

Aus der Klinik für Neonatologie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Untersuchungen zur physiologischen Leitfähigkeit des Schweißes bei Frühgeborenen in der ersten Lebenswoche

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Martin Sommer

aus Leipzig

Gutachter/in: 1. Prof. Dr. med. R. Wauer
 2. Prof. Dr. med. A. Schuster
 3. Prof. Dr. med. K. P. Paul

Datum der Promotion: 09.09.2011

Zusammenfassung

Schweißtests zur Diagnosestellung einer Cystischen Fibrose sind nicht immer einfach durchzuführen, besonders nicht an Frühgeborenen. Der Grund dafür liegt in der geringeren Schweißproduktion. Die Schweißchloridkonzentrationsbestimmung ist nach wie vor der Goldstandard zur Diagnosesicherung. Die klassische Schweißanalyse erfordert allerdings Mindest-Schweißmengen von 75 mg (QPIT) bzw. 15 µl (Macroduct®). Mit dem neuen Nanoduct®-Schweißanalysesystem kann die Schweißleitfähigkeit mit nur 3 µl innerhalb von 30 Minuten bestimmt werden. Dies stellt einen großen Vorteil in der Durchführung eines Schweißtests an Frühgeborenen dar. Die Aufgabe dieser Studie war die Praktikabilität dieses Systems an gesunden Frühgeborenen zu evaluieren und Empfehlungen hinsichtlich der Anwendbarkeit in Screeningprogrammen zu liefern. Dabei wurden verschiedene Parameter (Geburtsgewicht, Lebensalter, Gestationsalter, Geschlecht) untersucht, die Einfluss auf die Durchführbarkeit des Schweißtests, die ermittelte Schweißrate und die Höhe der gemessenen Schweißleitfähigkeit haben könnten.

An insgesamt 81 Frühgeborenen (GA von 33 - 36 SSW) kaukasischer Rasse wurde zwischen dem dritten und siebten Lebensalter ein Schweißtest mittels Nanoduct® durchgeführt. Die Kriterien für einen erfolgreichen Test waren eine Schweißrate von $\geq 1 \text{ g/m}^2/\text{min}$. Lag die mittlere Leitfähigkeit über dem Grenzwert von 60 mmol/L (NaCl-Äquivalente), wurde der Test am selben Tag wiederholt. Bei lediglich 38 Probanden (47 %) konnte der Schweißtest erfolgreich durchgeführt werden. Die anderen Schweißtests ergaben auch bei wiederholter Messung (maximal zwei Mal pro Proband am selben Tag) entweder kein Ergebnis oder waren aufgrund einer unzureichenden Schweißrate ungültig. Der Testerfolg war signifikant abhängig vom Geburtsgewicht ($p = 0,025$) mit einer Fehlerquote von 50 % in der Gruppe $< 3000 \text{ g} - 2500 \text{ g}$ und lediglich 16,7 % bei einem Geburtsgewicht $\geq 3000 \text{ g}$. Das Gestationsalter, das Geschlecht und das Lebensalter hatten keinen Einfluss auf den Testerfolg. Es bestand ebenso kein Zusammenhang zwischen Geburtsgewicht, Gestationsalter, Geschlecht und Lebensalter und der ermittelten Schweißrate (Median $1,7 \text{ g/m}^2/\text{min}$) bzw. der Leitfähigkeit (Median $38,5 \text{ mmol/L}$). Die Höhe der Leitfähigkeit entspricht den publizierten Werten der vorangegangenen Studien. Die Schweißrate hingegen liegt unter den bisher ermittelten Schweißraten.

Die vorliegende Studie zeigt, dass mit dem Nanoduct®-Schweißanalysesystem zuverlässige Ergebnisse erzielt werden können. Aufgrund der hohen Fehlerrate des Schweißtests bei Frühgeborenen ist die Methode, trotz der geringen benötigten Schweißmenge, zum Screening nicht geeignet. Der Grund hierfür liegt in der besonderen Hautphysiologie von Frühgeborenen, welche zu einer unzureichenden Schweißproduktion führt.

Schlagwörter:

Cystische Fibrose, Schweißtest, Leitfähigkeit, Frühgeburtlichkeit, Pilocarpin-Iontophorese, Schweißdrüse, Haut, Schwitzen, Hautphysiologie

Abstract

In diagnosing cystic fibrosis, sweat tests are not always easy to perform, especially on premature new-borns. The reason for this is the low sweat level. The Determination of chloride concentration in sweat is, as always, the gold standard for the diagnosis control. The classical sweat analysis requires however, a minimum sweat amount of 75 mg (QPIT) or 15 μ l (Macroduct®). With the new Nanoduct®-Analysis System, sweat conductivity is able to be determined with as little as 3 μ l within 30 minutes. This is a certain advantage when performing the sweat test on premature newborns. The object of this study was to evaluate the practicality of this system on healthy premature new-borns, and to give recommendations as to the usability in screening programs. Various parameters were looked at (birth weight, age, gestational age, sex) that may have an effect on; the performability of the sweat tests, the determinable sweat rates and the amount of the measured sweat conductivity.

Nanoduct®-sweat test was performed on a total of 81 premature newborns (GA of 33 – 36 gestation weeks), of White Caucasian race, between three and seven days old. The criteria for a successful test were a sweat rate of ≥ 1 g/m²/min. If the mean conductivity was over the amount of 60 mmol/L (NaCl-Equivalent) then the test was re-performed on the same day. In only 38 subjects (47%), could the sweat test be performed successfully. The results of the other sweat tests, even with repeated testing (maximum 2 tests per subject per day), were either without result or were unusable due to an insufficient amount/rate of produced sweat. The success of the tests was significantly related to the birth weight ($p = 0,025$) with an error rate of 50% in the group < 3000 g – 2500g and merely 16,7% with those of a birth weight of ≥ 3000 g. The gestational age, the sex and age had no measurable influence on the success of the tests. Further, there was no measurable correlation between birth weight, gestational age, sex and age on the results of the perspiration rate (Median 1,7 g/m²/min) or the conductivity (Median 38,5 mmol/L). The amount of the conductance correlates to the published results of previous studies. Controversially, the sweat rate results were less than the rates that have been measured until now.

This study shows that reliable results can be achieved with the Nanoduct®-Sweat Analysis System. Due to the high rate of failure of the tests on premature newborns: This method is not suitable for screening, regardless of the low amount of required

sweat needed to perform the test. The reason for this lies in the specific skin physiology of premature newborns that leads to an insufficient amount of sweat production.

Keywords:

cystic fibrosis, sweat tests, conductance, premature birth, pilocarpin iontophoresis, sweat gland, skin, sweat, skin physiology

Abkürzungsverzeichnis

ACB	Association of Clinical Biochemists
CAP	College of American Pathology Laboratory
CF	Cystische Fibrose
CFF	Cystic Fibrosis Foundation
CFTR	Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator
ECFS	European Cystic Fibrosis Society
GA	Gestationsalter
NCCLS	National Committee for Clinical Laboratory Standards
QPIT	Quantitativer Pilocarpin-Iontophorese Test
SSW	Schwangerschaftswochen
UK	United Kingdom, Vereinigtes Königreich
USA	United States of America, Vereinigte Staaten von Amerika

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG	10
1.1	Mukoviszidose: Historisches	10
1.2	Pathophysiologie	11
1.2.1	Pathophysiologie: Allgemeines	11
1.2.2	Pathophysiologie der Schweißdrüse und klinische Auswirkung	12
1.3	Schweißtest	14
1.3.1	Stand der Technik	14
1.3.2	Chloridbestimmung	16
1.3.3	Leitfähigkeit	17
1.3.4	Nanoduct®-Schweißanalysesystem	18
1.3.5	Probleme der Schweißtestmethode	18
1.4	Hautphysiologie	20
1.4.1	Hautphysiologie beim Frühgeborenen	20
1.4.2	Schwitzen beim Frühgeborenen	22
1.5	Aufgabenstellung	23
2	MATERIAL UND METHODEN	24
2.1	Patientenkollektiv, Ein- und Ausschlusskriterien	24
2.2	Untersuchungsmethode	25
2.2.1	Verwendetes Schweißanalysesystem	25
2.2.2	Durchführung der Schweißtests	28
2.2.3	Bewertung des Schweißtests	29
2.2.4	Statistik	30
3	ERGEBNISSE	31
3.1	Testerfolg	31
3.2	Schweißrate	35
3.3	Leitfähigkeit	37

4	DISKUSSION	39
4.1	Testerfolg und Schweißrate in Abhängigkeit zur Hautphysiologie eines Frühgeborenen	39
4.2	Leitfähigkeit	48
4.2.1	Leitfähigkeit: Allgemeines	48
4.2.2	Leitfähigkeit als diagnostisches Mittel	52
4.3	Verträglichkeit	55
5	ZUSAMMENFASSUNG	56

1 Einleitung

1.1 Mukoviszidose: Historisches

Die Mukoviszidose oder Cystische Fibrose ist eine Erkrankung durch eine Fehlfunktion des sekretorischen Epithels aller exkretorischen Drüsen. Sie ist mit einer Inzidenz von 1:2500 - 3500 die häufigste angeborene und frühletale autosomal rezessiv vererbte Stoffwechselerkrankung der weißen Rasse (1). Derzeit sind in Deutschland circa 8000 Menschen betroffen (2). Die Prävalenz der Erkrankung ist hierbei großen regionalen Schwankungen unterworfen und beträgt beispielsweise in Irland 1:2000, in Japan hingegen 1:500.000 (3, 4). Mutationsfrequenzanalysen lassen erkennen, dass die Mukoviszidose eine sehr alte Krankheit ist. Anekdotische Schilderungen einzelner CF-typischer Symptome werden bereits aus dem Mittelalter überliefert. Aus dieser Zeit stammt auch die sinngemäße mittelalterliche Weisheit; „Wehe ein Kind schmeckt salzig, wenn man es auf die Stirn küsst, es ist verhext und muss bald sterben“. Diese aus dem europäischen Raum stammende Überlieferung belegt, dass ein typisches Symptom der Mukoviszidose, nämlich der hohe Salzgehalt des Schweißes, bekannt und gefürchtet war (5, 6). Jedoch erst im 20. Jahrhundert wurde die Mukoviszidose als eigenständige Krankheit beschrieben und definiert. Der Schweizer Kinderarzt Fanconi präsentierte dem medizinischen Kollegium erstmals im Jahre 1936 eine klinische Beschreibung des „Coeliakiesyndroms bei angeborener zystischer Pankreasfibromatose und Bronchiektasien“ (83). Im Jahre 1938 veröffentlichte die amerikanische Pathologin Dorothy Anderson Autopsieergebnisse an Kindern, die offensichtlich an einer Destruktion des Pankreas und Infektionen mit Zerstörung des Lungengewebes starben und gab dem Krankheitsbild seinen bis heute gebräuchlichen Namen: „zystische Pankreasfibrose“ (7). Aufgrund der von Faber 1945 beschriebenen generalisierten Eindickung der Sekrete wird in Deutschland und in einigen anderen europäischen Ländern der allgemeine Name „Mukoviszidose“ verwendet (84). Der Kinderarzt Di Sant' Agnese beschrieb 1953 den hohen Natriumchloridgehalt des Schweißes bei Patienten mit Cystischer Fibrose (CF) und legte damit den Grundstein für den Goldstandard der CF-Diagnostik, den Schweißtest mittels Pilocarpin-induzierter Iontophorese nach Gibson und Cooke (8, 9).

1.2 Pathophysiologie

1.2.1 Pathophysiologie: Allgemeines

Die Ursache der Mukoviszidose wurde 1989 von Collins, Riordan, Tsui et al. identifiziert (10, 11, 12). Sie besteht in der Mutation eines 230 Kilobasenpaare großem Gen mit dem Namen „Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator“ (CFTR-Gen), welches auf dem langen Arm des Chromosom 7 (7q31.2) lokalisiert ist. Es kodiert ein aus 1480 Aminosäuren bestehendes Protein, das die Funktion eines Chloridionenkanals in den apikalen Membranen des Epithels besitzt. Mit der Entdeckung des CFTR-Genes wurde die Grundlage für die heutige molekularbiologische Diagnostik der Mutationsanalyse geschaffen. Bislang sind über 1600 Mutationen dieses Gens und 200 Polymorphismen beschrieben worden (13, 14, 15). Die von den CFTR-Mutationen ausgelösten Störungen werden in sechs Klassen eingeteilt. In Klasse I werden Mutationen zusammengefasst, bei denen die Synthese von CFTR-Protein fehlt und oder gestört ist. Klasse-II-Mutanten sind in Reifung und intrazellulärem Transport des CFTR-Proteins gestört. Bei Klasse III ist die Regulation des CFTR-Ionenkanals defekt und bei Klasse IV die Kanalleitfähigkeit verändert. Klasse-V-Mutationen umfassen Störungen, bei denen noch geringe Mengen an normalen CFTR-Proteinen gebildet werden mit teilweise fehlerhafter Produktion oder Funktion des CFTR-Proteins. Bei Klasse-VI-Mutanten verlaufen die Synthese und Prozessierung von CFTR regelrecht. Das gebildete Protein ist aber instabil und wird schneller an der Zellmembran abgebaut (13, 15, 16). Die weltweit häufigste vorkommende Mutation besteht in der fehlenden Kodierung für Phenylalanin an Position 508 (deltaF508) (16). Die Mutation am CFTR-Gen führt zu einem gestörten Ionen- und Wassertransport an der Apikalmembran der Epithelzelle. Hieraus resultiert die Anreicherung von hochviskösem Sekret in Epithelien und exokrinen Drüsen. Die Cystische Fibrose führt zu pathologischen Veränderungen in CFTR-exprimierenden Organen, wie den sezernierenden Zellen der Nasennebenhöhlen, der Lunge, des Pankreas, der Leber sowie der Reproduktionsorgane. Die meisten Veränderungen werden in den Atemwegen beobachtet (16). Die aktuellen molekulargenetischen Forschungen zeigen bei den interindividuell sehr heterogenen pulmonalen Verläufen der Erkrankung eine Abhängigkeit nicht nur von dem CFTR-Genotyp, sondern auch von so genannten „modifier genes“. Hier wird davon ausgegangen, dass diese bestimmten Genregionen den klinischen Phänotyp einer CF-Erkrankung beeinflussen (17, 18, 19,

85). Seit der Entdeckung des CFTR-Genes 1989 schritt die Aufklärung der molekularen und zellulären Pathophysiologie der CF voran. Die mediane Überlebensrate liegt seit der Jahrtausendwende bei circa 32 - 37 Jahren (19). Mehr als 40 % der derzeit Erkrankten sind älter als 18 Jahre (20, 21). Die deutliche Erhöhung der Lebenserwartung und drastischen Verbesserungen in der Lebensqualität sind hauptsächlich auf die heutige aggressive Behandlung der Erkrankung zurückzuführen. Die Behandlung erfolgt in der Regel in speziell ausgerichteten, multidisziplinären Zentren und besteht aus antibiotischer Therapie, physiotherapeutischer Betreuung und verbessertem Ernährungsmanagement (20, 22).

1.2.2 Pathophysiologie der Schweißdrüse und klinische Auswirkung

Dem CFTR werden zahlreiche Funktionen zugeschrieben (Tab. 1, 3). Am besten sind jedoch die Auswirkungen des Basisdefekts auf den epithelialen Elektrolyttransport untersucht worden. Dort vermindert ein fehlender oder defekter CFTR die Chloridpermeabilität epithelialer Zellmembranen (3, 23). Die seromukösen oder mukösen Sekrete dicken ein und verlegen die Ausführungsgänge der exokrinen Drüsen. Das sekretorische Knäuel der Schweißdrüse setzt sich aus zwei Typen von sekretorischen Zellen zusammen. Der eine Zelltyp sezerniert plasmaitonen Primärschweiß nach cholinergem Stimulation, der andere Zelltyp nach β -adrenerger Stimulation. Bei normaler Schweißproduktion nach cholinergem Aktivierung wird jedoch bei der cAMP-regulierten β -adrenergen Stimulation bei CF-Drüsen kein Schweiß sezerniert. Im Ausführungsgang der Schweißdrüse ist aufgrund des Fehlens von CFTR als apikal lokalisierter Chloridkanal das Gangepithel für Chloridionen nicht durchlässig und somit werden auch die Natriumionen nicht rückresorbiert. Aufgrund dieses Defektes ist die Natrium-Chlorid-Konzentration im Endschweiß erhöht (10, 24, 86).

Am Bronchialepithel ist der präzise Mechanismus jedoch noch unklar. Es gibt mehrere publizierte Hypothesen. Die als favorisiert angesehene Hypothese beschreibt eine Dysregulation des „airway surface liquid volume (ASL)“ als „low volume hypothesis“. Hierbei wird von einer Hyperreabsorption von Natrium und Wasser ausgegangen. Gleichzeitig ist die CFTR-abhängige Chloridionensekretion gestört (3, 23). Dies führt zur Abnahme der extrazellulären Flüssigkeit mit viskösem Schleim auf den respiratorischen Epithelzellen und Beeinträchtigung des respiratorischen Zilienapparates. Die

eingeschränkte mukoziliäre Clearance führt zu einer chronischen Infektion getriggert durch Verhalt von Schleim und Schadstoffen. Dies begünstigt eine Besiedlung mit Bakterien wie *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *H. influenzae* und *S. maltophilia* (3, 16). Die chronische bakterielle Infektion und die anhaltende Neutrophilen-vermittelte Entzündung führt zur Destruktion des Lungenparenchmys, Bronchiektasen und letztendlich zur respiratorischen Insuffizienz (23). Diese stellt mit 90 % die häufigste Todesursache der CF-Patienten dar (25). Eine weitere häufige Komplikation ist die exokrine Pankreasinsuffizienz bei 90 % der CF-Patienten. Diese beruht auf einer Reduktion der Abgabe von Pankreassekret und Bikarbonat. Ohne suffiziente Flüssigkeit und Bikarbonat kommt es zu einem Verhalt der Verdauungsproenzyme mit vorzeitiger Aktivierung in den Pankreasgängen, welche zu Gewebedestruktion und Fibrosierung führen. Die Patienten leiden folglich unter Malabsorption und können den erhöhten Energiebedarf bei in der Regel zusätzlich bestehenden endobronchialen Infektionen nicht decken. Diese Kombination von Malabsorption und erhöhtem Energiebedarf führt zur Malnutrition und unterhält diese. Nach der ersten Dekade des Lebens von CF-Patienten kommt es oft zusätzlich zu einem Diabetes mellitus durch Mitbeteiligung der Langerhans-Zellen des Pankreas. Es besteht meistens eine Kombination aus reduzierter oder verspäteter Insulinsekretion und Insulinresistenz. CFTR spielt auch eine Rolle im hepatobiliären System. So kommt es, dass bei über 70 % der älteren Patienten fettige Infiltrationen der Leber beschrieben werden. Es kommt jedoch bei weniger als 10 % der Fälle schließlich zu einer biliären Zirrhose. Auffällig ist zudem eine kleine, in ihrer Funktion eingeschränkten Gallenblase, bei circa 30 % sowie Gallensteine bei etwa 10 % der Patienten. Aufgrund der Einschränkung der Verdauung mit hepatischer Dysfunktion kommt es häufig zur allgemeinen Gedeihstörung (16, 25, 26).

Die häufigsten Mutationen und Funktionsstörungen des CFTR-Gens sind die der Klassen I bis III, welche vornehmlich mit Pankreasinsuffizienz assoziiert sind, während Patienten mit den selteneren Mutationen der Klassen IV bis VI diese Manifestation typischerweise nicht zeigen (16). Allerdings kann das klinische Bild bei Patienten mit identischem Genotyp stark variieren; selbst bei Geschwistern wurden große Unterschiede in der klinischen Manifestation festgestellt (18). Aufgrund dieser interindividuell unterschiedlichen klinischen Verlaufsformen, vor allem bezüglich der Schwere der Lungenerkrankung bei CF-Patienten, konzentrierte sich die Forschung

zuletzt stärker auf die Suche nach so genannten „modifier genes“ (19). Es handelt sich hierbei vor allem um Genregionen, die für Proteine kodieren, welche an der Immunabwehr, an Entzündungs- und epithelialen Reparaturprozessen, an der Muzinproduktion, an der Zusammensetzung Nicht-CFTR-Ionenkanälen und an dem Aufbau von Rezeptoren der glatten Muskulatur beteiligt sind. Die Funktion der Proteine an diesen Lokalisationen beeinflusst maßgeblich, welche klinische Ausprägung eine CF-Erkrankung annimmt. Es wurden mehrere solcher als „modifier genes“ in Frage kommender Gene identifiziert. Bisher war es allerdings noch nicht möglich, ein einzelnes „modifier gene“ mit nennenswertem Einfluss konkret zu isolieren. Dennoch erscheint es wahrscheinlich, dass verschiedene kombinierte Haplotypen solcher Gene, die beschriebenen Auswirkungen auf das klinische Bild haben (18).

Tab. 1: Funktionen des CFTR-Proteins

Transport von Chlorid und Bikarbonat
Regulation anderer verschiedener Ionenkanäle
Kontrolle des extrazellulären pH
Intravaskuläre Säurebildung
Epitheliale Apoptose
Aquaporin-3-Regulation
Pseudomonas aeruginosa-Bindung
Calciumionen-Regulation
Beeinflussung der extrazellulären Flüssigkeitsschicht

1.3 Schweißtest

1.3.1 Stand der Technik

Trotz der Fortschritte in der molekularbiologischen Diagnostik der Cystischen Fibrose stellt die Bestimmung der Chloridkonzentration im Schweiß die maßgebliche Methode in der Diagnose der CFTR-Dysfunktion seit mehr als 50 Jahren dar (27, 28). Vor allem die hohe Anzahl von Mutationen des CFTR-Gens limitiert die Diagnosestellung durch Gentests (29). Somit stellt die Bestimmung der Schweißchloridkonzentration weiterhin den Goldstandard zur Bestätigung oder zum Ausschluss einer möglichen CFTR-Dysfunktion bei klinischem Verdacht auf CF oder innerhalb eines Neugeborenen-Screenings dar (30). Für diesen so genannten Schweißtest gilt hierbei die Methode der

quantitativen Pilocarpin-Iontophorese zur Bestimmung der Schweißchloridkonzentration, wie sie im Jahre 1959 von Gibson and Cooke beschrieben wurde, als Mittel der Wahl (9). Aufgrund ihrer hohen Sensitivität und Spezifität hat sich diese Methode als sehr erfolgreich erwiesen (31). Der Begriff Schweißtest subsumiert verschiedene quantitative oder qualitative Analysen mit Bestimmung der Elektrolytkonzentration, der Leitfähigkeit oder der Osmolalität des Schweißes zur Bestätigung oder zum Ausschluss einer Cystischen Fibrose (29). Unabhängig von der Analysemethode besteht der Test in der Regel aus drei Schritten: 1. der Schweißstimulation durch Pilocarpin-Iontophorese, 2. das Sammeln des Schweißes und 3. der anschließenden Schweißanalyse quantitativ hinsichtlich Chlorid- oder Natriumkonzentration bzw. qualitativ mittels Leitfähigkeit und seltener mittels Osmolalität (29, 32). Quantitative Schweißtests messen zunächst die Menge des gesammelten Schweißes und bestimmen anschließend die Chlorid- oder Natriumkonzentration. Diese Methode besitzt die höchste Diskriminierungsfähigkeit für diagnostische Zwecke (29, 32). Prinzipiell erfolgt jedoch die Chloridbestimmung, da erhöhte Natriumwerte unabhängig vom Vorliegen eines CFTR-Defektes vorkommen können (1, 33). Qualitative Schweißteste finden im CF-Screening Verwendung. Diese Screeningtests liefern Aussagen über „positive“, „negative“ oder „grenzwertige“ Ergebnisse, beispielsweise durch eine indirekte Bestimmung der Ionenkonzentration mittels Leitfähigkeitsmessung oder Osmolalität, wobei die Osmolalität aufgrund schlechterer Sensitivität und Spezifität im Vergleich zur Chloridkonzentrationsbestimmung nicht mehr empfohlen wird (34, 35, 36, 37). Zu den qualitativen Schweißtests gehören das weit verbreitete Wescor-Sweat-Check-Leitfähigkeitsmessgerät, das Advanced-Instruments-Leitfähigkeitsmessgerät, die Orion-Hautelektrode zur Bestimmung von Chlorid, der Scandipharm-CF-Indicator-System-chloride-patch und die Schweißosmolalitätsmessgeräte (29). Einige dieser Methoden weisen jedoch, wie oben erwähnt, Probleme auf. Zum Beispiel kann durch alte Leitfähigkeitsmessgeräte oder die Orion-Elektrode nicht die quantitative Menge des gesammelten Schweißes bestimmt werden. Zudem sind sie durch Kondensation und Verdunstung limitiert. Solche Messmethoden können zu falschen negativen Resultaten führen und sind deshalb nicht empfehlenswert. Um möglichst genaue Ergebnisse bei einem quantitativen Schweißtest mit der Methode der quantitativen Pilocarpin-Iontophorese zu erlangen, sollte dieser nach den Richtlinien des National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS), der Association of Clinical Biochemists (ACB),

der College of American Pathology Laboratory Accreditation Program Checklist (CAP) oder der Cystic Fibrosis Foundation Accreditation Standards for CF Care Centers (CFF) durchgeführt werden (30).

1.3.2 Chloridbestimmung

Die NCCLS-Leitlinien und die UK-Leitlinien beurteilen die Leitfähigkeit als Screeningtest und die Chloridmessung als einziges diagnostisch verlässliches Analyseverfahren (34, 35, 37). Der Grund dafür besteht darin, dass Chlorid, aufgrund der direkten Abhängigkeit zur CFTR-Funktion, einen genaueren Aussagewert besitzt als Natrium (1). Daher wird die Natriumbestimmung in vielen Zentren eher als Kontrolle genutzt (28, 38). In mehreren Studien konnte gezeigt werden, dass die Chlorid/Natrium-Ratio aufgrund unterschiedlicher Messmethoden und individueller Chlorid- und Natrium-Konzentrationen nicht zur Diagnosesicherung geeignet ist. Der Natriumgehalt des Schweißes steigt bis zu einem Alter von 12 Jahren und verändert sich danach nicht mehr signifikant bei Populationen mit und ohne CF (39, 40). Der Chloridgehalt des Schweißes hingegen steigt bis zu diesem Alter in der Population ohne CF an, jedoch nicht in der Population mit CF. Nach dem 12. Lebensjahr konnten keine altersabhängigen Veränderungen mehr in der Population ohne CF gesehen werden, jedoch ein Abfall in der Population mit CF. Die alleinige Chloridgehaltbestimmung des Schweißes erbrachte somit die beste Diskriminierung zwischen der Population mit und ohne CF (28, 40, 41). Derzeit gilt ein Chloridkonzentrationswert von über 60 mmol/L in mehr als einem Test als pathologisch, Werte unter 30 mmol/L gelten als normal. Werte zwischen 30 und 60 mmol/L liegen im Graubereich und sind kontrollbedürftig. (3, 28, 30, 32, 34, 35, 37, 56). Die Interpretation der Chloridkonzentration sollte immer im Zusammenhang mit dem klinischen Erscheinungsbild des Patienten, der Familienanamnese und dem Alter des Patienten gesehen werden, da einige seltene CFTR-Mutationen mit grenzwertigen (borderline) oder negativen Schweißchloridkonzentrationen einhergehen können (39). Zudem steigen die Elektrolytkonzentrationen mit dem Alter bei gesunden Erwachsenen an und können Schweißchloridkonzentrationen von über 60 mmol/l erreichen (3, 29, 42, 43). Um zuverlässige Ergebnisse im quantitativen Schweißtest sicherzustellen, wird eine Mindestschweißrate von 1 g/m² Hautoberfläche/min benötigt, da bei geringerer

Schweißrate die Schweißelektrolytkonzentration sinkt, die Gefahr der Verdunstung in einer kleineren Probe steigt und damit die Rate von falsch-negativen Ergebnissen erhöht wird (29, 30, 32, 33, 34). Als akzeptable Mindestmenge werden derzeit 75 mg Schweiß für die klassische Methode der quantitativen Bestimmung gefordert. Der Schweiß soll auf einer 2 x 2 inch großen Gaze oder einem Filterpapier über 30 Minuten gesammelt werden. Qualitative Messsysteme wie das Macroduct®-Analysesystem, bei denen der Schweiß mittels einer Kapillare gesammelt wird, benötigen eine geringere Mindestschweißmenge von 15 µl (32). Die Sammelzeit des Schweißes wird mit 30 min (NCCLS/USA) bzw. mit 20-30 min nach den UK-Leitlinien vorgegeben, da die Schweißsekretionsrate in den ersten 10 min ansteigt und nach 30 min abfällt (35, 44). Hardy et al. demonstrierten 1973, dass die Schweißchloridkonzentration vorübergehend innerhalb der ersten 24 Stunden nach der Geburt ansteigt und sich nach dem 2. Lebenstag normalisiert (45). Aus diesen Erkenntnissen begründet sich die Empfehlung der NCCLS, den Schweißtest erst nach dem 2. Lebenstag durchzuführen (37). Der Schweißtest ist bei korrekter Durchführung präzise und zuverlässig, jedoch arbeitsintensiv und zeitaufwendig. Die Methode zur Bestimmung der Chloridkonzentration mittels quantitativen Pilocarpin-Iontophorese Test (QPIT) beinhaltet mehrere Schritte für das Sammeln und Analysieren der Schweißprobe. Die Prozedur ist aufwändig durchzuführen und birgt das Risiko von Volumen-, Kondensations- und Verdunstungsfehlern vor allem in Laboren, die den Schweißtest nicht routinemäßig durchführen (46).

1.3.3 Leitfähigkeit

Um den Test zu vereinfachen, wurde vor einigen Jahren die Messung der Schweißleitfähigkeit zur indirekten Ionenbestimmung als alternative Methode entwickelt (46, 47). Leitfähigkeitsmessung bedeutet eine unspezifische Bestimmung der totalen Anionenaktivität in Lösung. Die Messwerte sind, bedingt durch Anionen wie Laktat und Bikarbonat, um etwa 15 - 20 mmol/L höher als bei der reinen Chloridbestimmung (29, 32, 33, 48). Da die Leitfähigkeit nur Näherungswerte der Schweißchloridkonzentration liefert, wird diese Methode der indirekten Messung der Elektrolytkonzentration des Schweißes derzeit im Rahmen von Screeningtests verwendet und ist von dem National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS/USA) bisher nicht als ein

ausreichendes Tool zur Diagnostik von Mukoviszidose akzeptiert worden. Entsprechend dem Konsensus der amerikanischen Cystic Fibrosis Foundation (CFF) sollte ein Patient mit einer Schweißleitfähigkeit von ≥ 50 mmol/L einen quantitativen Schweißtest durchführen lassen, obwohl aktuelle Studien suggerieren, dass auch die Methode der Leitfähigkeit zu einer zuverlässigen Diagnostik einer Cystischen Fibrose eingesetzt werden kann (32, 36, 46, 49, 50, 51). Der bedeutendste Vorteil der Leitfähigkeitsmessung liegt in der Einfachheit der Ausübung und der Möglichkeit, in kurzer Zeit Ergebnisse zu erzielen (33).

1.3.4 Nanoduct®-Schweißanalysesystem

Ein neuartiges Schweißanalysesystem (Nanoduct®) ist kürzlich auf der Grundlage der Leitfähigkeitsmessung entwickelt worden. Dieses Gerät vereint Pilocarpin-Iontophorese, Schweißsammlung und Analyse mit einem einzelnen Einwegleitfähigkeitssensor, so dass das Ergebnis bettseitig innerhalb von 30 bis 40 Minuten verfügbar ist. Das System ist spezifisch an die Neugeborenenphase angepasst, um die Durchführung des Schweißtest bei Neugeborenen zu erleichtern. Die Komponenten wurden neugeborenenengerecht dimensioniert mit kleineren Elektroden, kleineren Sammelmodulen und einer Reduzierung der Stromstärke auf 0,5 mA, statt der 1,5 mA bei dem verbreiteten Macroduct®-System oder der bis zu 4 mA bei anderen Geräten. Die größte Innovation besteht darin, dass bereits ab einer Schweißmenge von 3 μ l ein zuverlässiges Ergebnis zu erzielen ist. Damit wird ein Schweißtest an Neugeborenen meist erst möglich gemacht (44). In einer von Barben et al. 2005 veröffentlichten Studie zeigte die neue Methode eine 100 %-ige Sensitivität und Spezifität in Bezug auf die Diskriminierung zwischen Patienten (Kinder und Erwachsene) mit und ohne Cystischer Fibrose im Vergleich zur klassischen, quantitativen Chloridbestimmung (50). Funk und LeGrys forderten allerdings, in einem Kommentar, zur Veröffentlichung weiterer Studien auf, die anhand größerer Fallzahlen präziser die Sensitivität und Spezifität der Methode wiedergeben sollen (27).

1.3.5 Probleme der Schweißtestmethode

Falsch-negative Schweißtestresultate werden in der Literatur mit 5 % bis 12 %

angegeben (16). Verschiedene methodische, technische bzw. physiologische Probleme werden hierfür verantwortlich gemacht. Auch einige seltenere CFTR-Mutationen haben eine Assoziation zu borderline oder normalen Schweißchloridkonzentrationen (Tab. 2, 29, 32, 52).

Tab. 2: Gründe für falsch-negative Schweißtestergebnisse

<i>Technische Probleme</i>
Fehlen von gründlicher Hauttrocknung vor Schweißsammlung
Fehler beim Wiegen, bei Verdünnung oder Berechnung
<i>Physiologie</i>
Inadäquates Schweißvolumen aufgrund zu niedriger Schweißrate
Hautödem
<i>Mutationen (nur einige ausgewählt)</i>
3849+10 kb C>T, R117H, G551S, A455E, D1152H, IVS8 (5T), L206W, 2789+ 5 G>A

Falsch-positive Ergebnisse beim Schweißtest, abhängig von der jeweiligen Methode, werden mit circa 15 % beziffert. Es gibt eine Vielzahl an Erkrankungen außer CF, die mit erhöhten Schweißelektrolytkonzentrationen assoziiert sind, wie z. B. die Atopische Dermatitis im Kindesalter (Tab. 3, 29, 32).

Tab. 3: Erkrankungen, die mit erhöhten Schweißelektrolytkonzentrationen einhergehen können

<i>Reversibel</i>	<i>Nichtreversibel</i>
Nebenniereninsuffizienz, Anorexia nervosa, Atopische Dermatitis, Zöliakie, familiärer Hypoparathyreodismus, unbehandelte Hypothyreose, Malnutrition (Eiweiß-	Autonome Dysfunktion, ektodermale Dysplasie, familiäre Cholestase, Fucosidosis, Glucose-6-phosphat-dehydrogenase-Mangel, Glykogenosen Typ 1, Hypogammaglobulinämie, Klinefelter-

Kalorienmangel), nephrogener Diabetes insipidus, nephrotisches Syndrom, Prostaglandin E1 Zufuhr, Pseudohypoaldosteronismus, Gedeihstörungen	Syndrom, Mauriac-Syndrom, Mukopolysaccharidose Typ 1
---	--

Erhöhte Schweißchloridkonzentrationen können ebenso bei Methoden, die mit Verdunstung der Schweißprobe einhergehen oder aufgrund anderer methodischer oder technologischer Fehler auftreten (29). Im Allgemeinen ist der Schweißtest gut verträglich. Das Risiko unerwünschter Nebenwirkungen liegt wahrscheinlich unter 1 % (29). Selten tritt an den stimulierten Hautstellen eine Urtikaria oder Verbrennung auf. Hautirritationen können entstehen, wenn bei der Pilocarpin-Iontophorese eine Stromstärke über 4 mA gewählt wird, oder ein direkter Hautkontakt mit dem blanken Metall der Elektrode, eine ungenügende Befeuchtung des stimulierten Hautareals oder ein Schaden an der Elektrodenoberfläche vorliegt (32).

1.4 Hautphysiologie

1.4.1 Hautphysiologie beim Frühgeborenen

Die Epidermis beginnt sich in der Mitte der Schwangerschaft zu entwickeln und ist in der 32. Gestationswoche vollkommen geformt. Ein reifes Kind hat eine gereifte Epidermis mit einem gut entwickelten Stratum Corneum, die sehr der eines Erwachsenen ähnelt. Jedoch bei extrem frühgeborenen Kindern (< 28 SSW) ist sie noch unzureichend entwickelt und in ihrer Funktion eingeschränkt. Sie ist nur zwei bis drei Zellschichten dick. Der Fettanteil ist gering und das Stratum corneum ist klein oder noch nicht vorhanden. Der transepidermale Wasserverlust ist bei unreifen Kindern hoch, was Schwierigkeiten in der Flüssigkeitsbilanz und Temperaturkontrolle bereitet. Mit der Exposition von Luft nach der Geburt wird die epidermale Entwicklung beschleunigt. Etwa zwei bis drei Wochen nach der Geburt ähnelt die Epidermis der eines Reifgeborenen (53).

Die ekkrinen Schweißdrüsen sind epidermaler Abstammung. Im ersten Trimenon der Schwangerschaft erscheinen epidermale Knospen, die anfangen in die Dermis hinabzuwachsen und sich in spiralförmige Anteile sowie gestreckte Anteile mit Lumen auszubilden. Die Entwicklung ist regional unterschiedlich, die ersten Drüsen bilden sich

an den Handinnenflächen, den Fußsohlen und der Stirn aus. Erst dann erfolgt die Ausbreitung über den Stamm zu den Extremitäten. Die Entwicklung der meisten Drüsen ist mit 7 Schwangerschaftsmonaten vollständig vollzogen (54, 55). Mit etwa 16 Wochen differenzieren sich die in die Dermis hinabgewanderten Epidermiszellen in sekretorische und myoepitheliale Zellen und formieren sich dann, wie oben schon erwähnt, als geknäulte und gestreckte Anteile mit einem geraden Lumen, welches durch die Epidermis führt und als Pore in der Hautoberfläche endet (57, 58). Die Kanalisierung und Innervierung der etwa 2-4 Millionen humanen Schweißdrüsen ist mit der 22. postkonzeptionellen Woche abgeschlossen (57). Da sich nach der Geburt keine neuen Schweißdrüsen mehr formieren, besitzt das Früh- und Neugeborene bereits bei der Geburt den kompletten Satz der Schweißdrüsen. Die Schweißdrüsendichte ist von der Körperregion abhängig. So ist sie an den Fußsohlen und Handflächen 10-mal höher als am Rücken. Aufgrund der geringeren Körperoberfläche ist die Dichte der Schweißdrüsen bei einem reifen Neugeborenen wesentlich höher als bei einem Erwachsenen (55). Und demzufolge am höchsten bei einem Frühgeborenen.

Die sekretorischen Zellen, des in der Dermis befindlichen spiralförmigen Anteils der ekkrinen Schweißdrüsen, produzieren Schweiß im proximalen Anteil der Drüse. Dies ist initial ein Ultrafiltrat von Plasma mit einer hohen Konzentration an Elektrolyten, welche durch weiter distal der Drüse gelegene Zellen reabsorbiert werden und zu einem weniger osmolaren Sekret führen (57). Dabei wird der Schweiß auf ein Fünftel der Elektrolytkonzentration des Plasmas progressiv verdünnt und im Anschluss durch die myoepithelialen Zellen ausgeschüttet. Die ekkrinen Schweißdrüsen werden cholinerg innerviert, trotz ihrer anatomischen Zugehörigkeit zum sympathischen Nervensystem (55). Abhängig von ihrer Lokalisation produzieren sie Schweiß beim Ansteigen von Temperaturen (thermales Schwitzen), bei Schmerz oder emotionalem Stress (emotionales Schwitzen) (54). Sie werden stimuliert durch Temperaturveränderungen, die vom Hypothalamus direkt oder indirekt wahrgenommen werden. Chemisch kann die Schweißproduktion durch im Blut zirkulierende Katecholamine stimuliert werden, aber auch durch direkte Injektion von Acetylcholin, Nikotin und Adrenalin in die Dermis. Mit Pilocarpin, einem Acetylcholin-Analogon, kann ein lokales Schwitzen hervorgerufen werden, wenn mit Hilfe eines geringen Stromes dieser von der Hautoberfläche in die Tiefe gebracht wird. Diese Technik der Pilocarpin-Iontophorese ist, wie oben beschrieben, die Basis des Schweißtests zur Mukoviszidose-Diagnostik, welche auch

bei Neugeborenen bereits in den ersten Lebenstagen durchführbar ist, was für die Ausreifung der Schweißdrüsen bei Neugeborenen spricht (55, 59). Es konnte jedoch auch gezeigt werden, dass bei einer chemischen Reizung am Oberschenkel mit Acetylcholin die aktivierte Schweißdrüsendichte bei den Neugeborenen um 6,5-fach höher war im Vergleich zu Erwachsenen, die Schweißrate pro aktivierte Schweißdrüse aber dagegen um 1/3 geringer. Man geht demnach davon aus, dass trotz der komplett vorhanden Schweißdrüsen nach der Geburt die absolute Zahl funktionstüchtiger Schweißdrüsen erst während der ersten beiden Lebensjahre ansteigt (60, 61, 62). Untersuchungen des Schweißtests zum Ausschluss einer Mukoviszidose bestätigen diese Ergebnisse. So ist die produzierte Schweißmenge bei Neugeborenen vor der 6. Lebenswoche signifikant niedriger als bei älteren Säuglingen (31).

1.4.2 Schwitzen beim Frühgeborenen

Die beiden Arten, thermales und emotionales Schwitzen, werden von cholinergen Fasern des sympathischen Nervensystems innerviert, jedoch wird das thermale Schwitzen vom Hypothalamus und das emotionale Schwitzen von höheren Zentren im prämotorischen Kortex kontrolliert (63).

Emotionale Stimuli, die für vermehrtes Schwitzen ursächlich sein können, sind Aufregungen in Form von Angst, Schmerz, Erregung, Furcht oder Konzentration. Zufriedenheit, Entspannung oder Schlaf vermindern das Schwitzen. Dies nennt man emotionales oder mentales Schwitzen (63). Schwitzen auf schmerzvolle oder emotionale Gegebenheiten ist im Gegensatz zu thermalen Stimuli eher auf die Handinnenflächen und Fußsohlen begrenzt (palmar- plantar sweating). Der Wasserverlust über Hände und Füße ist sehr hoch und durch Veränderungen der Umgebungstemperatur kaum beeinflussbar. Die Epidermis ist an diesen Stellen sehr dick, so dass der Grund des Wasserverlustes nicht auf passiven transdermalen Wasserverlust zurückzuführen ist, sondern in aktivem Schwitzen besteht, welches durch die cholinerge Innervation des sympathischen Nervensystem kontrolliert wird (55).

Die Fähigkeit, auf einen thermalen Stimulus hin zu schwitzen, ist abhängig vom Gestations- und Postnatalalter. Frühgeborene zwischen 29 und 35 Gestationswochen

zeigen am ersten Lebenstag keine Schweißproduktion auf thermale Reize, auch wenn ihre Körperkerntemperatur auf 38 °C erhöht ist (55, 64). Die meisten reifen Neugeborenen dagegen besitzen die Fähigkeit vom ersten Tag an, auf thermale Veränderungen hin zu schwitzen (55, 61, 65). Die Fähigkeit, auf Wärmeveränderungen zu schwitzen, wird bei Frühgeborenen innerhalb der ersten zwei Lebenswochen erreicht, unabhängig vom Gestationsalter. Etwa ab dem 13. postnatalen Lebenstag kann ein Frühgeborenes mit einem Gestationsalter von 29 SSW schwitzen. Sie schwitzen jedoch im Vergleich zu Reifgeborenen mit weniger Intensität und nur bei einer höheren Umgebungs- und Kerntemperatur (64). Über Frühgeborene unter 29 Gestationswochen gibt es keine Untersuchungen hinsichtlich der Fähigkeit zu schwitzen (55).

Schwitzen auf chemische Reizung, wie intradermale Injektion von Acetylcholin, Adrenalin, Nikotin oder Neostigmin, ist bei Frühgeborenen anfangs ebenso beeinträchtigt oder noch nicht möglich und tritt erst in der postnatalen weiteren Entwicklung auf. Es ist schwierig, Vergleiche zwischen thermalem und chemischem Schwitzen aufzustellen, da meistens bei chemischen Untersuchungen der Oberschenkel oder der Oberarm verwendet wird und nicht die Stirn, die Brust oder der Unterarm, bei denen thermales Schwitzen meist als erstes beobachtet wird. Fest steht jedoch, dass bei Untersuchungen der zwei Typen von Schwitzen, das chemische Schwitzen bei Frühgeborenen fortgeschrittener ist, als das thermale Schwitzen. Das lässt vermuten, dass die Ursache für die mangelnde Fähigkeit zum Schwitzen, nicht in der Unreife der Drüsen besteht, sondern eher die neurologische Komponente eine Rolle spielt (55, 60, 61).

1.5 Aufgabenstellung

Aktuell existieren keine Studien zur Evaluierung des Schweißtests speziell bei Frühgeborenen zur Diagnosestellung einer Mukoviszidose. Dies begründet sich vor allem in technischen Problemen genügend Schweiß bei Frühgeborenen zu sammeln und auszuwerten. Dies beruht hauptsächlich in der bisher benötigten Schweißmenge und der besonderen Hautphysiologie von Frühgeborenen. Es gibt nur wenig sichere Erkenntnisse darüber, welche Faktoren das Ergebnis des Schweißtest beeinflussen können und ob der Schweißtest bei Frühgeborenen tatsächlich zu validen Ergebnissen

führt.

Dementsprechend existieren keine Referenzwerte für die Leitfähigkeitsmessung an gesunden Kindern in der Altersgruppe zwischen 48 Stunden und sieben Tagen. Diese werden aber dringend benötigt, um den Schweißtest an Frühgeborenen in der ersten Lebenswoche zuverlässig durchführen zu können. Auch für die Diskussion um einen möglichen Einsatz des Tests im Rahmen eines Neugeborenen-Screenings auf Mukoviszidose sind Daten zur Zuverlässigkeit und den zu erwartenden Ergebnissen bei gesunden und mit CF erkrankten Kindern erforderlich.

Unter diesen Gesichtspunkten ist das Hauptziel der vorliegenden Studie die Beantwortung der Frage, ob ein Schweißtest an Frühgeborenen unter Verwendung des neuen Nanoduct®-Schweißanalysesystems valide durchführbar ist, vor allem auch im Hinblick eines möglichen Neugeborenen-Screenings. Dazu werden verschiedene Parameter untersucht, von denen angenommen wird, dass sie einen Einfluss auf das Ergebnis dieses Schweißtests haben können. Zu den untersuchten Parametern gehören das Geburtsgewicht, der Lebenstag, das Gestationsalter und das Geschlecht der Probanden. Es soll untersucht und dargestellt werden, wie sich diese Faktoren auf die Durchführbarkeit des Schweißtests, auf die ermittelte Schweißrate, sowie auf die Höhe der gemessenen Schweißleitfähigkeit auswirken. Darüber hinaus soll die physiologische Leitfähigkeit des Schweißes bei gesunden Frühgeborenen ohne Anhalt für Cystische Fibrose bestimmt werden. Die Arbeit soll eine grundsätzliche Aussage zur Praktikabilität treffen und eine Empfehlung hinsichtlich der Anwendbarkeit des Schweißtests, insbesondere bei klinischen Hinweisen auf eine Cystische Fibrose sowie in Screeningprogrammen, geben.

2 Material und Methoden

2.1 Patientenkollektiv, Ein- und Ausschlusskriterien

In die Studie an der Klinik für Neonatologie, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Campus Charité Mitte, wurden 81 gesunde Frühgeborene zwischen Mai 2004 und Oktober 2005 eingeschlossen. Als Einschlusskriterien galten ein Gestationsalter von 33 + 0 bis 36 + 6 SSW, ein Lebensalter von mindestens 48 Stunden und maximal 7 Tagen,

sowie eine unauffällige Familienanamnese hinsichtlich Cystischer Fibrose. Ausschlusskriterien waren das Vorliegen bereits pränataler oder klinischer Anhalte auf eine Mukoviszidoseerkrankung und die Behandlung mit systemischen Katecholaminen, Kortikosteroiden oder Parasympathikomimetika. Ausgeschlossen wurden auch Probanden, deren Eltern die Einwilligung zur Teilnahme versagten.

Die Studie wurde von der zentralen Ethik-Kommission der Charité – Universitätsmedizin positiv beurteilt und genehmigt. Ein schriftliches Einverständnis der Eltern oder Erziehungsberechtigten der Probanden lag stets vor.

2.2 Untersuchungsmethode

Der Schweißtest wurde bei allen Probanden zwischen dem dritten und siebten Lebensstag durchgeführt. Um perinatal bedingte präanalytische Fehler, wie eine Kontamination mit Blut- oder Fruchtwasserresten, zu vermeiden, erfolgte die Untersuchung an den Probanden frühestens nach 48 Lebensstunden.

2.2.1 Verwendetes Schweißanalysesystem

Die Durchführung des Schweißtests erfolgte über die Bestimmung der Leitfähigkeit des Schweißes. Hierfür wurde das Nanoduct®-Analysesystem (Wescor, Logan, Utah) verwendet. Dieses neuartige System beruht auf der Messung der Leitfähigkeit des Schweißes. Die Schweißstimulation erfolgt durch die klassische Methode der Pilocarpin-Iontophorese nach Gibson und Cooke (9). Bei der Schweißstimulation durch Pilocarpin-Iontophorese wird das Acetylcholinergikum Pilocarpin mittels einer Kupferelektrode durch einen schwach angelegten Gleichstrom mit einer Stromstärke mit etwa 1,5 - 3,0 mA für fünf Minuten auf ein kleines Hautareal am Arm oder Bein appliziert. Hierbei erfolgt die Stimulierung der ekkrinen Schweißproduktion. Danach erfolgt eine anaerobe, kapilläre Schweißsammelphase mit unmittelbarer Bestimmung der Leitfähigkeit mittels einer integrierten Durchfluss-Leitfähigkeitsmesszelle (Abb. 1-4). Typischerweise wird der Schweiß über eine Zeit von etwa 30 Minuten gesammelt.

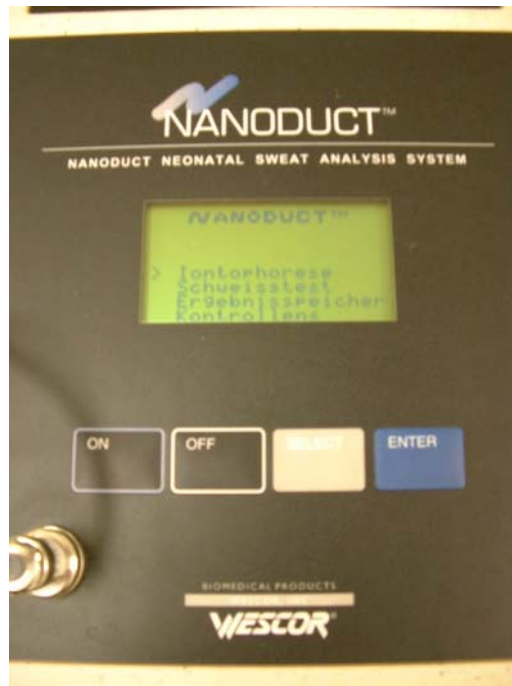


Abb. 1: Display des Wescor Nanoduct®-Analysesystems



Abb. 2: Induktions- und Analysenmodul, kombiniertes Elektroden- und Sensorkabel mit Analysesensor und Iontophoreseelektroden mit Anschluss an das Gerät über den Sensorstecker, Elektrodenhalter



Abb. 3: Analysesensorstecker (rot mit Schlitz für den Einweg-Sensor), Iontophoreseelektroden (schwarz = Kathode und rot = Anode), Elektrodenhalter mit Band und Arrettierungsring



Abb. 4: Angelegte Elektrodenhaltebänder mit Pilogelscheiben zwischen Elektrode und Haut des Neugeborenen

2.2.2 Durchführung der Schweißtests

Die Durchführung der Schweißtests erfolgte entsprechend den Herstellerangaben durch immer dieselben Untersucher (Martin Sommer und Dr. med. Andreas Jung) sowie nach internationalen Richtlinien zur Durchführung eines Schweißtests (35, 37, 66). Als erstes erfolgte die Aufklärung der Eltern der zu untersuchenden Frühgeborenen über den Schweißtest sowohl mündlich als auch schriftlich mit Einholung der schriftlichen Zustimmung. Der Test wurde dann meist an schlafenden Frühgeborenen in einem Zeitraum zwischen 9 Uhr und 20 Uhr durchgeführt. Ein Protokoll mit der Probandennummer und Dauer sowie dem Ergebnis des Tests wurde zeitgleich angelegt. Besondere Umstände, Reaktionen von Schmerzerregung oder Hautreizung wurden ebenfalls notiert. Es erfolgte zunächst das Anlegen zweier Elektrodenhaltebänder an einem Unterarm des Frühgeborenen nach Inspektion und Reinigung desselben zur Verkleinerung der Impedanz der Haut (Abb. 4). Dabei wurde der rote Elektrodenhalter für die Anode (Minuspol) möglichst nah an der Beuge des Unterarmes befestigt, aufgrund der dort vermehrt befindlichen Schweißdrüsen. Das Halteband für die Kathode (Pluspol) wurde 2 - 5 cm handgelenkwärts platziert. Danach erfolgte das luftblasenfreie Einlegen einer 1,5 %-igen Pilocarpingelscheibe, die aus einer Oberfläche von 2,5 cm² besteht, auf die Metalloberfläche in je eine Iontophoreseelektrode mit 1 - 2 Tropfen deionisiertem Wasser. Die Elektroden wurden anschließend in die Halter eingesetzt und mit dem Arrettierungsring befestigt. Auch hier wurde die Haut innerhalb der Halter mit einem Tropfen deionisiertem Wasser benetzt. Nun konnte der Test beginnen durch Einschalten des Gerätes und Starten der Iontophorese mit ansteigender Stromstärke auf 0,5 mA. Diese wurde für einen Zeitraum von 2 Minuten beibehalten. Danach fiel der Strom wieder auf Null ab und die Iontophorese war beendet. Nach dieser Phase der Pilocarpin-induzierten Schweißstimulation wurde nun die rote Elektrode samt Gelscheibe von dem Anodenplatz entfernt und das stimulierte Hautareal innerhalb der Haltevorrichtung mit einem, in deionisiertem Wasser getränkten, Wattestäbchen gereinigt und getrocknet. Der Einwegsensormit der integrierten Leitfähigkeitsmesszelle wurde anschließend schnellstmöglich in den roten Halter platziert. Sowohl die Elektroden als auch die Messzelle waren mit dem Induktions- und Analysemodul durch ein Kontrollkabel verbunden. Durch Wählen des „sweat testing“ am Gerät wird die Leitfähigkeitsmessung des Schweißes aktiviert. Es reicht hier eine Schweißmenge von lediglich 3 µl aus. Nach

circa 2 - 6 Minuten werden fortlaufend die Leitfähigkeit sowie die Anfangsschweißrate in g/m²/min angezeigt, die für die weitere Bewertung des Tests von Bedeutung ist. Es erfolgt eine kontinuierliche Datenaufnahme mit danach angezeigtem arithmetisches Mittel als endgültiges Testergebnis. Nach dem Abnehmen der Elektrodenhalter erfolgte das Trocknen der Hautoberfläche und die Inspektion auf mögliche Hautreaktionen oder Nebenwirkungen.

2.2.3 Bewertung des Schweißtests

Während bei dem klassischen Schweißtest quantitativ die Schweißchloridkonzentration bestimmt wird, erfolgt die Messung der Leitfähigkeit indirekt über die Bestimmung der totalen Anionenaktivität in der gesammelten Probe. Der als NaCl-Äquivalent ausgedrückte Wert der Leitfähigkeit liegt aufgrund von verschiedener Anionen, wie etwa Laktat und Bikarbonat, um etwa 15 - 20 mmol/L höher als die bisher üblichen Werte für die Messung der Schweißchloridkonzentration (48). Der Referenzwert für ein normales Testergebnis liegt bei der Leitfähigkeitsmessung bei < 60 mmol/L, während er für die Chloridbestimmung mit < 30 mmol/L angegeben wird (32, 33, 56). Ein Leitfähigkeitswert von > 80 mmol/L ist verdächtig für das Vorliegen einer Cystischen Fibrose (Tab. 4, 50).

Tab. 4: Referenzwerte für Chloridkonzentration und Leitfähigkeit

	Chloridkonzentration	Leitfähigkeit
negativ	< 30 mmol/L	< 60 mmol/L
borderline	30 - 60 mmol/L	60 - 80 mmol/L
positiv	> 60 mmol/L	> 80 mmol/L

Wenn die initiale Schweißrate weniger als 1 g/m²/min betrug oder die Leitfähigkeit über dem derzeit gültigen Grenzwert von 60 mmol/L NaCl-Äquivalente lag, wurde der Test kurz darauf am selben Tag am kontralateralen Unterarm wiederholt. Bei erneuter Überschreitung des Grenzwertes war ein konventioneller Schweißtest in der 6. Lebenswoche mittels flammenphotometrischer Bestimmung der Natriumkonzentration vorgesehen, um eine Cystische Fibrose auszuschließen (67). Das Monitoring der Nebenwirkungen beinhaltete die Evaluation lokaler Rötungen und Hautirritationen an Stellen, an denen die Elektroden angebracht waren, sowie die Dokumentation von Zeichen unangenehmer Empfindungen, wie Weinen und Agitation.

2.2.4 Statistik

Der Einfluss der unabhängigen Variablen Geburtsgewicht, Gestationsalter, Lebensalter und Geschlecht auf den Testerfolg, die Schweißrate und die Leitfähigkeit wurde mittels Chi-Quadrat nach Pearson, Mann-Whitney-U-Test, T-Test (mit vorausgesetztem Levene-Test), Jonckheere-Terpstra-Test und durch Bestimmung des Spearman-Rho-Korrelationskoeffizienten untersucht. Die Gleich- bzw. Normalverteilung der Variablen wurde mittels Chi-Quadrat nach Pearson bzw. Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest untersucht. Eine multivariate Analyse der kombinierten Parameter erfolgte anhand eines logistischen Regressionsmodells. Ab einem P-Wert von $\leq 0,05$ wurde statistische Signifikanz angenommen. Zur Erstellung der deskriptiven Statistiken, der Graphiken und sowie der statistischen Auswertung wurde das Programm SPSS Statistics 17.0 (SPSS Inc, Chicago, Illinois) verwendet.

3 Ergebnisse

Es wurden 81 gesunde Frühgeborene kaukasischer Rasse zwischen dem dritten und siebten Lebenstag untersucht. Davon waren 44 (54 %) der Probanden männlich. Von den Tests waren 38 erfolgreich. Das mediane Geburtsgewicht lag in dieser Gruppe bei 2670 g (Interquartilbereich von 708 g).

3.1 Testerfolg

Der Schweißtest konnte bei 38 (46,9 %) Probanden erfolgreich durchgeführt werden. In 43 Fällen wurde kein Ergebnis erzielt, da bei diesen Fällen die initiale Schweißrate auch bei wiederholter Messung $< 1 \text{ g/m}^2/\text{min}$ war bzw. kein Ergebnis angezeigt wurde. Der Testerfolg war signifikant abhängig vom Geburtsgewicht ($p = 0,025$; Chi-Quadrat nach Pearson, Tab. 5) der Probanden und schwach signifikant von dem Gestationsalter der Probanden ($p = 0,05$; Chi-Quadrat nach Pearson, Tab. 7). Die Probandengruppe mit einem Geburtsgewicht $\geq 3000\text{g}$ hatte einen erfolgreichen Test in 83,3 % der Fälle. In der Geburtsgewichtsgruppe von $< 3000 \text{ g} - 2500 \text{ g}$ war der Test bei 50 % der Probanden erfolgreich. Der Testerfolg mit einem Geburtsgewicht des Probanden von $< 2500 \text{ g}$ lag bei 38,5 % und in der Gruppe $< 2000 \text{ g}$ war der Test nur noch bei 29,4 % der Probanden erfolgreich (Tab. 5).

Ein logistisches Regressionsmodell zeigte, dass das Geburtsgewicht die einzige unabhängige Variable mit einem signifikanten Einfluss auf den Testerfolg darstellte ($p = 0,005$; Spearman-Korrelation).

Frühgeborene mit einem Geburtsgewicht von $> 2300 \text{ g}$ hatten eine 2,9-mal bessere Chance auf einen erfolgreichen Test als leichtere Frühgeborene (Odds-Ratio 2,93; 95 % KI 1,15 - 7,49; $p = 0,019$; Abb. 5, Tab. 6).

**Tab. 5: Testerfolg in Abhängigkeit vom Geburtsgewicht ($p = 0,025$;
Chi-Quadrat nach Pearson)**

Geburtsgewicht (g)	Erfolg	Kein Erfolg
< 2000	5 (29,4 %)	12 (70,6 %)
2000 - < 2500	10 (38,5 %)	16 (61,5 %)
2500 - < 3000	13 (50,0 %)	13 (50,0 %)
3000 und >	10 (83,3 %)	2 (16,7 %)

Tab. 6: Einteilung des Testerfolgs nach Geburtsgewicht \leq und $>$ 2300g

Geburtsgewicht (g)	Erfolg	Kein Erfolg
\leq 2300	31,3 %	68,8 %
$>$ 2300	57,1 %	42,9 %

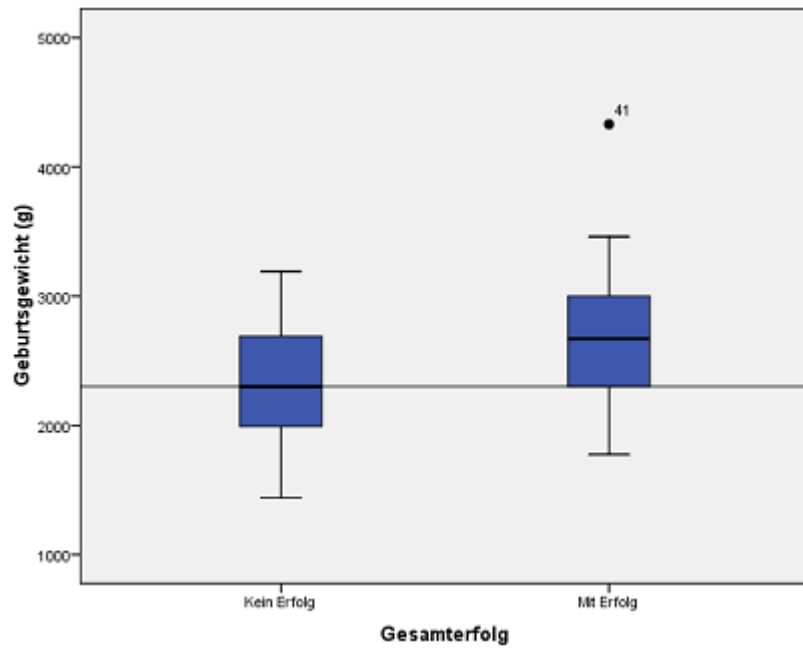


Abb. 5: Verteilung des Geburtsgewichts nach Testerfolg mit Bezugslinie bei Geburtsgewicht = 2300 g; ° = Ausreißer

**7: Testerfolg in Abhängigkeit vom Gestationsalter ($p = 0,05$;
Chi-Quadrat nach Pearson)**

Gestationsalter (SSW)	Erfolg	Kein Erfolg
33	3 (30,0 %)	7 (70,0 %)
34	7 (33,3 %)	14 (66,7 %)
35	15 (71,4 %)	6 (28,6 %)
36	13 (44,8 %)	16 (55,2 %)

Das Lebensalter ($p = 0,118$) und das Geschlecht ($p = 0,292$) der Probanden hatten keinen Einfluss auf den Testerfolg (Chi-Quadrat nach Pearson, Tab. 8 - 9).

Tab. 8: Testerfolg in Abhängigkeit vom Alter ($p = 0,118$; Chi-Quadrat nach Pearson)

Lebensalter (d)	Erfolg	Kein Erfolg
3	3 (33,3 %)	6 (66,7 %)
4	8 (66,7 %)	4 (33,3 %)
5	9 (60,0 %)	6 (40,0 %)
6	10 (55,6 %)	8 (44,4 %)
7	8 (29,6 %)	19 (70,4 %)

Tab. 9: Testerfolg in Abhängigkeit vom Geschlecht ($p = 0,292$; Chi-Quadrat nach Pearson)

Geschlecht	Erfolg	Kein Erfolg
männlich	23 (52,3 %)	21 (47,7 %)
weiblich	15 (40,5 %)	22 (59,5 %)

3.2 Schweißrate

In den durchgeführten Tests wurde eine mediane Schweißrate von 1,7 g/m²/min ermittelt. Es bestand kein Zusammenhang zwischen Geburtsgewicht, Gestationsalter, Alter und Geschlecht mit der Schweißrate (Jonckheere-Terpstra-Test, Mann-Whitney-U-Test; Abb. 6 - 7).

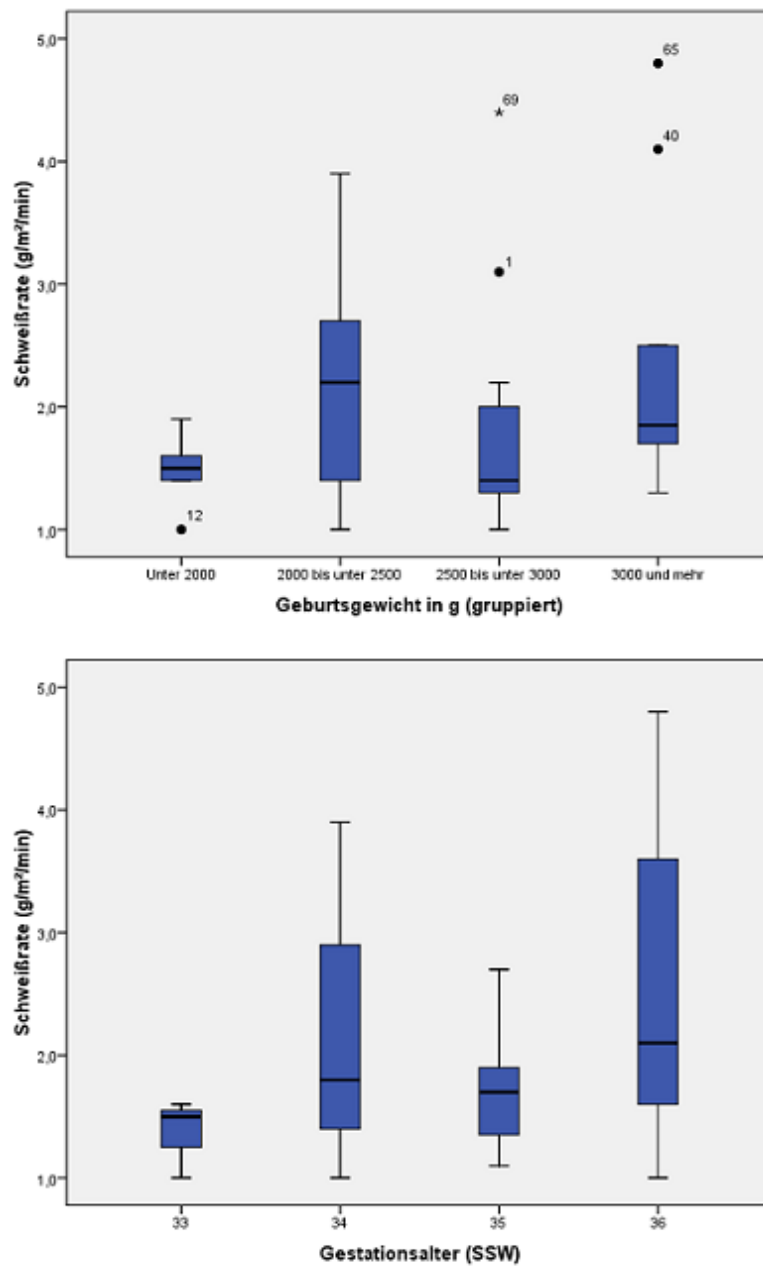


Abb. 6: Zusammenhang zwischen Schweißrate (g/m²/min) und Geburtsgewicht ($p = 0,285$), Gestationsalter ($p = 0,136$; alle Jonckheere-Terpstra-Test); ° = Ausreißer, * = Extremwerte

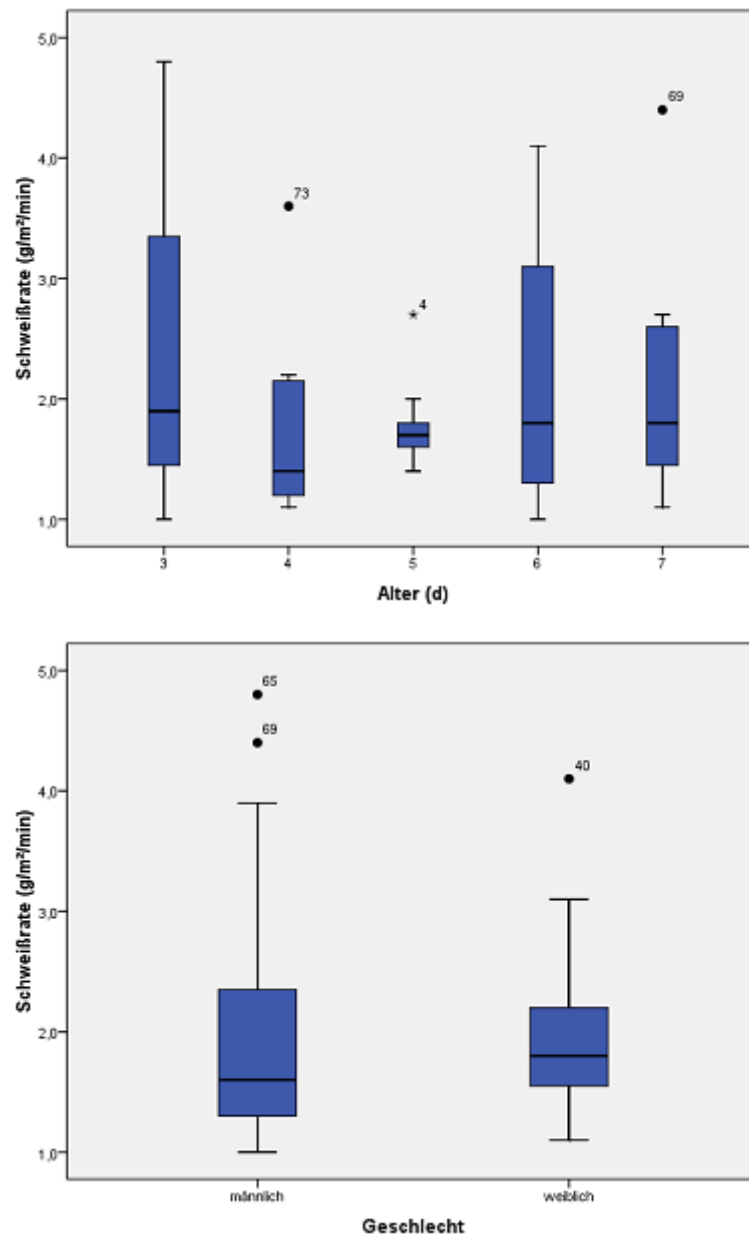


Abb. 7: Zusammenhang zwischen Schweißrate (g/m²/min) und Alter (p = 0,238; Jonckheere-Terpstra-Test), Geschlecht (p = 0,369; Mann-Whitney-U-Test); ° = Ausreißer, * = Extremwerte

3.3 Leitfähigkeit

In den durchgeführten Tests wurde eine mediane Leitfähigkeit von 38,5 mmol/L ermittelt. Es bestand kein Zusammenhang zwischen Leitfähigkeit und dem Geburtsgewicht, Gestationsalter, Lebensalter oder Geschlecht (Abb. 8 - 9).

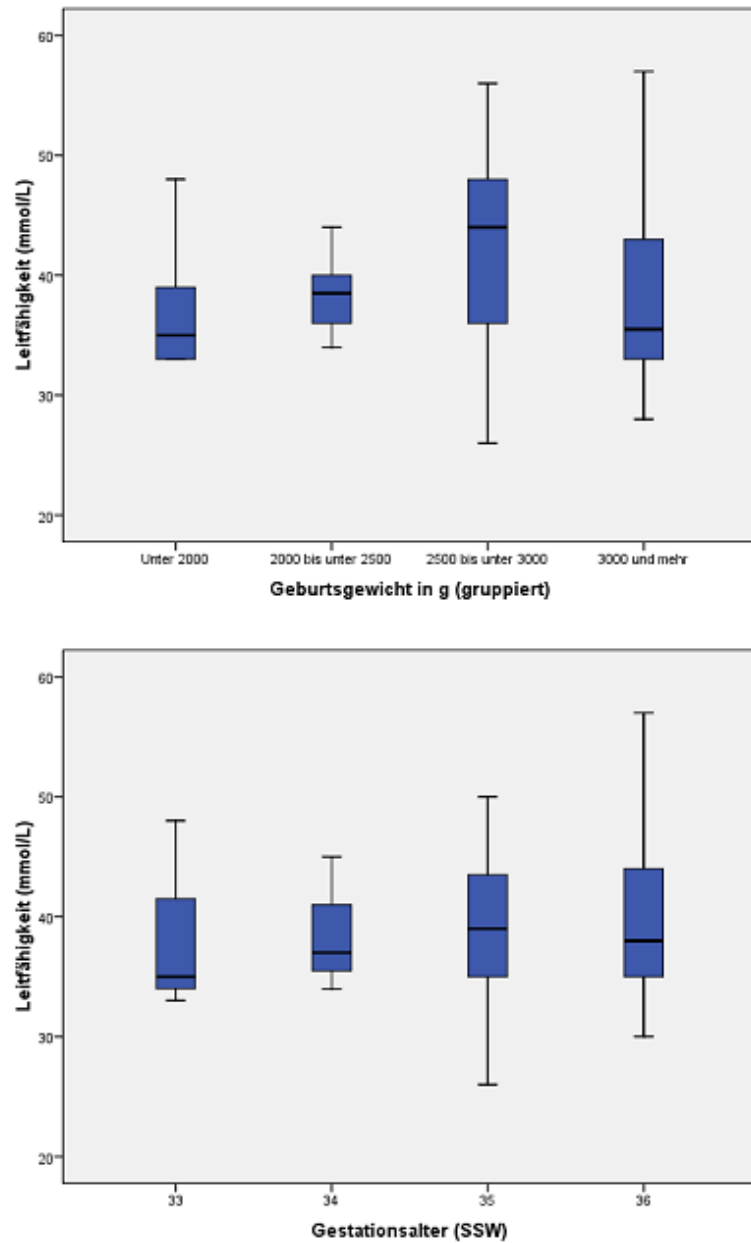


Abb. 8: Zusammenhang zwischen Leitfähigkeit (mmol/L in NaCl-Äquivalenten) und Geburtsgewicht ($p = 0,809$), Gestationsalter ($p = 0,485$, alle Jonckheere-Terpstra-Trend-Test); ° = Ausreißer, * = Extremwerte

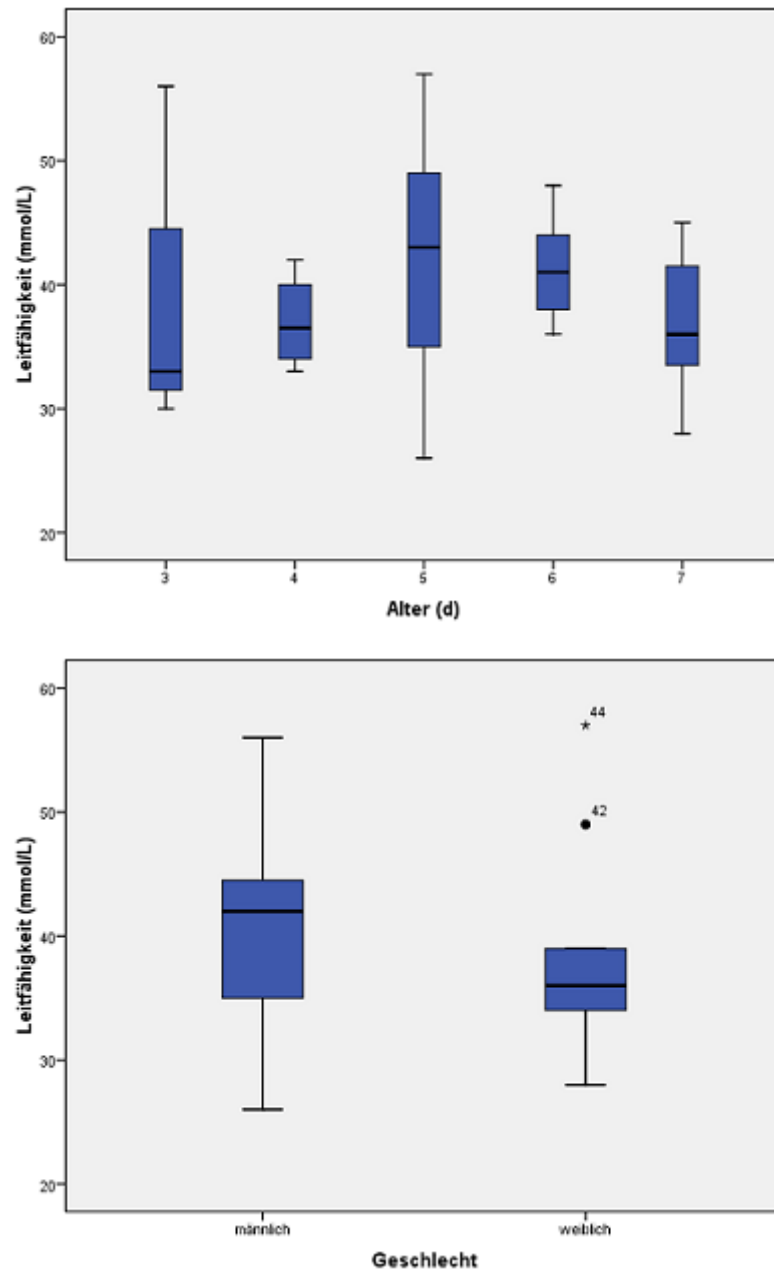


Abb. 9: Zusammenhang zwischen Leitfähigkeit (mmol/L in NaCl-Äquivalenten) und Alter ($p = 0,661$, Jonckheere-Terpstra-Trend-Test) und Geschlecht ($p = 0,123$, Mann-Whitney-U-Test) ° = Ausreißer, * = Extremwerte

4 Diskussion

Die vorliegende Studie wurde durchgeführt, um den Schweißtest an gesunden Frühgeborenen unter Verwendung des neuen Nanoduct®-Schweißanalyse-systems im Hinblick auf ein mögliches Neugeborenen-Screening zu evaluieren. Verschiedene Parameter (Geburtsgewicht, Lebens-tag, Gestationsalter, Geschlecht) wurden mit der Annahme untersucht, dass sie einen Einfluss auf das Ergebnis des Schweißtests haben könnten. Dabei konnte festgestellt werden, dass der Testerfolg abhängig vom Geburtsgewicht ist. Dies stellt jedoch bei Frühgeborenen einen limitierenden Faktor in der Anwendbarkeit des Schweißtests bei klinischen Hinweisen auf eine Cystische Fibrose oder in Screeningprogrammen dar.

4.1 Testerfolg und Schweißrate in Abhängigkeit zur Hautphysiologie eines Frühgeborenen

Die Messung des Schweißchlorids ist zeitaufwändig und das Ergebnis ist oft nicht unmittelbar nach dem Test verfügbar (50). Vor allem die von der Cystic Fibrosis Foundation geforderte Mindestschweißmenge von 75 mg, gesammelt über 30 min über ein Filterpapier, bzw. von 15 µl, gesammelt über den Macroduct®-Collector, stellt ein Hauptproblem bei einem Schweißtest an Neugeborenen dar (32, 33, 37). Mit dem in dieser Studie verwendeten neuen Nanoduct®-Schweißanalyse-system ist die Messung der Schweißleitfähigkeit mit nur 3 µl Schweiß möglich. Das Ergebnis wird innerhalb von 30 Minuten angezeigt. Dies ermöglicht meist erst die Durchführung eines Schweißtestes bei Neu- und Frühgeborenen aufgrund der geringen benötigten Schweißmenge, da ihre produzierte Schweißmenge signifikant niedriger ist, als die älterer Säuglinge (31, 32, 46, 50). Der Grund hierfür ist die niedrigere Schweißrate pro aktivierter Schweißdrüse bei Neugeborenen im Vergleich zu Erwachsenen nach chemischer Schweißstimulation (60). Jedoch zu Frühgeborenen ist die Schweißrate bei reifen Neugeborenen höher (64).

Eine 2005 von Eng et al. erschienene retrospektive Studie von 119 Schweißtests an Reif- und Frühgeborenen gab Hinweise, dass der Erfolg eines Test innerhalb der 6. Lebenswoche am sichersten durchzuführen ist, wenn das Kind zum Testzeitpunkt über 2000 g schwer und älter als die 36. Postkonzeptionalwoche ist (30). Auch in der

vorliegenden Studie hing der Testerfolg ausschließlich vom Geburtsgewicht ab. Dies bestätigte sich in einer multivariaten Regressionsanalyse. Je leichter ein Kind war, umso höher war die Wahrscheinlichkeit eines nicht erfolgreichen Tests. Bei einem Geburtsgewicht des Säuglings < 3000 g war der Test nur zu 50 % erfolgreich, bei < 2500 g lag der Erfolg bei nur 38,5 % und bei einem Gewicht < 2000 g war der Test nur zu 29,4 % erfolgreich. Ein Kind mit einem Körpergewicht ≥ 3000 g bot demgegenüber jedoch ein Testerfolg von 83,3 %. Es konnte in der vorliegenden Studie mit Bestimmung der Odds Ratio für Testerfolg (OR = 2,933; 95 % KI [1,149 - 7,490]) in Abhängigkeit zum Geburtsgewicht die Aussage getroffen werden, dass die Chance eines Testerfolgs bei einem Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht > 2300 g 2,9-mal größer war als für leichtere Frühgeborene. Der Testerfolg liegt hierbei dennoch deutlich unter dem von der Cystic Fibrosis Foundation geforderten Mindestanteil von ≥ 95 % gültigen Tests für Kinder über 3 Monate und entsprechend den UK-Leitlinien von 90 % in allen Altersgruppen (35, 80). Diese Ergebnisse lassen sich mit denen von Eng et al. vergleichen, der in seiner Arbeit jedoch wesentlich weniger Fälle von nicht ausreichender Schweißproduktion in der Gewichtsgruppe von 2000 g bis 3000 g beobachtete (30). Dort wird die Rate der nicht erfolgreichen Tests in dieser Gruppe mit 31,3 % bei kleineren Fallzahlen ($n = 32$) angegeben. In der vorliegenden Studie lag die durchschnittliche Fehlerquote jedoch bei 53 % in der Geburtsgewichtsgruppe 2000 g bis < 3000 g ($n = 52$). Wobei beachtet werden muss, dass das Geburtsgewicht von 3000 g hierbei nicht mit eingeschlossen ist. Eng et al. gaben bei einem Gewicht > 3500 g ($n = 37$) eine Fehlerrate von nur 5,4 % an. In der Gruppe > 3000 g Geburtsgewicht ($n = 12$) lag der Misserfolg in dieser Studie bei 16,7 %. Hieraus lässt sich demnach eine direkte Abhängigkeit zwischen Testerfolg und Körpergewicht des Probanden feststellen. Bereits in den UK-Leitlinien 2003 wurde darauf hingewiesen, dass der Schweißtest (Chloridkonzentrationsbestimmung) bei Kindern mit einem Geburtsgewicht < 3000 g aufgrund unzureichender Schweißmengen schwierig sein könnte und primär erst ab einem Gewicht von über 3 kg durchgeführt werden sollte (Empfehlungsgrad C bei Evidenzlevel IV; 68). Die Cystic Fibrosis Foundation hingegen gab zum Gewicht eines Probanden keine Empfehlung. Sie verwies auf die Mindestschweißmenge von 75 mg per Quantitativem Pilocarpin-Iontophorese Test (QPIT) bzw. 15 μ l per Macroduct®-System, um valide Schweißtest-Resultate zu erzielen. Dabei ist es notwendig, eine angemessene Schweißrate von mindestens 1 $\text{g}/\text{m}^2/\text{min}$ zu erreichen, um eine entsprechende Schweißelektrolytkonzentration zu gewährleisten (33).

Eine 2008 veröffentlichte Studie von Desax et al. berichtet über den Einsatz des Nanoduct®-Systems an 1041 Probanden unterschiedlichen Alters an drei Kinderkliniken in der Schweiz. Davon waren 95 der Tests nicht erfolgreich, was eine Fehlerrate der gesamten Tests von 9,1 % entspricht. Hauptsächlich in der Neugeborenen- und Frühgeborenenengruppe (32,4 - 43 SSW, Gewicht 1825 - 4340 g, Median 3002 g) mit einem Alter von unter 4 Wochen war die Fehlerquote mit 52% von 54 Tests am höchsten. Von 14 Frühgeborenen (32,4 - 36,6 SSW) konnte nur in drei Fällen der Schweiß erfolgreich analysiert werden. Die Autoren kamen zu dem Schluss, dass ein erfolgreicher Test ebenfalls signifikant vom Geburtsgewicht ($p < 0,01$) abhängt, jedoch auch vom Gestationsalter ($p < 0,01$), Alter ($p < 0,001$) und der Körpertemperatur ($p < 0,05$) (49). In der vorliegenden Studie konnte ebenfalls eine schwache Signifikanz zum Gestationsalter auf den Testerfolg ermittelt werden ($p = 0,05$), wobei hier die niedrige Fallzahl der jeweiligen GA-Gruppen beachtet werden sollte. In der multivariaten, logistischen Regression konnte diese nicht dargestellt werden. Die Ergebnisse von Desax et al. sind jedoch nicht mit den Ergebnissen der vorliegenden Studie zu vergleichen, da es sich bei Desax et al. überwiegend um Reifgeborene mit einem Geburtsgewicht von über 3000 g in über 50 % der Fälle handelt. Zudem wurden die Tests in nur 47 % der Fälle innerhalb der ersten Lebenswoche durchgeführt. Es gibt keine Angaben darüber, ob eine Multivariatanalyse durchgeführt wurde. Angaben zur Schweißrate erfolgten ebenfalls nicht. Die Studie verglich in einer Untergruppe von 288 Probanden die Leitfähigkeitsbestimmung mit dem Nanoduct®-System und dem Macroduct®-System, wobei die Chloridbestimmung als Goldstandard herangezogen wurde. Im Vergleich zum Macroduct®-System war die Fehlerrate mit dem Nanoduct®-System für die Gesamtprobanden dennoch signifikant geringer (6,3 % vs. 18,4 %). Verglichen mit den Ergebnissen der ersten Studie 2005 von Barben et al. war die Fehlerrate für das Nanoduct®-System etwas erhöht (2,7 % vs. 15,3 %), welches auf die höhere Fehlerrate in der Frühgeborenenengruppe zurückzuführen ist (49). Barben et al. berichteten damals von einer deutlich niedrigeren Ausfallquote von Schweißtests bei älteren Probanden mit dem neuen Nanoduct®-System im Vergleich zur Chloridkonzentrationsbestimmung mit dem Macroduct®-System (2,7 % vs. 15,3 %). Bei 17 Probanden konnte einer oder beide Tests nicht durchgeführt werden. Deren Alter lag zwischen 1 Monat und 7 Jahren (Median 1,3 Jahre), wobei das Alter des gesamten Kollektivs zwischen drei Wochen und 60 Jahren lag. Bei 14 Kindern konnte

ausschließlich die Leitfähigkeit mit dem neuen Gerät getestet werden. 10 von diesen 14 Kindern hatten keine suffiziente Schweißproduktion ($< 15 \mu\text{l}$), um eine Chlorid- oder Osmolalitätsbestimmung durchführen zu können. Hier konnte ausschließlich die Leitfähigkeitsbestimmung erfolgen. Die mittlere Leitfähigkeit wurde bei ihnen mit 32 mmol/L angegeben. Sie lag demnach im Vergleich zur gesamten gesunden Population (32 mmol/L vs. 36 mmol/L) etwas niedriger. Die mittlere Schweißrate lag bei 3,3 g/m²/min und damit deutlich über der in der vorliegenden Studie gemessenen Schweißrate (Median 1,7 g/m²/min) an Frühgeborenen. Nur 3 Kinder von 111 Probanden hatten keine suffiziente Schweißproduktion ($< 3 \mu\text{l}$) bei der Leitfähigkeitsmessung und nur zwei Kinder hatten eine Schweißrate $< 1 \text{ g/m}^2/\text{min}$ und wurden somit nicht eingeschlossen (50).

Eng et al. stellten in ihrer retrospektiven Analyse von 119 Schweißtests (Chloridkonzentrationsbestimmung) an 103 Reif- und Frühgeborenen im Jahr 2005 fest, dass vor allem Kinder mit einem Geburtsgewicht $\leq 2000 \text{ g}$, Frühgeborene und Kinder afroamerikanischer Abstammung eine deutlich höhere Tendenz aufweisen, unzureichende Schweißmengen zu produzieren. In einem daraufhin von ihnen durchgeführten multivariablen logistischen Modell zeigten sich jedoch nur die Faktoren „afroamerikanische Abstammung“ und „Postmenstrual-Alter $\leq 36 \text{ SSW}$ “ als Prädiktoren für eine ungenügende Schweißmenge und damit für einen nicht erfolgreichen Schweißtest (30). Einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Geburtsgewicht oder Lebensalter der Probanden und der Schweißrate gab es nicht. Im Vergleich zu der vorliegenden Studie konnte bei geringerer Fallzahl keine Korrelation zwischen der Schweißrate und dem Geburtsgewicht, dem Gestationsalter, dem Alter und dem Geschlecht ermittelt werden. Es sei jedoch darauf hingewiesen, dass bei Eng et al. ein anderer Parameter zur Multivariatanalyse (Postmenstrual-Alter oder Postkonzeptional-Alter = GA + Lebensalter) verwendet wurde. Auch wurde hier das Geschlecht nicht berücksichtigt. Hardy et al. bestimmten 1973 die Schweißproduktion an 65 Kindern, die 2 Stunden und bis zu 2 Monate alt waren, mit einer Erfolgsrate von 89 % (45). Es wurde jedoch nicht zwischen Früh- und Reifgeborenen unterschieden. Auch ein groß angelegtes Screeningprogramm in Wisconsin an 725 Kindern zeigte unter Nutzung des Macroduct®-Collection-Systems eine Testerfolgsrate von 93 %. Es gab keinen signifikanten Unterschied im Testerfolg bei Kindern mit einem Alter unter 6 Wochen und denen über 6 Wochen (31). Allerdings vernachlässigt diese Studie das Gewicht der

Probanden. Taccetti et al. konstatierten 2004 ebenfalls, dass zwischen Lebensalter und Schweißrate kein signifikanter Zusammenhang besteht (68). LeGrys et al. beschrieben in einer weiteren Studie Unterschiede hinsichtlich des Anteils nicht erfolgreicher Tests beim Vergleich von Probanden aller Altersgruppen (2 Tage bis 70 Jahren) mit Neugeborenen in einem Alter unter 6 Wochen (1,6 % vs. 4,7 %). Diese Differenz wurde für klinisch nicht relevant befunden (69). Hinsichtlich des Einflusses des Geschlechts der Probanden auf die Schweißrate finden sich in der Literatur keine Ergebnisse.

Der Grund für die Abhängigkeit des Testerfolgs vom Geburtsgewicht und nicht der Schweißrate vom Geburtsgewicht ist nicht ganz klar. Es kann vermutet werden, dass ein höheres Geburtsgewicht auch mit einer fortgeschritteneren Funktionalität der Schweißdrüsen zum Schwitzen einhergeht. Einen ähnlichen Zusammenhang zeigen auch frühere Studien, in denen mittels chemischer Schweißstimulation nachgewiesen werden konnte, dass die Schweißdrüsendichte bei Neugeborenen um das 6,5 fache höher ist als bei Erwachsenen, die Schweißrate pro aktivierter Schweißdrüse dagegen um 1/3 geringer ist und erst nach der Geburt ansteigt (60, 61, 62). Das Gewicht wurde hierbei jedoch nicht berücksichtigt. Andere Autoren stellten eine signifikant umgekehrte Proportionalität zwischen Alter und elektrischem Hautwiderstand bei Neugeborenen fest. Dies resultiert aus dem Anstieg der Hautfeuchtigkeit im ersten Lebensjahr aufgrund der zunehmenden funktionalen Reife der Schweißdrüsen. Bei Frühgeborenen war dies aber erst mit fortgeschrittener Reife der physiologischen Hautbarriere zu beobachten. Zuvor war aufgrund der unreifen Haut die Diffusion von Wasser durch die Haut zu hoch, so dass zunächst geringe Hautwiderstandswerte beobachtet wurden, die dann mit zunehmender Reife, ähnlich einem Neugeborenen, ihr Maximum erreichten (70, 71). Zum Körpergewicht wurden hierbei keine Angaben gemacht. Es kann also angenommen werden, dass es eine Abhängigkeit in Bezug auf die Hautreife und dem Geburtsgewicht gibt, denn je schwerer die Neu- und Frühgeborenen sind, umso höher ist die Wahrscheinlichkeit für einen erfolgreichen Schweißtest. Lediglich die Mindestmenge an Schweiß ist für einen Testerfolg verantwortlich und nicht die maximale Schweißrate, also wie viel Schweiß in einer gewissen Zeitspanne produziert wird. Auch ist in der vorliegenden Studie die Höhe der Schweißrate nicht direkt proportional zum Geburtsgewicht oder Alter. Das heißt, die Höhe der Schweißrate steigt offensichtlich nicht, wenn ein Frühgeborenes reifer oder älter ist, sondern es erhöht sich lediglich die Fähigkeit zur Schweißproduktion. Es muss zudem berücksichtigt werden,

dass niedrigere Schweißraten $< 1 \text{ g/m}^2/\text{min}$ in der vorliegenden Studie ($n = 15$ von insgesamt 129 Tests [11,6 %]) als ungültig angesehen und somit ausgeschlossen wurden. Die mediane Schweißrate lag in dieser Studie bei $1,7 \text{ g/m}^2/\text{min}$, also unter der von Barben et al. 2005 angegebenen Schweißrate von $3,3 \text{ g/m}^2/\text{min}$ aller Altersgruppen. Es scheint demnach eine niedrigere Schweißrate bei Frühgeborenen zu geben und auch eine daraus resultierende niedrigere Schweißmenge. Die Schweißmenge scheint also der limitierende Faktor im Schweißtest zu sein. Hammond et al. verglichen 1994 an 1090 Patienten über 10 Jahre die Schweißchloridbestimmung mit dem Macroduct®-Collection-System und dem quantitativen Pilocarpin-Iontophorese Test (QPIT). Dabei bestand der größte Nachteil des Macroduct®-Collection-Systems in der insuffizienten Schweißmenge bei 6,1 % der getesteten Probanden im Vergleich zu 0,7 % der Probanden, getestet mit dem QPIT (48). Auch Mastella et al. fanden im Jahre 2000 zwar eine gute Sensitivität und Spezifität für das getestete Leitfähigkeits-Analyse-Gerät, doch 9,1 % aller Probanden unterschiedlichen Alters hatten eine Schweißmenge von $< 15 \mu\text{l}$, welche für die Leitfähigkeitsbestimmung notwendig war. Vor allem in der Altersgruppe der jünger als 4 Monate alten Probanden waren inadäquate Schweißmengen aufgetreten (51).

Diese Daten weisen darauf hin, dass der Schweißtest bei einem Neu- bzw. Frühgeborenen limitiert ist. Der Grund dafür ist ein noch nicht gut entwickeltes Schwitzen auf thermale oder chemische Stimulation. Obwohl die Anzahl von circa 3 Millionen Schweißdrüsen im 7. Gestationsmonat komplett und die Dichte der Schweißporen auf der Hautoberfläche wesentlich höher als bei einem Erwachsenen ist, ist die Menge, die von jeder einzelnen Schweißdrüse produziert wird, wesentlich geringer. Zudem ist eine hohe Temperatur notwendig, um Schwitzen zu induzieren (54). Je höher Gestationsalter und Postnatalalter von Neugeborenen sind, um so besser können diese auf thermale und auf chemische Reizung hin schwitzen, wobei die Schweißproduktion früher auf chemische als auf thermische Reize einsetzt (60, 61, 64).

Die heutigen Schweißtests zum Ausschluss einer Mukoviszidose werden standardisiert an den Unterarmen durchgeführt. Andere Körperstellen, wie etwa Stirn, Oberarm oder Brustbereich, könnten unter Umständen zur Gewinnung größerer Schweißmengen und somit zur Steigerung der Anzahl erfolgreicher Tests beitragen. Denn die Schweißproduktion ist bei Neu- als auch bei Frühgeborenen nicht überall gleich,

sondern abhängig von der Körperregion. In der ersten Lebenswoche besteht außerdem eine strenge Korrelation zwischen dem Gestationsalter und den zum Schwitzen fähigen Körperteilen. So ist die Schweißrate an der Stirn am größten, während sie am Brustkorb und Oberarm etwas geringer, jedoch höher als an den unteren Extremitäten oder anderen Regionen ist (64). Frühgeborene schwitzen vorwiegend an der Stirn bei thermaler Reizung. Nach der ersten Lebenswoche breitet es sich kaudal von der Stirn zum Rumpf sowie zu den Armen und Beinen aus (64). Dies entspricht genau der Reihenfolge, in der die Entwicklung der Drüsen während der Fetalzeit abläuft (54). Je älter also ein Frühgeborenes wird, umso mehr besteht die Fähigkeit an verschiedenen Körperregionen zu schwitzen und umso höher wird die Schweißrate, die aber nur langsam ansteigt. Die Außentemperatur, die benötigt wird, um Schwitzen bei Frühgeborenen zu induzieren, ist höher als beim reifen Neugeborenen und fällt mit dem Postnatalalter. Auch bei Neugeborenen ist die notwendige Temperatur zum Schwitzen in der ersten Lebenswoche signifikant höher als in der zweiten Lebenswoche, im Vergleich zum Frühgeborenen jedoch geringer. An den Händen und Füßen wird in den ersten Lebenswochen kein Schwitzen auf thermale Reizung hin beobachtet (64).

Dies spiegelt sich auch in einer weiteren Beobachtung in der vorliegenden Studie wider. Neun Schweißtests wurden an Frühgeborenen durchgeführt, während sie aufgrund eines Neugeborenenikterus eine Phototherapie erhielten und damit einer höheren Umgebungstemperatur ausgesetzt waren. Sechs Tests waren darunter erfolgreich, wobei vier Frühgeborene ein Geburtsgewicht > 2300 g hatten und nur eines ein Geburtsgewicht > 3000 g. Zudem wurden die Tests in dieser Studie mit dem Nanoduct®-Gerät am Unterarm durchgeführt. Tests am Oberarm der Frühgeborenen hätten unter Umständen bessere Erfolge aufgrund der regionalen Schweißproduktionsunterschiede erzielen können.

Schwitzen auf chemische Reizung, wie intradermale Injektion von Acetylcholin, Adrenalin, Nikotin oder Neostigmin, ist bei Frühgeborenen anfangs beeinträchtigt oder noch nicht möglich. Dies entwickelt sich erst mit dem weiteren postnatalen Wachstum. Es ist schwierig, Vergleiche zwischen thermalem und chemischem Schwitzen aufzustellen, da meistens bei chemischen Untersuchungen der Oberschenkel oder Oberarm verwendet werden und nicht die Stirn, die Brust oder der Unterarm, bei denen thermales Schwitzen meist zuerst beobachtet wird. In einigen Untersuchungen konnte

festgestellt werden, dass das chemische Schwitzen bei Frühgeborenen fortgeschrittener ist, als Schwitzen auf thermale Reizung. Damit kann vermutet werden, dass für die mangelnde Fähigkeit zu schwitzen nicht die Unreife der Schweißdrüsen verantwortlich ist, sondern eher eine neurologische Komponente eine Rolle spielt (55, 60, 61).

Emotionale Stimuli, die für vermehrtes Schwitzen ursächlich sein können, sind Aufregungen in Form von Angst, Schmerz, Erregung, Furcht oder Konzentration. Zufriedenheit, Entspannung oder Schlaf vermindern das Schwitzen. Das emotionale Schwitzen kann direkt über den palmaren und plantaren Wasserverlust gemessen werden oder indirekt über elektrische Eigenschaften der Haut mithilfe der Messung der Conductance oder Resistance. Beide Methoden können bei Neugeborenen angewandt werden (54, 73, 74). Im Neugeborenenalter steigt der palmare Wasserverlust mit dem Zustand der Erregung ab der Geburt. Über die ersten Lebenswochen hinweg zeichnet sich das emotionale Schwitzen immer deutlicher ab. Es ist am geringsten während eines tiefen non-rapid-eye-movement-Schlafes und steigt um das Dreifache während das Neugeborene schreit oder sich heftig bewegt (72). Beim Frühgeborenen ist innerhalb der ersten Lebenswoche der palmare und plantare Wasserverlust im Vergleich zu reifen Neugeborenen geringer. Auch bei maximaler Erregung ist nur eine geringe Steigerung zu beobachten oder nicht vorhanden. Diese Fähigkeit reift jedoch mit zunehmendem postnatalem Alter. Es scheint, dass die Fähigkeit für emotionales Schwitzen nicht nach der Geburt beschleunigt wird, wie es beim thermalen Schwitzen der Fall ist. Erst mit einem postkonzeptionellen Alter von 36 Wochen ist ein abrupter Anstieg der Werte für Wasserverlust zu verzeichnen (55). Das zeigte sich auch in Studien von Harpin und Rutter aus dem Jahr 1982, in denen der palmare Wasserverlust bei Neu- und Frühgeborenen während einer Blutentnahme durch einen Stich aus der Ferse gemessen wurde (63, 72, 73). Ein reifes Neugeborenes zeigte in der Studie sofort einen Anstieg im Wasserverlust. Bei Kindern mit einem Gestationsalter von 37 Wochen und mehr fand man eine klare Beziehung zwischen palmarem Wasserverlust und Erregung vom Tag der Geburt an, die ähnlich der von Erwachsenen war (54, 63). Bei weniger reifen Kindern wurde emotionales Schwitzen am Tag der Geburt gar nicht nachgewiesen. Es konnte erst mit einem Äquivalenzalter von 36 - 37 SSW, unabhängig von der Reife, festgestellt werden, obwohl die palmaren und plantaren Schweißdrüsen im Gestationsalter von 28 Wochen voll entwickelt sind und im Gestationsalter von 18

Wochen die Schweißdrüsen vom peripheren sympathischen Nervensystem innerviert werden (63). Interessanterweise konnte aber durch eine sensitivere Methode, durch Messung der Skin Conductance, emotionales Schwitzen bereits im Gestationsalter von 29 SSW nachgewiesen werden (75). Hierbei werden Emotionen als Veränderung im sympathischen Nervensystem wahrgenommen. Bei Aktivierung des sympathischen Nervensystems füllen sich die palmaren und plantaren Schweißdrüsen und die Skin Conductance steigt und fällt beim Ausschütten von Schweiß wieder ab. Diese sehr sensitive Methode liefert einen guten Hinweis auf emotionales Schwitzen (75). Mit ihr konnte gezeigt werden, dass Kinder mit einem Gestationsalter von 29 SSW und einem Alter von mehr als 10 Tagen auf Emotionen hin schwitzen können. Und dieses vor allem signifikant am stärksten, wenn sie schreien oder erregt sind, und am geringsten im Tiefschlaf.

In dieser Studie wurde kein Zusammenhang zwischen Testerfolg und emotionalen Stimuli gesehen. In 13 Fällen kam es während der Untersuchung zu Unruhe, Zuckungen des Armes, Grimassieren oder sogar zum Schreien des Frühgeborenen. Von diesen Tests waren 5 letztlich gültig. Ob hier der Testerfolg beeinflusst wurde, ist schwer zu sagen. Diese „emotionalen Stimuli“ wurden eher in der Phase der Iontophorese als Nebenwirkung betrachtet. Gezielte Stimuli vor der Untersuchung zur Erhöhung der Schweißproduktion wurden nicht durchgeführt, da bei Durchführung des Tests ein ruhiges, schlafendes Frühgeborenes notwendig war, um ein Verrutschen der Sammelkapillare zu vermeiden.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass der Schweißtest bei Frühgeborenen mit dem Leitfähigkeitsanalysegerät, wie das in dieser Studie evaluierte Nanoduct®-System, zwar durchführbar ist. Die Wahrscheinlichkeit eines Testerfolgs bei einem Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht < 3000 g in der ersten Lebenswoche jedoch aufgrund der besonderen Hautphysiologie und der eingeschränkten Fähigkeit des Schwitzens zu gering ist, so dass die Durchführung des Schweißtests an Frühgeborenen mit dem Leitfähigkeitsanalysegerät nicht empfehlenswert ist. Gegen eine Empfehlung zum Einsatz des Nanoduct®-Gerätes an Frühgeborenen, z. B. als Screeningtool, spricht auch, dass die Schweißtests in dieser Studie lediglich bei 38 (47 %) von 81 Probanden erfolgreich waren. Auch Desax et al. stimmten der Einschätzung zu, dass vor allem die Fehlerrate in der Neugeborenenengruppe, verglichen mit den Macroduct®-System oder

dem QPIT nach Gibson und Cooke, zu hoch ist. Sie stellten mit ihren erhobenen Daten eine mathematische Formel auf, um den besten Zeitpunkt für einen erfolgreichen Test zu bestimmen. Das früheste Alter für einen erfolgreichen Test wird demnach mit $(42 - \text{Gestationsalter})/2$ bestimmt. Das heißt, dass ein Frühgeborenes mit einem Gestationsalter von 34 Wochen erst dann mit einer hohen Wahrscheinlichkeit erfolgreich getestet werden kann, wenn es ein Alter von 4 Wochen erreicht hat (49). In der vorliegenden Studie konnte diese Formel retrospektiv nicht überprüft werden, da die gesamten Tests innerhalb der ersten Lebenswoche durchgeführt wurden. Letztlich bestätigt diese Formel die Aussage, dass ein Kind mit einem niedrigen Gestationsalter eine längere Zeit braucht, um suffizient Schweiß zu produzieren. Ob mit dieser Formel dann tatsächlich die Testerfolgsrate deutlich erhöht werden kann, sollten weitere Studien belegen.

4.2 Leitfähigkeit

4.2.1 Leitfähigkeit: Allgemeines

Es gibt nur wenige Studien, die sich bisher mit der Bestimmung der Schweißelektrolytkonzentration bei Säuglingen speziell während der ersten Lebenswochen beschäftigten. Zwei kleinere Untersuchungen aus den Siebziger Jahren behandelten dieses Thema, können aber einer kritischen Betrachtung heutzutage nicht standhalten, da beispielsweise prä-analytische Fehler, wie die Kontamination mit Blut oder Vernix caesosa, keine dieser beiden Studien berücksichtigte. Durante et al. kamen 1970 unter Verwendung der Pilocarpin-induzierten Iontophorese zu der Feststellung, dass eine kleine Anzahl von Neugeborenen am ersten und vierten Lebenstag erhöhte Natrium- und Chloridkonzentrationen im Schweiß aufweisen. Diese Werte hatten sich im Alter von einem Monat wieder normalisiert (76). 1973 beschrieben Hardy et al. erhöhte Natrium- und Chloridkonzentrationen im Schweiß von Neugeborenen am ersten Lebenstag (Mittelwert 50 mmol/L \pm 8) nach intradermaler Injektion von Bethanechol. Diese Konzentrationen nahmen ebenfalls zwischen dem dritten und siebten Tag auf einen Mittelwert von 34 mmol/L \pm 7 ab (45). Bei lediglich einem der 35 am ersten Lebenstag getesteten Probanden war die Schweißmenge nicht ausreichend.

Verschiedenste Methoden, wie die Natrium- und Chloridbestimmung, die Osmolalitäts-

und Leitfähigkeitsmessung sind in den letzten Jahrzehnten zur Schweißevaluation entwickelt worden. Während die Chloridgehaltbestimmung weiterhin den Goldstandard in der CF-Diagnostik darstellt, gewinnt die Bestimmung der Leitfähigkeit zunehmend an Bedeutung (46). Die Bestimmung der Leitfähigkeit erfolgt anhand einer nichtspezifischen Messung der totalen Anionenaktivität im Schweiß. Damit übersteigen die Referenzwerte die der Natrium- oder Chloridbestimmung (29). Derzeit gültige Richtlinien geben Werte, gemessen in NaCl-Äquivalenten, von unter 60 mmol/L als normal an. Werte zwischen 60 und 80 mmol/L werden als verdächtig eingestuft und sind kontrollbedürftig. Leitfähigkeitswerte von über 80 mmol/L gelten als pathologisch (37, 68). Die mittlere Schweißrate sollte nicht weniger als 1 g/m²/min betragen, da die Elektrolytkonzentration im Schweiß in Beziehung zur Schweißrate steht und abnimmt, wenn diese Rate zu niedrig ist (35, 37). Vorangegangene Untersuchungen an gesunden Probanden geben mittlere oder mediane Leitfähigkeitswerte für verschiedene Altersgruppen im Bereich von 33,4 bis 51 mmol/L NaCl-Äquivalenten an (Tab. 10, 36, 46, 48, 49, 50, 51, 77).

Die mediane Leitfähigkeit in der vorliegenden Studie lag bei 38,5 mmol/L innerhalb der ersten Lebenswoche. Dies würde ebenfalls den Werten der vorangegangenen Studien entsprechen. Die letzte große Studie von 2008 mit Bestimmung von Referenzwerten der Schweißleitfähigkeit für 900 Non-CF Patienten und 46 CF-Patienten erfolgte durch Desax et al. über einen Zeitraum von 3 Jahren. Unter den insgesamt 1041 Probanden, waren 66 Neugeborene (32,4 - 43 SSW, Mean GA 38,5 SSW, Gewicht 1825 - 4340 g, Median 3002 g) und darunter 14 Frühgeborene (32,4 - 36,6 SSW), deren Test nur in 3 Fällen (21 %) erfolgreich war. Die mittlere Leitfähigkeit in der gesamten Non-CF Gruppe wurde mit 37,0 mmol/L und die für CF-Patienten mit 114,5 mmol/L angegeben. In der Neugeborenenengruppe wurde hingegen für die gesunden Säuglinge ein mittlerer Leitfähigkeitswert von 51 mmol/L in dem ersten Lebensmonat ermittelt. In Annahme eines Ausschlusses einer CF mit einer Leitfähigkeit von 59 mmol/L wurden alle 46 CF-Patienten (im Alter von 2 - 24 Jahren) mit einer 100 %-igen Sensitivität korrekt diagnostiziert. Allein 39 Non-CF-Patienten wurden mit einer Spezifität von 95,7 % falsch-positiv diagnostiziert (49). Zwei weitere Untersuchungen beschäftigten sich mit Referenzwerten der Schweißleitfähigkeit. Heeley et al. beschrieben im Jahr 2000 die mittlere Leitfähigkeit bei an CF erkrankten Probanden mit 110 mmol/L und bei Gesunden mit 37 mmol/L (36). Die größte Untersuchung in diesem Zusammenhang stammt von

Lezana et al. aus dem Jahr 2003, die über einen Zeitraum von zehn Jahren Leitfähigkeitsmessungen bei insgesamt 3834 Probanden durchführten (46). Der ermittelte Median für Probanden mit CF lag bei 111 mmol/L und für gesunde Probanden bei 36 mmol/L. Diese Studie kalkulierte Leitfähigkeitswerte von ≥ 90 mmol/L als Referenzwert für die Diagnose einer CF, mit einer Sensitivität von 99,7 % und einer Spezifität von 100 %. Allerdings berücksichtigten beide genannten Studien nicht die speziellen Probleme des Schweißtests bei Neugeborenen, da in ihnen Probanden aller Altersgruppen untersucht wurden. Lediglich die Studie von Desax et al. von 2008 beschreibt einen differenten Leitfähigkeitswert (51 mmol/L) für Säuglinge im ersten Lebensmonat im Vergleich zu der Leitfähigkeit der gesamten Altersgruppenpopulation. Die mittlere Leitfähigkeit lag jedoch auch in den Untersuchungen von Barben et al. (2005), v. d. Merve et al. (2002), Mastella et al. (2000) und Hammond et al. (1994) zwischen 33,4 und 39,8 mmol/L (Tab. 10, 36, 46, 48, 49, 50, 51, 77).

Tab. 10: Schweißleitfähigkeit in NaCl-Äquivalenten aus der vorliegenden Studie im Vergleich zu anderen Untersuchungen

		Vorliegende Studie	Desax et al. 2008	Desax et al. 2008	Barben et al. 2005	Mastella et al. 2000	Lezana et al. 2003	v. d. Merwe et al. 2002	Heely et al. 2000	Hammond et al. 1994
Alter		3 - 7 d	erster Lebensmonat	1 Monat bis > 16 Jahre	3 Wochen bis 60 Jahre	3 Tage bis 78 Jahre	1 Monat bis 54 Jahre	2. bis 42. Monat	½ Monat bis 14 Jahre	12 Tage bis 46 Jahre
Probanden	n	38	54	900	73	184	3540	20	154	471
Leitfähigkeit (mmol/L)	Mittel	39,6	51	37	36	39,8	k. A.	38,9	37	33,4
	SD	7,1	k. A.	k. A.	9	14,4	k. A.	k. A.	10	11,2
	Median	38,5	k. A.	k. A.	k. A.	k. A.	36	k. A.	k. A.	k. A.
	Spannweite	26 - 57	35 - 76	2 - 108	17 - 59	19 - 87	12 - 89	17 - 67	18 - 71	13 - 87

Die vorliegende Studie zeigt im Vergleich zu den bisher publizierten Studien ähnliche Werte für die mittlere Leitfähigkeit des Schweißes von Frühgeborenen zwischen dem dritten und siebten Lebensstag wie die von älteren Kindern und Erwachsenen. Nur bei einem Frühgeborenen wurde eine Leitfähigkeit von > 60 mmol/L in der vorliegenden Studie gemessen, bei nicht suffizienter Schweißrate. Unter Berücksichtigung des geltenden Referenzwertes von 60 mmol/L wurde bei diesem Probanden ein zweiter Schweißtest durchgeführt. Der zweite Schweißtest ergab ein normwertiges Ergebnis bei ausreichender Schweißproduktion. Klinische Symptome einer möglichen CF-Erkrankung wurden zu keinem Zeitpunkt beobachtet.

Die Leitfähigkeit war in der vorliegenden Studie unabhängig von Geburtsgewicht, Gestationsalter, Alter oder Geschlecht der Probanden. In der Literatur fand sich nur eine im Jahre 2003 veröffentlichte Arbeit von Lezana et al., die einen signifikanten Zusammenhang zwischen Leitfähigkeit und Geschlecht fanden. Hierbei war die Leitfähigkeit bei männlichen signifikant niedriger als bei weiblichen Probanden, unabhängig davon, ob es sich um gesunde oder CF-Patienten handelte (46). Desax et al. gaben in einer der aktuellsten Untersuchungen zur Leitfähigkeit an, dass ein erfolgreicher Test signifikant von Gestationsalter, Alter, Gewicht und Körpertemperatur abhängt (49). Ein direkter Zusammenhang zur Leitfähigkeit wird jedoch nicht beschrieben. Auch andere relevante Studien zur Messung der Leitfähigkeit berücksichtigten die Faktoren Geburtsgewicht, Gestationsalter, Lebensalter oder Geschlecht nicht (36, 48, 50, 51, 77).

Einige Studien konstatieren höhere Schweißleitfähigkeitswerte bei reifen Neugeborenen im ersten Lebensmonat, so dass ein Anstieg der Leitfähigkeit bei zunehmender Reife des Frühgeborenen im ersten Lebensmonat angenommen werden kann (49). Eng et al. wiesen 2005 in ihrer retrospektiven Studie von 119 Schweißtests an Reif- und Frühgeborenen innerhalb der ersten 6 Lebenswochen eine umgekehrte Proportionalität zwischen der Schweißchloridkonzentration und dem Alter zum Testzeitpunkt. Die Chloridkonzentrationen waren hierbei ebenfalls in der ersten Lebenswoche größer als bei älteren Kindern (30). Eine Vergleichsstudie von Mishra et al. 2008 zur Bestimmung der Natrium- und Chloridkonzentration des Schweißes bestätigte ebenfalls einen Anstieg des Natrium- und Chloridgehaltes des Schweißes mit zunehmendem Lebensalter. Sie stellten Referenzintervalle von gesunden Probanden der Altersgruppen 5-9, 10-14, 15-19 und 20+ Jahren auf. In jeder Gruppe zeigte sich ein Anstieg der

Chlorid- und der Natriumkonzentration. Lediglich in der 20+ Gruppe kam es zu einem langsamen Angleichen der Werte. Somit zeigt sich auch in der Bestimmung des Natriumchloridgehaltes ein Anstieg der Werte mit zunehmenden Alter (13). Die Daten der vorliegenden Studie ergeben im Vergleich zu den bisher publizierten Studien von Desax et al. (2008), Barben et al. (2005), Lezana et al. (2003), v. d. Merwe et al. (2002), Mastella et al. (2000), Heely et al. (2000), Hammond et al. (1994) ähnliche Leitfähigkeitswerte, jedoch ausschließlich für Frühgeborene (36, 46, 48, 49, 50, 51, 77). Sollten die Leitfähigkeitswerte bei Neugeborenen in den ersten Lebenswochen tatsächlich erhöht sein, dann müsste es zu einem Anstieg der Leitfähigkeit mit dem Reifegrad eines Neugeborenen kommen. Zu erklären wäre dies mit dem physiologischen Reifeprozess der Haut und der Schweißfähigkeit bei Frühgeborenen (64, 70, 71). Die Schweißrate eines Frühgeborenen ist im Gegensatz zu einem reifen Neugeborenen geringer (64). Auch der transepidermale Wasserverlust ist bei unreifen Kindern hoch (53, 70, 71). Es kann somit angenommen werden, dass bei geringerer Schweißrate und hohem Anteil an Verdunstung bei Frühgeborenen auch die Schweißelektrolytkonzentration geringer ist. Emrich et al. analysierten 1968 den Schweiß einzelner Schweißdrüsen per thermaler und chemischer Stimulation. Ihre Resultate zeigten eine Abhängigkeit von Schweißkonzentration und Schweißrate. Diese Daten wiesen jedoch ebenfalls darauf hin, dass eine Diagnosestellung für eine CF dadurch nicht beeinträchtigt sei (44, 78).

4.2.2 Leitfähigkeit als diagnostisches Mittel

Barben et al. evaluierten 2005 als Erste das neue Nanoduct®-Schweißanalyzesystem (Wescor, Logan, Utah) durch Messungen der Leitfähigkeit des Schweißes an 111 Probanden unterschiedlichen Alters (3 Wochen-60 Jahren) und verglichen diese mit Bestimmung der Chloridkonzentration bzw. Osmolalität per Macroduct®-Collection-System (Wescor). Hierbei traten weder falsch-negative noch falsch-positive Ergebnisse bei der Leitfähigkeitsmessung auf (100 % Sensitivität, 100 % Spezifität). Dies veranlasste die Autoren zu der Empfehlung, dass Leitfähigkeitsmessungen, und speziell auch das neue Schweißanalysegerät Nanoduct®, zur Diagnostik von CF verwendet werden können (50). LeGrys forderte daraufhin Studien mit höheren Fallzahlen, um damit präzisere Angaben zur Sensitivität der Leitfähigkeitsbestimmung im Hinblick auf

die Diagnosestellung zu machen. Der Grund dafür war, dass Barben et al. nur 20 Probanden mit Classic CF und einen Probanden mit Non-Classic CF im Alter von 2 - 24 Jahren untersuchten (27). Desax et al. proklamierten jedoch wiederum in ihrer Studie mit Schweißtests an 1041 Probanden unterschiedlichen Alters, dass die Bestimmung der Leitfähigkeit mittels Nanoduct®-Analysesystem ein zuverlässiges diagnostisches Mittel zur CF-Diagnostik ist und zudem das Prozedere des Schweißtests mit dem Nanoduct®-Gerät sicher, schnell, zuverlässig und leicht zu handhaben ist. Mit einer Sensitivität von 100 % und einer Spezifität von 95,7 %, bei einem Cut-off-Wert von 59 mmol/l als normale Leitfähigkeit, sowie einer Fehlerrate vergleichbar mit anderen Schweißtests, kann dieses Gerät zum schnellen und zuverlässigen Ausschluss, zur Diagnose oder einem Verdacht einer Cystischen Fibrose benutzt werden. Verglichen mit dem weit verbreiteten Macroduct®-Analysegerät hat es sogar eine signifikant geringere Fehlerrate (49). Eine weitere durchgeführte Studie von Losty et al. 2006 verglich das Nanoduct®-Analysegerät mit der quantitativen Pilocarpin-Iontophorese (79). In dieser wurden 110 Tests an 100 Probanden durchgeführt. 36 Probanden hatten eine klassische und 6 von ihnen eine atypische CF. Das Nanoduct®-System gab 9 falsch-negative Werte bei den Probanden mit klassischer CF an. Diese Tests wurden jedoch mit defekten Leitfähigkeitsmesszellen durchgeführt, wie sich im Nachhinein herausstellte, da die Leitfähigkeitsmessungen mit neuen Sensoren und mit Macroduct®-Kollektoren korrekte Werte angaben. Die Konsequenz der Studie war, dass die Herstellerfirma des Nanoduct®-Analysegerätes ein Pretesting-System zur Qualitätskontrolle der Sensoren einführte, bevor sie verkauft und benutzt werden (79). Auch Mastella et al. beschrieben im Jahr 2000 eine hohe Sensitivität und Spezifität für Leitfähigkeitsmessungen an insgesamt 318 Probanden im Vergleich zur direkten Chloridkonzentrations-Bestimmung an 305 von ihnen (51). Bereits 1994 konstatierten Hammond et al. eine hohe Zuverlässigkeit der neuen Methode im Vergleich des Macroduct®-Analysesystems mit der konventionellen Methode nach Gibson und Cooke. Sie berichteten, dass die Messung der Leitfähigkeit ebenso effektiv in der Unterscheidung zwischen mit CF erkrankten und gesunden Individuen, wie eine Schweißchloridbestimmung sei (48). Heeley et al. verglichen im Jahr 2000 die Messung des Natrium-, und Chloridgehaltes, der Osmolalität sowie der Leitfähigkeit in der Diagnostik der CF und kamen zu dem Ergebnis, dass die Messung der Leitfähigkeit ebenso zuverlässig ist wie die „traditionellere“ Natrium- oder Chloridbestimmung (36). Eine weitere Studie aus dem Jahr 2003 von Lezana et al. bestätigte diese Einschätzung

(46). Falsch-positive Ergebnisse kommen beim Schweißtest vor und können verschiedene Gründe haben, z. B. Erkrankungen die mit erhöhten Schweißelektrolytkonzentrationen einhergehen (Anorexia nervosa, atopische Dermatitis, Klinefelter Syndrom oder Nebenniereninsuffizienz, Hypothyreose), oder das Verdunsten von Probematerial während des Tests und andere methodologische und technische Fehler (Tab. 3, 29, 32). Bis zu 15 % der Ergebnisse werden als falsch-positiv angegeben. Der Anteil der falsch-negativen Resultate hingegen liegt bei ca. 5 %. Die Gründe dafür sind z. B. Ödeme des Patienten, eine zu gering gesammelte Schweißmenge und ebenfalls methodologische und technische Fehler (16, 29). Dennoch werden die Leitfähigkeitsmessungen für eine Diagnosestellung der CF bisher von der NCCLS nicht empfohlen, was den Einsatz des neu entwickelten Nanoduct®-Schweißanalysesystems als diagnostisches Tool erschwert (49). Die Leitfähigkeitsbestimmung bei einem Schweißtest wird derzeit lediglich als Screening, nicht jedoch zur Diagnosesicherung von der American CF Foundation, den NCCLS-Leitlinien und den UK-Leitlinien empfohlen (33, 34, 35, 50, 80). Grundsätzlich sollte der Schweißtest entsprechend den oben aufgeführten Leitlinien der National Committee for Clinical Laboratory Standards der Association of Clinical Biochemists, dem College of American Pathology Laboratory Accreditation Program Checklist und dem Cystic Fibrosis Foundation Accreditation Standards for CF Care Centers durchgeführt und anhand der derzeitig bestehenden Referenzwerte interpretiert werden (30). Aufgrund der guten Studienlage hinsichtlich Sensitivität und Spezifität der Leitfähigkeit gegenüber der Chloridkonzentrationsbestimmung, die durch verschiedene zuvor schon erwähnten Autoren publiziert wurden, sollte es ein Umdenken in Hinsicht auf den Einsatz der Leitfähigkeitsbestimmung als Screeningtool geben (36, 46, 48, 49, 50, 51, 77, 81). Es gibt überwiegend positive Eigenschaften der Leitfähigkeitsbestimmung, vor allem an jungen Kindern, wie die Praktikabilität im klinischen Alltag, die gute Verträglichkeit, das Erlangen von Ergebnissen innerhalb einer halben Stunde durch Bedside-Analyse wie z. B. an Babys im Inkubator unter Monitoring, im Gegensatz zu der Chloridbestimmung, deren Ergebnis meist mehrere Stunden dauert (49, 50). Die bisherigen Studien, die sich mit Schweißtests auf der Basis von Schweißchloridbestimmungen beschäftigt haben, kamen überwiegend zu dem Schluss, dass ein Schweißtest zur Bestätigung von zuvor auffälligen Befunden, z. B. ein erhöhter IRT-Wert (immunreaktives Trypsinogen), sinnvoll und zuverlässig ist (49, 68). Parad et al. befürworteten 2005 innerhalb von Neugeborenen-Screenings die Durchführung von Schweißtests bei Neugeborenen ab

der zweiten Lebenswoche (82). Dennoch weisen die meisten Autoren der zuvor genannten Studie darauf hin, dass ein positives Ergebnis immer mit einem weiteren Schweißtest, gemessen als Leitfähigkeit oder Chloridkonzentration oder einer Gen-Mutationsanalyse kontrolliert werden soll (50).

4.3 Verträglichkeit

Bei den 81 im Rahmen der vorliegenden Studie mit dem Nanoduct®-Leitfähigkeitsanalysegerät getesteten Probanden kam es zu keinen signifikanten Unverträglichkeiten. Es wurden lediglich während der Iontophorese bei 10 Probanden Unruhe mit Zuckungen am Unterarm, bei 5 Probanden Grimassieren und lediglich bei 4 Probanden Schreien beobachtet, wobei die Kausalität zur Intervention nicht belegt werden konnte. In allen diesen Fällen waren keine weiteren Maßnahmen nach der Iontophoresephase notwendig, da die Säuglinge sich von selbst beruhigten. Insgesamt waren nur bei 13 Probanden (10,5 %) Reaktionen auf die Iontophorese zu beobachten. Aufgrund dieser guten Verträglichkeit wäre die Möglichkeit einer Erhöhung der bisher verwendeten Stromstärke von 0,5 mA für dieses Gerät zu diskutieren, da diese an die jüngere Probandengruppe, im Gegensatz zur Stromstärke des weit verbreiteten Macroduct®-Gerätes von 1,5 mA, angepasst wurde. Eventuell könnte damit die Anzahl der ungültigen Tests aufgrund einer zu geringen Schweißrate reduziert werden. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass das neue micro-flow-Schweißanalyse-Gerät bei sachgerechter Anwendung an Frühgeborenen gut vertragen wird.

5 Zusammenfassung

Die vorliegende Studie zeigt, dass der Schweißtest an Frühgeborenen mit Bestimmung der Leitfähigkeit unter Verwendung des neuen Nanoduct®-Schweißanalyseystems valide durchführbar ist. Die Anwendung als Screeningtool ist jedoch an Frühgeborenen aufgrund der Limitation an erfolgreichen Tests nicht sinnvoll. Der Grund dafür liegt in der insuffizienten Schweißproduktion bei Frühgeborenen aufgrund ihrer besonderen Hautphysiologie. Es zeigte sich eine Abhängigkeit des Testserfolgs vom Geburtsgewicht. Der Erfolg eines Tests ist demnach am höchsten, wenn ein Geburtsgewicht von 3000 g und mehr vorliegt. Diese Voraussetzung ist jedoch bei Frühgeborenen selten erfüllt. Die Schweißrate mit 1,7 g/m²/min ist im Vergleich zu älteren Populationen niedriger. Eine Abhängigkeit von Gewicht, Lebensalter, Gestationsalter und Geschlecht konnte nicht ermittelt werden. Die angenommene geringere Schweißmenge würde den Einsatz des Nanoduct®-Systems wiederum befürworten, da nur eine deutlich geringere Schweißmenge von 3 µl für den Test benötigt wird. Dies bestätigen vor allem die deutlich geringeren Fehlerraten in den Neugeborenen Gruppen im Vergleich zu dem Leitfähigkeitsanalyzer mit höherem Schweißmengenbedarf (49, 50).

Die mediane Leitfähigkeit in der vorliegenden Studie lag bei 38,5 mmol/L innerhalb der ersten Lebenswoche. Dies entspricht den Werten der bisher publizierten Studien, obgleich diese von Populationen aller Altersstufen ermittelt wurden. Ob es im Vergleich zu Neugeborenen ein Anstieg der Leitfähigkeit gibt, wie einzelne Studien suggerieren, kann zum jetzigen Zeitpunkt aufgrund der geringen Fallzahlen der Studien nicht mit Sicherheit gesagt werden.

Das Nanoduct®-Schweißanalyseystem kann demzufolge als ein sicheres, leicht zu handhabendes Gerät an Frühgeborenen bettseitig auf Intensivstationen eingesetzt werden, jedoch nicht als Screeningtool, sondern zur gezielten Anwendung an Kindern mit klinischen Symptomen einer Cystischen Fibrose. Die gute Studienlage hinsichtlich Sensitivität und Spezifität der Leitfähigkeit gegenüber der Chloridkonzentrationsbestimmung, die durch verschiedene zuvor schon erwähnten Autoren publiziert wurden, unterstützt diese Empfehlung.

Literaturverzeichnis

1. Voter KZ, Ren CL. Diagnosis of Cystic Fibrosis. *Clinic Rev Allerg Immunol* 2008, 35: 100-106.
2. Stern M, Sens B, Wiedemann B, Busse O, Damm G, Wenzlaff P. Qualitätssicherung Mukoviszidose, Überblick über den Gesundheitszustand der Patienten in Deutschland 2008. Zentrum für Qualität und Management im Gesundheitswesen Mukoviszidose e.V., Hippocampus Verlag 2009, 11.
3. Minasian C, McCullagh A, Bush A. Cystic fibrosis in neonates and infants. *Early Human Development* 2005, 81(12): 997-1004.
4. Lewis PA. The epidemiology of cystic fibrosis. Hodson M, Geddes DM *Cystic fibrosis*, 2nd ed. 2000, 13-25.
5. Welsh MJ, Smith AE. Cystic fibrosis. *Sci Am* 1995. 273(6): 52-59.
6. Busch R. On the history of cystic fibrosis. *Acta Univ Carol [Med] (Praha)* 1990, 36(1-4): 13-15.
7. Anderson DH. Cystic fibrosis of the pancreas and its relation to celiac disease: clinical and pathological study. *Am J Dis Child* 1938, 56: 344-399.
8. Di Sant' Agnese PA, Darling RC, Perera GA, Shea E. Abnormal electrolyte composition of sweat in cystic fibrosis of the pancreas, its clinical significance and relationship of the disease. *Pediatrics* 1953, 12: 549-563.
9. Gibson LE, Cooke RE. A test for concentration of electrolytes in cystic fibrosis using pilocarpine by electrophoresis. *Pediatrics* 1959, 23: 549-563.
10. Rowe, Steven M, Miller, Stacey, Sorscher, Eric J. Mechanisms of Disease: Cystic fibrosis. *The New England Journal Of Medicine Cystic Fibrosis* 2005, 352(19): 1992-2001.
11. Riordan JR, Rommens JM, Kerem BS et al. Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. *Science* 1989, 245: 1066-1072.

12. Tsui LC, Buchwald M, Barker D et al. Cystic fibrosis locus defined by a genetically linked polymorphic marker. *Science* 1985, *230*: 1054-1057.
13. Mishra A, Greaves K, Smith K et al. Diagnosis of Cystic Fibrosis by Sweat Testing: Age-Specific Reference Intervals. *The Journal of Pediatrics* 2008, *153*: 758-763.
14. The Cystic Fibrosis Genetic Analysis Consortium. Cystic Fibrosis Mutation Data Base. 15.10.2008, <http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr>.
15. Doull Iolo J M. Recent advances in cystic fibrosis. *Arch Dis Child* 2001, *85*: 62-66.
16. Ratjen F, Döring G. Cystic Fibrosis. *The Lancet* 2003, *361*: 681-689.
17. Mishra A, Greaves R, Massie J. The Relevance of Sweat Testing for the Diagnosis of Cystic Fibrosis in the Genomic Era. *Clin Biochem Rev* 2005, *26*: 135-153.
18. Davies JC. Modifier Genes in Cystic Fibrosis. *Pediatric Pulmonology* 2004, *26*: 86-87.
19. Boucher RC. New concepts of the pathogenesis of cystic fibrosis lung disease. *European Respiratory Journal* 2004, *23*: 146-158.
20. Davies JC. New tests for cystic fibrosis. *Paediatr Respir Rev* 2006, *7*: 141-143.
21. Cystic Fibrosis Foundation. 15.10.2008, www.cff.org/AboutCF.
22. Goss CH. Update on cystic fibrosis epidemiology. *Current Opinion in Pulmonary Medicine* 2004, *10*: 510-514.
23. Davis, Pamela B. Cystic Fibrosis Since 1938. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 2006, *173*: 475-482.
24. Akabas MH. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator. Structure and function of an epithelial chloride channel. *Biol Chem* 2000, *275*: 3729-3732.
25. Grosse SD, Boyle CA, Botkin JR et al. Newborn Screening for Cystic Fibrosis. *MMWR* 2004, *53 (RR-13)*: 1-35.
26. Boehler A. Update on cystic fibrosis: selected aspects related to lung transplantation. *Swiss Med Wkly* 2003, *133*: 111-117.
27. LeGrys VA. Testing Diagnostic Tests: Why Size Matters. *J Pediatr* 2005, *146*: 159-62.

28. Rosenstein BJ, Cutting GR. The diagnosis of cystic fibrosis: a consensus statement. *J Pediatr* 1998, 132: 589-95.
29. LeGrys VA. Sweat testing for the diagnosis of cystic fibrosis: Practical considerations. *J Pediatr* 1996, 129: 892-7.
30. Eng W, LeGrys V, Schechter M, Laughon M, Barker P. Sweat-Testing in Preterm and Full-Term Infants Less Than 6 Weeks of Age. *Pediatric Pulmonology* 2005, 40: 64-67.
31. Farrell PM, Kosciak. Sweat Chloride Concentrations in Infants Homozygous or Heterozygous for F508 Cystic Fibrosis. *Pediatrics* 1996, 97: 524-528.
32. Beauchamp M, Lands LC. Sweat-Testing: A Review of Current Technical Requirements. *Pediatric Pulmonology* 2005, 39: 507-511.
33. LeGrys, Yankaskas JR, Quittel LM, Marshall BC, Mogayzel PJ. Diagnostic Sweat Testing: The Cystic Fibrosis Foundation Guidelines. *J Pediatr* 2007, 151: 85-9.
34. Naehrlich L. Durchführung und Interpretation des Schweißtests in deutschen Mukoviszidoseambulanzen. *Klin Pädiatr* 2007, 219: 70-73.
35. Baumer JH. Evidence based guidelines for the performance of the sweat test for the investigation of cystic fibrosis in the UK. *Arch Dis Child* 2003, 88: 1126-1127.
36. Heely ME, Woolf DA, Heely AF. Indirect measurements of sweat electrolyte concentration in the laboratory diagnosis of cystic fibrosis. *Arch Dis Child* 2000, 82: 420-424.
37. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Sweat Testing: Sample Collection and Quantitative Analysis. Approved guideline C34-A2. NCCLS, Wayne, PA, USA 2000.
38. Gleeson M, Henry RL. Sweat sodium or chloride. *Clin Chem* 1991, 37: 112.
39. Massie J, Gaskin K, Van Asperen P, Wilcken B. Sweat Testing Following Newborn Screening for Cystic Fibrosis. *Pediatric Pulmonology* 2000, 29: 452-456.
40. Kirk JM, Keston M, McIntosh I, Al Essa S. Variation of sweat sodium and chloride with age in cystic fibrosis and normal populations. *Ann Clin Biochem* 1992, 29: 145-52.

41. Shwachman H. Sweat sodium and chloride values. *J Pediatr* 1982, *100*: 1002.
42. Highsmith WE, Burch LH, Zhou Z. A novel mutation in the cystic fibrosis gene in patients with pulmonary disease but normal sweat chloride concentrations. *N Engl J Med* 1994, *331*(15): 974-80.
43. Gibson LE, di Sant`Agnese PA, Shwachman H. Procedure for the quantitative iontophoretic sweat test for cystic fibrosis. Bethesda (MD): Cystic Fibrosis Foundation, 1985.
44. Webster HL, Quirante CG. Micro-flowcell conductometric sweat analysis for cystic fibrosis diagnosis. *Ann Clin Biochem* 2000, *37*: 399-407.
45. Hardy JD, Davidson SH, Higgins MU, Polycarpou PN. Sweat tests in the newborn period. *Arch Dis Child* 1973, *48*: 316-318.
46. Lezana JL, Vargas MH, Karam-Bechara J, Aldana RS, Furuya MEY. Sweat conductivity and chloride titration for cystic fibrosis diagnosis in 3834 subjects. *Journal of Cystic Fibrosis* 2003, *2*: 1-7.
47. Licht TS, Stern M, Shwachmann H. Measurement of the electrical conductivity of sweat. *J Clin Chem* 1957, *3*: 37-48.
48. Hammond KB, Nelson LT, Gibson LE. Clinical evaluation of the macroduct sweat collection system and conductivity analyzer in the diagnosis of cystic fibrosis. *J Pediatr* 1994, *124*: 255-60.
49. Desax MC, Ammann RA, Hammer J, Schoeni MH, Barben J. Nanoduct sweat testing for rapid diagnosis in newborns, infants and children with cystic fibrosis. *Eur J Pediatr* 2008, *167*: 299-304.
50. Barben J, Ammann RA, Metlagel A, Schoeni MA. Conductivity determined by a new sweat analyzer compared with chloride concentrations for the diagnosis of cystic fibrosis. *J Pediatr* 2005, *146*: 183-8.
51. Mastella G, di Cesare G, Borruso A, Menin L, Zanolla L. Reliability of sweat-testing by the Macroduct collection method combined with conductivity analysis in comparison with the classic Gibson and Cooke technique. *Acta Paediatr* 2000, *89*: 933-7.

52. Mayell SJ, Munck A, Craig JV et al. A European consensus for the evaluation and management of infants with an equivocal diagnosis following newborn screening for cystic fibrosis. *Journal of Cystic Fibrosis* 2009, 8: 71-78.
53. Rutter N. Applied physiology: the newborn skin. *Current Paediatrics* 2003, 13: 226-230.
54. Rutter N. The dermis. *Semin Neonatal* 2000, 5: 297-302.
55. Hoath SB, Maibach HI, Rutter N. *Neonatal Skin - Structure and Function*. 2nd ed. Eccrine Sweating in the Newborn. New York, Basel, Marcel Dekker, Inc. 2003, 109-124.
56. De Boeck K. Cystic fibrosis: terminology and diagnostic algorithms. *Thorax* 2006, 61: 627-635
57. Sato K. Biology of the eccrine sweat gland. In: Fitzpatrick TB et al, eds. *Dermatology in General Medicine*. 4th ed. New York: McGraw-Hill 1993, 221-241.
58. Hashimoto K, Gross BG, Lever WF. The ultrastructure of the skin of human embryos. I. The intraepidermal eccrine sweat duct. *J Invest Dermatol* 1965, 45: 139-151.
59. Behrendt H, Green M. Drug-induced localized sweating in full-size and low-birth-weight neonates. *Am J Dis Child* 1969, 177: 299-306.
60. Green M, Behrendt H. Sweating response of neonates to local thermal stimulation. *Am J Dis Child* 1973, 125: 20-25.
61. Foster KG, Hey EN, Katz G. The Response Of The Sweat Glands Of The New-Born Baby To Thermal Stimuli And To Intradermal Acetylcholine. *J. Physiol* 1969, 203: 13-29.
62. Kawahata, A. Variation in the number of active human sweat glands with age. *J. physiol. soc. Japan* 1939, 4: 438-443.
63. Storm H. Development of emotional sweating in preterms measured by skin conductance changes. *Early Human Development* 2001, 62: 149-158.
64. Harpin VA, Rutter N. Sweating in preterm babies. *The Journal of Pediatrics* 1982, 4: 614-619.

65. Rutter N, Hull D. Response of term babies to a warm environment. *Arch Dis Child* 1979, 54: 178-183.
66. European Cystic Fibrosis Society (ECSF). 2005, http://www.ecfs.eu/ecfs_guidelines.
67. Weissmann N, Pileggi VJ. Inorganic ions: sodium determination by flame photometry. *Clinical Chemistry: principles & techniques*: London Harper & Row 1974, 642-644.
68. Taccetti G, Festini F, Braccini G, Campana S, de Martino M. Sweat testing in newborns positive to neonatal screening for cystic fibrosis. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2004, 89: 463-464.
69. LeGrys VA. Sweat testing for cystic fibrosis: profiles of patients with insufficient samples. *Clin Lab Sci* 1993, 6: 73-74.
70. Emery MM, Hebert AA, Vila-Coro AA, Prager TC. The relationship between skin maturation and electrical skin impedance. *Journal of Dermatological Science* 1991, 2: 336-340.
71. Mize MM, Vila-Coro AA, Prager TC. The relationship between postnatal skin maturation and electrical skin impedance. *Arch Dermatol* 1989, 125: 647-650.
72. Harpin VA, Rutter N. Development of emotional sweating in the newborn infant. *Arch Dis Child* 1982, 52: 691-695.
73. Gladman G, Chiswick ML. Skin conductance and arousal in the newborn. *Arch Dis Child* 1990, 65: 1063-1066.
74. Rutter N. The evaporimeter and emotional sweating in the neonate. *Clin Perinatol* 1985, 12: 63-77.
75. Storm H. Skin conductance and the stress response from heel stick in preterm infants. *Arch Dis Child* 2000, 83: 143-147.
76. Durante M, Rolando P. Il compartimento del test del sudore nell'eta neonatale (The sweat test in newborns.) *Fracastoro*. 1970, 63(3): 324-327.
77. Merwe DE van, Ubbink JB, Delport R, Becker P, Dhatt GS, Vermaak WJ. H. Biological variation in sweat sodium chloride conductivity. *Ann Clin Biochem* 2002, 39: 39-43.

78. Emrich HM, Stoll E, Friolet B, Colombo JP, Richterich R, Rossi E. Sweat composition in relation to rate of sweating in patients with cystic fibrosis of the pancreas. *Pediatr Res* 1968, 2: 464-478.
79. Losty HC, Wheatley H, Doull I. The evaluation of a novel conductometric device for the diagnosis of cystic fibrosis. *Ann Clin Biochem* 2006, 43: 375-381.
80. Green A, Elborn S, Fahie-Wilson MN, Kirk JM, Wallis CE, Weller P. Guidelines for the performance of the sweat test for the investigation of cystic fibrosis in the UK. 2003, <http://www.acb.org.uk>.
81. Katherisan N, Gupta A, Mumford S, Cade A, Jones R. Letter to the Editor. Sweat conductivity for the diagnosis of cystic fibrosis. *J Cyst Fibros* 2004, 3: 2005.
82. Parad RB, Comeau AM, Dorkin HL et al. Sweat Testing detected by Cystic Fibrosis Newborn Screening. *J Pediatr* 2005, 147: 69-72.
83. Fanconi G, Uehlinger E, Knauer C. Das Coeliakiesyndrom bei angeborener zystischer Pankreasfibromatose und Bronchiektasien. *Wien Med Wochenschr* 1963, 86: 753-756.
84. Farber S. Some organic digestive disturbances in early life. *Michigan Med Soc* 1945, 44: 587-594.
85. Merlo CA, Boyle MP. Modifier genes in cystic fibrosis lung disease. *Lab Clin Med* 2003, 141: 237-241.
86. Seibert FS, Loo TW, Clarke DM, Riordan JR. Cystic fibrosis: channel, catalytic and folding properties of the CFTR protein. *Bioenerg Biomembr* 1997, 29: 429-442.

Danksagung

Ich danke sehr herzlich Herrn Prof. Dr. med. Roland R. Wauer für die Überlassung des Themas und die Möglichkeit der Mitarbeit an der Schweißtest-Studie. Besonderen Dank gilt vor allem Dr. med. Andreas Jung, der als Studienarzt diese Studie engagiert betreute und eine jahrelange intensive Zusammenarbeit und vorbehaltlose Unterstützung pflegte. Einen großen Dank auch an Jessica Blank, die als Study Nurse intensiv bei der Aufarbeitung der gewonnenen Daten geholfen hat. Ich möchte mich bei meiner Familie bedanken, die mir in all den Jahren emotional zur Seite gestanden hat und einen großen Anteil am Gelingen dieser Arbeit hat.

"Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht."

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, Martin Sommer, dass die vorgelegte Promotionsarbeit mit dem Titel „Untersuchungen zur physiologischen Leitfähigkeit des Schweißes von Frühgeborenen in der ersten Lebenswoche“ von mir selbst und ohne die unzulässige Hilfe Dritter verfasst wurde. Sie stellt keine Kopie anderer Arbeiten dar, auch nicht in Teilen. Die benutzten Hilfsmittel sowie die Literatur sind in ihr vollständig angegeben, es wurden keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel verwandt.