

# Rekombinante humane DNase (Dornase alfa) bei Mukoviszidose

## Zusammenfassung

**Hintergrund.** Die chronisch-entzündliche Lungenerkrankung bei Mukoviszidose (CF) ist durch einen vermehrten Influx von neutrophilen Granulozyten charakterisiert. Bei deren Absterben werden große Mengen von Deoxyribonukleinsäure (DNA) freigesetzt, die wesentlich zur Viskosität des CF-Sputums beitragen. Rekombinante humane Deoxyribonuklease (rhDNase, Dornase alfa) kann DNA in vitro depolymerisieren und damit CF-Sputum verflüssigen und seine viskoelastischen Eigenschaften verbessern.

**Ergebnisse.** Das Medikament rhDNase wurde einem umfangreichen klinischen Forschungs- und Entwicklungsprogramm unterzogen. Wirksamkeit und Verträglichkeit der Substanz wurden an mehreren Tausend Patienten untersucht. In kontrollierten Studien wurden bei Patienten über 5 Jahren mit einer forcierten Vitalkapazität über 40% des Solls Verbesserungen der FEV<sub>1</sub> in der Größenordnung von 5–10% des Ausgangswertes beobachtet. Die bei CF übliche Verschlechterung der Lungenfunktion konnte hinausgezögert werden. Respiratorische Exazerbationen traten signifikant seltener auf. An Nebenwirkungen ist mit Heiserkeit, Laryngitis und Exanthem zu rechnen. Die Behandlungskosten sind hoch und betragen bei einer Dosierung von 1mal täglich 2,5 mg rund 1.200 Euro pro Monat. Das Ansprechen auf die Therapie ist individuell unterschiedlich und bisher nicht anhand üblicher klinischer Parameter vorhersehbar. Wenn ein Effekt eintritt, ist er meist innerhalb von 2 Wochen festzustellen. Individuelle Behandlungsversuche über 2 bis 4 Wochen, im Idealfall als verblindete n=1-Studie, sind daher erforderlich, um den Nutzen der Behandlung für den einzelnen Patienten zu dokumentieren.

## Schlüsselwörter

Rekombinante humane rhDNase · Mukoviszidose · Wirksamkeit · Verträglichkeit

Die Lungenbeteiligung bei Mukoviszidose (zystischer Fibrose, CF) ist durch Ansammlungen besonders zähen Schleims in den Atemwegen charakterisiert. Die zusätzliche bakterielle Besiedelung und Infektion führt zu primär endobronchial lokalisierten Entzündungsvorgängen mit progressiver Zerstörung von Lungengewebe und nach durchschnittlich 30 Jahren zum Finalstadium mit respiratorischer Insuffizienz. In der Auswirkung auf die Lungenfunktion dominiert die Obstruktion der Atemwege, beginnend in kleinen und mittleren Bronchien; zusätzlich sind Zeichen der Lungenüberblähung vorhanden. Radiologisch sind ausgeprägte peribronchitische Veränderungen, Überblähungszonen und Atelektasen nachweisbar. Würde es gelingen, die Bildung überschüssigen und zähen Sekrets zu verhindern, wäre damit die Lungenerkrankung wirksam behandelt.

Im Sputum und in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit wurden bei CF stark erhöhte Zellzahlen mit Überwiegen neutrophiler Granulozyten beobachtet. Zerfallen diese Granulozyten, setzen sie DNA frei, die erheblich zur Viskosität des Sputums beiträgt. Hier setzt das Therapieprinzip der rekombinanten humanen Deoxyribonuc-

lease (rhDNase, Dornase alfa) an, die durch Spalten der DNA das Sputum verflüssigen und so die Entfernung des Sputums aus der Lunge erleichtern soll.

Schon in den 50er Jahren wurde eine aus Rinderpankreas gewonnene DNase therapeutisch eingesetzt. Sie war zwar in der Lage, das Sputum zu verflüssigen, musste jedoch wegen anaphylaktischer Reaktionen wieder vom Markt genommen werden [33]. Vor gut 10 Jahren gelang es, humane DNase rekombinant herzustellen und in inhalativer Form verfügbar zu machen. Im Folgenden soll ein Überblick über die wissenschaftliche Literatur zu rhDNase gegeben und der Versuch unternommen werden, eine rationale Therapie mit dieser Substanz zu begründen.

## Pathophysiologische Aspekte

### Entzündliche Veränderungen der Lunge bei CF

Obwohl allgemein berichtet wird, die CF-Lunge sei bei der Geburt normal, wurden bereits im frühen Säuglingsalter in bronchoskopisch gewonnener Lavageflüssigkeit (BAL) Hinweise für entzündliche Veränderungen gefunden. Im Alter von durchschnittlich 6 Monaten waren im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe 100-mal mehr neutrophile Granulozyten (7 vs.  $674 \times 10^3/\text{ml}$ ) sowie erhöhte Konzentrationen von freier Elastase, Elastase- $\alpha_1$ -Antitrypsinkomplex und IL-8 nachweisbar, und zwar auch bei offenbar fehlender bakterieller Besiede-

G. Steinkamp

## Recombinant human deoxyribonuclease (rhDNase) in cystic fibrosis

### Abstract

**Background.** The chronic inflammatory pulmonary disease in cystic fibrosis is associated with the influx of neutrophils which, as they die, release large quantities of deoxyribonucleic acid (DNA). These DNA strands contribute considerably to the viscosity of CF sputum.

**Results.** Dornase alfa, the recombinant human deoxyribonuclease (rhDNase), has been shown in vitro to depolymerise DNA, to liquefy secretions and to decrease viscoelastic properties of CF respiratory secretions. A comprehensive clinical development programme has established the efficacy and safety of dornase alfa in children, adolescents and adults with cystic fibrosis. Lung function improved in patients aged 5 years or older with a forced expiratory volume (FEV<sub>1</sub>) ≥ 40% of predicted, and acute respiratory exacerbations were less frequent if patients inhaled rhDNase. Adverse drug effects are voice alterations, laryngitis and exanthema. Treatment is expensive with monthly costs of approx. 1200 Euro per patient. Response to treatment varies considerably, and no parameter has been identified which could predict a favourable outcome. A two to four week trial of rhDNase inhalation is therefore required to determine the response to treatment in an individual patient.

### Keywords

Recombinant human deoxyribonuclease (rhDNase) · Cystic fibrosis · Efficacy · Safety

## Arzneimitteltherapie

lung [24]. Damit wurde bei diesen nach neonatalem Screening diagnostizierten, praktisch asymptomatischen Säuglingen eine ganz ähnliche Situation vorgefunden, wie sie Konstan et al. bei Jugendlichen und Erwachsenen beschrieben haben [27]. In einer anderen Studie wiesen junge Säuglinge kurz nach Diagnosestellung bei gleichzeitiger bakterieller Besiedelung erheblich stärkere Entzündungszeichen und höhere Zellzahlen auf als CF-Säuglinge ohne Bakteriennachweis, deren Ergebnisse mit denen der Kontrollgruppe vergleichbar waren [2]. Ferner wurden bei CF im 1. Lebensjahr gegenüber Gesunden 4-fach erhöhte Konzentrationen von DNA in der BAL gemessen [26]. Diese Arbeiten weisen darauf hin, dass die CF-Lunge sehr früh entzündliche Veränderungen aufweist und dass eine zusätzliche Besiedelung mit pathogenen Keimen wie *Pseudomonas aeruginosa* oder *Staphylococcus aureus* die Inflammation potenziert.

Ein wichtiger pathogenetischer Faktor für die Lungenveränderungen bei CF ist Elastase, die aus stimulierten Neutrophilen in großem Maße freigesetzt wird und durch den Schutzschirm der Antiproteasen wie  $\alpha_1$ -Antitrypsin oder SLPI (secretory leucocyte protease inhibitor) nicht ausreichend neutralisiert werden kann. Die CF-Lunge ist daher gekennzeichnet durch ein Ungleichgewicht zwischen Proteasen und Antiproteasen.

Nach dem nicht-apoptotischen Zelltod der neutrophilen Granulozyten kommt es außerdem zur Freisetzung von quervernetzender DNA und filamentösem Aktin [40]. DNA ist ein Polyanion, das ebenso wie Aktin erheblich zur Viskosität des Sputums beiträgt. Wie bereits oben erwähnt, sind erhöhte DNA-Konzentrationen in der BAL bereits bei Säuglingen mit CF nachweisbar.

## Wirksamkeit von rhDNase in vitro

Schon in den 50er Jahren wurden in purulentem infiziertem Sputum große Mengen DNA in Konzentrationen zwischen 3 und 14 mg/ml nachgewiesen (zitiert nach Shak et al. [39]). Eine bovine pankreatische Deoxyribonuclease (DNase) I, die allerdings mit Proteasen kontaminiert war, wurde 1958 in den USA für die Anwendung beim Menschen zugelassen, nachdem sie sich in unkontrollierten klinischen Studien als wirksam zur Reduktion der Sputumviskosität erwiesen hatte. Allerdings wurde die Substanz wegen anaphylaktischer Reaktionen, die auf die Kontamination mit nicht humanen Proteinen zurückgeführt wurden, wieder vom Markt genommen [33].

Die rekombinante humane DNase (rhDNase, Dornase alfa) wurde vor gut 10 Jahren von Shak et al. kloniert und sequenziert und ihre Wirksamkeit in vitro nachgewiesen [39]. Bereits in dieser ersten Arbeit wurde gezeigt, dass rhDNase die Viskosität des Sputums von CF-Kranken deutlich reduziert (Abb. 1), und zwar dosisabhängig je nach gewählter DNase-Konzentration auf bis zu ein Viertel des Ausgangswertes (bei 20 µg rhDNase pro ml Sputum).

Die verminderte Viskosität resultiert in günstigeren rheologischen Eigenschaften des Sputums (Tabelle 1). Die Arbeitsgruppe am Brompton Hospital, London, beschrieb nach 10-tägiger Therapie mit rhDNase signifikante Verbesserungen rheologischer Parameter: Viskosität, Elastizität und Rigidität des Sputums nahmen deutlich ab, und es bestand eine lineare Korrelation zur Verbesserung der Lungenfunktion [38]. Der Anteil kleiner DNA-Fragmente unter 150 Basenpaare nahm signifikant zu, wäh-

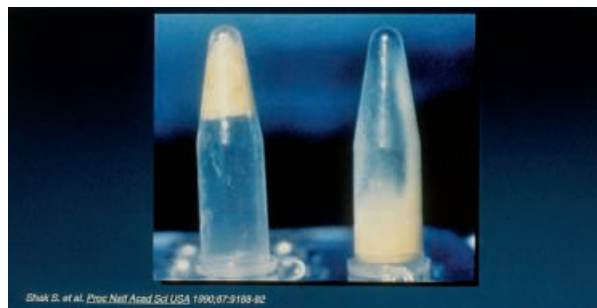


Abb. 1 ◀ Katalytisch wirkende Mengen von rhDNase reduzieren innerhalb von Minuten die Viskosität des purulenten CF-Sputums (links) und transformieren das visköse Gel in eine Flüssigkeit [39]

Tabelle 1

**Wirksamkeit von rhDNase in vitro**

Quelle	Einschlusskriterien	Design	Wochen Therapie	Patienten	rhDNase-Tagesdosis	Wirksamkeit			
Brandt 1995 [4]	FEV <sub>1</sub> 40–70%		6	135	1-mal 2,5 mg Vor rhDNase	DNA-Gehalt (mg/ml Sputum)	Mediane DNA-Länge (kbp)		
						0,3*	0,3*		
						0,6	1,3		
Rochat 1996 [34]	FEV <sub>1</sub> 20–44%	Offen	2	12	1-mal 2,5 mg Vor rhDNase	Elastase [U/ml]	Cathepsin G [U/ml]	Chemotaktische Aktivität	IL-8 [ng/ml]
						9,9*	45*	370	69
						6,6	19	323	76
Shah 1996 [37]		Offen	24	59	1-mal 2,5 mg Vor rhDNase	Elastase ( $\times 10^3$ U)			IL-8 [ng/ml]
						6,7*			127
						9,6			141
Shah 1996 [38]	Alter >15 Jahre FEV <sub>1</sub> >40%	DB	10 Tage	71	2-mal 2,5 mg Plazebo	DNA-Gehalt (mg/ml Sputum)	DNA <150 bp [% Gesamt-DNA]	Elastizität [Nm <sup>-2</sup> ]	Viskosität [Nm <sup>-2</sup> ]
						+0,20*	+5,7*	-28*	-11*
						+0,15	-0,3	Etwa +8	+2
King 1997 [25]	Alter 18–37 Jahre PA positiv		In vitro	9	0,9% NaCl+ rhDNase 3% NaCl+ rhDNase 0,9% NaCl 3% NaCl	Spinnbarkeit %	Viskoelastizität Index	Husten-Clearance-Index	
						-37	1,9	2,3	
						-40	1,4	2,9	
						-16	2,0	1,6	
						-26	1,4	2,3	

kbp Kilobasenpaare; \*signifikanter Unterschied ( $p < 0,05$ ) gegenüber Plazebo

rend sich der Gesamt-DNA-Gehalt kaum veränderte. Demgegenüber berichteten andere Autoren von einer Abnahme der Gesamt-DNA und einer reduzierten medianen Länge der DNA-Fragmente (0,4 statt 1,3 Kilobasenpaare) [4].

Ein Vergleich mit physiologischer und hypertoner (3%-iger) Kochsalzlösung bzw. eine kombinierte Anwendung mit rhDNase wurde von einer kanadischen Arbeitsgruppe durchgeführt [25]. Spinnbarkeit, Viskoelastizität und Husten-Clearance verbesserten sich zwar bereits unter physiologischer Kochsalzlösung, jedoch waren die Ergebnisse erst nach 3%-iger NaCl-Lösung statistisch signifikant. Der beste In-vitro-Effekt wurde mit einer Kombination aus rhDNase und hypertoner Kochsalzlösung erzielt, wenngleich der Unterschied zur alleinigen Anwendung

von 3%-iger Kochsalzlösung nicht groß war.

Die genannten In-vitro-Daten legten nahe, rhDNase als potentes Sekretolytikum bei CF zu entwickeln. Die geringere Viskosität des Sputums sollte die Mobilisation von Bronchialschleim erleichtern, sodass die Atemwege vom purulenten Mukus befreit werden. Dies würde sich positiv auf die bronchiale Obstruktion auswirken und womöglich auch die Keimbeseidlung beeinflussen, da den Bakterien ein Teil ihres Nährbodens entzogen würde.

### Klinische Wirksamkeit von rhDNase

Wirksamkeit und Sicherheit von rhDNase bei Patienten mit CF wurden durch ein umfangreiches klinisches Entwick-

lungsprogramm belegt, das in seiner Qualität und Quantität ein Novum in der klinischen CF-Forschung war [6]. Seit der ersten, 1992 publizierten Phase-I-Studie wurden Ergebnisse von mehreren Tausend Patienten veröffentlicht. Hieraus sollen im Folgenden ausgewählte relevante Studien besprochen werden.

### Wirkung auf Lungenfunktion und Exazerbationen bei verschiedenen Schweregraden der Erkrankung

Die Behandlung mit rhDNase erfolgte in Studien meist bei Patienten über 5 Jahren. Zunächst wurden überwiegend mittelgradig Erkrankte untersucht, gemessen an einer FVC oberhalb von 40% des Solls (Tabelle 2).

Das sorgfältigste und aufwendigste Studiendesign hatte die große nordame-

Tabelle 2  
Klinische Wirksamkeit von rhDNase

Quelle	Einschlusskriterien	Alter [Jahre]	Design	Patienten	Wochen Therapie	rhDNase-Tagesdosis	Änderung der Lungenfunktion		Andere Wirksamkeitsparameter		
							FEV <sub>1</sub> [%] <sup>a</sup>	FVC [%] <sup>a</sup>			
Ramsey 1993 [32]	Alter 8–65 Jahre FVC≥40% SaO <sub>2</sub> ≥90%	Ca. 19	Randomisiert	181	1,5	2-mal 0,6 mg	+9,9*	+9,9*	Dyspnoe [%] –29		
						2-mal 2,5 mg	+13,8*	+11,8*	–46*		
						2-mal 10 mg	+14,5*	+9,6*	–35		
						Plazebo	–1,3	+0,5	–8		
Fuchs 1994 [12]	Alter ≥5 Jahre FVC>40% Klinisch stabil	19±9	DB	968	24	2-mal 2,5 mg	+5,6*	+3,0*	Exazerbation (% Pat.)	IV Antib. (Tage)	≥10% bessere FEV <sub>1</sub> (% Pat.)
						1-mal 2,5 mg	+5,8*	+3,8*	19*	5,9*	28
						Plazebo	±0	?	22	5,6*	30
									27	6,9	15
Heijerman 1995 [19]	FVC 40–70%	28	Offen	12	6	1-mal 2,5 mg	abs%	abs%	Zähigkeit des Sputums	Expektoration	
							+1,8*	+0,5	geringer*	geringer*	
Shah 1995 [35]	Alter ≥5 Jahre FVC <40% pCO <sub>2</sub> <75 Torr	26±2	DB+ offen	70	2+26	2-mal 2,5 mg	+1,4	+8,8			
						Plazebo (erste 2 Wochen)	+4,2	+13,7			
McCoy 1996 [28]	FVC <40%	26±10	DB	320	12		*		Exazerbation (% Pat.)	IV Antibiose (Tage)	≥10% schlechtere FEV <sub>1</sub> (% Pat.)
						1-mal 2,5 mg	+9,4*	+12,4*	Kein Unterschied	Kein Unterschied	22*
						Plazebo	+2,1	+7,3			17
Harms 1998 [18]	Alter ≥5 Jahre FVC 40–70%	19±8	Offen	974	12–14	1-mal 2,5 mg	+10,5	+7,2	Exazerbation (% Pat.) 29		
Henry 1998 [20]	Alter >5 Jahre FEV <sub>1</sub> ≥40%	17	Offen	20	4	1-mal 2,5 mg	(abs %)	(abs %)	Zellen im Sputum (×10 <sup>3</sup> /ml) +3,3		
							+8,5	+9,5	Neutrophile im Sputum (×10 <sup>3</sup> /ml) +2,9		
Geller 1998 [15]	Alter ≥5 Jahre FVC ≥70%	14	Offen	749	2	1-mal 2,5 mg HT/PuLA	+2,5	+1,2			
						1-mal 2,5 mg SS/MA	+4,3	+2,6			

Tabelle 2 (Fortsetzung)

**Klinische Wirksamkeit von rhDNase**

Quelle	Einschlusskriterien	Alter [Jahre]	Design	Patienten	Wochen Therapie	rhDNase-Tagesdosis	Änderung der Lungenfunktion		Andere Wirksamkeitsparameter
							FEV <sub>1</sub> [%] <sup>a</sup>	FVC [%] <sup>a</sup>	
Shah 1995 [36]	Stabil – leicht – mittelgradig erkrankt	16–35	Offen	52	104	2-mal 2,5 mg (6 Monate)	+13,3	+12,0	
						1-mal 2,5 mg (18 Monate)	+8,0	+1,2	
Johnson 1999 [22]	Epidemiologisches Register, daraus Pat. mit kontinuierlicher rhDNase-Therapie	14±7	Offen	51	52	rhDNase Keine Therapie (n=2382)	(abs %) +3,9 –1,6		

DB doppelblind, FEV<sub>1</sub> 1-Sekunden-Kapazität, FVC forcierte Vitalkapazität; \*Signifikanter Unterschied ( $p < 0,05$ ) gegenüber Plazebo; \*\*Signifikanter Unterschied gegenüber Vergleichsmedikation; <sup>a</sup>Lungenfunktionsangaben beziehen sich auf die prozentuale Änderung gegenüber dem individuellen Ausgangswert, mit Ausnahme der als abs % bezeichneten Werte, die die Veränderung in % des Sollwerts bezeichnen

rikanische Phase-III-Studie [12]. Es wurden über 900 Patienten im Alter von 5–54 Jahren aufgenommen, die entweder 1-mal oder 2-mal täglich mit 2,5 mg rhDNase oder mit Plazebo inhalierten. Der Verlauf der Lungenfunktion wurde als prozentuale Änderung zum individuellen Ausgangswert ausgedrückt, d. h. ein Patient mit einer FEV<sub>1</sub> von 50% des Solls, der sich auf 55% verbesserte, erfuhr eine Steigerung um 10%. Kriterien für Exazerbationen, die eine intravenöse Behandlung erforderlich machten, waren im Protokoll definiert, und die Patienten wurden mindestens 2-wöchentlich untersucht. Unter rhDNase wurden signifikante Verbesserungen der Lungenfunktion nachgewiesen: das Maximum wurde 7 Tage nach Behandlungsbeginn mit einem Anstieg um rund 8% gegenüber dem Ausgangswert erzielt, während nach Plazebo keine Änderung eintrat (Abb. 2). Danach fielen die Werte in einen Bereich von +4–+6% im Vergleich zum Studienbeginn zurück; über die gesamte Studiendauer von einem halben Jahr betrug die Verbesserung nach rhDNase gut 6% des Ausgangswertes (Plazebo: 0%). Eine mindestens 10%-ige Verbesserung der FEV<sub>1</sub> wiesen 30% der mit Verum behan-

delten Patienten auf im Vergleich zu nur 15% in der Plazebogruppe (Abb. 3). Das Auftreten respiratorischer Exazerbationen wurde während der 24-wöchigen Therapie durch rhDNase signifikant reduziert, und es gab weniger Tage mit intravenöser Antibiotikatherapie (im Mittel –1 Tag) als in der Plazebogruppe.

Auch von schwerkranken Patienten mit einer FEV<sub>1</sub> unter 40% des Solls gibt es Daten aus Doppelblindstudien. McCoy et al. berichteten über signifikant größere Verbesserungen von FEV<sub>1</sub> und FVC unter 1-mal 2,5 mg rhDNase als unter Plazebo (FEV<sub>1</sub>: +9,4% vs. +2,1%), jedoch keinen Unterschied bei der Häufigkeit von Exazerbationen oder i.-v.-Therapien [28]. Ein Teil der Patienten reagierte mit einem mindestens 10%-igen Abfall der FEV<sub>1</sub>, und zwar 22% der mit Verum und 17% der mit Plazebo behandelten Patienten. In einer anderen Studie bei Schwerkranken konnte nach 2-wöchiger rhDNase-Behandlung zunächst kein Benefit erzielt werden; die Mittelwerte von FEV<sub>1</sub> und FVC waren nach Plazebo sogar höher [35]. Nach Beendigung der doppelblinden Phase wurde über ein halbes Jahr eine offene Behandlung mit rhDNase durchgeführt, die von 38 der ursprünglich 65 Patienten

durchgehalten wurde. Diese Untergruppe erfuhr eine Verbesserung von FEV<sub>1</sub> und FVC von 11% bzw. 23% gegenüber dem Ausgangswert.

Zur Frage des Nutzens einer rhDNase-Therapie in Bezug auf die Lungenfunktion bei leicht kranken CF-Patienten wurden 749 Kinder und Erwachsene mit einer FEV<sub>1</sub> ≥70% des Solls untersucht [15]. In der offenen Studie wurden zwei Verneblersysteme miteinander verglichen. Unter 1-mal 2,5 mg rhDNase aus dem SideStream-Vernebler mit MobileAire-Kompressor besserte sich die FEV<sub>1</sub> nach 2 Wochen um 4,3% und die FVC um 2,6% des Ausgangswertes, was signifikant mehr war als in der Vergleichsgruppe mit dem anderen System. Dieselben Autoren berichteten außerdem über eine Subgruppe von Patienten der großen Phase-III-Studie, bei denen die FEV<sub>1</sub> zu Beginn normal gewesen war (>85% des Solls). Unter rhDNase kam es zu einem knapp 4%-igen Anstieg der FVC, während die Vitalkapazität unter Plazebo mit +0,1% unverändert blieb [14].

Eine aktuelle, noch nicht vollständig publizierte klinische Prüfung bezieht sich auf die frühe und langfristige Anwendung von rhDNase bei 6- bis 10-

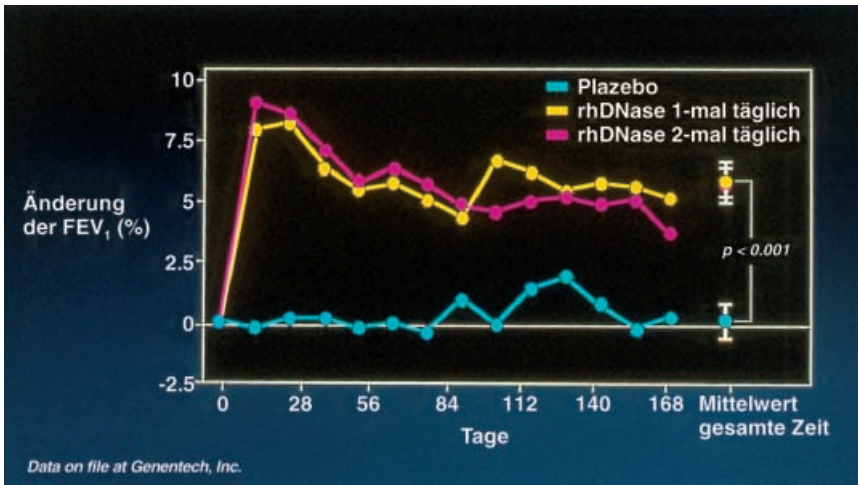


Abb. 2 ▲ Phase III-Prüfung. Mittlere Änderung der 1-Sekunden-Kapazität FEV<sub>1</sub> (in % des Solls) über 24 Wochen unter der Therapie mit rhDNase bzw. mit Placebo [12]

jährigen Schulkindern mit guter Lungenfunktion (forcierte Vitalkapazität, FVC,  $\geq 85\%$  des Sollwertes). An dieser multinationalen, doppelblinden und plazebokontrollierten Studie [41] nahmen 474 Kinder aus 49 Studienzentren teil. Nach Inhalation von 1-mal täglich 2,5 mg rhDNase über 96 Wochen hatte sich die FEV<sub>1</sub> gegenüber dem Ausgangswert nicht verändert, während sie in der Placebogruppe um 3% des Solls abgefallen war ( $p < 0,006$  für den Unterschied zwischen den Behandlungsgruppen, Abb. 4). Das Risiko, wegen einer respiratorischen Exazerbation eine i.-v.-Antibiotikatherapie erhalten zu müssen, wurde durch rhDNase im Vergleich zu Placebo um 34% reduziert ( $p = 0,048$ ). In der Dornase-alfa-Gruppe waren nur 62, in der Placebogruppe jedoch 92 solche Ereignisse zu verzeichnen.

In Tabelle 2 sind weitere klinische Prüfungen zu rhDNase aufgeführt. Es handelt sich um offene Studien über 2 Wochen bis 18 Monate, in denen keine Vergleichsgruppen mitgeführt wurden. Die erzielten Verbesserungen der FEV<sub>1</sub> lagen im Bereich von 2–13%. Im nordamerikanischen epidemiologischen CF-Register (ESCF) zeigten die 283 mit rhDNase behandelten Patienten nach 1 Jahr einen Anstieg der FEV<sub>1</sub> von 4% des Solls, während die 2.382 nicht behandelten Patienten eine Verminderung um 1,6% aufwiesen. Dabei ist aufgrund der Struktur des Registers keine Aussage darüber möglich, ob sich die behandelten von den nicht behandelten Patienten zu Therapiebeginn unterschieden hatten, oder

warum die Mehrzahl der Patienten keine rhDNase erhielt.

In jedem Fall ist es als positiv zu bewerten, wenn die Lungenfunktion bei CF stabil bleibt und über längere Zeit nicht abfällt. Im Allgemeinen gelingt es nämlich nicht, die pulmonale Situation stabil zu halten: so betrug im deutschen Qualitätssicherungsprojekt, das über 4000 Patienten erfasst, der mittlere jährliche Abfall der FEV<sub>1</sub> je nach Alterskohorte bis zu 2,7% des Solls [40]. Auswertungen aus dem Epidemiologic Registry of Cystic Fibrosis (ERCF; etwa 13.000 Patienten) zeigen eine mittlere FEV<sub>1</sub>-Abnahme von 0,9–1,3% des Solls. Auch in offenen oder epidemiologischen Studien spricht daher das Ausbleiben von

Verschlechterungen für den Nutzen einer Therapie. Dies gilt umso mehr, als in doppelblinden Studien bei Mukoviszidose der Benefit im Placeboarm eher gering war.

### Responder vs. Non-Responder

Hinter den dokumentierten Verbesserungen von Lungenfunktionsmittelwerten verbergen sich unterschiedliche Subgruppen von Patienten mit gutem bzw. schlechtem Ansprechen auf rhDNase. In der Studie von Henry et al. wurden 65% der Patienten zu den Respondern gezählt, die nach einem Monat einen mindestens 10%-igen Anstieg der FEV<sub>1</sub> (bezogen auf den Sollwert) aufwiesen [20]. Responder hatten bei Beginn der Therapie eine niedrigere FEV<sub>1</sub> und stärkere Entzündungszeichen. Dies bestätigte Ergebnisse einer früheren Arbeit, bei der Patienten mit einer FVC  $< 70\%$  stärker profitierten als Patienten mit normaler Lungenfunktion [32]. Auch bei Patienten, die gleichzeitig mit Bronchodilatoren behandelt wurden, war der Therapieeffekt größer.

Demgegenüber war in der retrospektiven Analyse von Davies et al. kein Zusammenhang zwischen Ansprechen auf die Therapie und Basislungenfunktion zu verzeichnen [10]. Mindestens 20%-ige Verbesserungen der FEV<sub>1</sub> nach 2–4 Wochen rhDNase fanden sich bei 37% der Patienten; nach 1-jähriger Behandlung war dieser Effekt bei demselben Anteil behandelter Personen nach-

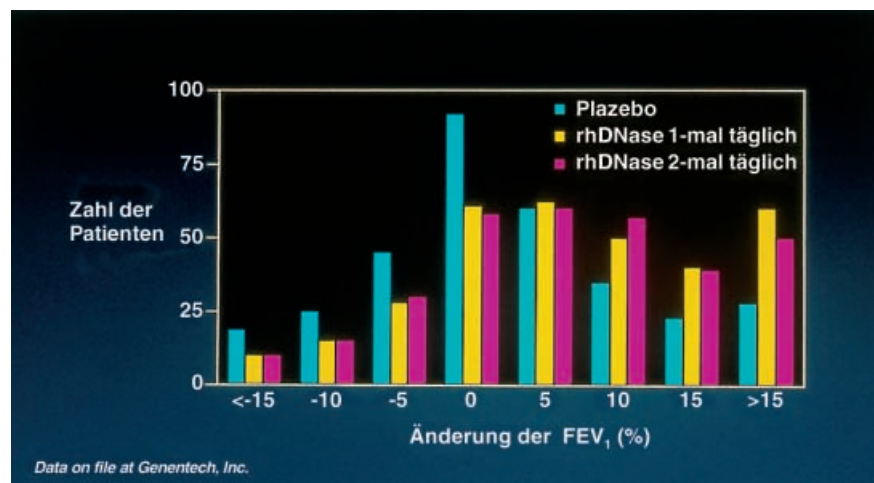


Abb. 3 ▲ Verteilung der individuellen Veränderungen der FEV<sub>1</sub> in % des Ausgangswerts (Daten aus der von Fuchs et al. [12] veröffentlichten Phase-III-Studie)

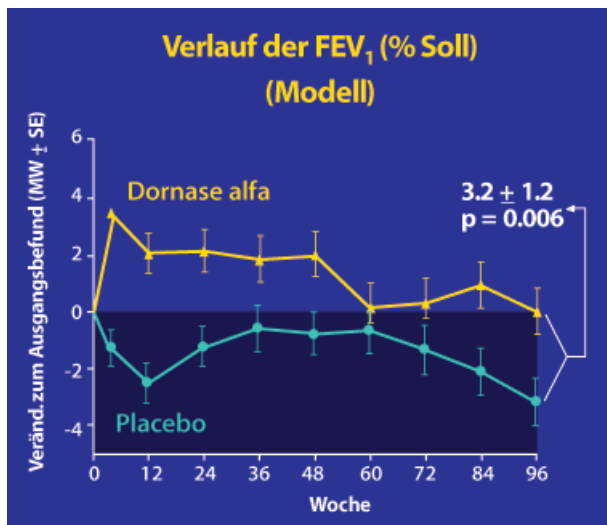


Abb. 4. ◀ Entwicklung der Einsekundenkapazität FEV<sub>1</sub> über 96 Wochen gegenüber dem Ausgangswert zu Beginn der Therapie (nach [41])

weisbar. Dabei korrelierte das Ansprechen nach 3-monatiger Therapie mit dem Resultat nach 12 Monaten, sodass die Autoren einen Therapieversuch über 3 Monate empfehlen. Die subjektive Beurteilung des Behandlungserfolges durch die Patienten zeigte dagegen keinen Bezug zum Lungenfunktionsergebnis.

Die prospektiven doppelblinden Studien bei Schwerkranken lassen zweifeln, ob diese Patienten von rhDNase profitieren (siehe unten). Entweder wurde im Mittel kein Vorteil erzielt, oder der Anteil von Patienten mit Abfall der FEV<sub>1</sub> war in der Verumgruppe größer.

### Anwendung bei akuter Exazerbation

Patienten, die wegen akuter respiratorischer Exazerbation hospitalisiert wurden, erfuhren durch zusätzliche Behandlung mit 2-mal 2,5 mg rhDNase keinen zusätzlichen Benefit gegenüber der üblichen Therapie mit Antibiotika und sorgfältiger Physiotherapie. Dies wurde an 80 Patienten in einer doppelblinden, plazebokontrollierten Studie gezeigt [43].

### Pharmakoökonomische Aspekte

Bereits in der Phase-III-Studie von Fuchs et al. wurden die Kosten einer 6-monatigen Behandlung mit rhDNase evaluiert [12]. Bei Medikamentenkosten von rund 4500 \$ für die Einmalgabe von rhDNase wurden die Kosten für die Behandlung respiratori-

scher Exazerbationen gesenkt, und zwar von rund 6400 auf rund 4700 \$. In einer separaten Arbeit mit Daten derselben Studie wurde näher auf die Inanspruchnahme medizinischer Leistungen und deren Kosten eingegangen [31]. Stationäre Aufnahmen wegen respiratorischer Exazerbation waren unter 1-mal 2,5 mg rhDNase signifikant seltener als unter Placebo (0,41 vs. 0,56), ebenso wie die durchschnittliche Zahl der Tage mit häuslicher intravenöser Antibiotikagabe (2,9 vs. 4,4). Demgegenüber fand sich kein Unterschied hinsichtlich der oralen Antibiotikatherapie. Die jährlichen Kosten der rhDNase-Therapie wurden durch Einsparungen bei der Inanspruchnahme medizinischer Leistungen zu 18–38% aufgefangen.

Für die Verhältnisse in Deutschland führte eine Arbeitsgruppe der Medizinischen Hochschule Hannover entsprechende Berechnungen durch [41]. Ausgehend von den Daten der amerikanischen Doppelblindstudie [12], konnten in 6 Monaten die Behandlungskosten wegen Atemwegsinfektionen um 1.970 DM reduziert werden, während der Aufwand für rhDNase im selben Zeitraum 9.094 DM betrug. Diese Berechnungen sind ein weiteres Argument dafür, die Behandlung denjenigen Patienten zukommen zu lassen, die von der Substanz eindeutig profitieren.

### Verträglichkeit

#### Unerwünschte Ereignisse

RhDNase wird im Allgemeinen gut vertragen; unerwünschte Ereignisse betreffen einen kleinen Teil der Patienten und führen selten zum Abbruch der Behand-

lung. Tabelle 3 gibt eine Übersicht zu Zahl und Art unerwünschter Ereignisse, wie sie in großen doppelblinden Studien dokumentiert wurden.

Signifikant häufiger als unter Placebo traten Veränderungen der Stimme (überwiegend als Heiserkeit beschrieben), Exantheme und Laryngitis auf. Von diesen Ereignissen waren nach Inhalation von 2-mal 2,5 mg rhDNase über 24 Wochen jeweils 16%, 12% und 4% der Patienten betroffen, nach Placebo nur 7%, 7% und 1% [12]. Die Heiserkeit besserte sich in der Regel innerhalb der ersten 3 Wochen nach Behandlungsbeginn. Bei Patienten mit einer FVC unter 40% bestand eine Tendenz zur häufigeren Dokumentation von Dyspnoe (31% vs. 20% unter Placebo bei Shah et al. [35, 36] und 17% vs. 12% bei McCoy et al. [28]).

### Verschlechterung der Lungenfunktion

In der retrospektiven Arbeit von Davies et al. wurde berechnet, wie viele Patienten auf rhDNase mit einer Verschlechterung von FEV<sub>1</sub> und FVC reagierten: der Anteil an Patienten betrug je nach Therapiedauer zwischen 22% und 37% [10]. Bei der Interpretation ist zu berücksichtigen, dass ein Abfall der Lungenfunktion bei CF zum üblichen Krankheitsverlauf gehört und dass keine Kontrollgruppe mitgeführt wurde. Allerdings wurde auch in prospektiven Studien bei einigen Patienten ein mindestens 10%iger Abfall der FEV<sub>1</sub> dokumentiert. In der Phase-III-Studie über 24 Wochen bei leicht bis mittelschwer Erkrankten verschlechterten sich nach Placebo 14% und nach rhDNase nur 7% der Patienten [12]. Schwerkranke waren demgegenüber nach 12 Wochen rhDNase zu 22% und nach Placebo zu 17% von einer 10%igen FEV<sub>1</sub>-Reduktion betroffen [28]. Auch aus großen CF-Ambulanzen wurde von Verschlechterungen der pulmonalen Situation nach rhDNase berichtet: in der pädiatrischen Gruppe des Brompton-Hospitals [5] wurde bei 1/3 aller Kinder und in der Ambulanz in Minneapolis [29] bei 29% der Patienten zwischen 4 und 53 Jahren von einer Verschlechterung der Lungenfunktion unter DNase berichtet.

Den Versuch einer pathophysiologischen Erklärung zumindest für Patienten mit einer FEV<sub>1</sub> unter 40% des Solls wird in der Arbeit von Rochat et al. unternommen [34]. Bei Schwerkranken (FEV<sub>1</sub>

Tabelle 3  
Unerwünschte Ereignisse in Studien mit Dornase alfa

	Fuchs et al. [12]			Shah et al. [35]		Harms et al. [18]	McCoy et al. [28]	
n Patienten	968			70		974	320	
Behandlungsdauer	24 Wochen			2 Wochen		12–14 Wochen	12 Wochen	
Tagesdosis rhDNase	2-mal 2,5 mg	1-mal 2,5 mg	Plazebo	2-mal 2,5 mg	Plazebo	1-mal 2,5 mg	1-mal 2,5 mg	Plazebo
Unerwünschte Ereignisse (n)	158	139	132	82	91			
bei % Patienten	49%	43%	41%				Ca. 94%	Ca. 94%
Dyspnoe <sup>a</sup>	40	37	43	31	20	18	17	12
Pharyngitis	40	36	33	6	9	17	32	28
Hämoptysen	19	17	21	6	9	12		
Brustschmerzen	21	18	16			6		
Veränderungen der Stimme	16*	12*	7	3	9	16	18	6
Exanthem	12*	10	7			2		
Konjunktivitis	5	4	2			0,4		
Laryngitis	4*	3*	1			1		
Pneumothorax	1	1	1	0	3			
Mehr Sputum				17	20	6		
Mehr Husten				6	17	34		
Rhinitis							30	24
Fieber							32	28
≥10%iger Abfall der FEV <sub>1</sub>							22	17
Tod							5,6	3,8

<sup>a</sup>Angaben in % der Patienten, \*signifikant mehr als Plazebo

22–40% des Solls) wurde die Aktivität von Neutrophilenelelastase und Cathepsin G vor, während und nach rhDNase-Therapie untersucht (Tabelle 1). Die Patienten waren chronisch mit *Pseudomonas aeruginosa* infiziert und hatten vor Therapiebeginn sehr hohe Elastaseaktivitäten. Es fand sich ein signifikanter Anstieg beider Enzyme nach 15-tägiger Inhalation von 1-mal 2,5 mg rhDNase, und eine Woche nach Beendigung der Therapie waren die Befunde wieder rückläufig. Die Befunde wurden dahingehend interpretiert, dass diese kationischen Proteasen, die zuvor an negativ geladene Polyanionen wie DNA gebunden waren, durch Therapie mit rhDNase freigesetzt wurden. Die Spaltung der DNA erhöhte so die schädliche proteolytische Aktivität im Sputum. Wie die 1-Sekunden-Kapazität sich im Verlauf entwickelte, wurde nicht mitgeteilt. Dennoch wurden die Ergebnisse in einem begleitenden Editorial als beachtenswert bewertet [40]. Andere Untersucher beschrieben entweder nur einen vorübergehenden Anstieg der Proteaseaktivität [38] oder eine Abnahme [9], sodass zu diesem Thema keine endgültige Aussage möglich ist.

### Entwicklung von Anti-rhDNase-Antikörpern

Da das Auftreten von Antikörpern gegen rhDNase potentiell die Wirksamkeit der Substanz einschränken könnte, wurden 6 zyklische Anwendungen hoher Dosen von rhDNase (20 mg pro Tag über 14 Tage, danach 14 Tage Pause usw.) in einer Studie über 6 Monate untersucht [11]. Von den 184 Patienten entwickelten 16 (9%) anti-rhDNase-Antikörper vom IgG-Typ. Mit zunehmender Therapie-dauer wurden häufiger Antikörper nachgewiesen: nach dem 2.–4. Zyklus bei jeweils 4, 8 und 12 Patienten. Wenn bei diesen Personen rhDNase abgesetzt wurde, hatten nach dem 6. Zyklus 4 dieser Patienten keine nachweisbaren Antikörper mehr. Klinisch hatte das Auftreten von anti-rhDNase-Antikörpern keinen messbaren Einfluss auf den Gesundheitszustand der Patienten.

Auch in der Phase-III-Studie wurden Messungen der Antikörper durchgeführt [12]. Nach 2-mal täglicher Inhalation von 2,5 mg rhDNase über ein halbes Jahr wiesen hier 4% der Patienten Antikörper auf.

### Bronchiale Hyperreagibilität

In der bereits erwähnten Studie von Eisenberg et al. wurde auch die bronchiale Hyperreagibilität überprüft [11]. Definiert wurde diese als Abfall der FEV<sub>1</sub> um mehr als 10% gegenüber dem Ausgangswert bei Messung 30 Minuten nach Inhalation von 10 mg rhDNase. Je nach Zyklus reagierten zwischen 6% und 13% der Patienten mit einem Lungenfunktionsabfall. Sie wurden zunächst aus der Studie ausgeschlossen, konnten aber nach Wiederholung und negativem Testergebnis weiter behandelt werden. Insgesamt waren 65 Patienten mit 106 Episoden betroffen: 39 mit einer Episode, 17 Patienten mit zwei, 3 mit drei und 6 Patienten mit vier Episoden.

Allerdings kann auch Plazebo eine Bronchokonstriktion auslösen: in der Ramsey-Studie reagierten bis zu 19% der Patienten mit einem >10%-igen Abfall von FEV<sub>1</sub> und FVC, während nach rhDNase ein geringerer Anteil von maximal 9,1% der Patienten eine Obstruktion entwickelte. Hierbei muss berücksichtigt werden, dass als Plazebo das Lösungsmittel von rhDNase diente, das aus



150 mM Natriumchlorid mit 1,5 mM Kalziumchlorid bestand; der pH-Wert betrug 6,0.

## Rationale Therapie mit rhDNase

### Alter der Patienten

Da bisher keine Daten zur Wirksamkeit der Behandlung bei Säuglingen und Schulkindern vorliegen, ist rhDNase in Europa erst ab dem Alter von 5 Jahren zur Behandlung der Mukoviszidose zugelassen. Für jüngere Kinder kann keine grundsätzliche Empfehlung zur Behandlung gegeben werden. In einer Studie an 98 Kindern zwischen 3 Monaten und 10 Jahren wurde immerhin nachgewiesen, dass genügend rhDNase die Lunge erreicht, wenn mit dem PariBaby-Vernebler und einer Maske inhaliert wird. Dabei schwankten die in der BAL erreichten Konzentrationen ebenso stark (zwischen 100 und über 10.000 µg/ml Lavageflüssigkeit) wie nach Inhalation über Pari LC+ und Mundstück [42]. Studien zum Nachweis der Wirksamkeit von rhDNase bei Säuglingen und Kleinkindern sind schwierig zu konzipieren. Be-

währte Lungenfunktionsparameter wie FEV<sub>1</sub> stehen in dieser Altersgruppe nicht zur Verfügung, und die Zahl respiratorischer Exazerbationen ist bei diesen häufig asymptomatischen Kindern eher klein. Eine Möglichkeit kann der Einsatz von HR-CTs sein, mit deren Hilfe morphologische Veränderungen bei jungen Kindern nachweisbar waren [30].

In der Phase-III-Studie wurden die Patienten zwar nach Alter gruppiert, jedoch wurden die Erfolgsparameter nicht entsprechend aufgeschlüsselt. Lediglich hinsichtlich Exazerbationen wurde die Gruppe 17- bis 23-Jähriger separat betrachtet; hier kam es zu einer 37%-igen Reduktion der Exazerbationshäufigkeit unter 2-mal 2,5 mg rhDNase [12]. Gegenwärtig bleibt unklar, ob bestimmte Altersgruppen besonders von rhDNase profitieren.

### Schweregrad der Erkrankung

Daten aus vergleichenden Doppelblindstudien sind v. a. für die Gruppe von Patienten mit mehr als 40% FVC überzeugend. Sowohl Ramsey [32] als auch Fuchs et al. [12] wiesen Verbesserungen

der FEV<sub>1</sub> zwischen 5% und 15% gegenüber dem Ausgangswert nach [32]. Daraus kann abgeleitet werden, dass eine Behandlung dieser Patienten sinnvoll ist. Die Zulassung für rhDNase bezieht sich dementsprechend explizit auf Patienten ab 5 Jahren mit einer FVC über 40% der Norm.

Kaum überzeugen können Ergebnisse von schwer kranken Patienten, bei denen es in der Placebogruppe entweder zu günstigeren Resultaten [36] oder zu häufigeren Verschlechterungen der FEV<sub>1</sub> als in der Verumgruppe kam [28]. Die Daten von Rochat [34], die eine vermehrte proteolytische Aktivität des Sputums nach rhDNase nachweisen konnten, mahnen zur Vorsicht bei Patienten mit ausgeprägter inflammatorischer Krankheitsaktivität. Nichtsdestoweniger gibt es auch schwer kranke Patienten, die im Einzelfall von der Behandlung mit rhDNase profitieren können.

### Kontrollierter Therapieversuch

Bisher wurde kein Parameter oder keine Kombination klinischer Befunde identifiziert, die eine Vorhersage dar-

**Hier steht eine Anzeige**  
**This is an advertisement**



**Springer**

175 x 115 mm)

über erlauben, ob eine bevorstehende rhDNase-Inhalation für den individuellen Patienten nützlich sein wird. Die hohen Behandlungskosten sind ein weiteres Argument dafür, die Indikation zur Behandlung sorgfältig zu stellen. Mehrere Editorials und Meinungsäußerungen ausgewiesener CF-Experten sind zur Frage erschienen, wer mit rhDNase behandelt werden sollte [5, 7, 8, 13, 21, 23]. Allen ist eine Aussage gemeinsam: um den Nutzen abschätzen zu können, ist ein individueller Behandlungsversuch erforderlich. Meist wird von 2–4 Wochen Therapie ausgegangen, z. T. auch von einem Versuch über 3 Monaten. Ausbleibende Besserung soll zum Absetzen der rhDNase-Inhalation führen. Wichtig in diesem Zusammenhang ist die Tatsache, dass Patientenurteil und objektiv messbare Veränderung nicht gut übereinstimmen.

Eine definitive Aussage zum individuellen Ansprechen erlauben  $n=1$ -Studien [16, 17]. Eine schottische Arbeitsgruppe führte solche verblindeten Crossover-Studien bei einzelnen CF-Patienten durch [3]. Es erfolgten maximal 3 Therapiezyklen über jeweils einen Monat, wobei abwechselnd jeweils 2 Wochen mit rhDNase bzw. mit physiologischer Kochsalzlösung inhaliert wurde. Die Zuteilung zur ersten Behandlung erfolgte randomisiert. Der Verlauf von Symptomen und Lungenfunktion wurde alle 14 Tage gemessen und für jeden Behandlungszyklus die Veränderung beurteilt. Wenn mindestens 2 Phasen ein Ansprechen (oder Nichtansprechen) zeigten, wurde die Studie beim Patienten beendet. In den 89 Zyklen bei 52 Patienten ergab sich ein bimodales Ansprechen: bei vielen Patienten war der Effekt nicht eindeutig, wenn es ihn aber gab, war er sehr stark ausgeprägt. Diese Arbeit zeigt, dass mit einer kontrollierten Anwendung beim einzelnen Patienten eine klare Aussage möglich ist und die Behandlung gezielt bei denjenigen Patienten eingesetzt werden kann, die davon profitieren.

### Praktische Hinweise zur Anwendung

Die Inhalation von 2,5 mg rhDNase erfolgt 1-mal (oder 2-mal) täglich über einen Kompressionsvernebler, wobei mehrere in Deutschland gebräuchliche Inhaliergeräte geeignet sind (z. B. Pari LL/Inhalierboy, Pari LC/Inhalierboy, Pari Ma-

ster). Ultraschallvernebler sollten nicht verwendet werden, da klinische Studien mit diesen Geräten bisher fehlen. Die Substanz darf weder verdünnt noch mit anderen Medikamenten gemischt werden. Da Patienten mit Mukoviszidose zahlreiche Medikamente inhalieren, ist die Frage nach der Reihenfolge und dem zeitlichen Abstand der Substanzen voneinander relevant. Conway empfiehlt, frühestens 30 Minuten nach Applikation eines inhalativen Antibiotikums mit rhDNase zu inhalieren [8]. Sinnvoll erscheint auch sein Vorschlag, Physiotherapie nicht früher als 2 Stunden nach Inhalation von rhDNase durchzuführen. Erste In-vitro-Daten deuten darauf hin, dass die Kombination von oszillativer Physiotherapie und rhDNase sinnvoll sein könnte, klinische Studien hierzu fehlen jedoch bisher [1]. Manche Ärzte empfehlen, morgens und abends das übliche Therapieprogramm durchzuführen (z. B. Inhalation eines Bronchodilatators, Physiotherapie, Inhalation des Antibiotikums) und rhDNase mittags separat zu inhalieren. Für jeden Patienten sollte das Behandlungsprogramm individuell, idealerweise unter Einbezug der Physiotherapeutin, ausgearbeitet werden. Eine intermittierende Gabe von rhDNase kann nicht empfohlen werden, da ein Absetzen von rhDNase zu einem schnellen Verlust des Therapieeffektes führt [11].

Praktisch wichtig ist auch, dass rhDNase-Inhalationslösung im Kühlschrank bei 2–8°C aufbewahrt werden muss. Zum Transport wurden spezielle Kühltaschen entwickelt. Allerdings erwähnt die Fachinformation ausdrücklich, dass eine Temperaturerhöhung bis 30°C über maximal 24 h nicht zu einem Stabilitätsverlust der Substanz führt.

### Fazit

Das Medikament rhDNase wurde einem umfangreichen klinischen Forschungs- und Entwicklungsprogramm unterzogen, in dem Wirksamkeit und Verträglichkeit der Substanz nachgewiesen wurden.

In kontrollierten Studien wurden bei Patienten >5 Jahren mit einer forcierten Vitalkapazität über 40% des Solls Verbesserungen der FEV<sub>1</sub> in der Größenordnung von 5–10% des Ausgangswerts beobachtet, z. T. waren auch respiratorische Exazerbationen signifikant seltener. An Nebenwirkungen ist mit Heiserkeit, Laryngitis und Exan-

them zu rechnen. Die Behandlungskosten sind hoch und liegen bei rund 1200 Euro pro Monat. Das Ansprechen auf die Therapie ist individuell unterschiedlich und bisher nicht anhand üblicher klinischer Parameter vorhersehbar. Wenn ein Effekt eintritt, ist er meist innerhalb von 2 Wochen festzustellen. Individuelle Behandlungsversuche über 2–4 Wochen, im Idealfall als verblindete  $n=1$ -Studie, sind daher erforderlich, um den Nutzen der Behandlung für den einzelnen Patienten zu dokumentieren.

### Addendum

Nach Einreichen des Manuskriptes wurde ein Cochrane Review zu rhDNase veröffentlicht (C. E. Kearney CE und Wallis CE. Deoxyribonuclease for cystic fibrosis. Cochrane Database Syst Rev 2000.;2:CD001127, 2000), der die Ergebnisse von 7 randomisierten Studien mit insgesamt 1710 Patienten zusammenfasst. Die Autoren folgern, dass rhDNase über 6 Monate inhaliert die Lungenfunktion verbessert, und dass die Auswirkungen für den Langzeitverlauf noch eruiert werden müssen. Ebenfalls im Jahr 2000 wurden auf der nordamerikanischen CF-Konferenz vorläufige Daten zu einer doppelblinden Langzeitstudie über 2 Jahre vorgestellt, die einen positiven Effekt von rhDNase bei den untersuchten Kindern nahelegen (41 im Text).

**Danksagung.** Die Autorin dankt der Firma Hoffmann-La Roche für ihre Unterstützung.

### Literatur

1. App EM, Wunderlich MO, Lohse P, King M, Matthys H (1999) Oszillierende Physiotherapie bei Bronchialerkrankungen – rheologischer und antientzündlicher Effekt. *Pneumologie* 53: 348–359
2. Armstrong DS, Grimwood K, Carlin JB et al. (1997) Lower airway inflammation in infants and young children with cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 156: 1197–1204
3. Böllert FGE, Paton JY, Marshall TG, Calvert J, Greening AP, Innes JA (1999) Recombinant DNase in cystic fibrosis: a protocol for targeted introduction through n-of-1 trials. *Eur Respir J* 13: 107–113
4. Brandt T, Breitenstein S, von der H, Tummler B (1995) DNA concentration and length in sputum of patients with cystic fibrosis during inhalation with recombinant human DNase. *Thorax* 50: 880–882

5. Bush A (1998) Early treatment with dornase alfa in cystic fibrosis: what are the issues? *Pediatr Pulmonol* 25: 79–82
6. Cheng K, Smyth RL, Motley J, O’Hea U, Ashby D (2000) Randomized controlled trials in cystic fibrosis (1966–1997) categorized by time, design, and intervention. *Pediatr Pulmonol* 29: 1–7
7. Conway SP (1997) Recombinant human DNase (rhDNase) in cystic fibrosis: is it cost effective? *Arch Dis Child* 77: 1–3
8. Conway SP, Littlewood JM (1997) rhDNase in cystic fibrosis. *Br J Hosp Med* 57: 371–372
9. Costello CM, O’Connor CM, Finlay GA, Shiels P, Fitzgerald MX, Hayes JP (1996) Effect of nebulized recombinant DNase on neutrophil elastase load in cystic fibrosis. *Thorax* 51: 619–623
10. Davies J, Trindade MT, Wallis C, Rosenthal M, Crawford O, Bush A (1997) Retrospective review of the effects of rhDNase in children with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 23: 243–248
11. Eisenberg JD, Aitken ML, Dorkin HL et al. (1997) Safety of repeated intermittent courses of aerosolized recombinant human deoxyribonuclease in patients with cystic fibrosis. *J Pediatr* 131: 118–124
12. Fuchs HJ, Borowitz DS, Christiansen DH et al. (1994) Effect of aerosolized recombinant human DNase on exacerbations of respiratory symptoms and on pulmonary function in patients with cystic fibrosis. The Pulmozyme Study Group. *N Engl J Med* 331: 637–642
13. Geddes DM, Shah PL (1999) Where we are now with rhDNase. *Lancet* 353: 1727
14. Geller DE (1997) Aerosolized dornase alfa in cystic fibrosis: is there a role in the management of patients with early obstructive lung disease? *Pediatr Pulmonol* 24: 155–158
15. Geller DE, Eigen H, Fiel SB, Clark A, Lamarre AP, Johnson CA, Konstan MW (1998) Effect of smaller droplet size of dornase alfa on lung function in mild cystic fibrosis. Dornase Alfa Nebulizer Group. *Pediatr Pulmonol* 25: 83–87
16. Guyatt G, Sackett D, Adachi J, Roberts R, Chong J, Rosenbloom D, Keller J (1988) A clinician’s guide for conducting randomized trials in individual patients. *CMAJ* 139: 497–503
17. Guyatt GH, Keller JL, Jaeschke R, Rosenbloom D, Adachi JD, Newhouse MT (1990) The n-of-1 randomized controlled trial: clinical usefulness. Our three-year experience. *Ann Intern Med* 112: 293–299
18. Harms HK, Matoud E, Tournier G et al. (1998) Multicenter, open-label study of recombinant human DNase in cystic fibrosis patients with moderate lung disease. DNase International Study Group. *Pediatr Pulmonol* 26: 155–161
19. Heijerman HG, Rossem RN van, Bakker W (1995) Effect of rhDNase on lung function and quality of life in adult cystic fibrosis patients. *Neth J Med* 46: 293–297
20. Henry RL, Gibson PG, Carty K, Cai Y, Francis JL (1998) Airway inflammation after treatment with aerosolized deoxyribonuclease in cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 26: 97–100
21. Innes JA (1998) DNase in cystic fibrosis: the challenge of assessing response and maximizing benefit. *Thorax* 53: 1003–1004
22. Johnson CA, Butler SM, Konstan MW, Breen TJ, Morgan WJ (1999) Estimating effectiveness in an observational study: a case study of dornase alfa in cystic fibrosis. The Investigators and Coordinators of the Epidemiologic Study of Cystic Fibrosis. *J Pediatr* 134: 734–739
23. Kanga JF (1996) Dornase alfa therapy in cystic fibrosis: who should get it? *Chest* 110: 871–872
24. Khan TZ, Wagener JS, Bost T, Martinez J, Accurso FJ, Riches DW (1995) Early pulmonary inflammation in infants with cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 151: 1075–1082
25. King M, Dasgupta B, Tomkiewicz RP, Brown NE (1997) Rheology of cystic fibrosis sputum after in vitro treatment with hypertonic saline alone and in combination with recombinant human deoxyribonuclease I. *Am J Respir Crit Care Med* 156: 173–177
26. Kirchner KK, Wagener JS, Khan TZ, Copenhaver SC, Accurso FJ (1996) Increased DNA levels in bronchoalveolar lavage fluid obtained from infants with cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 154: 1426–1429
27. Konstan MW, Hilliard KA, Norvell TM, Berger M (1994) Bronchoalveolar lavage findings in cystic fibrosis patients with stable, clinically mild lung disease suggest ongoing infection and inflammation [published erratum appears in *Am J Respir Crit Care Med* 1995 Jan; 151(1): 260]. *Am J Respir Crit Care Med* 150: 448–454
28. McCoy K, Hamilton S, Johnson C (1996) Effects of 12-week administration of dornase alfa in patients with advanced cystic fibrosis lung disease. Pulmozyme Study Group. *Chest* 110: 889–895
29. Milla CE (1998) Long-term effects of aerosolized rhDNase on pulmonary disease progression in patients with cystic fibrosis. *Thorax* 53: 1014–1017
30. Nasr SZ, Kuhns LR, Brown RW, Hurwitz ME, Sanders G, Strouse PJ (1999) Aerosolized recombinant human DNase in cystic fibrosis patients younger than 5 years of age. *Pediatr Pulmonol* 28: 278–278
31. Oster G, Huse DM, Lacey MJ, Regan MM, Fuchs HJ (1995) Effects of recombinant human DNase therapy on healthcare use and costs in patients with cystic fibrosis. *Ann Pharmacother* 29: 459–464
32. Ramsey BW, Astley SJ, Aitken ML et al. (1993) Efficacy and safety of short-term administration of aerosolized recombinant human deoxyribonuclease in patients with cystic fibrosis. *Am Rev Respir Dis* 148: 145–151
33. Raskin P (1968) Bronchospasm after inhalation of pancreatic dornase. *Am Rev Respir Dis* 98: 597–598
34. Rochat T, Pastore FD, Schlegel-Haueter SE, Filthuth I, Auckenthaler R, Belli D, Suter S (1996) Aerosolized rhDNase in cystic fibrosis: effect on leucocyte proteases in sputum. *Eur Respir J* 9: 2200–2206
35. Shah PI, Bush A, Canny GJ et al. (1995) Recombinant human DNase I in cystic fibrosis patients with severe pulmonary disease: a short-term, double-blind study followed by six months open-label treatment. *Eur Respir J* 8: 954–958
36. Shah PL, Scott SF, Geddes DM, Hodson ME (1995) Two years experience with recombinant human DNase I in the treatment of pulmonary disease in cystic fibrosis. *Respir Med* 89: 499–502
37. Shah PL, Scott SF, Knight RA, Hodson ME (1996) The effects of recombinant human DNase on neutrophil elastase activity and interleukin-8 levels in the sputum of patients with cystic fibrosis. *Eur Respir J* 9: 531–534
38. Shah PL, Scott SF, Knight RA, Marriott C, Ranasinha C, Hodson ME (1996) In vivo effects of recombinant human DNase I on sputum in patients with cystic fibrosis. *Thorax* 51: 119–125
39. Shak S, Capon DJ, Hellmiser R, Marsters SA, Baker CL (1990) Recombinant human DNase I reduces the viscosity of cystic fibrosis sputum. *Proc Natl Acad Sci USA* 87: 9188–9192
40. Stern M, Wiedemann B, Sens B (1999). Qualitätssicherung Mukoviszidose. Überblick über den Gesundheitszustand der Patienten in Deutschland 1998. Zentrum für Qualitätsmanagement im Gesundheitswesen, Hannover
41. Tiddens H A. Pulmozyme Early Intervention Trial. Vortrag auf der 14. Nordamerikanischen CF- Konferenz in Baltimore, 2000
42. Vogelmeier C, Doring G (1996) Neutrophil proteinases and rhDNase therapy in cystic fibrosis. *Eur Respir J* 9: 2193–2195
43. Von der Schulenburg J-M, Greiner W, der Hardt H von (1995) Sozioökonomische Evaluation des Einflusses von rhDNase auf die Kosten der Behandlung von Infektionen der Atemwege bei Patienten mit Zystischer Fibrose. *Med Klin* 90: 220–224
44. Wagener JS, Rock MJ, McCubbin MM, Hamilton SD, Johnson CA, Ahrens RC (1998) Aerosol delivery and safety of recombinant human deoxyribonuclease in young children with cystic fibrosis: a bronchoscopic study. Pulmozyme Pediatric Bronchoscopy Study Group. *J Pediatr* 133: 486–491
45. Wilmott RW, Amin RS, Colin AA et al. (1996) Aerosolized recombinant human DNase in hospitalized cystic fibrosis patients with acute pulmonary exacerbations. *Am J Respir Crit Care Med* 153: 1914–1917