dar. Eine Steigerung der Flüssigkeitsresorption über den ENaC verbessert zudem die Compliance der Lunge. Es konnte gezeigt werden, dass die Compliance vom Wassergehalt der Lunge abhängt und durch Surfactant als auch durch Diuretika verbessert wird [97, 98].

1.5 Das β_2 - Sympathomimetikum Salbutamol

Salbutamol (Synonym: Albuterol, (RS)-2-tert-Butylamino-1-(4-hydroxy-3-hydroxymethylphenyl)ethanol) gehört zur Wirkstoffklasse der selektiven β_2 -Sympathomimetika. Sympathomimetika sind Substanzen, die entsprechend den Transmittern Noradrenalin und Adrenalin das sympathische Nervensystem stimulieren. Als direkt wirkendes Sympathomimetikum vermittelt Salbutamol seine Wirkung durch die Stimulation von β_2 - Adrenozeptoren. Dies führt an der Lunge zu einer Relaxation der glatten Muskulatur der Bronchialwand und damit zu einer Bronchodilatation. Als sogenannte Bronchospasmolytika werden β_2 - Sympathomimetika daher vor allem zur Therapie des Asthma bronchiale und der chronisch obstruktiven Bronchitis eingesetzt. Daneben führen β_2 - Sympathomimetika zu einer Relaxation der Uterus- und der Gefäßmuskulatur und haben außerdem einen antiallergischen Effekt über die Hemmung der Histaminfreisetzung aus Mastzellen [99].

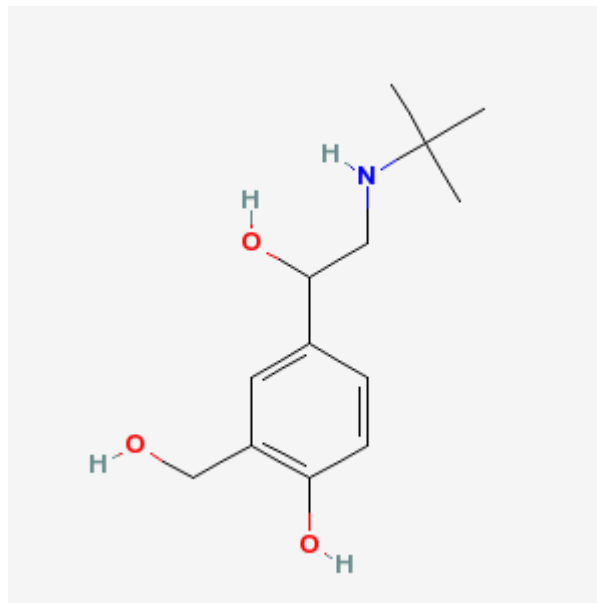


Abb. 3: Strukturformel Salbutamol (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez>)

Mit einer Halbwertszeit von 2,5 bis 6 Stunden zählt Salbutamol zu den kurzwirkenden Bronchospasmolytika. Salbutamol wird vor allem per inhalationem verabreicht. Es stehen zahlreiche Fertigpräparate für die Pulver- oder Druckgasinhalation, sowie Inhalationslösungen für Vernebler zur Verfügung. Für die Akuttherapie besteht außerdem die Möglichkeit der intravenösen oder subkutanen Gabe und es gibt Tabletten oder Tropfen zur oralen Anwendung.

Unter der Behandlung mit Salbutamol können abhängig von der Dosierung und der individuellen Empfindlichkeit folgende Nebenwirkungen auftreten:

- Feinschlägiger Tremor, Übelkeit, Missempfindungen im Mund- und Rachenbereich, Schwitzen, Unruhe, Kopfschmerzen, Schwindel sowie selten Muskelkrämpfe (diese Nebenwirkungen können sich bei Fortführung der Behandlung im Verlauf von 1 bis 2 Wochen zurückbilden)
- Tachykardien, Tachyarrhythmien, Palpitationen sowie in seltenen Fällen ventrikuläre Extrasystolen, pektanginöse Beschwerden und eine Beeinflussung des Blutdrucks (Senkung oder Steigerung)
- Metabolische Veränderungen wie Hypokaliämie, Hyperglykämie, Anstieg des Insulinblutspiegels
- Vereinzelt Hyperaktivität, Schlafstörungen, Halluzinationen (insbesondere bei Kindern bis 12 Jahren)
- Vereinzelt Auftreten paradoxer Bronchospasmen
- Sehr selten Überempfindlichkeitsreaktionen wie Juckreiz, Urtikaria, Exanthem, Hypotonie oder Angioödem

(modifiziert nach Rote Liste® 2009, Rote Liste® Service GmbH, Frankfurt/Main)

2 Zielsetzung

Die physiologische Unreife der Lunge bei extrem Frühgeborenen stellt eines der größten Probleme bei der Versorgung dieser Kinder dar. Oft ist eine lange maschinelle Beatmung mit hohen Beatmungsdrücken, hohen Tidalvolumina und hoher Sauerstoffzufuhr notwendig, um einen ausreichenden Gasaustausch zu gewährleisten. Dies kann zu irreversibler Schädigung und zu Umbauvorgängen im Lungengewebe führen.

Im Mutterleib ist die fetale Lunge noch mit Wasser gefüllt. Die Versorgung des Feten mit Sauerstoff übernimmt die feto-maternale Einheit, die Plazenta. Die physiologischen Vorgänge, die bei einer zeitgerechten Geburt dazu führen, dass es zu einer raschen Resorption der Flüssigkeit aus dem Alveolarlumen und so zu einer postnatalen Gasatmung kommt, kommen bei Frühgeborenen noch nicht zum tragen.

Bisher existiert noch keine Standardtherapie zur Induktion der Flüssigkeitsresorption aus der Lunge. Aufbauend auf der Hypothese, dass bei extremen Frühgeborenen die Resorption der alveolären Flüssigkeit noch nicht ausreichend aktiviert ist und so, trotz exogen applizierten Surfactants, die Gasatmung durch Flüssigkeit behindert wird, hat die Infusion des β_2 - Sympathomimetikums Salbutamol zum Ziel, die Vorgänge in der Lunge, welche durch Geburtsbestrebungen und die Geburt am Termin induziert werden, zu stimulieren und so die Flüssigkeitsresorption zu beschleunigen.

Primäre Hypothese der Studie:

Die kontinuierliche Infusion des β_2 - Sympathomimetikums Salbutamol bei extrem Frühgeborenen über sieben Tage führt zu einer vermehrten Resorption von Flüssigkeit aus der Lunge. Dies geschieht über eine vermehrte Aktivierung von epithelialen Natriumkanälen. Dadurch wird das Lungenwasser vermindert und das Lungenvolumen erhöht.

Für einen Anstieg der Funktion der epithelialen Natriumkanäle (ENaC) während der Behandlung mit einem β_2 - Sympathomimetikum spricht eine Zunahme der **Amilorid-sensitiven Nasenpotentialdifferenz (Δ PD Amilorid)**.

Sekundäre Zielkriterien:

- **Basale Nasenpotentialdifferenz (basale PD in mV)**
- **Relativer Amilorid-sensitiver Anteil der Nasenpotentialdifferenz:**

Die relative Änderung der Nasenpotentialdifferenz zwischen der Perfusion mit Salz-Lösung und der Perfusion mit Amilorid-haltiger Salz-Lösung gibt an, welcher Anteil der Nasenpotentialdifferenz auf den Ionentransport der Amilorid-sensitiven Natriumkanäle zurückzuführen ist.
- **pulmonale Compliance und Resistance:**

Die Compliance (C) der Lunge ist ein Maß für die elastische Dehnbarkeit der Lunge. Sie ist definiert als Volumenänderung (ΔV) pro Druckänderung (ΔP); das bedeutet je größer die Compliance, desto leichter dehnbar ist die Lunge.

Die Resistance (R) ist ein Maß für die viskösen Strömungswiderstände in den Atemwegen, die bei der Inspiration und der Expiration zu überwinden sind. Sie ist definiert als Druckdifferenz (ΔP) zwischen Anfang und Ende des gemessenen Luftweges pro Atemstromstärke (Vol/Zeit). Es gilt: $R = \Delta P / \text{Vol}/\text{sec}$. [100]
- **Oxygenationsindex (OI):**

Der Oxygenationsindex ist ein Parameter, der sich besonders dazu eignet schwere Gasaustauschstörungen bei beatmeten Patienten zu quantifizieren. Bei reifen Neugeborenen dient die Höhe des OI zur Indikationsstellung für den Einsatz einer extrakorporalen Membranoxygenierung (ECMO). Als Kriterium für eine ECMO-Behandlung wird ein $OI > 40$ genannt [101].

Der Oxygenationsindex (OI) berechnet sich aus folgender Formel:

$$OI = FiO_2 [\%] \times MAD [\text{cmH}_2\text{O}] \times 100 / P_aO_2$$
- **Alveolo-arterielle Sauerstoffpartialdruckdifferenz (AaDO₂):**

Die alveolo-arterielle Sauerstoffpartialdruckdifferenz (AaDO₂) beschreibt die Differenz zwischen dem Sauerstoffpartialdruck in den Alveolen (P_AO₂) und dem arteriellen Sauerstoffpartialdruck (P_aO₂). Diese Differenz ist bei einer leichten

bis moderaten Gasaustauschstörung auch bei nicht beatmeten Patienten geeignet, den Grad der Störung zu quantifizieren [100].

- **Kurzzeit-Outcome** der Studienpatienten:
 - Aufenthaltsdauer (Anzahl der Tage auf Intensivstation)
 - Anzahl der Beatmungstage
 - Diagnose einer bronchopulmonalen Dysplasie (BPD), definiert nach den Kriterien der NIH-Konsensuskonferenz (siehe Einleitung) [9]
 - Diagnose einer Hirnblutung (intraventrikuläre Hämorrhagie, IVH) Grad III (intraventrikuläre Blutung mit Ventrikeldilatation [102]) oder Grad IV (intraventrikuläre Blutung mit Blutung ins Hirnparenchym [102])
 - Diagnose einer Retinopathia praematurorum (ROP)
 - Diagnose eines persistierenden Ductus arteriosus (PDA)

Die Studie hatte neben der Untersuchung eines möglichen Effektes von Salbutamol per infusionem auf den Wassergehalt der Lunge, die Wasserresorption, die Lungenmechanik, sowie das Kurzzeit-Outcome bei extrem Frühgeborenen zudem zum Ziel, eine Dosis für das β_2 - Sympathomimetikum Salbutamol zu finden, bei der es zu keinen wesentlichen systemischen Nebenwirkungen kommt.

Die medikamentösen Effekte von Salbutamol wurden mittels kardiovaskulärer Dauerüberwachung und der Bestimmung von Blut-Elektrolyten und Blutzuckerwerten überwacht. Untersucht wurden im Rahmen dieser Studie im Besonderen die Auswirkungen von Salbutamol auf die Herzfrequenz, den Kaliumhaushalt sowie den Glukosestoffwechsel der Probanden.

3 Patienten, Material und Methoden

3.1 Studiendesign

Bei der durchgeführten Studie handelte es sich um eine Pilotstudie, in der der Effekt von Salbutamol per infusionem auf den Wassergehalt der Lunge, die Wasserresorption und die Lungenmechanik extrem Frühgeborener untersucht wurde. Außerdem diente die Pilotstudie der Dosisfindung für intravenöses Salbutamol bei extrem Frühgeborenen.

Es handelte sich um einen Heilversuch als kontrollierte Studie mit einer Kontrollgruppe und einer Therapiegruppe. Die Zuteilung zu den einzelnen Gruppen erfolgte nach dem Zufallsprinzip (Randomisierung). Bei der Untersuchung diente die Gabe eines Placebos als alleinige Vergleichstherapie, da eine Standardtherapie zur Induktion der Flüssigkeitsresorption aus der Lunge extrem Frühgeborener bisher nicht existiert.

Da die Pilotstudie auch der Dosisfindung für das intravenös verabreichte Salbutamol diente, erfolgte keine Verblindung. Die Zuteilung der Studienpatienten zu den einzelnen Gruppen war den ausführenden Personen der Studie bekannt.

Keiner der beiden Studiengruppen wurden anerkannte und indizierte Behandlungen bei extremer Frühgeburtlichkeit vorenthalten. Es waren keine zusätzlichen, von der Routine der Patientenversorgung abweichenden, Blut- oder Gewebeentnahmen erforderlich.

3.2 Ethische Begutachtung

Die Studie wurde von der Ethikkommission der Universität München geprüft und befürwortet. Vor Beginn der Maßnahmen wurde jeweils die Zustimmung beider Elternteile eingeholt (siehe Anhang). Für jeden Probanden wurde eine Patientenversicherung abgeschlossen. Das Studienprotokoll entsprach den Grundsätzen der Deklaration von Helsinki mit ihren Novellierungen von Tokio, 1975, Venedig, 1983, Hong Kong, 1989, Somerset West, 1996, Edinburgh, 2000, und Washington 2002. Die Studie wurde nach den Vorgaben der Verordnung über die Anwendung der Guten Klinischen Praxis bei der Durchführung von klinischen Studien mit Arzneimitteln in der Version von 1996 (ICH-GCP-Guideline E6) durchgeführt. Die Studie wurde entsprechend den Vorgaben des Arzneimittelgesetzes von 1976 vor dessen Novellierung vom 29. August 2005 durchgeführt.

3.3 Patientenkollektiv

Zwischen Februar 2005 und November 2006 wurden insgesamt zehn Frühgeborene aus der neonatologischen Abteilung der Kinderklinik am Perinatalzentrum Großhadern rekrutiert. Initial ergab eine Fallzahlschätzung eine Rekrutierung von 10 Patienten pro Gruppe in zwei assoziierten Studienzentren (2. Zentrum: Neonatologie der Universitäts-Kinderklinik Ulm) (Power 0,8; α -Fehler von 0,05). Nachdem in Ulm eine Patientenrekrutierung nicht erreicht werden konnte, wurde die Studie nach Rekrutierung von 10 Patienten (5 pro Gruppe) nach 22 Monaten vorzeitig beendet. In der Rekrutierungszeit wurden insgesamt 59 Patienten für die Studie erfasst. Im gleichen Zeitraum wurden 36 Patienten für eine andere multizentrische Medikamentenstudie rekrutiert (EUNO-27 Studie). 8 Patienten wurden primär ausgeschlossen wegen Fehlbildung oder Tod, 4 Patienten konnten nicht rekrutiert werden, da keine Einwilligung der Eltern vorlag, 1 Patient war am 4. Lebenstag bereits extubiert und deshalb nicht inkludierbar.

3.3.1 Einschlusskriterien

In die Studie eingeschlossen wurden weibliche und männliche Frühgeborene, die vor Vollendung der 28. Schwangerschaftswoche geboren wurden, ein Geburtsgewicht zwischen 500 und 1000g aufwiesen und im Alter von 96 Stunden maschinell beatmet werden mussten.

3.3.2 Ausschlusskriterien

Als Ausschlusskriterien galten das Fehlen der Einverständniserklärung beider Elternteile, eine Hirnblutung Grad III oder IV nach Papile [102], angeborene Fehlbildungen, die sich auf die Funktion lebenswichtiger Organe auswirken könnten, so Organfehlbildungen von Lunge, Herz, Gehirn oder des Gastrointestinaltraktes. Ein offener Ductus arteriosus botalli stellte kein Ausschlusskriterium dar.

Außerdem führten die Notwendigkeit einer Dopamininfusion über $5\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ oder der Einsatz anderer Vasopressoren zur Kreislaufstabilisierung, sowie eine vorbestehende Tachykardie über 160 Schlägen pro Minute zu einem Ausschluss aus der Studie.

3.4 Studienprotokoll

3.4.1 Randomisierung

Die rekrutierten Patienten wurden nach dem Geburtsgewicht stratifiziert (500-749 g und 750-1000g) und im Alter von 96 Stunden nach Geburt randomisiert der Therapie- oder Kontrollgruppe zugeteilt. Aufgrund der geringen Größe des Patientenkollektivs erfolgte eine Blockrandomisierung, um eine gleich große Therapie- und Kontrollgruppe zu erhalten. Sowohl die Therapie- als auch die Kontrollgruppe enthielt je fünf Patienten.

3.4.2 Therapiegruppe

Das Studienprotokoll sah vor, dass die Therapiegruppe 96 Stunden nach Geburt, d.h. ab dem vierten Lebenstag eine intravenöse Infusion mit Salbutamol in einer Konzentration von maximal 0,02 mg/ml, beginnend mit 0,1 µg/kg/min, erhielt. Die Dosis sollte schrittweise alle 15 Minuten um 30-40% gesteigert werden. Bei einem Anstieg der Herzfrequenz um mehr als zehn Prozent des gemittelten Ausgangswertes der vorangegangenen 24 Stunden sollte die Infusion gestoppt werden, um dann in einer um einen Schritt reduzierten Dosis wieder fortgesetzt zu werden. Die so ermittelte maximal tolerierte Salbutamoldosis sollte als Infusion über sieben Tage oder bis zur Extubation des Patienten verabreicht werden.

Die entsprechenden Kombinationen von Patientengewicht, Infusionskonzentration und Infusionsgeschwindigkeit wurden in Tabellenform vorausberechnet, so dass während der Dosisfindung keine komplizierten Rechnungen notwendig waren (siehe Anhang).

3.4.3 Kontrollgruppe

Die Kontrollgruppe erhielt vom vierten bis zum elften Lebenstag eine Infusion des für Salbutamol verwendeten Lösungsmittels, 5%-iger Glucose.

3.4.4 Beide Gruppen

Alle Studienpatienten erhielten eine neonatologische Therapie gemäß den stationsinternen Richtlinien. Es wurden keine medizinisch indizierten Therapien ausgeschlossen. Es erfolgte die standardisierte Flüssigkeitszufuhr gemäß den stationsinternen Richtlinien: am ersten Lebenstag 80 ml/kg, im Folgenden ansteigend um 20 ml/kg/d bis zum Erreichen von 160 ml/kg/d. Durch die Salbutamol-Infusion wurde den Patienten keine zusätzliche Flüssigkeit zugeführt.

3.4.5 Untersuchungen

Vor Beginn der Infusion, vier Stunden nach Infusionsbeginn sowie am elften Lebenstag wurden bei den Studienpatienten beider Gruppen folgende Untersuchungen bzw. folgende Messungen durchgeführt:

- Messung der transepithelialen Potentialdifferenz der Nasenschleimhaut
- Messung der elektrischen Impedanz des Thorax mittels elektrischer Impedanztomographie (EIT)

Auf die Messmethodik der elektrischen Impedanztomographie sowie deren Ergebnisse wird im Folgenden nicht näher eingegangen, da diese bereits ausführlich in einer anderen Doktorarbeit zur Darstellung kommen.

- Lungenmechanische Messungen

Die Bestimmung von Blutelektrolyten sowie ein kontinuierliches kardiorespiratorisches Monitoring stellen Routineuntersuchungen bzw. -maßnahmen bei allen Intensivpatienten dar und werden zur kontinuierlichen Überwachung durchgeführt. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen wurden ab dem vierten Lebenstag bis einschließlich eines Gestationsalters von 36 + 6 Schwangerschaftswochen erfasst, stellten aber keine studienbedingten zusätzlichen Untersuchungen dar.

3.4.6 Abbruchkriterien

Das Studienprotokoll sah einen Abbruch der Studie beim einzelnen Patienten vor, wenn ernsthafte Nebenwirkungen beobachtet werden, die in einem möglichen Zusammenhang mit dem Medikament Salbutamol stehen, wenn ein Elternteil seine Einwilligung zur Studie zurückzieht oder wenn das Safety-Komitee die Studie unterbricht.

Das Auftreten einer schwerwiegenden Komplikation, die auf Salbutamol zurückzuführen ist, führte zu einem Abbruch der Gesamtstudie.

3.5 Verwendete Studienlösungen

- Placebo-Lösung:
Als Placebo-Lösung diente die im Stationsbedarf üblicherweise verwendete 5%-ige Glukoselösung.

- Salbutamol-Lösung:
Salbulair® 0,5 Injektionslösung (1 Amp. (1ml) enthält 0,6 mg Salbutamolsulfat (entspricht 0,5 mg Salbutamol), weitere Bestandteile: Natriumchlorid, Schwefelsäure, Wasser für Injektionszwecke, Fa. 3M Medica) wurde von der Klinikumsapotheke in vier verschiedenen Konzentrationen (0,02 mg/ml, 0,05 mg/ml, 0,1 mg/ml und 0,2 mg/ml) bereitgestellt.

3.6 Technische Untersuchungen

3.6.1 Messung der transepithelialen Nasenpotentialdifferenz

3.6.1.1 Grundlagen

Die Regulation des Flüssigkeitshaushaltes am respiratorischen Epithel erfolgt über aktive und passive Ionentransportsysteme (siehe Einleitung). Durch diese Ionentransportvorgänge baut sich eine messbare elektrische Spannung auf, die sogenannte transepitheliale Potentialdifferenz [87, 103]. Diese elektrische Spannung hat eine Dimension von einigen Millivolt (mV), stellt ein durch verschiedene Ionen bedingtes Summenpotential dar und ist in Bezug auf die Submukosa lumen negativ [87, 103-105]. Das respiratorische Epithel der Nasenschleimhaut ähnelt in der Konfiguration der Zellverbindungen und der Expression von spezifischen Membrantransportproteinen dem Epithel der Luftwege [85].

Es konnte im Rahmen früherer Untersuchungen gezeigt werden, dass die Submukosa des respiratorischen Epithels isoelektrisch zur Subkutis ist [87, 106]. Daher ist es möglich, die transepitheliale Potentialdifferenz als eine elektrische Spannung zwischen dem Flimmerepithel der Nasenschleimhaut unterhalb der Concha inferior und der Subkutis zu messen. Diese Messorte sind relativ einfach zu erreichen und es ist möglich Veränderungen der transepithelialen Potentialdifferenz, z.B. nach lokaler medikamentöser Beeinflussung, zu erfassen. Eine Möglichkeit der Beeinflussung der Ionenströme besteht in der Inhibition der Natrium-Kanäle. Diese Blockierung kann durch Amilorid hervorgerufen werden (siehe Abbildung 4). Hierbei handelt es sich chemisch um N-amidino-3,5-diamino-6-chlorpyrazin-2-carboxamid und es gehört somit zu den Cycloamidinen. Natrium und Amilorid wirken am Natrium-Kanal wie schnelle Kompetitoren [107], wobei Amilorid eine geringere Affinität aufweist. Durch das

Verbleiben der Natrium-Ionen auf der luminalen Seite des respiratorischen Epithels, kommt es zu einer Erhöhung der positiven Ladung in diesem Bereich, was eine Verringerung der Potentialdifferenz zur Folge hat (siehe Abbildung 4).

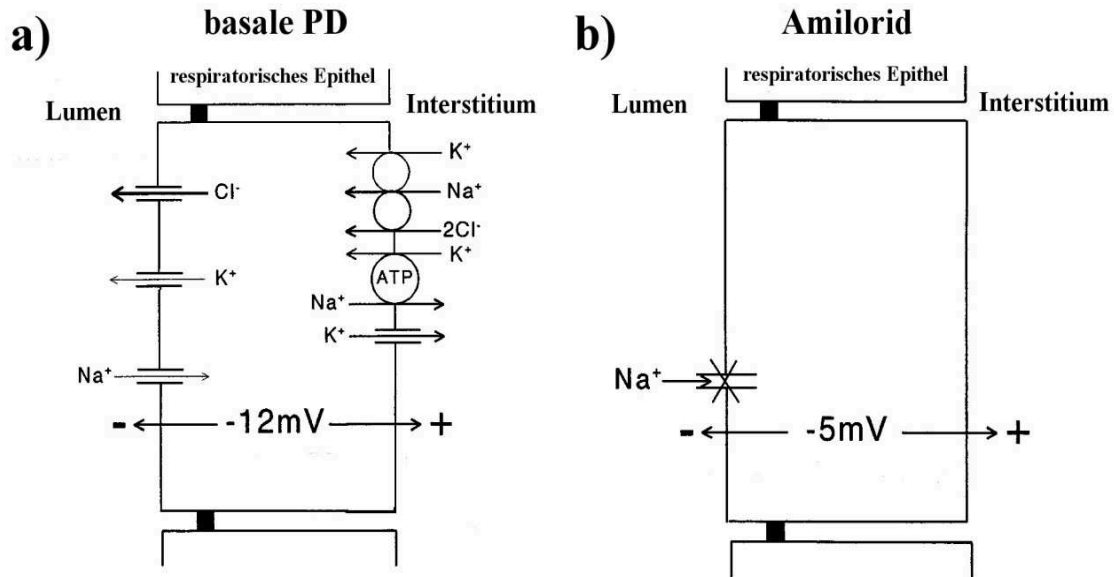


Abb. 4: Schematische Darstellung der Potentialdifferenz (PD) und der Ionen-Transporter des respiratorischen Epithels: a) basale PD b) Änderung der PD auf die Gabe des Natriumkanalblockers Amilorid (modifiziert nach Kersting et al.[108])

Die Messmethode wurde in der Literatur bereits vielfach vorbeschrieben [85, 90, 103, 108-110]. Eine Arbeitsgruppe um Southern entwickelte ein modifiziertes Protokoll zur Messung des transepithelialen Nasenpotentials speziell bei Kindern. Sie konnten zeigen, dass die Lage der Referenzelektrode nicht zwingend subkutan sein muss, wie häufig in der Literatur beschrieben [6, 84, 90, 108], sondern dass auch ein intravenöser-Katheter eine valide Verbindung zur Referenzelektrode darstellt [111]. Besonders bei kleinen Früh- und Neugeborenen ist die intravenöse Anbringung von Vorteil, da so bereits liegende intravasale Zugänge genutzt werden können und ein zusätzliches Nadelstichtrauma vermieden werden kann.

3.6.1.2 Materialien

Folgende Materialien und Zubehör wurden zum Aufbau und zur Durchführung der transepithelialen Nasenpotentialmessung verwendet:

- 1 hochohmiges Voltmeter mit Messwertspeicher (Knick Portamess® 913, Elektronische Messgeräte, Berlin, Deutschland)
- 2 sterile Silber-/Silberchlorid-Elektroden (zuvor aus Silberdraht zugeschnitten und mit 4%-iger Natrium-Hypochlorid-Lösung chloriert)
- 2 Infusionspumpen
- 3 Original Perfusor®-Leitungen, 150 cm (Fa. B. Braun Melsungen AG)
- 1 Nabelgefäßkatheter, 5Ch (1,7 mm) (Fa. Tyco Healthcare, Irland)
- 2 Zuspritzleitungen (Fa. Medex Medical, Großbritannien)
- 2 Drei-Wege-Hähne Discofix® (Fa. B. Braun Melsungen AG)
- 2 Perfusorspritzen Plastikpak® Perfusion syringe, 50 ml (Fa. BD Drogheda, Irland)
- 1 Perfusorspritze, 20 ml, gefüllt mit Amiloridlösung
- sterile Handschuhe
- 1 Skalpell
- Evtl. Pflaster zum Fixieren des Nasenkatheters

3.6.1.3 Verwendete Lösungen

Für die Messungen wurden zwei verschiedene Lösungen benötigt:

- Isotone Kochsalz-Lösung (0,9 %):
Verwendet wurde die im Stationsbedarf üblicherweise verwendete isotone Kochsalz-Lösung (Elektrolyte in mmol/l: Na⁺ 154; Cl⁻ 154; Fa. B. Braun Melsungen AG)
- Amiloridlösung (10⁻⁴ mol/l):
Von der Klinikumsapotheke wurde sterilfiltriertes Amilorid-Hydrochlorid 0,03 mg ad 10 ml NaCl-Lösung aufgezogen in 20 ml-Perfusorspritzen bereitgestellt und bis zum Gebrauch im Kühlschrank aufbewahrt.

3.6.1.4 Versuchsaufbau zur Messung der transepithelialen Nasenpotentialdifferenz

Der in dieser Studie verwendete Messaufbau ist in Abbildung 5 und 6 dargestellt. Als Elektroden dienten zwei zuvor zugeschnittene und mit 4%-iger Natrium-Hypochlorid-Lösung chlorierte, sterilisierte Silber-Zargen, entsprechend Silber-/Silberchlorid-Halbzellen.

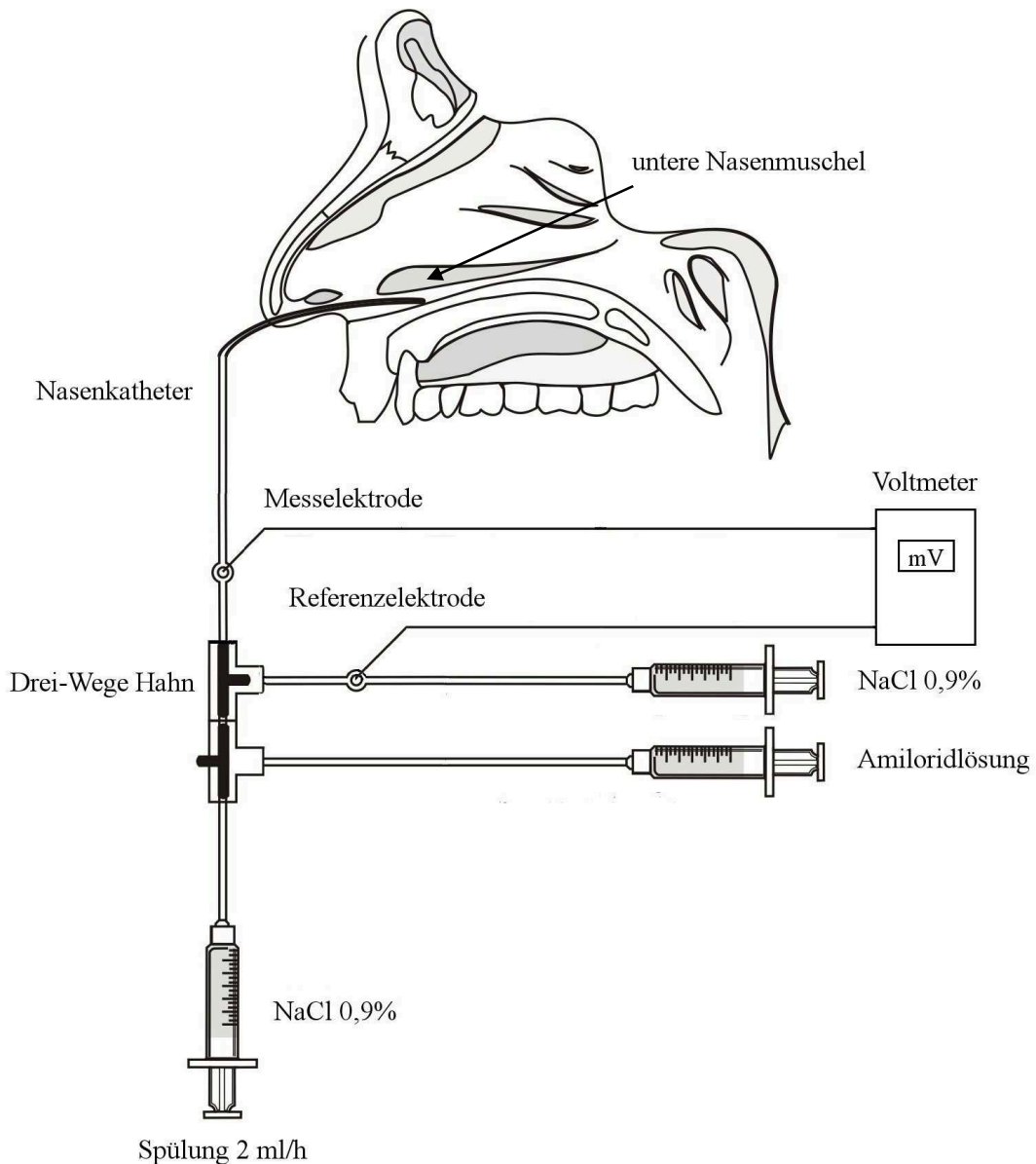


Abb. 5: Versuchsaufbau zur Messung der transepithelialen Nasenpotentialdifferenz; Nullabgleich (modifiziert nach Thome et al. [80])

Die Messelektrode wurde in eine Zuspritzleitung eingestochen, deren Gummistopfen zuvor mit einem Skalpell vorbereitet worden war, um das Einstechen der sehr weichen Elektrode zu erleichtern. Die Zuspritzleitung wurde dann einerseits mit einem dünnen 5-Charriere Nabelgefäßkatheter, der im Folgenden als Nasenkatheter bezeichnet wird, und andererseits über zwei Drei-Wege-Hähne und eine Infusionsleitung mit einer 50 ml-Perfusorspritze verbunden. Die 50 ml-Spritze enthielt sterile Kochsalz-Lösung und diente als Reservoir für die Spülung des Systems. Die Referenzelektrode wurde in eine zweite, ebenfalls über eine 50 ml-Spritze und eine Infusionsleitung mit steriler Kochsalz-Lösung gefüllte, Zuspritzleitung eingestochen, die zunächst an einen der Drei-Wege-Hähne angeschlossen wurde. Die Silber-/Silberchloridelektroden wurden dann über ein mit Klemmen versehenes Kabel an das Voltmeter angeschlossen. Das gesamte System war zunächst mit steriler Kochsalz-Lösung gefüllt und wurde mit 2 ml/h perfundiert. Die außerdem für die Messung benötigte Amiloridlösung wurde in einer 20 ml-Perfusorspritze über eine Infusionsleitung an den verbliebenen Drei-Wege-Hahn an das System angeschlossen.

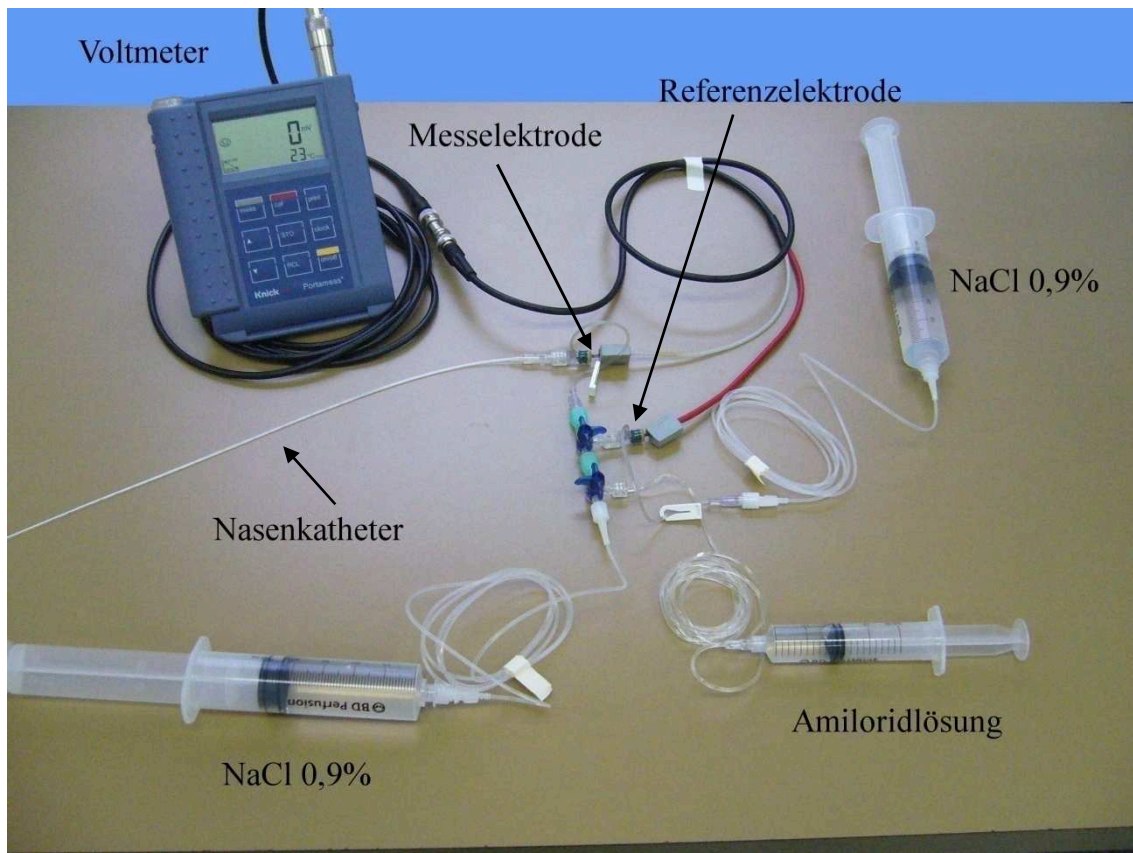


Abb. 6: Messaufbau

Zunächst wurden Mess- und Referenzelektrode über einen Drei-Wege-Hahn kurzgeschlossen. Dieser Nullabgleich diente zur Ermittlung einer etwaigen Kurzschlussspannung und damit zur Überprüfung der Stabilität des Messsystems. Bei vollständiger Leitfähigkeit zeigte das Voltmeter keine oder nur geringe und konstante Spannungswerte auf. Werte zwischen -1 und +1 mV wurden dabei toleriert. Der Nullwertabgleich wurde über fünf Minuten mit dem im Voltmeter integrierten Messwertspeicher aufgezeichnet.

Der Aufbau der Messkette erfolgte unter sterilen Bedingungen. Außerdem wurde darauf geachtet, dass sich in dem System keine Luftblasen befinden, da diese als isolierendes Medium die Messung beeinträchtigen.

3.6.1.5 Versuchsablauf

Die Messung der transepithelialen Nasenpotentialdifferenz sowie die Messung der Änderung der Potentialdifferenz auf die Gabe des Natriumkanalblockers Amilorid wurde bei den Kindern der Therapiegruppe im Alter von 96 Stunden vor Beginn der Salbutamol- bzw. Placeboinfusion, vier Stunden nach Beginn der Infusion, sowie am 11. Lebenstag durchgeführt. Nach dem Aufbau der Messkette sowie dem Nullabgleich über fünf Minuten wurde mit der Messung begonnen. Dazu wurde die Referenzelektrode diskonnektiert und an einen bereits vorhandenen arteriellen oder venösen Katheter angeschlossen (siehe Abbildung 7). Die Auswahl des verwendeten Katheters erfolgte, da ein möglichst geringer elektrischer Widerstand für die Messung benötigt wurde, in folgender Rangfolge: Nabelarterienkatheter, periphere Arterienkanüle, peripherer venöser Zugang, zentraler Venenkatheter. Der elektrische Widerstand war abhängig vom Inhalt, von der Länge und vom Durchmesser des Katheters.

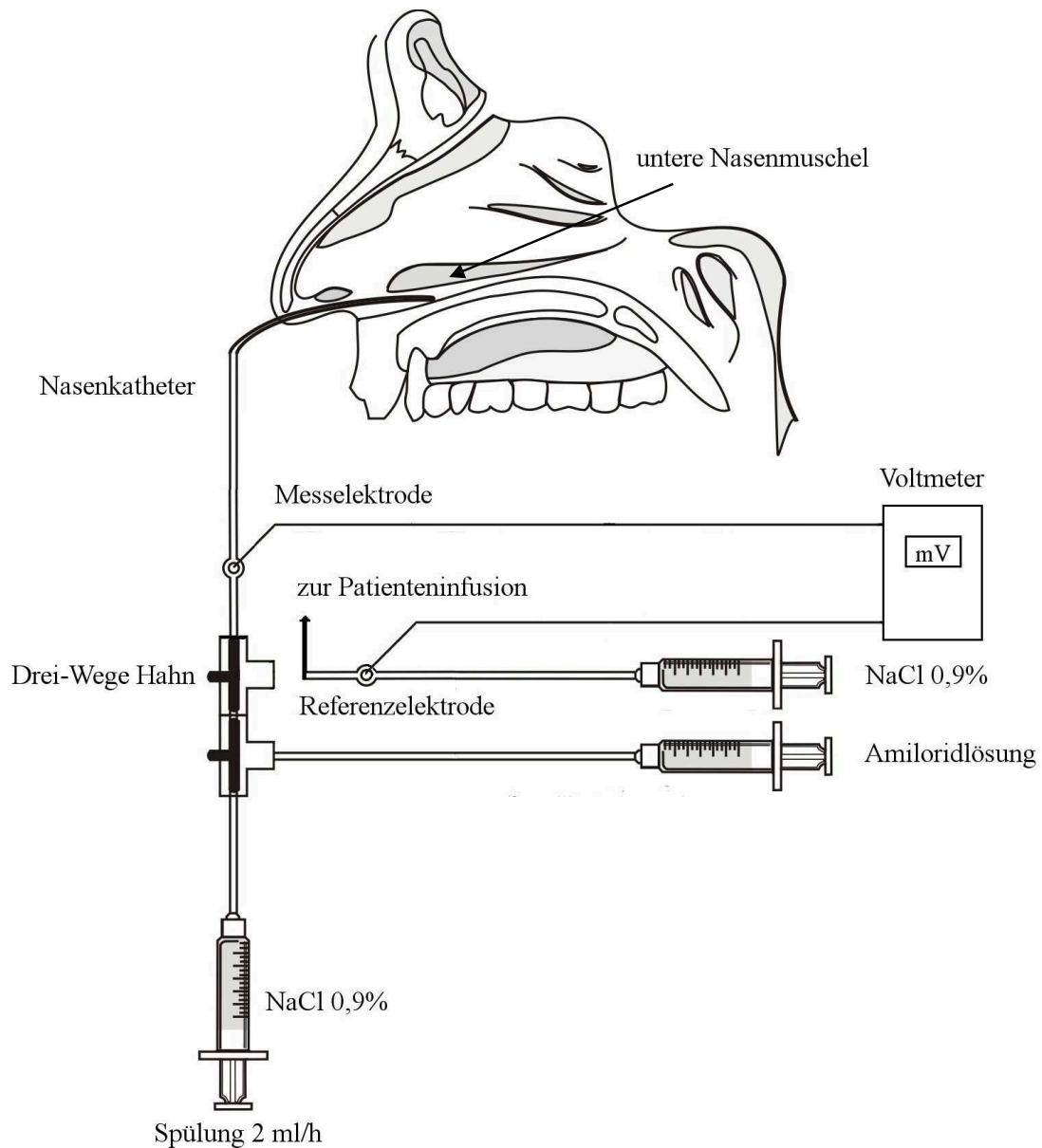


Abb. 7: Versuchsaufbau bei der Messaufzeichnung (modifiziert nach Thome et al. [80])

Der Nasenkatheter wurde dann vorsichtig in den unteren Nasengang des Nasenlochs auf der dem Beatmungstubus gegenüberliegenden Seite vorgeschoben (siehe Abbildung 8). Nach Aufsuchen der Stelle der maximal lumen-negativen Potentialdifferenz wurde der Katheter gegebenenfalls mit einem dünnen Pflasterstreifen fixiert.



Abb. 8: Einführen des Nasenkatheters; am Brustkorb des Patienten sind die Klebelektroden für die Elektroimpedanz-Tomographie (EIT) zu sehen

Der Messwertspeicher des Voltmeters wurde zur Aufzeichnung des Potentials gestartet und es wurde über fünf Minuten ein stabiles Ausgangspotential aufgezeichnet. Bei einer Lageveränderung des Katheters durch Bewegungen des Kindes und einer dadurch bedingten Veränderung des Ausgangspotentials wurde die Aufzeichnung durch den Messwertspeicher kurzzeitig gestoppt und erst nach Aufsuchen der Ausgangslage des Katheters die Aufzeichnung wieder fortgesetzt.

Nach Ableitung des stabilen Ausgangspotentials wurde die Perfusionslösung von Kochsalz-Lösung auf die Amiloridlösung umgestellt. Die Amiloridlösung umspülte die Nasenschleimhaut ebenfalls mit 2 ml/h. Der Rückgang der Potentialdifferenz auf die Gabe des Natriumkanalblockers Amilorid wurde über zwanzig Minuten aufgezeichnet.

Um eine mögliche Potentialänderung der Silber-/Silberchlorid-Halbzellen während der Messung zu berücksichtigen (Nullpunkt-Drift), wurden nach Beendigung der Messung die Mess- und Referenzelektrode erneut kurzgeschlossen und die Differenz zum bereits vor der Messung durchgeführten Nullabgleich aufgezeichnet.

3.6.1.6 Auswertung der Messdaten

Für die Aufzeichnung der Messwerte wurde der im Voltmeter integrierte Messwertspeicher verwendet. Dieser speichert zwei Werte pro Minute. Mithilfe einer Transfer-Software (Paraly® SW 109, Knick, Elektronische Messgeräte, Berlin, Deutschland) und eines Übertragungskabels wurden die Daten nach Beendigung der Messung auf einem PC ausgelesen und in ein Excel® Datenblatt übertragen.

Abbildung 9 zeigt die Skizze einer Messaufzeichnung. Um die Daten auswerten zu können, mussten die einzelnen Werte zunächst korrigiert werden, falls während der Messung eine Drift des Nullpunktes erfolgt war. Für jeden aufgezeichneten Messwert wurde mit Hilfe folgender Gleichung und dem Programm Excel® (Microsoft Inc., Redmond, CA, USA) ein korrigierter Wert berechnet:

$$y' = y + (m \cdot x + b)$$

Die Änderung des Potentials der Silber-/Silberchlorid-Halbzellen über die Zeit wurde vereinfacht als lineare Gleichung angesehen, so dass mit Hilfe der Geradengleichung $y = m \cdot x + b$ die korrigierten Werte berechnet werden konnten:

y' : korrigierter PD-Wert [mV]

y : PD-Wert zum Zeitpunkt x [mV]

m : Änderung des Potentials der Silber-/Silberchloridhalbzellen über den gesamten Messzeitraum [mV/t] (entspricht der Steigung der Geraden)

x : Zeitpunkt der Messung [min]

b : Potential der Silber-/Silberchloridhalbzelle zu Beginn der Messung (entspricht dem Schnittpunkt der Geraden mit der y -Achse)

Bei einer Änderung des Potentials der Silber-/Silberchlorid-Halbzellen von 0 mV auf -1 mV über den Zeitraum t der Messung ergibt sich somit für den zum Zeitpunkt x gemessenen PD-Wert y ein korrigierter Wert von $y' = y + (-1/t \cdot x + 0)$.

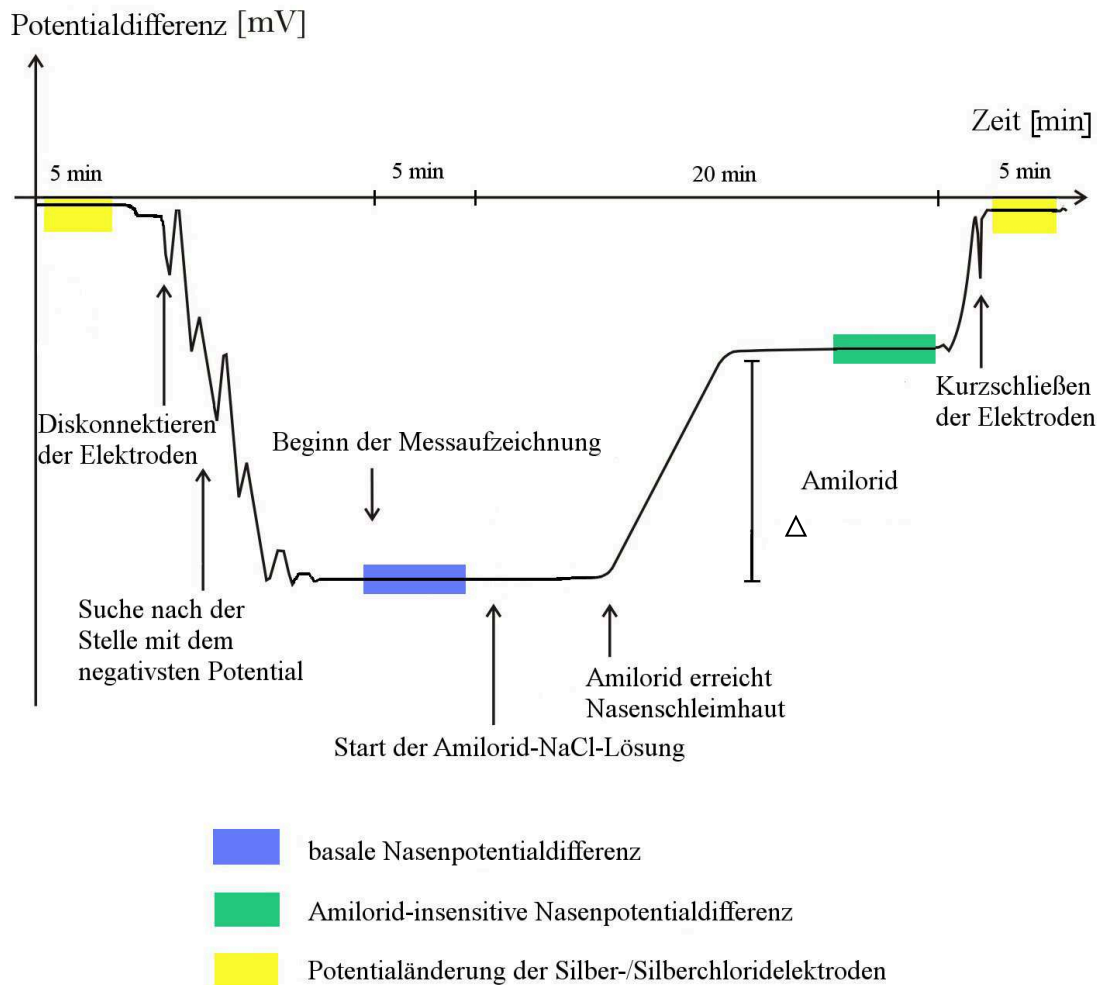


Abb. 9: Charakteristische Nasenpotentialveränderung während einer Messaufzeichnung

Werte, die aufgrund einer Lageveränderung des Nasenkatheters, beispielsweise durch Herausgleiten während der laufenden Messwertaufzeichnung, entstanden, wurden aus der Berechnung herausgenommen. Um Verfälschungen durch Messartefakte, wie beispielsweise Störungen der Messkette durch Lufteinschlüsse oder Bewegungsartefakte des Kindes, möglichst zu vermeiden, wurden jeweils die arithmetischen Mittel der Potentiale über die gemessene Zeit berechnet.

Die Potentialdifferenz bei Perfusion der Nasenschleimhaut mit steriler Kochsalz-Lösung (basale PD) wurde über fünf Minuten aufgezeichnet. Für die Auswertung wurde mit Hilfe des Programms Excel® (Microsoft Inc., Redmond, CA, USA) der Mittelwert dieser Messwerte berechnet. Für die Berechnung des arithmetischen Mittels der Amilorid-insensitiven Nasenpotentialdifferenz (AisPD) wurden die letzten möglichst artefaktfreien Minuten der Messaufzeichnung verwendet (siehe Abbildung 9).

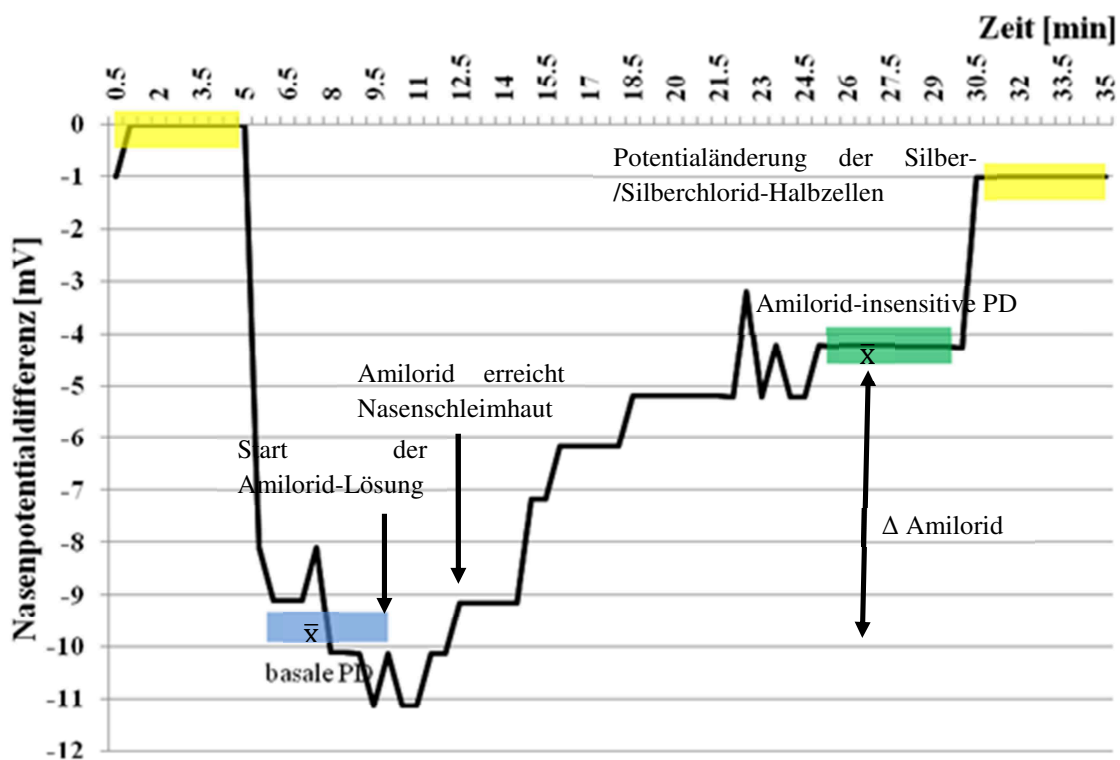
Aus diesen Werten wurde die Amilorid-sensitive Nasenpotentialdifferenz (Δ Amilorid) wie folgt berechnet:

$$\Delta \text{ Amilorid} = \text{AisPD} - \text{basale PD}$$

Der relative Amilorid-sensitive Anteil der Nasenpotentialdifferenz (Δ Amilorid in %) wurde wie folgt bestimmt:

$$\Delta \text{ Amilorid (\%)} = \Delta \text{ Amilorid} / \text{basale PD} \times 100$$

Abbildung 10 zeigt den zeitlichen Verlauf einer Nasenpotentialmessung bei einer Probandin der Kontrollgruppe mit einem Gestationsalter von 24 + 4 Schwangerschaftswochen.



Abkürzungen: \bar{x} = Mittelwert; PD = Potentialdifferenz

Abb. 10: Zeitlicher Verlauf der Nasenpotentialmessung bei einem Probanden der 24 4/7 SSW (Kontrollgruppe)

3.7 Dokumentation und Datenerfassung

Beobachtungsparameter

Als Stammdaten wurden von jedem Studienpatienten folgende Parameter erhoben:

- Zuteilung zur Therapie - (Salbutamol) oder Kontrollgruppe (Placebo)
- Geschlecht (weiblich/männlich)
- Gestationsalter (in SSW)
- Geburtsgewicht (in g)
- Geburtsmodus (Spontangeburt/Sectio caesarea/Zangen-/Vakuumgeburt)
- Vorliegen eines frühen vorzeitigen Blasensprungs (PPROM) (ja/nein)
- Durchführung einer pränatalen Betamethason-Therapie zur Induktion der Lungenreifung (ja/nein)
- Vorliegen eines histologisch gesicherten Amnioninfektionssyndroms (AIS) (ja/nein)
- Menge applizierten Surfactants (in mg absolut)
- Intubationsdatum
- Tag der letzten Extubation

Im Verlauf wurden bei allen Studienpatienten bis einschließlich 36 + 6 SSW täglich folgende Daten erhoben:

- Aktueller Lebensstag
- Aktuelles Gewicht
- Korrigiertes Gestationsalter
- Tag der Beatmung
- Spezifische Beatmungsparameter:
Beatmungsmodus (A/C (*assistiert-kontrollierte Beatmung*), (S)IMV (*synchronisierte intermittierend mandatorische Beatmung*), HFOV (*Hochfrequenz-Oszillationsbeatmung*), CPAP (*kontinuierlicher positiver Atemwegsdruck*)), PIP (*inspiratorischer Maximaldruck*)*, PEEP (*positiv-endexpiratorischer Druck*)*, MAD (*mittlerer Atemwegsdruck*)*, Frequenz*,

Oszillationsamplitude*, t_i (Inspirationszeit [sec])* , t_e (Expirationszeit [sec])* , FiO_2 (Inspiratorische Sauerstoffkonzentration)*, OI (Oxygenationsindex, Berechnung: $OI = FiO_2 [\%] \times MAD [cmH_2O] \times 100 / P_aO_2$), $AaDO_2$ (Alveoloarterielle Sauerstoffpartialdruckdifferenz, Berechnung: $AaDO_2 = P_AO_2 - P_aO_2$), Compliance (Maß für die elastische Dehnbarkeit der Lunge, Berechnung: $C = \Delta V / \Delta P$), Resistance (Maß für die Strömungswiderstände in den Atemwegen, Berechnung: $R = \Delta P / Vol / sec$)

*: Es wurde jeweils der höchste Wert in 24 Stunden, der mindestens für eine Stunde bestand, erfasst

▪ Blutgase:

pH*, P_aCO_2 (Kohlendioxidpartialdruck)*, P_aO_2 (Sauerstoffpartialdruck)*, BE (Base excess)*

*: Es wurde jeweils der schlechteste Wert in 24 Stunden erfasst

▪ Blutgaswerte (Gerät ABL 700, Radiometer, Kopenhagen) für Kalium[°] und Glukose*

*: erfasst wurde der höchste Wert in 24 Stunden

[°]: erfasst wurde der niedrigste Wert in 24 Stunden

- Gabe von Surfactant, ggf. die Menge
- Gabe von Indometacin oder Durchführung einer Ligatur zum Verschluss eines persistierenden Ductus arteriosus botalli
- Diagnose einer Hirnblutung (intraventrikuläre Hämorrhagie, IVH) Grad III oder Grad IV
- Diagnose einer ROP
- Diagnose einer BPD

Nasenpotentialmessung

Bei jeder Nasenpotentialmessung wurden zusätzlich folgende Ereignisse protokolliert:

- Beginn der Messaufzeichnung
- Startzeitpunkt der nasalen Perfusion mit der Amilorid-Lösung
- Ende der Messaufzeichnung
- Eventuelle Auffälligkeiten des Kindes, wie starke Bewegungen, Schluckauf o.ä.

3.8 Statistik

Zur Auswertung der gemessenen und erhobenen Daten sowie zur graphischen Darstellung wurde das Softwarepaket SPSS® (Version 17.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) verwendet. Aufgrund der geringen Fallzahl wurden zum Vergleich der beiden Gruppen ausschließlich nichtparametrische Testverfahren herangezogen: bei gepaarten (verbundenen) Stichproben der Wilcoxon-Test und bei nichtgepaarten (unverbundenen) Stichproben der Mann-Whitney-U-Test (U-Test). Nominal skalierte Daten wurden anhand des exakten Tests nach Fisher verglichen. Sollten mehr als zwei Stichproben untersucht werden, kamen der Friedman-Test für gepaarte Vergleiche und der Kruskal-Wallis-Test für nichtgepaarte Vergleiche zum Einsatz. Korrelationsuntersuchungen erfolgten mit Hilfe des Korrelationskoeffizienten nach Spearman. Alle Tests wurden, soweit nicht anders angegeben, zu einem zweiseitigen Signifikanzniveau von 0,05 durchgeführt.

Die graphische Aufbereitung der Daten erfolgte mittels Boxplots. Dabei kennzeichnet die waagrechte, durchgezogene Linie in der Box den Median (\tilde{x}), die Box umgibt den Bereich zwischen dem 25%- (Q_1) und dem 75%- (Q_3) Quartil. Die Länge der Box beschreibt somit den Interquartilsabstand ($IQR = Q_3 - Q_1$), d.h. den Bereich, der die mittleren 50% der Stichprobenwerte enthält. Die von der Box ausgehenden Striche („whiskers“) kennzeichnen, sofern keine Ausreißer identifiziert wurden, den kleinsten (x_{\min}) und den größten Wert (x_{\max}) der Daten. Liegen allerdings Ausreißer und Extremwerte vor, so werden die whiskers nur bis zum 1,5-fachen Interquartilsabstand gezeichnet. Ausreißer werden dann definiert als Werte, deren Abstand von der Box das 1,5- bis 3-fache des Interquartilsabstandes beträgt. Werte, deren Abstand mehr als das 3-fache der Boxhöhe beträgt, werden als Extremwerte definiert. Ausreißer werden durch Punkte, Extremwerte durch Sterne dargestellt.

4 Ergebnisse

4.1 Vergleich der Studiengruppen

In die Studie eingeschlossen wurden drei männliche und sieben weibliche Frühgeborene mit einem Geburtsgewicht unter 1000 g, die vor Vollendung der 28. Schwangerschaftswoche geboren wurden und im Alter von 96 Stunden maschinell beatmet werden mussten.

Tabelle 1: Demographische Daten

	Placebo $\bar{x} \pm s / \tilde{x}$ (min-max)	Salbutamol $\bar{x} \pm s / \tilde{x}$ (min-max)	p	Test
Anzahl	5	5		
Geschlecht w : m	4 : 1	3 : 2	1,000	Fisher
Gestationsalter (Wochen)	24,3 ± 1/5	25,8 ± 1	0,016	MWU
Geburtsgewicht (g)	622 ± 66	682 ± 78	0,421	MWU
Spontangeburt / Sectio	1/4	2/3	1,000	Fisher
pränat. Betamethason-Th.	1/5 , 3/5 ; 1/5	0/5 ; 3/5 ; 2/5	1,000	Fisher
postnat. Dexamethason-Th. ja/nein	3/2	1/4	0,524	Fisher
APGAR 1 min	3 (1-7)	5 (3-6)	0,357	MWU
APGAR 5 min	6 (3-9)	7 (5-9)	0,897	MWU
APGAR 10 min	8 (5-9)	8 (7-9)	1,000	MWU
Na-pH	7,34 ± 2/25	7,35 ± 1/25	0,738	MWU
Surfactant (mg)	146 ± 28	98 ± 51	0,111	MWU
PPROM ja/nein	4/1	2/3	0,524	Fisher
AIS ja/nein	4/1	2/3	0,524	Fisher

Abkürzungen: Placebo = Kontrollgruppe, Salbutamol = Therapiegruppe, \bar{x} = Mittelwert, s = Standardabweichung, \tilde{x} = Median, min = kleinster Wert, max = größter Wert, Fisher = Exakter Test nach Fisher, MWU = Mann-Whitney-U-Test, m = männlich, w = weiblich, pränat. Betamethason-Th. = pränatale Betamethasontherapie (nein; 1 Gabe; 2 Gaben), postnat. Dexamethason-Th. = postnatale Dexamethasontherapie; Na-pH = Nabelarterien-pH, PPROM = preterm premature rupture of membranes (= früher vorzeitiger Blasensprung; definiert als Blasensprung vor der vollendeten 37. Schwangerschaftswoche), AIS = Amnioninfektionssyndrom

Fünf Frühgeborene wurden nach dem Zufallsprinzip der Therapiegruppe zugeteilt und erhielten über sieben Tage Salbutamol als Infusion. Die übrigen fünf Patienten erhielten Placebo (Kontrollgruppe). Zwischen der Therapie- und der Kontrollgruppe ergaben sich auf einem Signifikanzniveau von $p < 0,05$ keine Unterschiede in Bezug auf Geschlecht, Geburtsgewicht, Geburtsmodus, Durchführung einer pränatalen Betamethason-Therapie zur Lungenreifeinduktion, Durchführung einer postnatalen Therapie mit Dexamethason, APGAR-Werte, Nabelarterien-pH, die Menge applizierten Surfactants, das Vorliegen eines frühen vorzeitigen Blasensprungs oder eines Amnioninfektionssyndroms (siehe Tabelle 1).

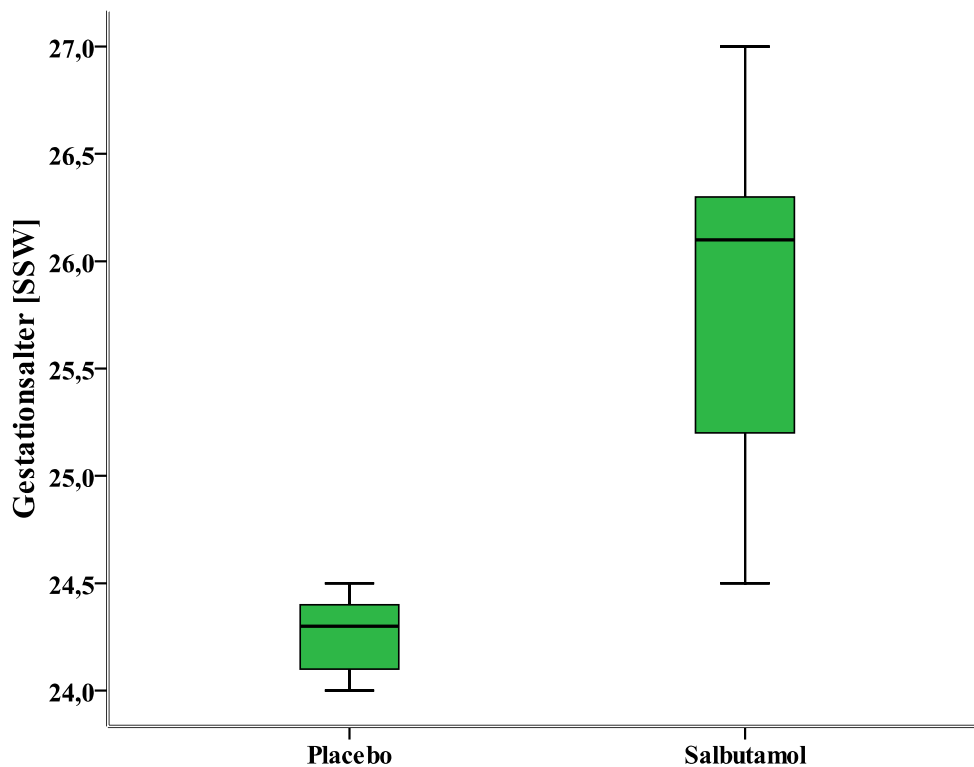


Abb. 11: Gestationsalter der Studiengruppen

Betrachtet man das Gestationsalter in beiden Gruppen, so fällt auf, dass die Patienten der Kontrollgruppe ein signifikant niedrigeres Gestationsalter aufwiesen als die Patienten der Therapiegruppe ($p = 0,016$; Mann-Whitney-Test). Außerdem zeigt sich, dass die Werte für das Gestationsalter in der Therapiegruppe mehr streuen als bei den

Probanden der Kontrollgruppe (siehe Abbildung 11). Im Gegensatz dazu besteht kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen hinsichtlich des Geburtsgewichtes ($p = 0,421$).

4.2 Salbutamol-Infusion

4.2.1 Dosisfindung

Gesamtdosis Salbutamol

Die Kinder der Therapiegruppe erhielten im Mittel eine kumulative Dosis von 241,85 $\mu\text{g/kg}$ Salbutamol über sieben Tage. Die höchste über einen Zeitraum von sieben Tagen tolerierte Dosis lag bei 502,00 $\mu\text{g/kg}$, die niedrigste bei 155,25 $\mu\text{g/kg}$.

Dosis in $\mu\text{g/kg/min}$

Die maximal applizierte Rate von Salbutamol lag bei den untersuchten Kindern bei 0,3 $\mu\text{g/kg/min}$, die niedrigste Rate bei 0,00625 $\mu\text{g/kg/min}$.

Tabelle 2: Salbutamoldosis

	Dosis [$\mu\text{g/kg/min}$] \tilde{x} (min-max)
Proband 1	0,12 (0,06 – 0,3)
Proband 2	0,0125 (0,00625 – 0,1)
Proband 3	0,05 (0,05 – 0,1)
Proband 4	0,025 (0,025 – 0,05)
Proband 5	0,0125 (0,0125 – 0,025)

Abkürzungen: \tilde{x} = Median, min = Minimum, max = Maximum

Einschwemmphase

Das Studienprotokoll sah einen Beginn der Salbutamolinfusion mit einer Anfangsdosis von ca. 0,1 µg/kg/min vor. Anschließend sollte die Dosis schrittweise alle 15 Minuten gesteigert werden. Abbildung 12 zeigt bei dem ersten Probanden der Therapiegruppe die schrittweise Steigerung der Dosierung und den Verlauf der Herzfrequenz über die ersten 205 Minuten. Bei einer anfangs applizierten Rate von 0,12 µg/kg/min wurde die Dosis innerhalb von 50 Minuten auf einen Wert von 0,3 µg/kg/min gesteigert. Die zuvor ermittelte Herzfrequenz-Grenze, bei deren Überschreiten es zu einer Reduzierung der Salbutamoldosierung kommen sollte, lag bei diesem Patienten bei 156 Schlägen/min. Bei Erreichen der Grenze wurde die Infusion kurz gestoppt und anschließend in einer um einen Schritt reduzierten Dosis wieder fortgesetzt. Die Abbildung zeigt deutlich, dass es trotz weiterer Dosisreduktion schnell zu einem weiteren Anstieg der Herzfrequenz bei diesem Probanden kam, der eine kontinuierliche Infusion über sieben Tage verhinderte. Die in den ersten 24 Stunden verabreichte Dosis lag bei diesem Probanden mit 159,6 µg/kg deutlich über der in den ersten 24 Stunden durchschnittlich verabreichten Dosis von 53,5 µg/kg der folgenden vier Probanden.

Aufgrund dieser Erfahrung wurde bei den folgenden Probanden der Therapiegruppe auf eine schnelle Aufdosierung verzichtet und die Anfangsdosis von 0,1 µg/kg/min zunächst beibehalten. Unter dieser Dosierung kam es jedoch nach ca. 70 - 90 Minuten ebenfalls zu einem Anstieg der Herzfrequenz über die zuvor festgelegte Herzfrequenzgrenze.

Daher wurde bei den folgenden Kindern das Studienprotokoll geändert und zunächst mit einer sehr niedrigen Dosis von 0,025 µg/kg/min die Infusion gestartet. Unter dieser Dosierung stieg die Herzfrequenz zwar nach ca. 70 - 90 Minuten ebenfalls an, sie blieb jedoch unter der zuvor ermittelten Herzfrequenz-Grenze, so dass die Infusion bei diesen Patienten nicht gestoppt werden musste (siehe Abbildung 13).

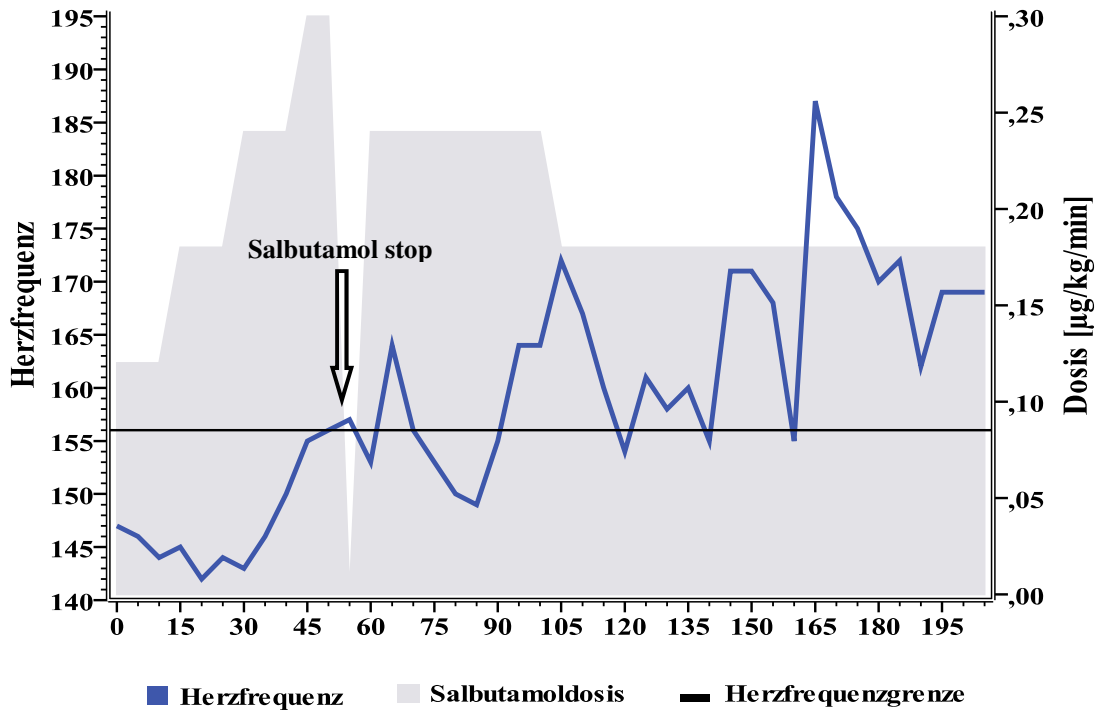


Abb. 12: Salbutamol-Einschwemmphase (Proband 1)

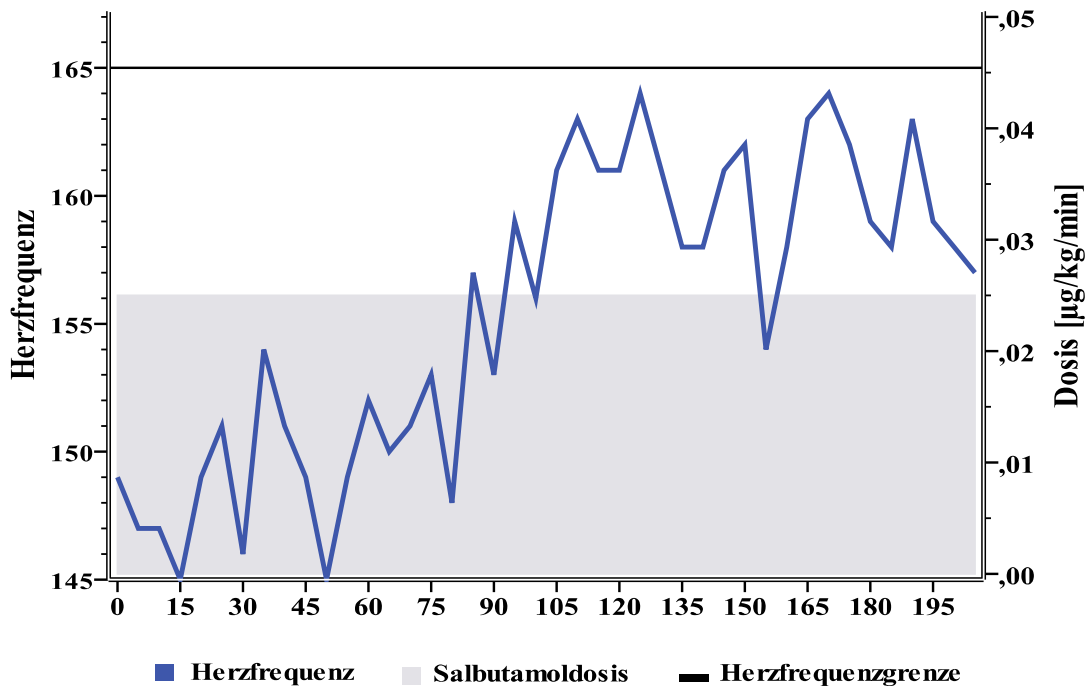


Abb. 13: Salbutamol-Einschwemmphase (Proband 3)

Klinische Wirkzeit

Bei einem späteren Anstieg der Herzfrequenz über die zuvor ermittelte Grenze wurde die Infusion ebenfalls gestoppt und nach Unterschreiten der Herzfrequenzgrenze mit der zuvor verabreichten Konzentration wieder gestartet. Die beobachtete klinische Wirkzeit nach Stoppen der Infusion betrug im Mittel 3 Stunden.

4.2.2 Auswirkungen auf die Herzfrequenz

Als β_2 -Sympathomimetikum führt Salbutamol insbesondere bei hohen Dosen zu einem Anstieg der Herzfrequenz (siehe Einleitung). Abbildung 14 zeigt den Verlauf der Herzfrequenz in beiden Studiengruppen vom vierten bis zum elften Lebenstag.

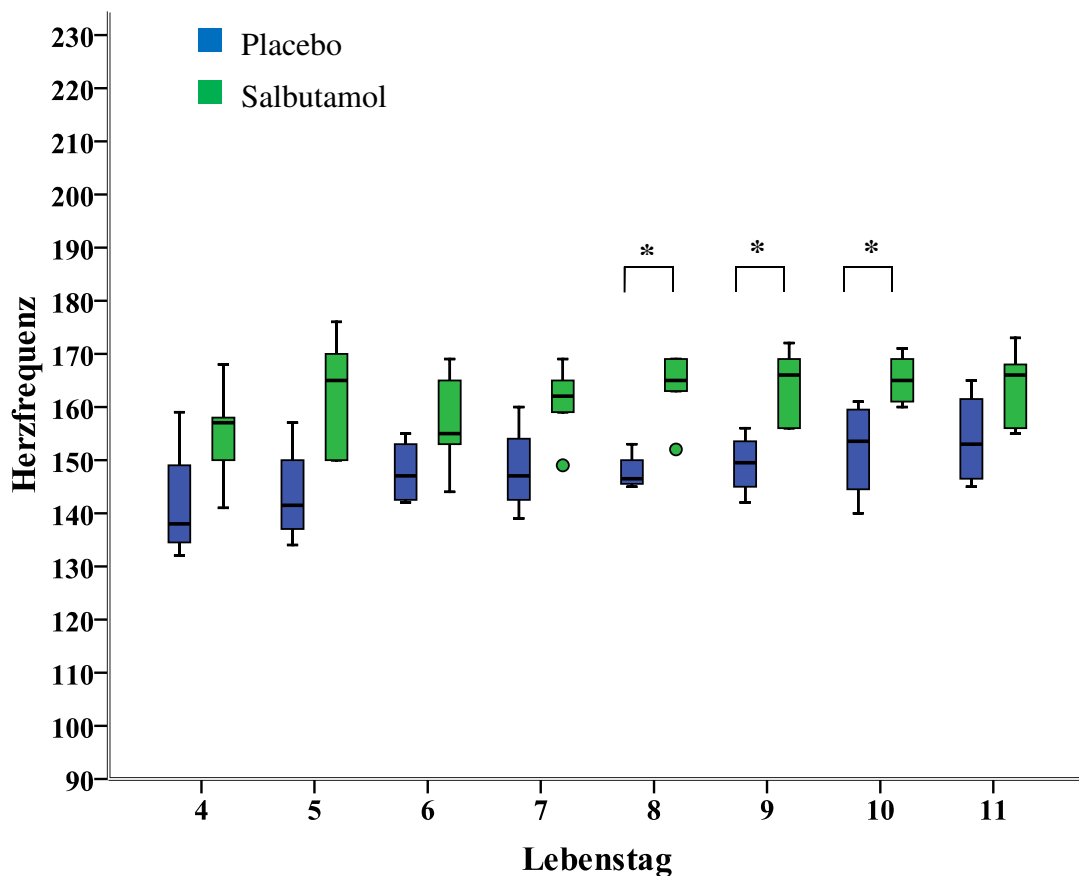


Abb. 14: Herzfrequenzverlauf Lebenstag 4 bis 11 in beiden Behandlungsgruppen (* p < 0,05 Kruskal-Wallis-Test)

Es zeigt sich, dass die Kinder der Therapiegruppe eine tendenziell höhere Herzfrequenz aufweisen als die Kinder der Kontrollgruppe. Ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen lässt sich jedoch nur für die Lebensstage acht bis zehn nachweisen ($p < 0,05$) (siehe Abbildung 14). Am Ende der Salbutamol- bzw. Placeboinfusion zeigte sich kein signifikanter Unterschied bezüglich der Herzfrequenz zwischen den beiden Studiengruppen ($p = 0,190$).

Innerhalb der Therapiegruppe zeigt sich zwar eine signifikante Änderung der Herzfrequenz über den siebentägigen Infusionszeitraum ($p = 0,024$, Friedman-Test). Bei einseitiger Testung findet sich allerdings nur für die Lebensstage sieben bis zehn eine erhöhte Herzfrequenz im Vergleich zum Ausgangswert an Lebenstag vier (p (1-seitig) = $0,031$, Wilcoxon-Test). Bei zweiseitiger Testung lässt sich kein signifikanter Unterschied nachweisen.

4.2.3 Auswirkungen auf Kalium und Blutzucker

Die Behandlung mit dem β_2 -Sympathomimetikum Salbutamol kann zu metabolischen Veränderungen in Form einer Erniedrigung des Kaliumspiegels und einer Erhöhung des Blutzuckerspiegels führen (siehe Einleitung).

Betrachtet man die Kaliumwerte in beiden Studiengruppen über den Zeitraum der Studieninfusion, so lässt sich sowohl bei den Probanden der Therapie- als auch bei den Probanden der Kontrollgruppe ein signifikanter Anstieg der Werte beobachten ($p = 0,008$ bzw. $p = 0,016$, Friedman-Test). An den Lebensstagen sechs und zehn weisen die Kinder der Therapiegruppe signifikant höhere Kaliumwerte auf als die Probanden der Kontrollgruppe ($p = 0,008$ bzw. $p = 0,032$) (siehe Abbildung 15).

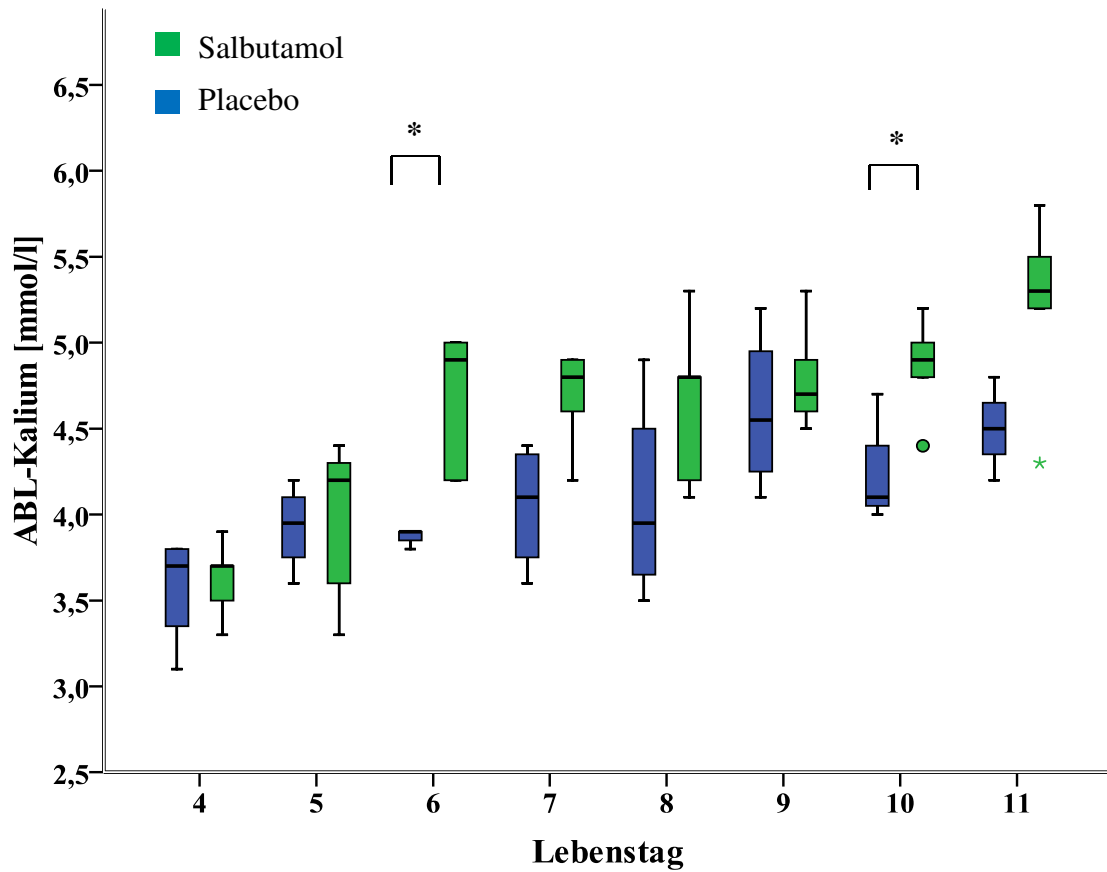


Abb. 15: Kalium-Haushalt Lebenstag 4 bis 11 in beiden Behandlungsgruppen (* $p < 0,05$ Kruskal-Wallis-Test)

Abbildung 16 zeigt die Blutzuckerwerte in beiden Studiengruppen vom vierten bis zum elften Lebenstag. Weder die Kinder der Therapie- noch die Probanden der Kontrollgruppe weisen eine signifikante Änderung der Blutzuckerwerte über den siebentägigen Infusionszeitraum auf ($p = 0,747$ bzw. $p = 0,780$, Friedman-Test). Auch zwischen den Gruppen lässt sich kein signifikanter Unterschied für die Blutglukose-Werte nachweisen ($p > 0,05$, Kruskal-Wallis Test).

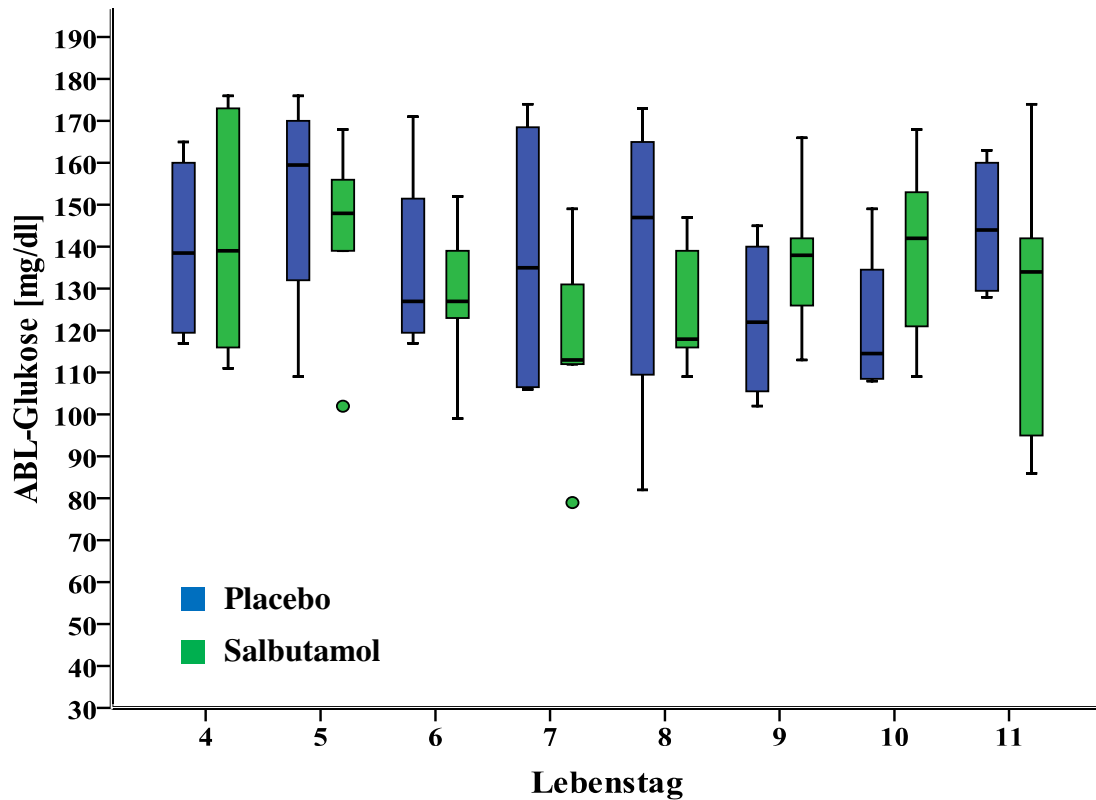


Abb. 16: Glukose-Stoffwechsel Lebenstag 4 bis 11 in beiden Behandlungsgruppen

4.3 Primäres Zielkriterium: Amilorid-sensitive Nasenpotentialdifferenz (Δ Amilorid)

Der Mittelwert der Amilorid-sensitiven Nasenpotentialdifferenz (Δ Amilorid) aller Messungen lag in der Kontrollgruppe bei 6,50 mV ($\pm 1,46$ mV SEM) und in der Therapiegruppe bei 2,62 mV ($\pm 1,38$ mV SEM).

Es fand sich kein signifikanter Unterschied für die Amilorid-sensitive Nasenpotentialdifferenz zwischen den beiden Gruppen vor Beginn der Salbutamol- bzw. Placeboinfusion ($p = 0,056$). Auch für die folgenden Messungen der Amilorid-sensitiven Nasenpotentialdifferenz vier Stunden nach Beginn der Infusion, sowie nach sieben Tagen, konnte kein Unterschied zwischen den Studiengruppen nachgewiesen werden ($p = 0,214$ bzw. $p = 0,971$) (siehe Abbildung 17).

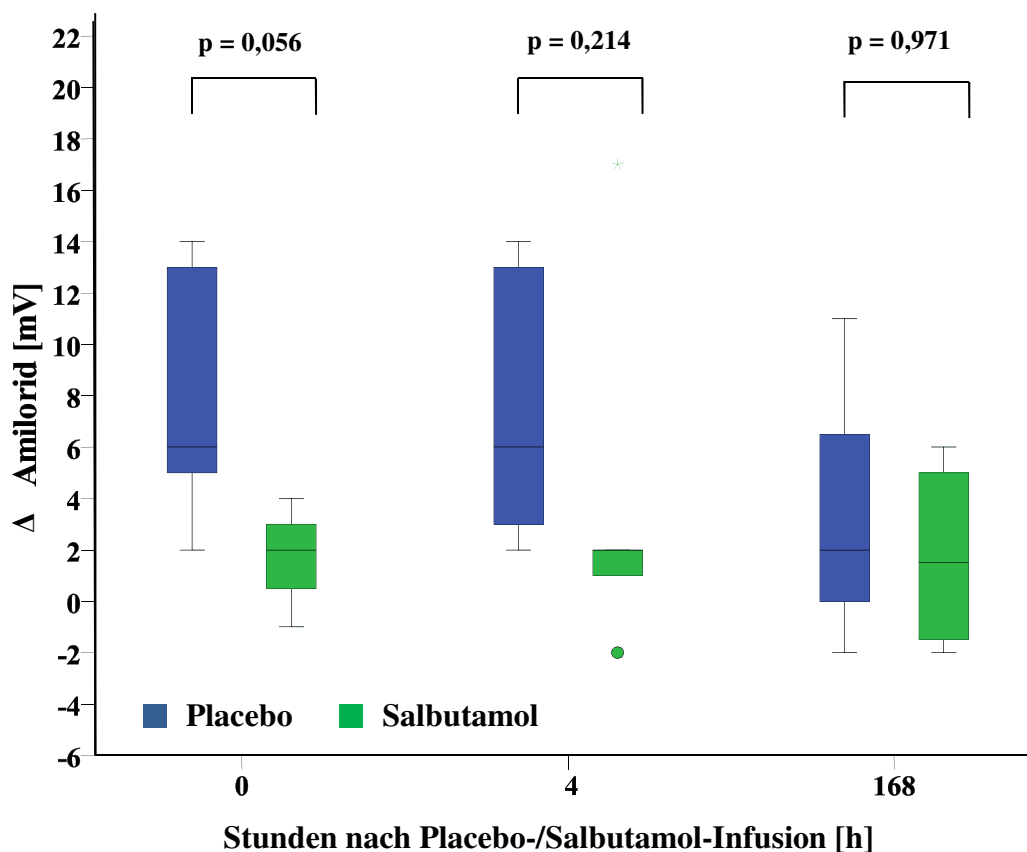


Abb. 17: Amilorid-sensitive Nasenpotentialdifferenz (Δ Amilorid = Änderung der Potentialdifferenz auf die Gabe von Amilorid)

Tabelle 3: Amilorid-sensitive Nasenpotentialdifferenz (mV), Kontrollgruppe

	Zeit in Stunden nach Placeboinfusion		
	0	4	168
$\bar{x} \pm SEM$	8,00 \pm 2,35	7,60 \pm 2,50	3,25 \pm 2,75
\tilde{x}	6,00	6,00 *	2,00 *
Q_1	5,00	3,00	0,00
Q_3	13,00	13,00	6,50

Abkürzungen: \bar{x} = Mittelwert, SEM = standard error of the mean, \tilde{x} = Median, Q_1 = 25%-Quartil, Q_3 = 75%-Quartil, * $p > 0,05$ verglichen zum 0-Stunden-Wert (Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben)

Tabelle 4: Amilorid-sensitive Nasenpotentialdifferenz (mV), Therapiegruppe

	Zeit in Stunden nach Salbutamolinfusion		
	0	4	168
$\bar{x} \pm SEM$	1,75 \pm 1,03	4,00 \pm 3,33	1,75 \pm 1,93
\tilde{x}	2,00	2,00*	1,50*
Q_1	0,50	1,00	-1,50
Q_3	3,00	2,00	5,00

Abkürzungen: \bar{x} = Mittelwert, SEM = standard error of the mean, \tilde{x} = Median, Q_1 = 25%-Quartil, Q_3 = 75%-Quartil, * $p > 0,05$ verglichen zum 0-Stunden-Wert (Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben)

Betrachtet man die Amilorid-sensitive Nasenpotentialdifferenz innerhalb der Studiengruppen, so zeigt sich, dass weder innerhalb der ersten vier Stunden nach Infusionsbeginn, noch am Ende der Infusion, eine signifikante Änderung der Amilorid-sensitiven Nasenpotentialdifferenz im Vergleich zum Ausgangswert vor Infusionsbeginn nachweisbar ist (siehe Tabelle 3 und 4).

Es fand sich keine Korrelation zwischen der Amilorid-sensitiven Nasenpotentialdifferenz und dem Gestationsalter ($r = -0,155$, $p = 0,67$) oder dem Geburtsgewicht ($r = 0,460$, $p = 0,181$).

4.4 Sekundäre Zielkriterien

4.4.1 Basale Nasenpotentialdifferenz (Basale PD)

Auch für die basale Nasenpotentialdifferenz (basale PD) bestand kein Unterschied zwischen den beiden Gruppen sowohl vor Beginn der Salbutamol- bzw. Placeboinfusion ($p = 0,381$), als auch vier Stunden nach Infusionsbeginn ($p = 0,794$) und am Ende der Infusion ($p = 0,486$) (Abbildung 3). Die basale Potentialdifferenz lag im Mittel bezogen auf alle Messungen bei $-12,14$ mV in der Kontrollgruppe (standard error of the mean SEM = $1,35$ mV) und bei $-10,43$ mV in der Therapiegruppe (SEM = $1,47$ mV).

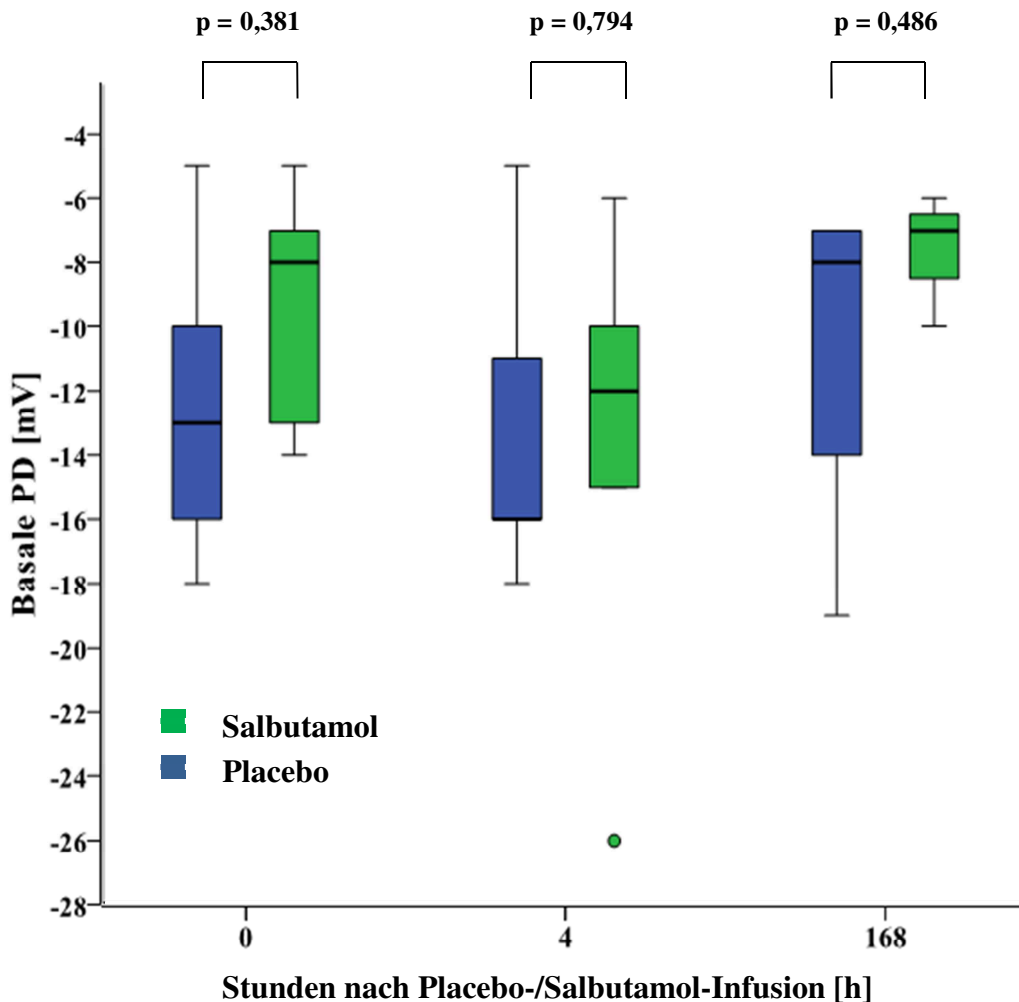


Abb. 18: Basale Nasenpotentialdifferenz (Basale PD)

Tabelle 5: Basale PD (mV), Kontrollgruppe

	Zeit in Stunden nach Placeboinfusion		
	0	4	168
$\bar{x} \pm SEM$	-12,40 ± 2,29	-13,20 ± 2,35	-10,50 ± 2,87
\tilde{x}	-13,00	-16,00*	-8,00*
Q_1	-16,00	-16,00	-14,00
Q_3	-10,00	-11,00	-7,00

Abkürzungen: \bar{x} = Mittelwert, SEM = standard error of the mean, \tilde{x} = Median, Q_1 = 25%-Quartil, Q_3 = 75%-Quartil, * $p > 0,05$ verglichen zum 0-Stunden-Wert (Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben)

Tabelle 6: Basale PD (mV), Therapiegruppe

	Zeit in Stunden nach Salbutamolinfusion		
	0	4	168
$\bar{x} \pm SEM$	-9,40 ± 1,75	-13,80 ± 3,38	-7,50 ± 0,87
\tilde{x}	-8,00	-12,00*	-7,00*
Q_1	-13,00	-15,00	-8,50
Q_3	-7,00	-10,00	-6,50

Abkürzungen: \bar{x} = Mittelwert, SEM = standard error of the mean, \tilde{x} = Median, Q_1 = 25%-Quartil, Q_3 = 75%-Quartil, * $p > 0,05$ verglichen zum 0-Stunden-Wert (Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben)

Betrachtet man wiederum die Werte für die basale Nasenpotentialdifferenz innerhalb der Studiengruppen, so zeigt sich, dass weder in der Kontroll- noch in der Therapiegruppe eine signifikante Änderung der basalen Potentialdifferenz über den siebentägigen Infusionszeitraum nachweisbar ist (siehe Tabelle 5 und 6). Bei den Probanden der Therapiegruppe ist vier Stunden nach Beginn der Salbutamolinfusion eine tendenzielle Negativierung der basalen Potentialdifferenz von im Mittel -9,40 mV auf -13,80 mV nachweisbar, ohne dass dieser Unterschied jedoch Signifikanz erreicht ($p = 0,5$; Wilcoxon-Test).

4.4.2 Amilorid-sensitiver Anteil der Nasenpotentialdifferenz in %

Der relative Amilorid-sensitive Anteil der Nasenpotentialdifferenz (Δ Amilorid in %) lag in der Placebogruppe bei 46,5% und in der Therapiegruppe bei 18,9% bezogen auf alle Messungen.

Tabelle 7: Amilorid-sensitiver Anteil der Nasenpotentialdifferenz in %, Kontrollgruppe

	Zeit in Stunden nach Placeboinfusion		
	0	4	168
$\bar{x} \pm SEM$	59,6% \pm 9,4%	54,6% \pm 12,0%	20,0% \pm 18,0%
\tilde{x}	60,0%	54,6% *	25,4% *
Q_1	72,2%	72,2%	43,2%
Q_3	40,0%	40,0%	3,2%

Abkürzungen: \bar{x} = Mittelwert, SEM = standard error of the mean, \tilde{x} = Median, Q_1 = 25%-Quartil, Q_3 = 75%-Quartil, * $p > 0,05$ verglichen zum 0-Stunden-Wert (Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben)

Tabelle 8: Amilorid-sensitiver Anteil der Nasenpotentialdifferenz in %, Therapiegruppe

	Zeit in Stunden nach Salbutamolinfusion		
	0	4	168
$\bar{x} \pm SEM$	13,7% \pm 9,7%	18,4% \pm 13,6%	24,9% \pm 27,9%
\tilde{x}	20,2%	16,7% *	23,6% *
Q_1	26,8%	16,7%	71,4%
Q_3	0,5%	13,3%	21,7%

Abkürzungen: \bar{x} = Mittelwert, SEM = standard error of the mean, \tilde{x} = Median, Q_1 = 25%-Quartil, Q_3 = 75%-Quartil, * $p > 0,05$ verglichen zum 0-Stunden-Wert (Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben)

Betrachtet man den relativen Amilorid-sensitiven Anteil der Nasenpotentialdifferenz innerhalb der Studiengruppen, so zeigt sich, dass weder innerhalb der ersten vier Stunden nach Infusionsbeginn, noch am Ende der Infusion, eine signifikante Änderung im Vergleich zum Ausgangswert vor Infusionsbeginn nachweisbar ist (siehe Tabelle 7 und 8).

4.4.3 Compliance und Resistance

Weder die Kinder der Therapie- noch die Probanden der Kontrollgruppe weisen eine signifikante Änderung der Compliance über den siebentägigen Infusionszeitraum auf ($p = 0,721$ bzw. $p = 0,973$, Friedman-Test). Auch zwischen den Gruppen lässt sich kein signifikanter Unterschied für die Compliance nachweisen ($p > 0,05$, Kruskal-Wallis Test) (siehe Abbildung 19). Betrachtet man die Resistance über den siebentägigen Zeitraum der Salbutamol- bzw. Placeboinfusion, so zeigt sich auch hier kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Studiengruppen ($p > 0,05$, Kruskal-Wallis Test). Auch innerhalb der Gruppen ist keine signifikante Änderung der Werte für die Resistance nachweisbar.

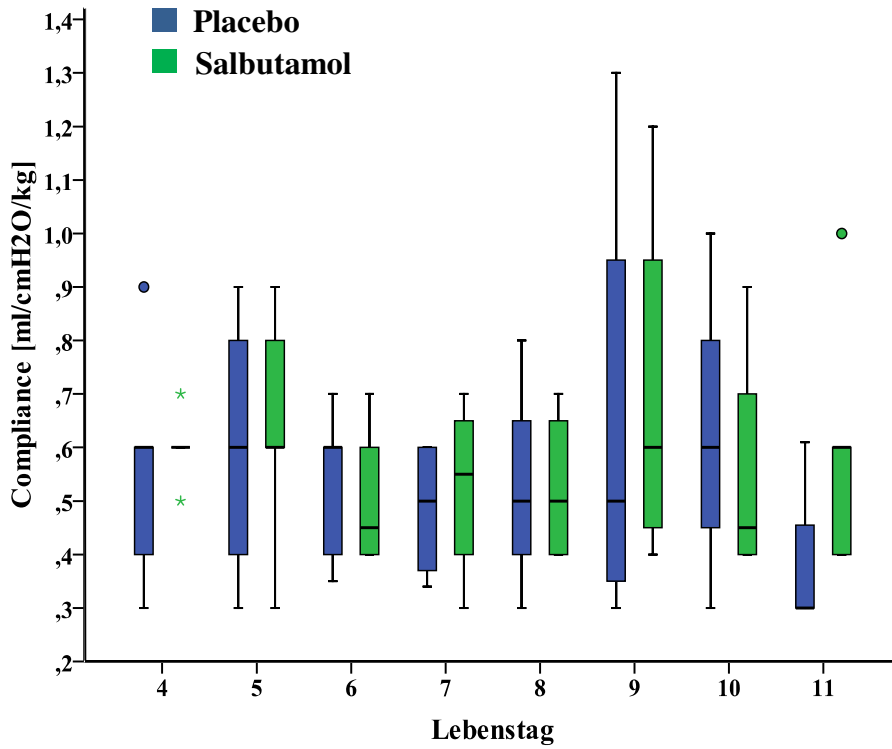


Abb. 19: Compliance Lebenstag 4 bis 11 in beiden Behandlungsgruppen

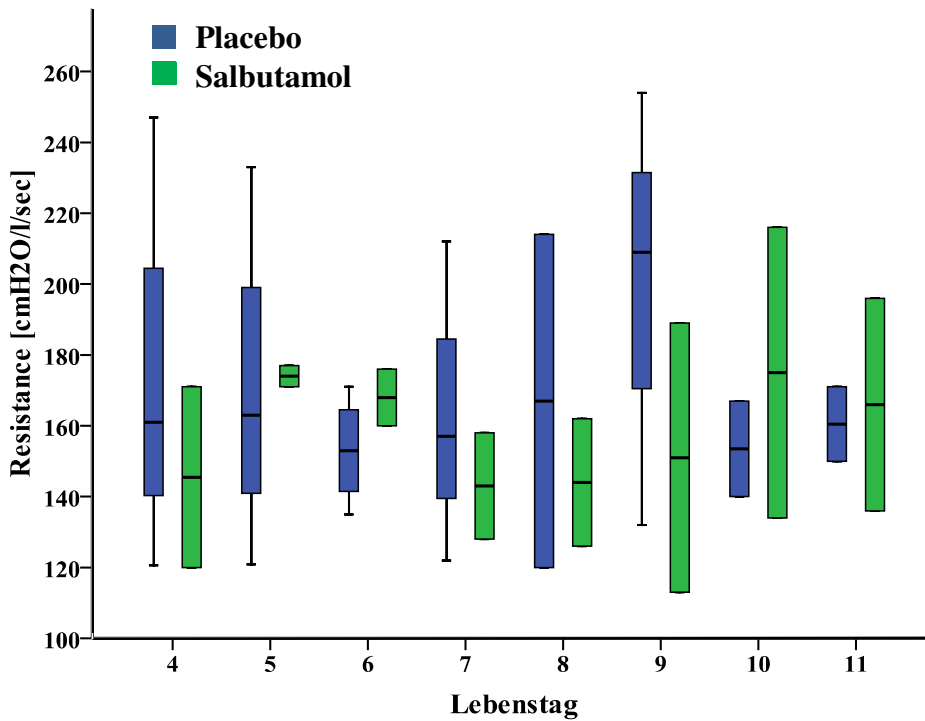


Abb. 20: Resistance Lebenstag 4 bis 11 in beiden Behandlungsgruppen

4.4.5 Oxygenationsindex

Der Oxygenationsindex (OI) wurde nach folgender Formel berechnet:

$$OI = FiO_2 [\%] \times MAP [cmH_2O] \times 100 / P_aO_2$$

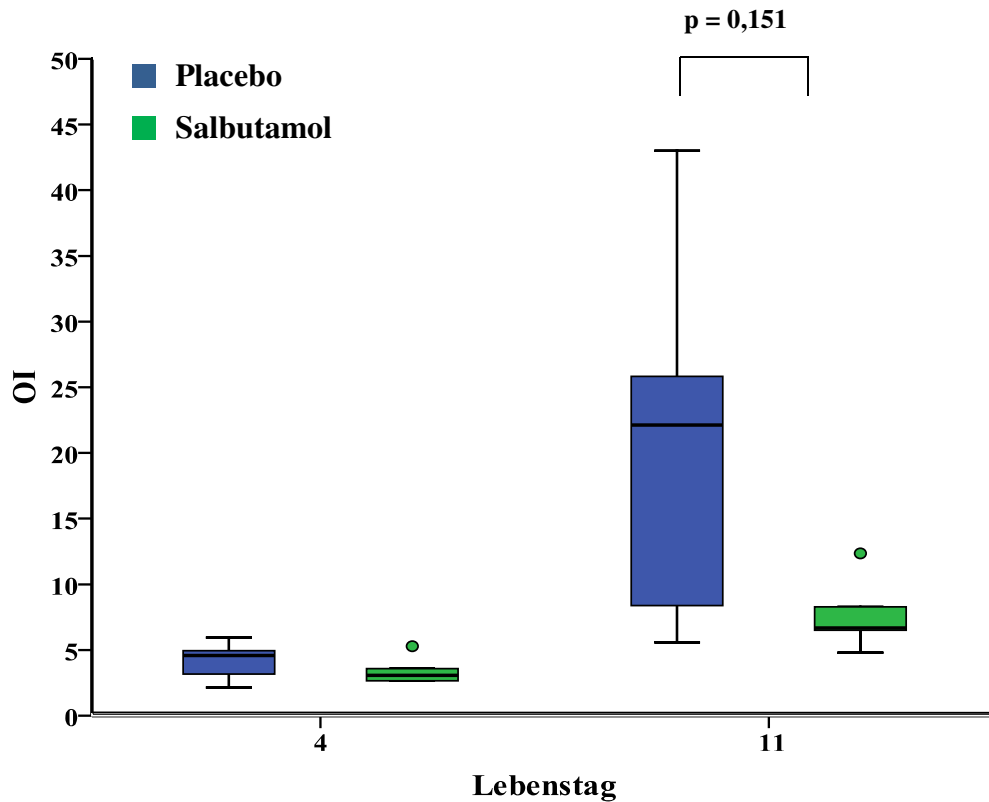


Abb. 21: Oxygenationsindex (OI)

Abbildung 21 zeigt den Oxygenationsindex in beiden Studiengruppen vor und nach der siebentägigen Salbutamol- bzw. Placeboinfusion. Es zeigt sich, dass die Probanden der Kontrollgruppe am 11. Lebenstag einen tendenziell höheren Oxygenationsindex aufweisen als die Kinder der Therapiegruppe, ohne dass dieser Unterschied jedoch Signifikanz erreicht ($p = 0,151$, Mann-Whitney-U-Test) (Abbildung 21).

4.4.6 Alveolo-arterielle Sauerstoffpartialdruckdifferenz (AaDO₂)

Der AaDO₂ wurde nach folgender Formel berechnet:

$$AaDO_2 = P_AO_2 - P_aO_2$$

$$AaDO_2 = (\text{Barodruck [mmHg]} - 47[\text{mmHg}]) \times FiO_2 - P_aCO_2 [\text{mmHg}] - P_aO_2 [\text{mmHg}]$$

$$= 713 [\text{mmHg}] \times FiO_2 - P_aCO_2 [\text{mmHg}] - P_aO_2 [\text{mmHg}]$$

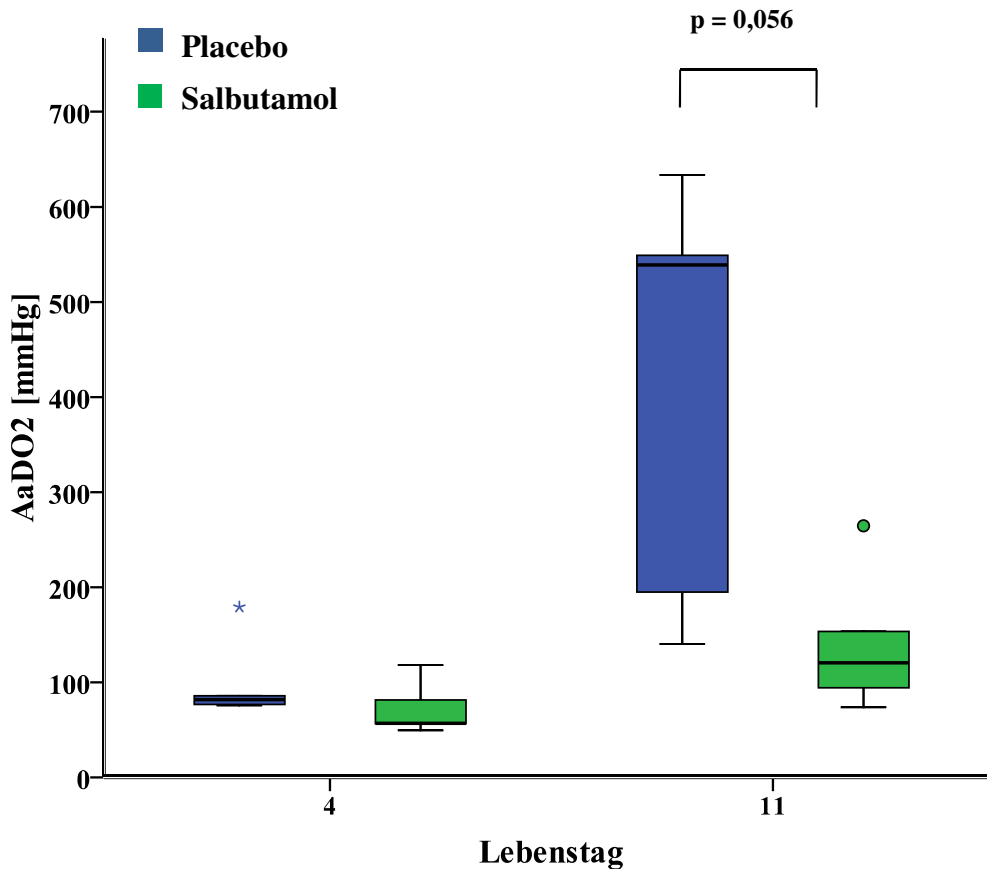


Abb. 22: Alveolo-arterielle Sauerstoffpartialdruckdifferenz (AaDO₂)

Betrachtet man die alveolo-arterielle Sauerstoffpartialdruckdifferenz (AaDO₂) vor Beginn der Salbutamol- bzw. Placeboinfusion und am Ende an Lebenstag 11, so fällt auf, dass die Probanden der Kontrollgruppe deutlich höhere Werte aufweisen als die Kinder der Therapiegruppe. Bei einseitiger Testung ergibt sich im Mann-Whitney-U-

Test ein signifikanter Unterschied mit $p = 0,028$, bei zweiseitiger Testung ist dieser Unterschied jedoch gerade nicht mehr signifikant ($p = 0,056$, siehe Abbildung 22).

4.5 Kurzzeit-Outcome

Die Kinder der Kontrollgruppe blieben im Mittel 121 Tage auf der Intensivstation. Die Aufenthaltsdauer der Probanden der Therapiegruppe betrug im Mittel 91 Tage. Bezüglich der Aufenthaltsdauer zeigte sich somit im Mann-Whitney-U-Test ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Behandlungsgruppen ($p = 0,016$) (siehe Tabelle 9).

In der Placebogruppe betrug die durchschnittliche Beatmungsdauer 42 Tage, in der Therapiegruppe 32 Tage. Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Behandlungsgruppen ($p = 0,365$) (Tabelle 9).

Tabelle 9: Aufenthalts- und Beatmungsdauer

	Placebo	Salbutamol	p
	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$	
Anzahl der Tage auf Intensivstation	121 \pm 15	91 \pm 16	0,016
Anzahl der Beatmungstage	42 \pm 5	32 \pm 12	0,365

Abkürzungen: \bar{x} = Mittelwert, s = Standardabweichung, p-Wert nach Mann-Whitney-U-Test

Bei einem von fünf Probanden der Therapiegruppe bestand im korrigierten Alter von 36 Schwangerschaftswochen (SSW) kein erhöhter Sauerstoffbedarf mehr und es lagen somit die Kriterien für die Diagnose einer milden BPD vor (siehe auch Einleitung). Vier Patienten der Therapiegruppe entwickelten eine moderate BPD mit einem Sauerstoffbedarf von weniger als 30% im Alter von 36 SSW. In der Kontrollgruppe wurde die Diagnose einer moderaten BPD hingegen nur bei einem von fünf Probanden gestellt. Vier Kinder aus dieser Gruppe hatten im Alter von 36 SSW einen erhöhten Sauerstoffbedarf von mehr als 30% bzw. bedurften einer Atemunterstützung zur

Aufrechterhaltung einer ausreichenden Sauerstoffsättigung des Blutes und erfüllten damit die Kriterien einer schweren BPD.

Tabelle 10: Häufigkeit einer bronchopulmonalen Dysplasie (BPD)

	Placebo	Salbutamol
Milde BPD	0 von 5	1 von 5
Moderate BPD	1 von 5	4 von 5
Schwere BPD	4 von 5	0 von 5

Bei keinem der Probanden trat eine Hirnblutung Grad III/IV nach Papile [102] auf. Zwei Frühgeborene der Placebogruppe erlitten eine leichtgradige Hirnblutung Grad I (subependymale Blutung [102]) / Grad II (intraventrikuläre Blutung ohne Ventrikeldilatation [102]).

In der Therapiegruppe wurde ein Patient einer Lasertherapie bei Retinopathia praematurorum zugeführt. In der Placebogruppe wurden zwei Probanden mit Laser behandelt.

Bei drei Probanden der Kontrollgruppe wurde die Diagnose eines persistierenden Ductus arteriosus botalli (PDA) gestellt und eine Therapie mit Indometacin/Ibuprofen begonnen. Dabei wurden zwischen ein und drei Zyklen der Therapie verabreicht. In der Therapiegruppe wurde bei vier Kindern ein PDA diagnostiziert und mit bis zu fünf Zyklen Indometacin/Ibuprofen behandelt. In beiden Studiengruppen mussten jeweils zwei der Kinder mit PDA einem operativen Verschluss zugeführt werden.

5 Diskussion

5.1 Zusammenfassung der Hauptergebnisse

Im Rahmen dieser Pilotstudie wurde erstmals der Effekt von intravenös appliziertem Salbutamol auf die Aktivität epithelialer Natriumkanäle (ENaC), den Wassergehalt der Lunge und die Lungenmechanik bei extrem Frühgeborenen untersucht. Als Maß für die Aktivität des ENaC diente die Messung der Amilorid-sensitiven Nasenpotentialdifferenz. Außerdem wurde der Effekt von Salbutamol auf das Kurzzeit-Outcome dieser Kinder untersucht. Gleichzeitig diente die Studie dazu, eine Salbutamoldosierung zu identifizieren, welche auch von extrem unreifen Frühgeborenen über eine Dauer von sieben Tagen toleriert wird.

Es konnten Daten von zehn extrem Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht unter 1000 g und einem Gestationsalter von weniger als 28 Schwangerschaftswochen erhoben werden. Fünf Frühgeborene mit einem mittleren Gestationsalter von 25,8 Schwangerschaftswochen erhielten vom vierten bis zum elften Lebenstag eine Infusion mit dem β_2 -Sympathomimetikum Salbutamol, ohne dass klinisch relevante systemische Effekte beobachtet werden konnten. Die Messung der transepithelialen Nasenpotentialdifferenz sowie der Änderung der Potentialdifferenz auf die Gabe des Natriumkanalblockers Amilorid konnte keinen Effekt von Salbutamol innerhalb der Therapiegruppe und zwischen den beiden Studiengruppen nachweisen. Die Infusion von Salbutamol zeigte keinen Effekt auf Compliance, Resistance und Oxygenationsindex. Bei Infusionsende wiesen jedoch die Kinder der Therapiegruppe bei einseitiger Testung einen signifikant niedrigeren alveolo-arteriellen-O₂-Gradienten auf verglichen zur Kontrollgruppe. Es bestand kein Unterschied zwischen den Studiengruppen bezüglich BPD, ROP, IVH, PDA, AIS und Anzahl der Beatmungstage. Die Kinder der Therapiegruppe wiesen jedoch eine signifikant niedrigere Anzahl an Intensivtagen auf.

5.2 Diskussion der Messmethodik

Die Messung der transepithelialen Nasenpotentialdifferenz wird seit einigen Jahren zur Diagnostik der Mukoviszidose eingesetzt und wurde in der Literatur vielfach vorgeschrieben [85, 90, 103, 108-110]. Die Messung der Nasenpotentialdifferenz bei

Frühgeborenen stellt sich zwangsläufig schwieriger dar als bei erwachsenen Probanden und es ergeben sich einige Besonderheiten.

In der Literatur wird häufig eine subkutane Lage der Referenzelektrode beschrieben [6, 84, 90]. Southern und Mitarbeiter konnten zeigen, dass auch ein intravenöser Katheter eine valide Verbindung zur Referenzelektrode darstellt und so ein zusätzliches Nadelstichtrauma bei kleinen Kindern umgangen werden kann [111]. Auf dieselbe Arbeitsgruppe geht die Verwendung eines, wie auch in dieser Studie verwendeten, kleineren einlumigen Nasenkatheters zurück, der gleichzeitig der Perfusion und der Elektrodenverbindung dient. Außerdem konnte diese Gruppe zeigen, dass die Perfusionsgeschwindigkeit des Nasenkatheters niedriger als bei Messungen an Erwachsenen gewählt werden kann und so eine Irritation des Kindes durch Flüssigkeit, die in den Pharynx gelangt bzw. aus der Nase herausläuft, verringert werden kann. Eine ständige Perfusion des Messsystems ist notwendig, da sonst Luft, die zwischen Katheter und Nasenschleimhaut gelangt, den Stromfluss unterbricht und so die Ableitung stört. In der Literatur findet sich als verwendete Perfusionslösung sowohl Ringerlösung [84, 85, 110] als auch isotone Kochsalzlösung [108, 112]. Für die Messung der Nasenpotentialdifferenz im Rahmen dieser Studie wurde isotone Kochsalzlösung verwendet. In der Regel wurde die Referenzelektrode an einen vorhandenen ebenfalls mit Kochsalzlösung gefüllten Nabelarterienkatheter angeschlossen, so dass sich eine mögliche Änderung des Potentials durch Diffusionsvorgänge mit anderen Lösungen verhindern ließ. Die in der Literatur häufig beschriebene Trennung mittels Agar als Salzbrücke [84] wurde, da die Referenzelektrode an einen zentralen Katheter angeschlossen wurde, aus hygienischen Gründen nicht verwendet.

Das Problem einer möglichen Potentialänderung der Silber-/Silberchlorid-Halbzellen während der Messung wurde bereits angesprochen. Dieses Problem des „baseline drift“ [6] wurde auch von anderen Studiengruppen beschrieben. Durch den Kurzschluss von Mess- und Referenzelektrode vor und nach einer Messung sowie die Aufzeichnung dieses Kurzschluss-Potentials, wurde eine mögliche Potentialänderung bei der Auswertung der Messdaten und der Berechnung der Amilorid-sensitiven Nasenpotentialdifferenz berücksichtigt (vergleiche Abschnitt 3.6.1.6).

Für den Messaufbau wurden chlorierte Silberdrähte entsprechend Silber-/Silberchlorid-Halbzellen verwendet. Silber-/Silberchlorid-Elektroden zählen zu den sogenannten Elektroden zweiter Art. Unter Elektroden zweiter Art versteht man

Metallionenelektroden, bei welchen Kationen des Elektrodenmaterials mit Anionen des Elektrolyten eine schwerlösliche Verbindung bilden können [113]. Das Elektrodenpotential einer solchen Elektrode wird nur von der Aktivität der Anionen, in diesem Fall der Chlorid-Ionen, bestimmt. Hält man die Konzentration an Chlorid-Ionen konstant, resultiert ein stabiles Potential. Infolge der Gegenwart von Chlorid-Ionen in der Lösung ist die Silber-Ionenkonzentration extrem klein und ist eindeutig bestimmt durch das Gleichgewicht



Für die Konzentration der Silber-Ionen gilt:

$$K_L = c(Ag^+) \times c(Cl^-)$$

Bei der verwendeten Kochsalz-Lösung mit einer Chlorid-Konzentration $c(Cl^-)$ von 154 mmol/l und dem Löslichkeitsprodukt K_L von $1,77 \times 10^{-10} \text{ mol}^2/\text{l}^2$ ergibt sich somit eine Silberkonzentration $c(Ag^+)$ von maximal $1,15 \times 10^{-9} \text{ mol/l}$. [113]

Ein weiteres Problem stellt die Lage des Nasenkatheters bei Frühgeborenen dar. Der Katheter sollte für die Messung im unteren Nasengang an der Stelle des maximal negativen Potentials positioniert werden. Aufgrund der geringen Größe der Probanden wurde auf eine rhinoskopische Kontrolle der Katheterlage, wie sie in der Regel bei erwachsenen Probanden durchgeführt wird, verzichtet [85]. Die Lage des Nasenkatheters wurde somit nur anhand der Messwerte, die das Voltmeter anzeigte, ermittelt. Der Katheter wurde auf der dem Beatmungstubus gegenüberliegenden Seite, in der Regel im linken Nasenloch, platziert. Auf dieser Seite befand sich zumeist auch eine Magensonde für die Ernährung der kleinen Patienten, so dass eine Störung des Kontaktes zwischen Nasenkatheter und Nasenschleimhaut durch die Magensonde zwar nicht ausgeschlossen werden kann, aber wenig wahrscheinlich ist, da die verwendeten Magensonden eher die Fixierung des Messkatheters an der optimalen Messposition erleichterten und gegen die Umgebung als Isolatoren fungierten.

5.3 Medikamente

5.3.1 Salbutamol

Salbutamol ist ein seit vielen Jahren angewandtes sicheres und wirksames Medikament zur Behandlung reversibler broncho-pulmonaler Obstruktionen [114]. In Deutschland ist die Anwendung von Salbutamol nur bei Kindern über drei Jahren zugelassen.

Dennoch wird Salbutamol im Rahmen des sogenannten „Off-Label-Use“ bei Kindern unter drei Jahren und auch bei Früh- und Neugeborenen seit vielen Jahren eingesetzt. Unter „Off-Label-Use“ versteht man die Behandlung mit einem Medikament, das für die zu behandelnde Erkrankung, d.h. die vorgesehene Indikation und/oder für die betreffende Patientengruppe nicht zugelassen ist. In Kinderkliniken beträgt die Rate an „Off-Label-Use“ zwischen 16 und 62 %, auf Neugeborenenstationen liegt diese Rate sogar zwischen 55 und 80 % [115]. Bei Säuglingen und Kleinkindern wird Salbutamol in der Asthma-Therapie zumeist inhalativ als Dosieraerosol bzw. als Lösung in einem Vernebler [116-119] oder intravenös verabreicht [120, 121]. Zur Behandlung einer Hyperkaliämie wurde Salbutamol auch sehr kleinen Frühgeborenen intravenös verabreicht [122-124]. So konnte bei extrem Frühgeborenen mit einem mittleren Gestationsalter von 26 Wochen durch eine Kurzzeitinfusion mit Salbutamol in einer Dosierung von 4 µg/kg eine temporäre Reduktion des Kaliumspiegels erreicht werden [124]. Auch die inhalative Gabe von Salbutamol bei extrem Frühgeborenen wurde beschrieben [119, 125-127].

Von den in der Einleitung angegebenen Nebenwirkungen Salbutamols sind für das Frühgeborene vor allem die kardialen Nebenwirkungen sowie die Auswirkungen auf den Stoffwechsel von Bedeutung. Salbutamol führt mit steigender Dosierung zu einer über β_1 -Adrenozeptoren vermittelten kardialen Stimulation und kann so einen Anstieg der Herzfrequenz und des systolischen Blutdruckes bewirken [128, 129]. Bei einer schlechten Kreislauffunktion kann dies durchaus therapeutisch erwünscht sein. Hier werden oft Katecholamine zur Kreislaufunterstützung eingesetzt. Bei einer guten Kreislauffunktion sollte dies jedoch vermieden werden, um die zerebrale Durchblutung nicht unnötig zu erhöhen. Durch eine negative Korrelation von Herzfrequenz und Schlagvolumen kann ein Anstieg des Herzzeitvolumens abgeschwächt werden und es konnte gezeigt werden, dass auch Frühgeborene in der Lage sind, ihr Schlagvolumen zu regulieren [130, 131]. Aus den bisherigen Untersuchungen zur intravenösen und inhalativen Verabreichung von Salbutamol an Frühgeborenen ergeben sich keinerlei Hinweise darauf, dass die Gabe eines β_2 -Sympathomimetikums mit einer erhöhten Gefahr intrakranieller Blutungen assoziiert ist [119, 125, 127, 128]. In der Literatur finden sich bisher keine Daten über eine kontinuierliche Infusion des β_2 -Sympathomimetikums Salbutamol über sieben Tage bei extrem Frühgeborenen. In bisherigen Untersuchungen wurde Salbutamol per infusionem bei Frühgeborenen als Kurzzeitinfusion über 15-20 Minuten [122, 124] oder längstens über einen Zeitraum

von 26 Stunden verabreicht [123]. Im Rahmen dieser Untersuchungen wurden bis auf einen reversiblen Anstieg der Herzfrequenz keine anderen klinischen Nebeneffekte beobachtet [122-124, 132]. Im Zuge der hier durchgeführten Pilotstudie führte die intravenöse Gabe des β_2 -Sympathomimetikums Salbutamol ebenfalls zu einem Anstieg der Herzfrequenz. Die Entwicklung einer anhaltenden Tachykardie konnte allerdings durch die einschleichende Dosierung Salbutamols anhand der individuellen Herzfrequenzgrenze der Probanden vermieden werden.

Über die Aktivierung von β_2 -Adrenozeptoren in der Leber und im Skelettmuskel führt Salbutamol zu einer Stimulation der Glykogenolyse und der Glukoneogenese, was zu einem Anstieg der Glukose- und Laktatwerte im Blut führen kann [128, 133]. Bei Frühgeborenen besteht gerade in der ersten Lebenswoche ein erhöhtes Risiko für Störungen im Glukose-Stoffwechsel. Geringere Glykogen- und Fettreserven erhöhen das Risiko für die Entstehung einer Hypoglykämie. Zur Aufrechterhaltung des Glukosespiegels wird schon bald nach der Geburt eine kontinuierliche Glukosesubstitution nötig. Dies begünstigt wiederum nicht selten die Entstehung einer Hyperglykämie [134]. Die Inzidenz der Hyperglykämie bei extrem Frühgeborenen, insbesondere bei Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht von weniger als 1000 g, wird auf 60 bis 80 % geschätzt und scheint mit einer erhöhten Morbidität und Mortalität assoziiert zu sein [135-137]. Bisher existiert keine einheitliche Definition für die Hyperglykämie bei Neugeborenen. Als obere Grenze wird häufig ein Blutzuckerspiegel von 150 mg/dl (8,3 mmol/l) angesehen [138]. In einer Übersichtsarbeit von Hey wurde als Definition für Hyperglykämie sogar ein oberer Blutzuckerspiegel von ≥ 216 mg/dl (12 mmol/l) vorgeschlagen [139]. Gerade aufgrund der Tatsache, dass Frühgeborene über verminderte Glykogenreserven verfügen, ist eine deutliche Erhöhung des Blutzuckers unter einer Therapie mit einem β_2 -Sympathomimetikum nicht zu erwarten. Unsere Ergebnisse zeigen, dass die kontinuierliche Infusion des β_2 -Sympathomimetikums Salbutamol über sieben Tage zu keiner wesentlichen Erhöhung des Blutzuckers führte.

Wie bereits erwähnt, kann Salbutamol auch zur Behandlung einer Hyperkaliämie eingesetzt werden. Dies beruht auf der Tatsache, dass es unter der Einwirkung von Salbutamol zu einer Erniedrigung des Kaliumspiegels kommt [133, 140, 141]. Verursacht wird dieser hypokaliämische Effekt über eine β_2 -vermittelte Stimulation der membrangebundenen Na^+ -, K^+ - ATPase, was zu einer Verschiebung von Kalium aus

dem Extra- in den Intrazellulärraum und damit zu einer Erniedrigung des Kaliumspiegels führt [122, 142, 143]. Unsere Ergebnisse zeigen, dass unter einer kontinuierlichen Überwachung des Elektrolythaushaltes der Patienten, der Entstehung einer Hypokaliämie unter einer Dauerinfusion mit Salbutamol entgegengewirkt werden kann. Sowohl bei den Kindern der Therapie- als auch bei den Kindern der Kontrollgruppe ist ein Anstieg der Kaliumwerte über den siebentägigen Infusionszeitraum nachweisbar, der als Ausdruck der parenteralen Kaliumsubstitution zu werten ist.

5.3.2 Amilorid

Amilorid ist ein Pyrazinoylguanidinderivat und wird als kaliumsparendes Diuretikum meist in Kombinationspräparaten mit anderen Diuretika eingesetzt. Es wirkt in der Niere an den luminalen Membranen der Hauptzellen in den spät distalen Tubuli und den Sammelrohren und führt über eine Blockade der epithelialen Natriumkanäle (ENaC) zu einer Hemmung der Natriumrückresorption. Über die Natriumkanäle gelangt Natrium entlang eines von der basalen Na^+ -, K^+ - ATPase erzeugten Gradienten nach intrazellulär und über die Na^+ -, K^+ - ATPase weiter ins Interstitium. Dadurch entsteht eine lumen-negative transepitheliale Potentialdifferenz, die die treibende Kraft für die Sekretion von K^+ - und H^+ -Ionen ist. Die Blockade der epithelialen Natriumkanäle durch Amilorid erhöht die Ausscheidung von Natrium um ca. 2% des Glomerulumfiltrates, gleichzeitig wird die Ausscheidung von K^+ , H^+ und anderen Kationen wie Mg^{2+} und Ca^{2+} verringert [144].

Amilorid blockiert auch die Natriumkanäle im respiratorischen Epithel der Lunge und der Nase. Bei Applikation von Amilorid auf die Nasenschleimhaut werden die epithelialen Natriumkanäle blockiert und es kommt zu einer Depolarisation der transepithelialen Potentialdifferenz [57, 95, 145]. Dieser Effekt von Amilorid wurde bei der Messung der nasalen transepithelialen Potentialdifferenz im Rahmen dieser Studie genutzt. Die Wirkung von inhalativ appliziertem Amilorid auf die Schleimhäute des Respirationstraktes kann auch verwendet werden, um die Clearance des Respirationstraktes bei der Erbkrankheit Mukoviszidose zu steigern [146]. Der Mukoviszidose, auch Zystische Fibrose genannt, liegt ein Defekt im CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene) - Gen zugrunde, welches den transmembranösen Fluss von Chlorid über spezifische Chloridkanäle reguliert. Folge dieses Defektes am respiratorischen Epithel ist eine gestörte Chlorid-Sekretion und eine

konsekutiv gesteigerte Natrium-Absorption. Dies führt wiederum zur Viskositätszunahme und zur Bildung eines zähen Sekretes [147, 148]. Es konnte gezeigt werden, dass die viermal tägliche Inhalation mit Amilorid über einen Zeitraum von 25 Wochen zu einer Zunahme der Konzentration von Natrium- und Chlorid-Ionen im Sputum und so zu einer Verflüssigung des zähen Bronchialsekretes führt [149].

Amilorid wird nach oraler Gabe zu 15 - 25 % resorbiert und hauptsächlich durch renale Exkretion des intakten Arzneimittels ausgeschieden [144]. Die Halbwertszeit beträgt je nach Angabe 6 (Rote Liste® 2009, Rote Liste® Service GmbH, Frankfurt/Main) bis 21 [144] Stunden nach oraler Applikation. Es konnte jedoch gezeigt werden, dass die Halbwertszeit von Amilorid nach Inhalation an der Oberfläche der Atemwege nur 35 bis 40 Minuten beträgt [95]. Bei lokaler Applikation und einem Abstand von mindestens 4 Stunden zwischen den Messungen der Nasenpotentialdifferenz im Rahmen dieser Studie sollte somit kein Effekt der vorangegangenen Amiloridapplikation mehr vorhanden gewesen sein. Amilorid wurde im Rahmen dieser Studie in einer 10^{-4} molaren Lösung verwendet. Es konnte in einigen früheren Studien gezeigt werden, dass in dieser Konzentration eine vollständige Inhibition der epithelialen Natriumkanäle an der Nasenschleimhaut erreicht wird [111, 150].

5.4 Diskussion der Ergebnisse

In früheren Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass Nasen- und Luftwegsepithelien folgende Gemeinsamkeiten aufweisen: Zylinderepithel, ähnliche Zelltypen, ähnliche Konfiguration der Zellverbindungen [85], ähnliche Zusammensetzung des Oberflächensekretes [151] und vergleichbare mukoziliäre Clearance [152]. Knowles folgerte daraus, dass Studien an Nasenepithelien zum Verständnis der Funktion der tieferen Atemwege beitragen können [85]. Durch Messung der transepithelialen Potentialdifferenz in der Nase und den unteren Luftwegen konnte Knowles zeigen, dass Probanden mit Mukoviszidose eine negativere basale Potentialdifferenz sowie eine größere Reduktion der Potentialdifferenz auf die Gabe des Natriumkanalblockers Amilorid aufweisen als gesunde Probanden [86]. Als Ursache für diese erhöhte Potentialdifferenz bei Mukoviszidose-Patienten wurde die exzessiv gesteigerte Natrium-Absorption über das respiratorische Epithel bei gleichzeitig gestörter Chlorid-Sekretion erkannt [88, 148]. Eine Arbeitsgruppe um

Gowen konnte zeigen, dass auch die transepitheliale Potentialdifferenz von Neugeborenen mit Zystischer Fibrose größer ist als bei gesunden Neugeborenen [89]. Als Nebenresultat beschrieb Gowen bereits im Rahmen dieser Untersuchung, dass Probanden der Kontrollgruppe mit der Diagnose RDS tendenziell eine weniger negative basale Nasenpotentialdifferenz aufwiesen.

Basale Nasenpotentialdifferenz (Basale PD)

Die basale Nasenpotentialdifferenz betrug in der hier durchgeführten Studie -12,14 mV (Kontrollgruppe) bzw. -10,43 mV (Therapiegruppe) und entspricht damit Werten, die in der Literatur für die Nasenpotentialdifferenz Frühgeborener mit entsprechendem Gestationsalter gefunden werden können. Thome et al. untersuchten bei 29 Frühgeborenen mit einem Gestationsalter von weniger als 29 Schwangerschaftswochen den Einfluss einer postnatalen Substitution von Östradiol und Progesteron auf die Nasenpotentialdifferenz [80]. Bei einem vergleichbaren mittleren Gestationsalter von 25,1 (Therapiegruppe) bzw. 25,7 (Kontrollgruppe) Schwangerschaftswochen wiesen die Kinder in dieser Studie mit -10,6 mV (Therapiegruppe) bzw. -10,7 mV (Kontrollgruppe) [80] eine vergleichbare basale Nasenpotentialdifferenz auf.

1997 veröffentlichte eine Arbeitsgruppe um Barker eine Studie an 31 Frühgeborenen mit einem Gestationsalter von maximal 30 Schwangerschaftswochen, in welcher der Zusammenhang zwischen dem epithelialen Natriumtransport und der Entwicklung eines RDS untersucht wurde [6]. Sie kamen zu dem Ergebnis, dass Frühgeborene mit RDS eine weniger negative basale Nasenpotentialdifferenz aufweisen ($-16,5 \pm 0,6$ mV) als lungengesunde Frühgeborene ($-22,0 \pm 1,3$ mV) [6], die eine ähnliche basale Nasenpotentialdifferenz aufweisen wie gesunde Erwachsene [109, 110]. Barker et al. zeigten außerdem, dass die gemessenen Potentiale vom Gestationsalter und vom Geburtsgewicht abhängig sind. Mit zunehmendem Gestationsalter und Geburtsgewicht kommt es zu einer Zunahme der basalen und der Amilorid-sensitiven Nasenpotentialdifferenz [6]. Dies könnte eine Erklärung für die deutlich weniger negativen Werte der basalen Potentialdifferenz in der hier durchgeführten Studie sein, da die Probanden in der Barker-Studie mit 27,9 (Nicht-RDS-Gruppe) bzw. 27,2 (RDS-Gruppe) Schwangerschaftswochen ein höheres mittleres Gestationsalter aufwiesen. Die vorgelegten Ergebnisse validieren somit die hier vorgestellte Messkette anhand der Literaturdaten.

Primäres Zielkriterium: Amilorid-sensitive Nasenpotentialdifferenz (Δ Amilorid)

Die Amilorid-sensitive Nasenpotentialdifferenz betrug in der hier durchgeführten Studie im Gesamtdurchschnitt aller Messungen 6,50 mV in der Kontrollgruppe und 2,62 mV in der Therapiegruppe. Vergleicht man diese Werte wiederum mit den Werten für die Amilorid-sensitive Nasenpotentialdifferenz in der Studie durch Thome und Mitarbeiter, so weisen die Probanden dieser Studie mit 6,5 mV (Therapiegruppe) bzw. 6,1 mV (Kontrollgruppe) [80] ähnliche Werte auf.

Es konnte kein signifikanter Unterschied für die Amilorid-sensitive Nasenpotentialdifferenz sowohl zwischen den Studiengruppen als auch innerhalb der Gruppen über den siebentägigen Zeitraum der Salbutamolinfusion gefunden werden. Die Infusion des β_2 -Sympathomimetikums Salbutamol im Rahmen dieser Pilotstudie hatte zum Ziel, die Vorgänge in der Lunge, welche durch die Geburtsbestrebungen und die Geburt am Termin induziert werden, bei Frühgeborenen zu simulieren und so über eine Aktivierung der epithelialen Natriumkanäle die Flüssigkeitsresorption aus der Lunge zu beschleunigen. Bisher finden sich in der Literatur keine Daten über eine kontinuierliche Infusion des β_2 -Sympathomimetikums Salbutamol über sieben Tage bei extrem frühgeborenen Kindern. Die hier durchgeführte Pilotstudie hatte gleichzeitig zum Ziel eine Dosis für Salbutamol zu finden, die über einen Zeitraum von sieben Tagen zu keinen wesentlichen Nebenwirkungen führt. Durch die Erfahrungen bei den beiden ersten Probanden der Therapiegruppe war es lediglich bei drei Probanden möglich, Salbutamol kontinuierlich über sieben Tage zu verabreichen. Möglicherweise ergibt sich hieraus eine Erklärung für den nicht nachgewiesenen Effekt auf die Amilorid-sensitive Nasenpotentialdifferenz und damit auf eine Aktivierung der epithelialen Natriumkanäle.

Frühere Untersuchungen haben eine Abhängigkeit der basalen Nasenpotentialdifferenz und der Amilorid-sensitiven Nasenpotentialdifferenz vom Gestationsalter gezeigt [6]. In unserer Studie an extremen Frühgeborenen konnte kein Anstieg der Amilorid-sensitiven Nasenpotentialdifferenz über den siebentägigen Infusionszeitraum oder eine Korrelation zum Gestationsalter nachgewiesen werden. Ein Grund hierfür könnte zum einen die extreme Unreife der Probanden sein. In einer aktuelleren Studie konnte eine Arbeitsgruppe um Helve zeigen, dass die Expression der ENaC-Untereinheiten vom Gestationsalter abhängig ist [66]. Durch quantitative Analyse der α -, β - und γ ENaC-mRNA bei 29 Frühgeborenen und 61 Reifgeborenen im postnatalen Alter von ein bis

fünf Stunden konnte ein starker Zusammenhang zwischen dem Gestationsalter und der Expression der α - und β -ENaC-Untereinheiten nachgewiesen werden. Somit stützen unsere Ergebnisse die Hypothese, dass bei extrem Frühgeborenen der ENaC noch nicht in ausreichender Zahl exprimiert wird und folglich eine Therapie, die über eine Aktivierung der epithelialen Natriumkanäle die Flüssigkeitsresorption begünstigt, in Frage zu stellen ist. Bei Kindern, die vor einem ontogenetisch festgelegten Anstieg der Expression der epithelialen Natriumkanäle geboren wurden, ist daher eine Korrelation zwischen Gestationsalter und Amilorid-sensitiver Nasenpotentialdifferenz auch nicht zu erwarten.

Andererseits wurden die ersten Messungen erst in einem Alter von 96 Stunden durchgeführt. Wenn es zu einem physiologischen Anstieg der ENaC-Expression um den Zeitraum der Geburt kommt, ist es daher auch möglich, dass dieser bereits innerhalb der ersten Stunden nach Geburt erfolgt und somit im Rahmen dieser Untersuchung nicht erfasst werden konnte.

Wie bereits in der Einleitung erwähnt, erfolgt ein Teil des Natriumtransportes über das respiratorische Epithel über sogenannte Amilorid-insensitive Natriumkanäle [40, 153]. Untersuchungen haben gezeigt, dass – je nach Species - ca. 20 – 80% des Natriumtransportes über solche Amilorid-insensitiven Transportmechanismen erfolgt [154]. Betrachtet man den relativen Amilorid-sensitiven Anteil der Nasenpotentialdifferenz, der bei den Probanden im Rahmen dieser Studie gemessen wurde (Placebogruppe 46,5%, Therapiegruppe 18,9%), so wird deutlich, dass die Transportmechanismen über Amilorid-insensitive Natriumkanäle möglicherweise ebenso eine wichtige Rolle für die perinatale Flüssigkeitsabsorption spielen. Bisher konnten die Amilorid-insensitiven Natriumkanäle nicht näher charakterisiert werden, da kein vollständig effektiver und selektiver Blocker, vergleichbar mit dem Natriumkanalblocker Amilorid, existiert [153]. Eine möglicher „Kandidat“ könnte ein sogenannter „atypischer ENaC“ (A-ENaC) darstellen, der sich vom klassischen ENaC durch eine geänderte Stöchiometrie, d.h. eine geänderte Zusammensetzung der einzelnen Untereinheiten unterscheidet [153].

Somit wird deutlich, dass weitere Untersuchungen notwendig sind, um die komplexen Zusammenhänge zwischen den ENaC-Untereinheiten, ihrer Regulation, ihrem Einfluss auf die Potentialdifferenz und das Atemnotsyndrom zu verstehen.

Compliance und Resistance

Wie bereits erwähnt, verbessert eine Steigerung der Flüssigkeitsresorption über den ENaC zudem die Compliance der Lunge. Helve und Mitarbeiter konnten in einer Untersuchung an 20 reifen, gesunden Neugeborenen zeigen, dass der Na^+ -Transport, gemessen als Amilorid-sensitive Nasenpotentialdifferenz, mit der Compliance der Lunge korreliert [98]. In einer Studie an neugeborenen Schweinen konnte gezeigt werden, dass die Compliance vom Wassergehalt der Lunge abhängt und durch Surfactant als auch durch Diuretika verbessert wird [97]. β_2 -Sympathomimetika führen über eine Relaxation der glatten Bronchialmuskulatur zu einer Bronchodilatation und damit zu einer Reduktion des Atemwegwiderstandes. Es konnte gezeigt werden, dass die Gabe von β_2 -Sympathomimetika wie Salbutamol oder Formoterol per inhalationem bei Frühgeborenen zu einem Anstieg der Compliance der Lunge führt [155]. Es ist auch möglich, dass die Verbesserung der Lungenfunktion hierbei auf eine Reduktion des Wassergehaltes in den Lungenalveolen zurückzuführen ist [156]. In der hier durchgeführten Studie zeigt sich sowohl zwischen den Studiengruppen als auch innerhalb der Therapiegruppe kein Unterschied bezüglich der gemessenen Lungenfunktionsparameter Compliance und Resistance über den siebentägigen Infusionszeitraum.

Oxygenationsindex (OI) und Alveolo-arterielle Sauerstoffpartialdruckdifferenz (AaDO₂)

Zur Beurteilung der Oxygenierungsfunktion der Lunge kann der Quotient aus dem arteriellen Sauerstoffpartialdruck (P_aO_2), der bei einer bestimmten inspiratorischen Sauerstoffkonzentration (F_iO_2) erreicht wird, berechnet werden. In der Neonatologie wird dieser Parameter zur Einschätzung der Schwere einer pulmonalen Insuffizienz und zur Indikationsstellung zur Beatmung mittels extrakorporaler Membranoxygenierung (ECMO) herangezogen. Als Kriterium für eine ECMO-Behandlung wird ein $\text{OI} > 40$ genannt [101]. Die alveolo-arterielle Sauerstoffpartialdruckdifferenz (AaDO₂) beschreibt den Druckgradienten zwischen alveolärem und arteriellem Sauerstoffpartialdruck. Die AaDO₂ eignet sich daher gut zur Beurteilung des transpulmonalen Gasaustausches. Alveolo-kapilläre Diffusionsstörungen führen zu einem Anstieg des intrapulmonalen Rechts-Links-Shunts und zu einer erhöhten AaDO₂. Zu den Ursachen gehören z.B. Atelektasen und Lungenödeme. Die Kinder der Kontrollgruppe zeigten nach dem siebentägigen Behandlungszeitraum einen tendenziell höheren Oxygenationsindex als

die Probanden der Therapiegruppe. Für den AaDO₂ ergab sich bei einseitiger Testung ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Studiengruppen nach der siebentägigen Placebo- bzw. Salbutamolinfusion. Die Kinder der Kontrollgruppe wiesen dabei deutlich höherer Werte auf als die Kinder, die mit Salbutamol behandelt wurden. Dieser Effekt könnte auf eine Verbesserung der Lungenfunktion durch die intravenöse Gabe von Salbutamol zurückzuführen sein. Andererseits zeigt sich bei der geringen Fallzahl ein signifikanter Unterschied bezüglich des Gestationsalters zwischen den beiden Studiengruppen, so dass die Unterschiede auch auf die noch unreiferen Lungen der Probanden der Kontrollgruppe und damit den intensiveren Beatmungsbedarf zurückgeführt werden können.

Kurzzeitoutcome

Im Rahmen dieser Studie wurden desweiteren mögliche Effekte durch Salbutamol auf das Kurzzeitoutcome der Probanden untersucht. Bezüglich der Entwicklung einer BPD, einer ROP, eines PDA und der Anzahl der Beatmungstage zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Studiengruppen. Die Kinder der Therapiegruppe zeigten allerdings eine signifikant niedrigere Anzahl an Aufenthaltstagen auf der Intensivstation. Bei fehlender Verblindung und der sehr kleinen Fallzahl ist dieser Unterschied allerdings mit Vorsicht zu interpretieren. Möglicherweise ist auch hier der signifikante Unterschied bezüglich des Gestationsalters zwischen den beiden Studiengruppen ursächlich. Untersuchungen über das Outcome von extrem Frühgeborenen haben allerdings gezeigt, dass ein niedrigeres Geburtsgewicht bezogen auf das jeweilige Gestationsalter mit einem erhöhten Mortalitätsrisiko einhergeht [157]. Bezüglich des Geburtsgewichts besteht kein signifikanter Unterschied zwischen den Studiengruppen.

5.5 Schlussfolgerung

Es konnte gezeigt werden, dass die Messung der transepithelialen Nasenpotentialdifferenz bei extrem kleinen Frühgeborenen mit der verwendeten Technik möglich ist. Durch die siebentägige intravenöse Gabe des β_2 -Sympathomimetikums Salbutamol bei extrem Frühgeborenen werden die basale Nasenpotentialdifferenz sowie der Amilorid-sensitive Anteil nicht signifikant vergrößert. Es ist allerdings möglich, dass die Applikation von Salbutamol einen Effekt

auf die Nasenpotentialdifferenz hat, dieser aber hier nicht nachgewiesen werden konnte. Für die Durchführung der Pilotstudie war zunächst eine Probandenanzahl von insgesamt 20 Frühgeborenen vorgesehen, die zu gleichen Teilen in der Neonatologie der Universität München sowie in der Neonatologie der Universität Ulm rekrutiert werden sollten. Bedingt durch den Wegfall der Universität Ulm zur Durchführung der Pilotstudie, war es lediglich möglich, 10 Frühgeborene in die Studie einzuschließen. Diese sehr kleine Fallzahl reichte nicht aus, um einen Unterschied für das Zielkriterium Amilorid-sensitive Nasenpotentialdifferenz nachzuweisen. Bei einem angenommenen β -Fehler von 0,20 besteht zudem eine Wahrscheinlichkeit von 20 %, dass ein in der Grundgesamtheit bestehender Unterschied in dieser Stichprobe zufällig nicht gefunden wurde. Da es sich bei der durchgeführten Studie um eine Pilotstudie handelte, die auch der Dosisfindung von intravenösem Salbutamol bei extrem Frühgeborenen und der Etablierung des Messprinzips der transepithelialen Nasenpotentialdifferenz am Perinatalzentrum Großhadern diente, ist die sehr kleine Fallzahl, die eine confirmatorische Signifikanzaussage verhindert, dennoch ethisch gerechtfertigt.

Bisher existieren keine Studien, die eine kontinuierliche intravenöse Verabreichung von Salbutamol bei extrem Frühgeborenen untersuchen, so dass Dosierung und klinisch relevante Nebenwirkungen bei Frühgeborenen unbekannt sind. Es konnte gezeigt werden, dass eine kontinuierliche Infusion des β_2 -Sympathomimetikums Salbutamol über sieben Tage bei extrem Frühgeborenen möglich ist, ohne dass wesentliche systemische Nebeneffekte beobachtet werden. Die intravenöse Applikation von Salbutamol führte lediglich zu einem reversiblen Anstieg der Herzfrequenz, wie er auch im Rahmen früherer Studien mit Salbutamol bei extrem Frühgeborenen nachgewiesen werden konnte [122, 123, 125, 126]. Auf Grund der geringen Fallzahl und der individuell unterschiedlich tolerierten Dosis (siehe Tabelle 1) ist es schwierig, die hier gefundene Salbutamoldosierung zu verallgemeinern. Sie kann allerdings als Anhaltspunkt für weitere Untersuchungen dienen.

6 Zusammenfassung

Hintergrund: Durch die Einführung neuer Techniken und Therapien in der intensivmedizinischen Versorgung von Frühgeborenen ist es möglich geworden, dass immer kleinere Frühgeborene überleben. Doch trotz Surfactant-Therapie bleiben viele Frühgeborene ateminsuffizient und entwickeln eine chronische Lungenerkrankung. Das Atemnotsyndrom des Frühgeborenen ist neben dem Mangel an Surfactant durch eine verminderte Kapazität zur Flüssigkeitsresorption des Alveolarepithels charakterisiert. Die Resorption von Flüssigkeit aus der Lunge wird von epithelialen Natriumkanälen (ENaC) induziert, welche unter anderem durch β -Sympathomimetika stimulierbar sind. Ein Maß für die Aktivität des ENaC stellt die Amplitude der Potentialdifferenzänderung des Nasenschleimhautpotentials nach Applikation des Na^+ -Kanalblockers Amilorid, die sogenannte Amilorid-sensitive Nasenpotentialdifferenz, dar.

Fragestellung: Im Rahmen dieser Pilotstudie wurde der Einfluss von intravenös appliziertem Salbutamol auf die Aktivität des ENaC, gemessen als Amilorid-sensitive Potentialdifferenz der Nasenschleimhaut, untersucht. Gleichzeitig war es Ziel dieser Studie, eine Salbutamoldosierung zu identifizieren, welche auch von extrem unreifen Frühgeborenen über eine Dauer von sieben Tagen toleriert wird. Außerdem sollte der Effekt von Salbutamol auf das Kurzzeit-Outcome der Studienkinder abgeschätzt werden.

Methodik: Zehn Frühgeborene, die mit einem Geburtsgewicht von weniger als 1000 g und einem Gestationsalter unter 29 Schwangerschaftswochen geboren wurden, wurden randomisiert mit Salbutamol oder Placebo vom 4. bis zum 11. Lebenstag behandelt. Vor Beginn der Infusion, vier Stunden nach Beginn sowie am 11. Lebenstag wurde das Ruhepotential der Nasenschleimhaut (basale PD) und die Änderung der Potentialdifferenz auf Amilorid (Δ Amilorid) bestimmt.

Ergebnisse: Die Messung der transepithelialen Nasenpotentialdifferenz sowie der Änderung der Potentialdifferenz auf die Gabe des Natriumkanalblockers Amilorid konnte keinen Effekt von Salbutamol innerhalb der Therapiegruppe und zwischen den beiden Studiengruppen nachweisen. Die Infusion von Salbutamol zeigte keinen Effekt auf Compliance, Resistance und Oxygenationsindex. Bei Infusionsende wiesen jedoch die Kinder der Therapiegruppe bei einseitiger Testung einen signifikant niedrigeren

alveolo-arteriellen-O₂-Gradienten auf verglichen zur Kontrollgruppe. Es bestand kein Unterschied zwischen den Studiengruppen bezüglich BPD, ROP, IVH, PDA, AIS und Anzahl der Beatmungstage. Die Kinder der Therapiegruppe wiesen jedoch eine signifikant niedrigere Anzahl an Intensivtagen auf, was sich jedoch durch ein signifikant höheres Gestationsalter der Kinder in der Therapiegruppe erklären könnte.

Schlussfolgerung: Unsere Daten zeigen keinen Effekt einer β -sympathomimetischen Stimulation epithelialer Natriumkanäle am respiratorischen Epithel extrem Frühgeborener. Unsere Daten stützen die Hypothese, dass diese Kinder den ENaC noch nicht in ausreichender Zahl exprimieren und stellen so eine ENaC-stimulierende Therapie mit dem Ziel die Flüssigkeitsresorption aus der Lunge zu begünstigen in Frage. Da dies die erste Studie ist, die den Effekt von intravenös appliziertem Salbutamol auf die Nasenpotentialdifferenz von extrem Frühgeborenen untersucht und diese an einem sehr kleinen Kollektiv durchgeführt wurde, werden weitere Untersuchungen notwendig sein, um die Funktion und die Regulation des ENaC und seinen Einfluss auf das Atemnotsyndrom zu verstehen.

Literaturverzeichnis

1. Friedrich, L., A.L. Corso, and M.H. Jones, *Pulmonary prognosis in preterm infants*. J Pediatr (Rio J), 2005. 81(1 Suppl): p. S79-88.
2. Bancalari, E. and T. del Moral, *Bronchopulmonary dysplasia and surfactant*. Biol Neonate, 2001. 80 Suppl 1: p. 7-13.
3. Bancalari, E., N. Claure, and I.R. Sosenko, *Bronchopulmonary dysplasia: changes in pathogenesis, epidemiology and definition*. Semin Neonatol, 2003. 8(1): p. 63-71.
4. Coalson, J.J., *Pathology of new bronchopulmonary dysplasia*. Semin Neonatol, 2003. 8(1): p. 73-81.
5. Avery, M.E. and J. Mead, *Surface properties in relation to atelectasis and hyaline membrane disease*. AMA J Dis Child, 1959. 97(5, Part 1): p. 517-23.
6. Barker, P.M., et al., *Decreased sodium ion absorption across nasal epithelium of very premature infants with respiratory distress syndrome*. J Pediatr, 1997. 130(3): p. 373-7.
7. DeSa, D.J., *Pulmonary fluid content in infants with respiratory distress*. J Pathol, 1969. 97(3): p. 469-78.
8. Adams, E.W., et al., *Magnetic resonance imaging of lung water content and distribution in term and preterm infants*. Am J Respir Crit Care Med, 2002. 166(3): p. 397-402.
9. Jobe, A.H. and E. Bancalari, *Bronchopulmonary dysplasia*. Am J Respir Crit Care Med, 2001. 163(7): p. 1723-9.
10. Bancalari, E., et al., *Bronchopulmonary dysplasia: clinical presentation*. J Pediatr, 1979. 95(5 Pt 2): p. 819-23.
11. Shennan, A.T., et al., *Abnormal pulmonary outcomes in premature infants: prediction from oxygen requirement in the neonatal period*. Pediatrics, 1988. 82(4): p. 527-32.
12. Northway, W.H., Jr., R.C. Rosan, and D.Y. Porter, *Pulmonary disease following respirator therapy of hyaline-membrane disease. Bronchopulmonary dysplasia*. N Engl J Med, 1967. 276(7): p. 357-68.
13. Taghizadeh, A. and E.O. Reynolds, *Pathogenesis of bronchopulmonary dysplasia following hyaline membrane disease*. Am J Pathol, 1976. 82(2): p. 241-64.
14. Speer, C.P., *Inflammation and bronchopulmonary dysplasia*. Semin Neonatol, 2003. 8(1): p. 29-38.

15. Groneck, P., et al., *Association of pulmonary inflammation and increased microvascular permeability during the development of bronchopulmonary dysplasia: a sequential analysis of inflammatory mediators in respiratory fluids of high-risk preterm neonates*. Pediatrics, 1994. 93(5): p. 712-8.
16. Hannaford, K., et al., *Role of ureaplasma urealyticum in lung disease of prematurity*. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed, 1999. 81(3): p. F162-7.
17. Pierce, M.R. and E. Bancalari, *The role of inflammation in the pathogenesis of bronchopulmonary dysplasia*. Pediatr Pulmonol, 1995. 19(6): p. 371-8.
18. Watterberg, K.L., et al., *Chorioamnionitis and early lung inflammation in infants in whom bronchopulmonary dysplasia develops*. Pediatrics, 1996. 97(2): p. 210-5.
19. Brown, E.R., et al., *Bronchopulmonary dysplasia: possible relationship to pulmonary edema*. J Pediatr, 1978. 92(6): p. 982-4.
20. Tammela, O.K., *Appropriate fluid regimens to prevent bronchopulmonary dysplasia*. Eur J Pediatr, 1995. 154(8 Suppl 3): p. S15-8.
21. Rojas, M.A., et al., *Changing trends in the epidemiology and pathogenesis of neonatal chronic lung disease*. J Pediatr, 1995. 126(4): p. 605-10.
22. Tyson, J.E., et al., *Vitamin A supplementation for extremely-low-birth-weight infants*. National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network. N Engl J Med, 1999. 340(25): p. 1962-8.
23. Watterberg, K.L., et al., *Prophylaxis against early adrenal insufficiency to prevent chronic lung disease in premature infants*. Pediatrics, 1999. 104(6): p. 1258-63.
24. Watterberg, K.L. and S.M. Scott, *Evidence of early adrenal insufficiency in babies who develop bronchopulmonary dysplasia*. Pediatrics, 1995. 95(1): p. 120-5.
25. Watterberg, K.L., et al., *Links between early adrenal function and respiratory outcome in preterm infants: airway inflammation and patent ductus arteriosus*. Pediatrics, 2000. 105(2): p. 320-4.
26. Hagan, R., et al., *Neonatal chronic lung disease, oxygen dependency, and a family history of asthma*. Pediatr Pulmonol, 1995. 20(5): p. 277-83.
27. Parker, R.A., D.P. Lindstrom, and R.B. Cotton, *Evidence from twin study implies possible genetic susceptibility to bronchopulmonary dysplasia*. Semin Perinatol, 1996. 20(3): p. 206-9.
28. Alcorn, D., et al., *Morphological effects of chronic tracheal ligation and drainage in the fetal lamb lung*. J Anat, 1977. 123(Pt 3): p. 649-60.

29. Moessinger, A.C., et al., *Role of lung fluid volume in growth and maturation of the fetal sheep lung*. J Clin Invest, 1990. 86(4): p. 1270-7.
30. Olver, R.E., D.V. Walters, and M.W. S, *Developmental regulation of lung liquid transport*. Annu Rev Physiol, 2004. 66: p. 77-101.
31. McCray, P.B., Jr., J.D. Bettencourt, and J. Bastacky, *Developing bronchopulmonary epithelium of the human fetus secretes fluid*. Am J Physiol, 1992. 262(3 Pt 1): p. L270-9.
32. O'Brodovich, H., *Epithelial ion transport in the fetal and perinatal lung*. Am J Physiol, 1991. 261(4 Pt 1): p. C555-64.
33. Elias, N.O.B.H., *Clearance of Fluid From Airspaces of Newborns and Infants*. NeoReviews 2006, 2006. 7: p. e88-e94.
34. Goodman, B.E., K.J. Kim, and E.D. Crandall, *Evidence for active sodium transport across alveolar epithelium of isolated rat lung*. J Appl Physiol, 1987. 62(6): p. 2460-6.
35. Goodman, B.E., R.S. Fleischer, and E.D. Crandall, *Evidence for active Na⁺ transport by cultured monolayers of pulmonary alveolar epithelial cells*. Am J Physiol, 1983. 245(1): p. C78-83.
36. Mason, R.J., et al., *Transepithelial transport by pulmonary alveolar type II cells in primary culture*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1982. 79(19): p. 6033-7.
37. Matalon, S., *Mechanisms and regulation of ion transport in adult mammalian alveolar type II pneumocytes*. Am J Physiol, 1991. 261(5 Pt 1): p. C727-38.
38. Matthay, M.A., H.G. Folkesson, and A.S. Verkman, *Salt and water transport across alveolar and distal airway epithelia in the adult lung*. Am J Physiol, 1996. 270(4 Pt 1): p. L487-503.
39. Matthay, M.A., L. Robriquet, and X. Fang, *Alveolar epithelium: role in lung fluid balance and acute lung injury*. Proc Am Thorac Soc, 2005. 2(3): p. 206-13.
40. Matthay, M.A., H.G. Folkesson, and C. Clerici, *Lung epithelial fluid transport and the resolution of pulmonary edema*. Physiol Rev, 2002. 82(3): p. 569-600.
41. Garty, H. and L.G. Palmer, *Epithelial sodium channels: function, structure, and regulation*. Physiol Rev, 1997. 77(2): p. 359-96.
42. Canessa, C.M., J.D. Horisberger, and B.C. Rossier, *Epithelial sodium channel related to proteins involved in neurodegeneration*. Nature, 1993. 361(6411): p. 467-70.
43. Canessa, C.M., et al., *Amiloride-sensitive epithelial Na⁺ channel is made of three homologous subunits*. Nature, 1994. 367(6462): p. 463-7.

44. Alvarez de la Rosa, D., et al., *Structure and regulation of amiloride-sensitive sodium channels*. Annu Rev Physiol, 2000. 62: p. 573-94.
45. McNicholas, C.M. and C.M. Canessa, *Diversity of channels generated by different combinations of epithelial sodium channel subunits*. J Gen Physiol, 1997. 109(6): p. 681-92.
46. Fyfe, G.K. and C.M. Canessa, *Subunit composition determines the single channel kinetics of the epithelial sodium channel*. J Gen Physiol, 1998. 112(4): p. 423-32.
47. McDonald, F.J., et al., *Cloning, expression, and tissue distribution of a human amiloride-sensitive Na⁺ channel*. Am J Physiol, 1994. 266(6 Pt 1): p. L728-34.
48. Goldstein, O., C. Asher, and H. Garty, *Cloning and induction by low NaCl intake of avian intestine Na⁺ channel subunits*. Am J Physiol, 1997. 272(1 Pt 1): p. C270-7.
49. Fuller, C.M., et al., *Cloning of a bovine renal epithelial Na⁺ channel subunit*. Am J Physiol, 1995. 269(3 Pt 1): p. C641-54.
50. Puoti, A., et al., *The highly selective low-conductance epithelial Na channel of Xenopus laevis A6 kidney cells*. Am J Physiol, 1995. 269(1 Pt 1): p. C188-97.
51. Farman, N., et al., *Noncoordinated expression of alpha-, beta-, and gamma-subunit mRNAs of epithelial Na⁺ channel along rat respiratory tract*. Am J Physiol, 1997. 272(1 Pt 1): p. C131-41.
52. Jain, L. and D.C. Eaton, *Physiology of fetal lung fluid clearance and the effect of labor*. Semin Perinatol, 2006. 30(1): p. 34-43.
53. Umenishi, F., et al., *Sharp increase in rat lung water channel expression in the perinatal period*. Am J Respir Cell Mol Biol, 1996. 15(5): p. 673-9.
54. Yasui, M., et al., *Perinatal changes in expression of aquaporin-4 and other water and ion transporters in rat lung*. J Physiol, 1997. 505(Pt 1): p. 3-11.
55. Song, Y., et al., *Role of aquaporins in alveolar fluid clearance in neonatal and adult lung, and in oedema formation following acute lung injury: studies in transgenic aquaporin null mice*. J Physiol, 2000. 525 Pt 3: p. 771-9.
56. Ma, T., et al., *Lung fluid transport in aquaporin-5 knockout mice*. J Clin Invest, 2000. 105(1): p. 93-100.
57. O'Brodovich, H., et al., *Amiloride impairs lung water clearance in newborn guinea pigs*. J Appl Physiol, 1990. 68(4): p. 1758-62.
58. O'Brodovich, H., V. Hannam, and B. Rafii, *Sodium channel but neither Na(+)-H⁺ nor Na-glucose symport inhibitors slow neonatal lung water clearance*. Am J Respir Cell Mol Biol, 1991. 5(4): p. 377-84.

59. Hummler, E., et al., *Early death due to defective neonatal lung liquid clearance in alpha-ENaC-deficient mice*. Nat Genet, 1996. 12(3): p. 325-8.
60. Dagenais, A., R. Kothary, and Y. Berthiaume, *The alpha subunit of the epithelial sodium channel in the mouse: developmental regulation of its expression*. Pediatr Res, 1997. 42(3): p. 327-34.
61. O'Brodovich, H., et al., *Expression of the epithelial Na⁺ channel in the developing rat lung*. Am J Physiol, 1993. 265(2 Pt 1): p. C491-6.
62. Talbot, C.L., et al., *Quantitation and localization of ENaC subunit expression in fetal, newborn, and adult mouse lung*. Am J Respir Cell Mol Biol, 1999. 20(3): p. 398-406.
63. Smith, D.E., et al., *Epithelial Na⁽⁺⁾ channel (ENaC) expression in the developing normal and abnormal human perinatal lung*. Am J Respir Crit Care Med, 2000. 161(4 Pt 1): p. 1322-31.
64. Gaillard, D., et al., *Early expression of beta- and gamma-subunits of epithelial sodium channel during human airway development*. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2000. 278(1): p. L177-84.
65. Banasikowska, K., et al., *Expression of epithelial sodium channel alpha-subunit mRNAs with alternative 5'-untranslated regions in the developing human lung*. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2004. 287(3): p. L608-15.
66. Helve, O., et al., *Expression of the epithelial sodium channel in airway epithelium of newborn infants depends on gestational age*. Pediatrics, 2007. 120(6): p. 1311-6.
67. Baines, D.L., et al., *The influence of mode of delivery, hormonal status and postnatal O₂ environment on epithelial sodium channel (ENaC) expression in perinatal guinea-pig lung*. J Physiol, 2000. 522 Pt 1: p. 147-57.
68. Venkatesh, V.C. and H.D. Katzberg, *Glucocorticoid regulation of epithelial sodium channel genes in human fetal lung*. Am J Physiol, 1997. 273(1 Pt 1): p. L227-33.
69. Barker, P.M., et al., *Synergistic action of triiodothyronine and hydrocortisone on epinephrine-induced reabsorption of fetal lung liquid*. Pediatr Res, 1990. 27(6): p. 588-91.
70. Ingbar, D.H., et al., *Developmental regulation of Na, K-ATPase in rat lung*. Am J Physiol, 1996. 270(4 Pt 1): p. L619-29.
71. Dagenais, A., et al., *Modulation of alpha-ENaC and alpha1-Na⁺-K⁺-ATPase by cAMP and dexamethasone in alveolar epithelial cells*. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2001. 281(1): p. L217-30.

72. Brown, M.J., et al., *Effects of adrenaline and of spontaneous labour on the secretion and absorption of lung liquid in the fetal lamb*. J Physiol, 1983. 344: p. 137-52.
73. Faxelius, G., et al., *Catecholamine surge and lung function after delivery*. Arch Dis Child, 1983. 58(4): p. 262-6.
74. Chen, X.J., D.C. Eaton, and L. Jain, *Beta-adrenergic regulation of amiloride-sensitive lung sodium channels*. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2002. 282(4): p. L609-20.
75. Chapman, D.L., et al., *Intrapulmonary terbutaline and aminophylline decrease lung liquid in fetal lambs*. Pediatr Res, 1991. 29(4 Pt 1): p. 357-61.
76. Walters, D.V., C.A. Ramsden, and R.E. Olver, *Dibutyryl cAMP induces a gestation-dependent absorption of fetal lung liquid*. J Appl Physiol, 1990. 68(5): p. 2054-9.
77. O'Brodovich, H., B. Rafii, and M. Post, *Bioelectric properties of fetal alveolar epithelial monolayers*. Am J Physiol, 1990. 258(4 Pt 1): p. L201-6.
78. Pitkanen, O., et al., *Increased Po₂ alters the bioelectric properties of fetal distal lung epithelium*. Am J Physiol, 1996. 270(6 Pt 1): p. L1060-6.
79. Sweezey, N., et al., *Female gender hormones regulate mRNA levels and function of the rat lung epithelial Na channel*. Am J Physiol, 1998. 274(2 Pt 1): p. C379-86.
80. Thome, U.H., et al., *Amiloride-sensitive nasal potential difference is not changed by estradiol and progesterone replacement but relates to BPD or death in a randomized trial on preterm infants*. Pediatr Res, 2006. 60(5): p. 619-23.
81. O'Brodovich, H.M., *Immature epithelial Na⁺ channel expression is one of the pathogenetic mechanisms leading to human neonatal respiratory distress syndrome*. Proc Assoc Am Physicians, 1996. 108(5): p. 345-55.
82. Pitkanen, O., *Lung epithelial ion transport in neonatal lung disease*. Biol Neonate, 2001. 80 Suppl 1: p. 14-7.
83. Helve, O., et al., *Low expression of human epithelial sodium channel in airway epithelium of preterm infants with respiratory distress*. Pediatrics, 2004. 113(5): p. 1267-72.
84. Gowen, C.W., Jr., et al., *Electrical potential difference and ion transport across nasal epithelium of term neonates: correlation with mode of delivery, transient tachypnea of the newborn, and respiratory rate*. J Pediatr, 1988. 113(1 Pt 1): p. 121-7.
85. Knowles, M.R., et al., *Measurements of nasal transepithelial electric potential differences in normal human subjects in vivo*. Am Rev Respir Dis, 1981. 124(4): p. 484-90.

86. Knowles, M., J. Gatzky, and R. Boucher, *Increased bioelectric potential difference across respiratory epithelia in cystic fibrosis*. N Engl J Med, 1981. 305(25): p. 1489-95.
87. Knowles, M., J. Gatzky, and R. Boucher, *Relative ion permeability of normal and cystic fibrosis nasal epithelium*. J Clin Invest, 1983. 71(5): p. 1410-7.
88. Quinton, P.M., *Cystic fibrosis: a disease in electrolyte transport*. FASEB J, 1990. 4(10): p. 2709-17.
89. Gowen, C.W., et al., *Increased nasal potential difference and amiloride sensitivity in neonates with cystic fibrosis*. J Pediatr, 1986. 108(4): p. 517-21.
90. Alton, E.W., et al., *Nasal potential difference: a clinical diagnostic test for cystic fibrosis*. Eur Respir J, 1990. 3(8): p. 922-6.
91. Middleton, P.G., D.M. Geddes, and E.W. Alton, *Protocols for in vivo measurement of the ion transport defects in cystic fibrosis nasal epithelium*. Eur Respir J, 1994. 7(11): p. 2050-6.
92. Charfi, M.R., et al., [*Measurement of nasal transepithelial potential difference: a diagnostic test for cystic fibrosis*]. Rev Pneumol Clin, 1996. 52(1): p. 9-13.
93. Gaillard, E.A., et al., *Employing the nasal potential difference as a diagnostic test for cystic fibrosis in neonates: potential pitfalls*. J Pediatr, 2002. 141(2): p. 295-6.
94. Sermet-Gaudelus, I., et al., *Nasal potential difference in cystic fibrosis diagnosis of very young children*. J Pediatr, 2007. 150(3): p. e34-5.
95. Hofmann, T., et al., *Effects of topically delivered benzamil and amiloride on nasal potential difference in cystic fibrosis*. Am J Respir Crit Care Med, 1998. 157(6 Pt 1): p. 1844-9.
96. Middleton, P.G., D.M. Geddes, and E.W. Alton, *Effect of amiloride and saline on nasal mucociliary clearance and potential difference in cystic fibrosis and normal subjects*. Thorax, 1993. 48(8): p. 812-6.
97. Flemmer, A., et al., *Effect of lung water content, manipulated by intratracheal furosemide, surfactant, or a mixture of both, on compliance and viscoelastic tissue forces in lung-lavaged newborn piglets*. Crit Care Med, 2000. 28(6): p. 1911-7.
98. Helve, O., et al., *Sodium transport in airway epithelium correlates with lung compliance in healthy newborn infants*. J Pediatr, 2005. 146(2): p. 273-6.
99. Karow, T., Lang-Roth, R., *Allgemeine und Spezielle Pharmakologie und Toxikologie*. 13. Auflage, 2005: p. 52.
100. Striebel, H.W., *Anästhesie Intensivmedizin Notfallmedizin*. 6. Auflage. Schattauer Verlag, Stuttgart: 2005: p. 331f.

101. Hansell, D.R., *Extracorporeal membrane oxygenation for perinatal and pediatric patients*. *Respir Care*, 2003. 48(4): p. 352-62; discussion 363-6.
102. Papile, L.A., et al., *Incidence and evolution of subependymal and intraventricular hemorrhage: a study of infants with birth weights less than 1,500 gm*. *J Pediatr*, 1978. 92(4): p. 529-34.
103. Schuler, D., et al., *Basic protocol for transepithelial nasal potential difference measurements*. *J Cyst Fibros*, 2004. 3 Suppl 2: p. 151-5.
104. Knowles, M.R., et al., *Measurements of transepithelial electric potential differences in the trachea and bronchi of human subjects in vivo*. *Am Rev Respir Dis*, 1982. 126(1): p. 108-12.
105. Ussing, H.H. and K. Zerahn, *Active transport of sodium as the source of electric current in the short-circuited isolated frog skin*. *Acta Physiol Scand*, 1951. 23(2-3): p. 110-27.
106. Boucher, R.C., Jr., P.A. Bromberg, and J.T. Gatzky, *Airway transepithelial electric potential in vivo: species and regional differences*. *J Appl Physiol*, 1980. 48(1): p. 169-76.
107. Kleyman, T.R. and E.J. Cragoe, Jr., *Amiloride and its analogs as tools in the study of ion transport*. *J Membr Biol*, 1988. 105(1): p. 1-21.
108. Kersting, U., A. Schwab, and A. Hebestreit, *Measurement of human nasal potential difference to teach the theory of transepithelial fluid transport*. *Am J Physiol*, 1998. 275(6 Pt 2): p. S72-7.
109. Leal, T., et al., *Modified method to measure nasal potential difference*. *Clin Chem Lab Med*, 2003. 41(1): p. 61-7.
110. Standaert, T.A., et al., *Standardized procedure for measurement of nasal potential difference: an outcome measure in multicenter cystic fibrosis clinical trials*. *Pediatr Pulmonol*, 2004. 37(5): p. 385-92.
111. Southern, K.W., et al., *A modified technique for measurement of nasal transepithelial potential difference in infants*. *J Pediatr*, 2001. 139(3): p. 353-8.
112. Gaillard, E.A., et al., *Electrical potential difference across the nasal epithelium is reduced in premature infants with chronic lung disease but is not associated with lower airway inflammation*. *Pediatr Res*, 2007. 61(1): p. 77-82.
113. Wedler, G., *Lehrbuch der Physikalischen Chemie*. Wiley-VCH-Verlag, 4. Auflage 1997: p. 465f.
114. Price, A.H. and S.P. Clissold, *Salbutamol in the 1980s. A reappraisal of its clinical efficacy*. *Drugs*, 1989. 38(1): p. 77-122.
115. Pandolfini, C. and M. Bonati, *A literature review on off-label drug use in children*. *Eur J Pediatr*, 2005. 164(9): p. 552-8.

116. Conner, W.T., et al., *Reliable salbutamol administration in 6- to 36-month-old children by means of a metered dose inhaler and Aerochamber with mask.* *Pediatr Pulmonol*, 1989. 6(4): p. 263-7.
117. Bentur, L., et al., *Response of acute asthma to a beta 2 agonist in children less than two years of age.* *Ann Allergy*, 1990. 65(2): p. 122-6.
118. Bentur, L., et al., *Controlled trial of nebulized albuterol in children younger than 2 years of age with acute asthma.* *Pediatrics*, 1992. 89(1): p. 133-7.
119. Sivakumar, D., E. Bosque, and S.L. Goldman, *Bronchodilator delivered by metered dose inhaler and spacer improves respiratory system compliance more than nebulizer-delivered bronchodilator in ventilated premature infants.* *Pediatr Pulmonol*, 1999. 27(3): p. 208-12.
120. Browne, G.J., et al., *Randomised trial of intravenous salbutamol in early management of acute severe asthma in children.* *Lancet*, 1997. 349(9048): p. 301-5.
121. Browne, G.J. and L.T. Lam, *Single-dose intravenous salbutamol bolus for managing children with acute severe asthma in the emergency department: Reanalysis of data.* *Pediatr Crit Care Med*, 2002. 3(2): p. 117-123.
122. Kemper, M.J., et al., *Effective treatment of acute hyperkalemia in childhood by short-term infusion of salbutamol.* *Eur J Pediatr*, 1996. 155(6): p. 495-7.
123. Dilmen, U., et al., *Salbutamol in the treatment of neonatal hyperkalemia.* *Biol Neonate*, 1992. 62(6): p. 424-6.
124. Greenough, A., et al., *Salbutamol infusion to treat neonatal hyperkalemia.* *J Perinat Med*, 1992. 20(6): p. 437-41.
125. Denjean, A., et al., *Dose-related bronchodilator response to aerosolized salbutamol (albuterol) in ventilator-dependent premature infants.* *J Pediatr*, 1992. 120(6): p. 974-9.
126. Lee, H., S. Arnon, and M. Silverman, *Bronchodilator aerosol administered by metered dose inhaler and spacer in subacute neonatal respiratory distress syndrome.* *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*, 1994. 70(3): p. F218-22.
127. Kovacs, S.J., et al., *Use of a beta-agonist in ventilated, very-low-birth-weight babies: a longitudinal evaluation.* *Dev Pharmacol Ther*, 1990. 15(2): p. 61-7.
128. Mildenerger, E. and H.T. Versmold, *Pathogenesis and therapy of non-oliguric hyperkalemia of the premature infant.* *Eur J Pediatr*, 2002. 161(8): p. 415-22.
129. Mandelberg, A., et al., *Salbutamol metered-dose inhaler with spacer for hyperkalemia: how fast? How safe?* *Chest*, 1999. 115(3): p. 617-22.

130. Winberg, P. and U. Ergander, *Relationship between heart rate, left ventricular output, and stroke volume in preterm infants during fluctuations in heart rate.* *Pediatr Res*, 1992. 31(2): p. 117-20.
131. Gullberg, N., P. Winberg, and H. Sellden, *Changes in stroke volume cause change in cardiac output in neonates and infants when mean airway pressure is altered.* *Acta Anaesthesiol Scand*, 1999. 43(10): p. 999-1004.
132. Yaseen, H., et al., *Salbutamol versus cation-exchange resin (kayexalate) for the treatment of nonoliguric hyperkalemia in preterm infants.* *Am J Perinatol*, 2008. 25(3): p. 193-7.
133. Phillips, P.J., et al., *Metabolic and cardiovascular side effects of the beta 2-adrenoceptor agonists salbutamol and rimiterol.* *Br J Clin Pharmacol*, 1980. 9(5): p. 483-91.
134. Mitanchez, D., *Glucose regulation in preterm newborn infants.* *Horm Res*, 2007. 68(6): p. 265-71.
135. Dweck, H.S. and G. Cassady, *Glucose intolerance in infants of very low birth weight. I. Incidence of hyperglycemia in infants of birth weights 1,100 grams or less.* *Pediatrics*, 1974. 53(2): p. 189-95.
136. Kao, L.S., et al., *Hyperglycemia and morbidity and mortality in extremely low birth weight infants.* *J Perinatol*, 2006. 26(12): p. 730-6.
137. Hays, S.P., E.O. Smith, and A.L. Sunehag, *Hyperglycemia is a risk factor for early death and morbidity in extremely low birth-weight infants.* *Pediatrics*, 2006. 118(5): p. 1811-8.
138. Kairamkonda, V.R. and M. Khashu, *Controversies in the management of hyperglycemia in the ELBW infant.* *Indian Pediatr*, 2008. 45(1): p. 29-38.
139. Hey, E., *Hyperglycaemia and the very preterm baby.* *Semin Fetal Neonatal Med*, 2005. 10(4): p. 377-87.
140. Jenkins, C.R. and G.E. Marlin, *The metabolic actions of intravenous salbutamol and aminophylline singly and in combination.* *Br J Clin Pharmacol*, 1981. 11(2): p. 197-201.
141. Neville, A., et al., *Metabolic effects of salbutamol: comparison of aerosol and intravenous administration.* *Br Med J*, 1977. 1(6058): p. 413-4.
142. Whyte, K.F., et al., *The mechanism of salbutamol-induced hypokalaemia.* *Br J Clin Pharmacol*, 1987. 23(1): p. 65-71.
143. Rosa, R.M., et al., *Adrenergic modulation of extrarenal potassium disposal.* *N Engl J Med*, 1980. 302(8): p. 431-4.

144. Dominiak, P., Harder, S., Paul, M., Unger, T. (Hrsg.), *Goodman & Gilman - Pharmakologische Grundlagen der Arzneimitteltherapie - Übersetzung der 9. Auflage*. McGraw-Hill, Frankfurt am Main: 1998: p 725f.
145. Rodgers, H.C. and A.J. Knox, *The effect of topical benzamil and amiloride on nasal potential difference in cystic fibrosis*. Eur Respir J, 1999. 14(3): p. 693-6.
146. Kohler, D., et al., *Inhalation of amiloride improves the mucociliary and the cough clearance in patients with cystic fibrosis*. Eur J Respir Dis Suppl, 1986. 146: p. 319-26.
147. Knowles, M.R., et al., *Abnormal respiratory epithelial ion transport in cystic fibrosis*. Clin Chest Med, 1986. 7(2): p. 285-97.
148. Knowles, M.R., et al., *Abnormal ion permeation through cystic fibrosis respiratory epithelium*. Science, 1983. 221(4615): p. 1067-70.
149. Tomkiewicz, R.P., et al., *Amiloride inhalation therapy in cystic fibrosis. Influence on ion content, hydration, and rheology of sputum*. Am Rev Respir Dis, 1993. 148(4 Pt 1): p. 1002-7.
150. Knowles, M.R., et al., *Pharmacologic treatment of abnormal ion transport in the airway epithelium in cystic fibrosis*. Chest, 1995. 107(2 Suppl): p. 71S-76S.
151. Lorin, M.I., P.F. Gaerlan, and I.D. Mandel, *Quantitative composition of nasal secretions in normal subjects*. J Lab Clin Med, 1972. 80(2): p. 275-81.
152. Quinlan, M.F., et al., *Measurement of mucociliary function in man*. Am Rev Respir Dis, 1969. 99(1): p. 13-23.
153. O'Brodovich, H., et al., *Amiloride-insensitive Na⁺ and fluid absorption in the mammalian distal lung*. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2008. 294(3): p. L401-8.
154. Folkesson, H.G., *Variations in ENaC subunit composition may determine amiloride sensitivity and beta-adrenergic stimulation of lung fluid absorption*. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2008. 294(3): p. L399-400.
155. Rieger-Fackeldey, E., D. Reinhardt, and A. Schulze, *Effects of inhaled formoterol compared with salbutamol in ventilated preterm infants*. Pulm Pharmacol Ther, 2004. 17(5): p. 293-300.
156. Dumasius, V., et al., *beta(2)-adrenergic receptor overexpression increases alveolar fluid clearance and responsiveness to endogenous catecholamines in rats*. Circ Res, 2001. 89(10): p. 907-14.
157. Lemons, J.A., et al., *Very low birth weight outcomes of the National Institute of Child health and human development neonatal research network, January 1995 through December 1996. NICHD Neonatal Research Network*. Pediatrics, 2001. 107(1): p. E1.

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Flüssigkeitssekretion des fetalen Lungenepithels	11
Abb. 2: Postnatale Flüssigkeitsabsorption des Lungenepithels.....	12
Abb. 3: Strukturformel Salbutamol	17
Abb. 4: Schematische Darstellung der Potentialdifferenz (PD) und der Ionen- Transporter des respiratorischen Epithels: a) basale PD b) Änderung der PD auf die Gabe des Natriumkanalblockers Amilorid	27
Abb. 5: Versuchsaufbau zur Messung der transepithelialen Nasenpotentialdifferenz; Nullabgleich	29
Abb. 6: Messaufbau	30
Abb. 7: Versuchsaufbau bei der Messaufzeichnung	32
Abb. 8: Einführen des Nasenkatheters	33
Abb. 9: Charakteristische Nasenpotentialveränderung während einer Messaufzeichnung	35
Abb. 10: Zeitlicher Verlauf der Nasenpotentialmessung bei einem Probanden der 24 6/7 SSW (Kontrollgruppe).....	36
Abb. 11: Gestationsalter der Studiengruppen.....	41
Abb. 12: Salbutamol-Einschwemmphase (Proband 1).....	44
Abb. 13: Salbutamol-Einschwemmphase (Proband 3).....	44
Abb. 14: Herzfrequenzverlauf Lebenstag 4 bis 11 in beiden Behandlungsgruppen	45
Abb. 15: Kalium-Haushalt Lebenstag 4 bis 11 in beiden Behandlungsgruppen.....	47
Abb. 16: Glukose-Stoffwechsel Lebenstag 4 bis 11 in beiden Behandlungsgruppen....	48
Abb. 17: Amilorid-sensitive Nasenpotentialdifferenz (Δ Amilorid = Änderung der Potentialdifferenz auf die Gabe von Amilorid)	49
Abb. 18: Basale Nasenpotentialdifferenz (Basale PD).....	51
Abb. 19: Compliance Lebenstag 4 bis 11 in beiden Behandlungsgruppen.....	55
Abb. 20: Resistance Lebenstag 4 bis 11 in beiden Behandlungsgruppen	55
Abb. 21: Oxygenationsindex (OI)	56
Abb. 22: Alveolo-arterielle Sauerstoffpartialdruckdifferenz ($AaDO_2$)	57

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Demographische Daten	40
Tabelle 2: Salbutamoldosis.....	42
Tabelle 3: Amilorid-sensitive Nasenpotentialdifferenz (mV), Kontrollgruppe	49
Tabelle 4: Amilorid-sensitive Nasenpotentialdifferenz (mV), Therapiegruppe.....	50
Tabelle 5: Basale PD (mV), Kontrollgruppe	52
Tabelle 6: Basale PD (mV), Therapiegruppe	52
Tabelle 7: Amilorid-sensitiver Anteil der Nasenpotentialdifferenz in %, Kontrollgruppe	53
Tabelle 8: Amilorid-sensitiver Anteil der Nasenpotentialdifferenz in %, Therapiegruppe	54
Tabelle 9: Aufenthalts- und Beatmungsdauer	58
Tabelle 10: Häufigkeit einer bronchopulmonalen Dysplasie (BPD).....	59

Anhang

Elternaufklärung und Zustimmungserklärung

Elternaufklärung und Zustimmungserklärung

Titel der Studie: Weniger Lungenwasser durch Salbutamol - Pilotstudie

Liebe Eltern,

während der Schwangerschaft ist die Lunge eines jeden Kindes mit Fruchtwasser gefüllt. Die Lunge produziert diese Fruchtwasser sogar selbst, damit sie ausreichend wachsen kann. Da Ihr Kind vor der Geburt über die Nabelschnur mit Nährstoffen und Sauerstoff versorgt wird, ist die Lunge zu diesem Zeitpunkt für den Gasaustausch nicht erforderlich. Nach der Geburt aber ist sie für die Sauerstoffversorgung Ihres Kindes dringend notwendig. Deshalb muss das Wasser dann rasch aus der Lunge abgepumpt werden. Millionen winzig kleiner Pumpen befördern es aus der Lunge in den Blutkreislauf. Von dort gelangt es in die Nieren und wird mit dem Urin ausgeschieden.

Wird Ihr Kind zu früh geboren, so ist es auf ein Leben außerhalb des Mutterleibes noch nicht richtig vorbereitet. Alle Organe sind noch unreif, auch die Lunge. Daher ist die Lunge viel weniger gut in der Lage, das Wasser abzupumpen. Von der Natur ist das ja zu diesem frühen Zeitpunkt auch noch gar nicht vorgesehen. Deshalb haben Frühgeborene erwiesenermaßen mehr Wasser in der Lunge als Reifgeborene, was ihnen die Atmung erschwert. Trotz aller unserer Bemühungen mit Lungenreifetherapie vor der Geburt und des Einsatzes von Surfactant, einem Medikament, welches hilft, die Lunge zu entfalten, können viele Frühgeborene zunächst nicht allein atmen und brauchen die Hilfe einer Maschine.

Neuere Forschungsergebnisse deuten darauf hin, dass bestimmte Medikamente, z.B. Salbutamol, die bisher nur zur Behandlung des Asthma eingesetzt wurden, die Lunge veranlassen können, das Wasser schneller und wirksamer abzupumpen. Dadurch könnte sich die Lungenfunktion deutlich verbessern, so dass die Frühgeborenen schneller von der Beatmungsmaschine wegkommen und alleine atmen.

Wir möchten in dieser Studie untersuchen, ob und in welchem Ausmaß Salbutamol den **Wassertransport** aus der Lunge steigert und den **Wassergehalt** der Lunge verringert sowie die Auswirkungen eine Salbutamol-Infusion auf die **Elastizität der Lunge** hat. Außerdem wollen wir die optimale Dosierung für diesen Zweck ermitteln.

Falls Ihr Kind an dieser Studie teilnimmt, wird es zufällig einer von zwei Gruppen zugewiesen:

1. Ihr Kind erhält Salbutamol kontinuierlich während der ersten 7 Lebenstage.
2. Ihr Kind erhält kein Salbutamol, stattdessen wird ein „Scheinmedikament“ gegeben (Placebo).

Salbutamol wird seit vielen Jahren zur Behandlung von Asthma bei Kindern und Erwachsenen eingesetzt und ist gut verträglich. Alle bekannten Nebenwirkungen bestehen nur so lange, wie das Medikament gegeben wird, und verschwinden nach dem Absetzen rasch. Hauptsächlich kann eine Beschleunigung des Herzschlages auftreten. Die Herzfrequenz wird aber bei allen Frühgeborenen kontinuierlich überwacht; falls sie zu schnell werden sollte, wird die Dosis des Salbutamols reduziert.

Die Messung des *Wassertransportes* erfolgt in der Nase, da diese leichter zugänglich ist als die Lunge. Hierfür wird ein dünner Katheter etwa 1-2 cm tief in die Nase eingeführt. Durch den Katheter fließt langsam eine Lösung, die genau soviel Salze enthält wie die körpereigene Flüssigkeit. Über den Katheter messen wir die elektrische Spannung der Nasenschleimhaut. Die Messung verursacht keine Schmerzen, hat keine Nebenwirkungen und dauert etwa ½ Stunde. Sie wird jeweils am 2.-3. und 6.-7. Lebenstag durchgeführt.

Die Messung des *Lungenwassergehaltes* erfolgt über den elektrischen Widerstand im Brustkorb. Mit dieser Methode wird ohnehin bei allen Frühgeborenen die Atemtätigkeit überwacht. Um genau genug messen zu können, müssen wir lediglich mehr Elektroden auf den Brustkorb kleben (8 anstelle von 3). Die Messung verursacht keine Schmerzen, hat keine Nebenwirkungen und wird während der ersten 4 Stunden der Salbutamol-Infusion, und noch einmal am 6.-7. Lebenstag durchgeführt.

Die *Elastizität der Lunge* bestimmen wir mit Hilfe des Beatmungsgerätes, das ihr Kind für den Gasaustausch benötigt.

Im *Urin und Blut* Ihres Kinds wird während der Studie darüber hinaus die Ausscheidung von Salzen bestimmt, ohne dass wir zusätzlich zur normalen Routine Blutproben entnehmen werden. Durch die Teilnahme an dieser Untersuchung wird Ihrem Kind keine andere, übliche Therapie vorenthalten.

FREIWILLIGKEIT

Die Teilnahme an diesem Forschungsprojekt ist freiwillig. Ihr Einverständnis kann jederzeit und ohne Angabe von Gründen widerrufen werden. Dieser eventuelle Widerruf hat keine Auswirkungen auf die weitere medizinische Behandlung bzw. Betreuung Ihres Kindes.

VERSICHERUNG:

Da es sich bei dieser Untersuchung um eine Arzneimittelprüfung laut Arzneimittelgesetz handelt, wurde für Ihr Kind eine Versicherung abgeschlossen, mit einer Deckungssumme von 500,000.- €.

Die Versicherungsscheinnummer lautet: 70-5627793-0, Anmelde­nummer 1302200407, beim Gerling Versicherungskonzern.

ERREICHBARKEIT DES PRÜFARZTES:

Der Prüfarzt der Studie ist Oberarzt **Dr. Andreas W. Flemmer**.

Sollten während des Verlaufes des Forschungsprojektes Fragen auftauchen, so können Sie jederzeit die Ansprechpartner Dr. A.W. Flemmer oder den diensthabenden Arzt unter den Telefonnummern:

089-7095-2807, 089-7095-2808 oder 089-7095-2803 erreichen.

In Notfällen gilt folgende Nummer: 0172-8365023

SCHWEIGEPFLICHT/DATENSCHUTZ:

Alle Personen, welche Ihr Kind im Rahmen dieses Forschungsprojekts betreuen, unterliegen der ärztlichen Schweigepflicht und sind auf das Datengeheimnis verpflichtet.

Die studienbezogenen Untersuchungsergebnisse werden in der Krankenakte festgehalten. Sie sollen in anonymisierter Form in wissenschaftlichen Veröffentlichungen verwendet werden.

Soweit es zur Kontrolle der korrekten Datenerhebung erforderlich ist, dürfen autorisierte Personen (z.B.: des Auftraggebers, der Universität) Einsicht in die studienrelevanten Teile der Krankenakte nehmen.

Sofern zur Einsichtnahme autorisierte Personen nicht der obengenannten ärztlichen Schweigepflicht unterliegen, stellen personenbezogene Daten, von denen sie bei der Kontrolle Kenntnis erlangen, Betriebsgeheimnisse dar, die geheim zu halten sind.

Datum

**Name des/der aufklärenden
Arztes/Ärztin**

Elterneinwilligung:

Inhalt, Vorgehensweise, Risiken und Ziel des obengenannten Forschungsprojektes sowie die Befugnis zur Einsichtnahme in die erhobenen Daten hat mir / uns Dr.
ausreichend erklärt.

Ich/Wir hatte(n) Gelegenheit Fragen zu stellen und habe(n) hierauf Antwort erhalten.

Ich/Wir hatte(n) ausreichend Zeit, mich/uns für oder gegen die Teilnahme meines / unseres Kindes am Projekt zu entscheiden.

Eine Kopie der Elterninformation und Einwilligungserklärung habe(n) ich/wir erhalten.

Ich/Wir willigen in die Teilnahme unseres Kindes an diesem Forschungsprojekt ein.

.....

(Name des Kindes)

.....

(Unterschrift des Vaters)

.....

Ort, Datum

.....

(Unterschrift der Mutter)

INFORMATION UND EINWILLIGUNGSERKLÄRUNG ZUM DATENSCHUTZ

Bei wissenschaftlichen Studien werden persönliche Daten und medizinische Befunde über Ihr Kind erhoben. Die Speicherung, Auswertung und Weitergabe dieser studienbezogenen Daten erfolgt nach gesetzlichen Bestimmungen und setzt vor Teilnahme an der Studie folgende freiwillige Einwilligung voraus:

1. Ich / Wir erkläre(n) mich / uns damit einverstanden, dass im Rahmen dieser Studie erhobene Daten / Krankheitsdaten meines / unseres Kindes auf Fragebögen und elektronischen Datenträgern aufgezeichnet und ohne Namensnennung verarbeitet werden.
2. Außerdem erkläre(n) ich/wir mich/uns damit einverstanden, dass eine autorisierte und zur Verschwiegenheit verpflichtete Person (z.B.: des Auftraggebers, der Universität) in die erhobenen personenbezogenen Daten meines / unseres Kindes Einsicht nimmt, soweit dies für die Überprüfung des Projektes notwendig ist. Für diese Maßnahme entbinde(n) ich / wir den Arzt von der ärztlichen Schweigepflicht.

Ort, Datum

(Unterschrift des Vaters)

(Unterschrift der Mutter)

Ort, Datum

(Unterschrift des aufklärenden Arztes)

(Vorname, Name des
aufklärenden Arztes)

Gewichtsklasse		501-600	Rechengewicht		550,00	HF-Grenze:									
Name															
Randomisierung															
Uhrzeit	Sollzeit [min]	Konz [mg/ml]	Infusion [ml/h]	Dosis [μ g/kg/min]	Herzfreq	MAD_blut	MAD_RR	Crs	Rrs	RP	NPD	EIT	EIT_Diff		
2h Mittel -->		-->	0,00	0,00											
	0	0,02	0,20	0,12											
	15		0,30	0,18											
	30		0,40	0,24											
			0,50	0,30											
			0,60	0,36											
	45	0,05	0,20	0,30											
	60		0,30	0,45											
	75		0,40	0,61											
	90		0,50	0,76											
			0,70	1,06											
			0,90	1,36											
			1,20	1,82											
			1,60	2,42											
			2,20	3,33											
		0,10	0,20	0,61											
	105		0,30	0,91											
	120		0,40	1,21											
	135		0,50	1,52											
			0,70	2,12											
			0,90	2,73											
			1,20	3,64											
		0,20	0,20	1,21											
	150		0,30	1,82											
	165		0,40	2,42											
	180		0,50	3,03											
	195		0,60	3,64											
	210		0,70	4,24											

Gewichtsklasse		601-700	Rechengewicht		650,00	HF-Grenze:							
Name													
Randomisierung													
Uhrzeit	Sollzeit [min]	Konz [mg/ml]	Infusion [ml/h]	Dosis [μ g/kg/min]	Herzfreq	MAD_blut	MAD_RR	Crs	Rrs	RP	NPD	EIT	EIT_Diff
	2h Mittel -->	-->	0,00	0,00									
	0	0,02	0,20	0,10									
	15		0,30	0,15									
	30		0,40	0,21									
			0,60	0,31									
			0,70	0,36									
	45	0,05	0,20	0,26									
	60		0,30	0,38									
	75		0,40	0,51									
	90		0,50	0,64									
			0,70	0,90									
			0,90	1,15									
			1,20	1,54									
			1,60	2,05									
			2,20	2,82									
		0,10	0,20	0,51									
	105		0,30	0,77									
	120		0,40	1,03									
	135		0,50	1,28									
			0,70	1,79									
			0,90	2,31									
			1,20	3,08									
		0,20	0,20	1,03									
	150		0,30	1,54									
	165		0,40	2,05									
	180		0,50	2,56									
	195		0,60	3,08									
	210		0,70	3,59									

Gewichtsklasse		701-800	Rechengewicht		750,00	HF-Grenze:									
Name															
Randomisierung															
Uhrzeit	Sollzeit [min]	Konz [mg/ml]	Infusion [ml/h]	Dosis [μ g/kg/min]	Herzfreq	MAD_blut	MAD_RR	Crs	Rrs	RP	NPD	EIT	EIT_Diff		
	2h Mittel -->	-->	0,00	0,00											
		0,02	0,20	0,09											
	0		0,30	0,13											
	15		0,40	0,18											
	30		0,60	0,27											
			0,70	0,31											
		0,05	0,20	0,22											
	45		0,30	0,33											
	60		0,40	0,44											
	75		0,50	0,56											
			0,70	0,78											
			0,90	1,00											
			1,20	1,33											
			1,60	1,78											
			2,20	2,44											
		0,10	0,20	0,44											
	90		0,30	0,67											
	105		0,40	0,89											
	120		0,50	1,11											
			0,70	1,56											
			0,90	2,00											
			1,20	2,67											
		0,20	0,20	0,89											
	135		0,30	1,33											
	150		0,40	1,78											
	165		0,50	2,22											
	180		0,60	2,67											
	195		0,70	3,11											

Gewichtsklasse		801-900	Rechengewicht		850,00	HF-Grenze:									
Name															
Randomisierung															
Uhrzeit	Sollzeit [min]	Konz [mg/ml]	Infusion [ml/h]	Dosis [μ g/kg/min]	Herzfrequenz	MAD_blut	MAD_RR	Crs	Rrs	RP	NPD	EIT	EIT_Diff		
2h Mittel -->		-->	0,00	0,00											
		0,02	0,20	0,08											
			0,30	0,12											
	0		0,40	0,16											
	15		0,50	0,20											
			0,70	0,27											
		0,05	0,20	0,20											
	30		0,30	0,29											
	45		0,40	0,39											
	60		0,50	0,49											
			0,70	0,69											
			0,90	0,88											
			1,20	1,18											
			1,60	1,57											
			2,20	2,16											
		0,10	0,20	0,39											
	75		0,30	0,59											
	90		0,40	0,78											
	105		0,50	0,98											
			0,70	1,37											
			0,90	1,76											
			1,20	2,35											
		0,20	0,20	0,78											
	120		0,30	1,18											
	135		0,40	1,57											
	150		0,50	1,96											
	165		0,60	2,35											
	180		0,70	2,75											

Gewichtsklasse		901-1000	Rechengewicht		950,00	HF-Grenze:									
Name															
Randomisierung															
Uhrzeit	Sollzeit [min]	Konz [mg/ml]	Infusion [ml/h]	Dosis [μ g/kg/min]	Herzfreq	MAD_blut	MAD_RR	Crs	Rrs	RP	NPD	EIT	EIT_Diff		
	2h Mittel -->	-->	0,00	0,00											
		0,02	0,20	0,07											
			0,30	0,11											
	0		0,40	0,14											
	15		0,50	0,18											
			0,70	0,25											
		0,05	0,20	0,18											
	30		0,30	0,26											
	45		0,40	0,35											
	60		0,50	0,44											
			0,70	0,61											
			0,90	0,79											
			1,20	1,05											
			1,60	1,40											
			2,20	1,93											
		0,10	0,20	0,35											
	75		0,30	0,53											
	90		0,40	0,70											
	105		0,50	0,88											
			0,70	1,23											
			0,90	1,58											
			1,20	2,11											
		0,20	0,20	0,70											
	120		0,30	1,05											
	135		0,40	1,40											
	150		0,50	1,75											
	165		0,60	2,11											
	180		0,70	2,46											

Danksagung

Mein ganz besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Herrn PD Dr. med. Andreas Flemmer für die Überlassung des Themas, seine stetige Unterstützung und Beratung bei der Durchführung der Messungen, seine Hilfsbereitschaft, Geduld und Motivation, ohne die ein Gelingen dieser Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Ich danke Herrn Prof. Dr. med. Andreas Schulze, dem Leiter der neonatologischen Intensivstation am Perinatalzentrum Großhadern für die Möglichkeit zur Durchführung der Studie, sowie dem Pflegepersonal der Intensivstation für ihr Entgegenkommen und ihre Unterstützung.

Bedanken möchte ich mich auch bei meinem Betreuer Dr. med. Mathias Klemme und meinem Mitdoktoranden Moritz Kuscha, durch deren Unterstützung die Durchführung der Messungen neben Arbeit auch viel Freude bereitete.

Ein besonderer Dank gilt den Eltern der kleinen Studienpatienten, die durch ihr Entgegenkommen und Vertrauen das Zustandekommen dieser Studie erst möglich gemacht haben.

Ich danke meinem Verlobten für seine Unterstützung, seine Geduld und seine Ermutigung während der Anfertigung dieser Arbeit und darüber hinaus.

Mein größter Dank gilt meinen Eltern, die mir meine Ausbildung und damit nicht zuletzt die Teilnahme an dieser Studie ermöglicht haben. Ihnen widme ich diese Arbeit.

Publikationen

Abstracts:

Flemmer, A.W., Raithel, E., Kuscha, M., Klemme, M., Schulze, A., Thome U.H.
Intravenöses Salbutamol bei Frühgeborenen unter 1000g, Ergebnisse einer Pilotstudie.
Zeitschrift für Geburtshilfe und Neonatologie, 2007. 211 (S1): p. 35

Kuscha, M., Raithel, E., Klemme, M., Schulze, A., Thome, U.H., Flemmer, A.W. *Der Effekt von Salbutamol auf die elektrische Impedanz der Lunge extrem Frühgeborener.*
Zeitschrift für Geburtshilfe und Neonatologie, 2007. 211 (S1): p. 35

Raithel, E., Kuscha, M., Klemme, M., Schulze, A., Thome, U.H., Flemmer, A.W. *Der Effekt von intravenös appliziertem Salbutamol auf die Aktivität des epithelialen Natriumkanals, gemessen als amiloridabhängiges Nasenpotential.* Zeitschrift für Geburtshilfe und Neonatologie, 2007. 211 (S1): p. 28