

Aus der Medizinischen Klinik der Universität Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. G. Ertl

**Transforming growth factor β 1 in der Bronchoalveolären
Lavage und im Serum bei Interstitiellen Lungenerkrankungen**

Inaugural-Dissertation
Zur Erlangung der Doktorwürde der
Medizinischen Fakultät
der Bayerischen Julius-Maximilians-Universität zu Würzburg

vorgelegt von
Alexander Boeck
aus Braunschweig

Würzburg, Februar 2006

Referent: Privat-Dozent Dr. med. M. Kolb
Korreferent: Professor Dr. med. G. Ertl
Dekan: Professor Dr. med. S. Silbernagel

Tag der mündlichen Prüfung: 08.06.2006

Der Promovend ist Zahnarzt

Meinen Eltern in Dankbarkeit gewidmet

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

-Worte sind mit einem Stern(*) gekennzeichnet

A

ACE: **A**ngiotensin **c**onvertin **e**nzyme

ANA: **a**ntinukleäre **A**ntikörper

B

BAL: **B**ronchoalveoläre **L**avage

BALF: **B**ronchoalveoläre **L**avagenflüssigkeit

C**D****E**

ELISA: **e**nzyme-linked **i**mmuno-**s**orption **a**ssay

F**G****H**

HR-CT: **h**igh-**r**esolution **c**omputed **t**omography

I

IIP: **i**diopathic **i**nterstitial **p**neumonie

IPF: **i**diopathic **p**ulmonary **f**ibrosis

ILD: **i**nterstitial **l**ung **d**isease

J**K****L**

LAP: **l**atency-**a**ssociated **p**eptid

M

MMP: **M**etallo-**M**atrix-**P**roteine

N**O****P**

PMN: **P**olymorphkernige **n**eutrophile Granulozyten

Präzipitine: Antikörper die mit den Antigenen als Immunkomplexe ausfallen

Q**R**

Rheumafaktor: Autoantikörper gegen die Fc-Region menschlicher Immunglobuline

S

Sarkoidose Typ I-IV: Man teilt die Sarkoidose je nach ihrem Ausmaß im Röntgenbild in 4 verschiedene Typen ein

SMAD-Moleküle: Familie von intrazellulären Transkriptionsfaktoren

T

TIMP: **t**issue inhibitor of **m**etalloproteinase

U

UIP: **u**sual **i**nterstitial **p**neumonia

V**W****X****Y, Z**

INHALTSVERZEICHNIS

1. EINLEITUNG	1
2. MATERIAL UND METHODEN	5
2.1 Patienten	5
2.2 Materialgewinnung	6
2.2.1 BAL-Bronchoalveoläre Lavage	6
2.2.2 Blutproben	7
2.3 Labormethoden	7
2.3.1 Vorbereitung, Dialysieren und Lyophilisieren der BAL*	7
2.3.2 Bestimmung der TGF β 1 in der BALF* und im Serum	8
2.3.3 Durchführung des Sandwich ELISA zur quantitativen Bestimmung des TGF β 1 Gehalts	8
2.4 Problematik bei der BALF*	9
2.5 Zusammentragung restlicher wichtiger Patientendaten (re-Evaluation)	10
2.6 Statistische Methoden	10
3. ERGEBNISSE	12
3.1 TGF β 1	12
3.1.1 Absolute TGF β 1 Werte verschiedenster diffuser Lungenparenchymerkrankungen in der BALF*	12
3.1.2 Relative TGF β 1 Werte in der BALF*(proteinbezogen)	15
3.1.3 TGF β 1 im Serum	16
3.2 TGF β 1 in der BALF* verglichen mit den Serumwerten	17
3.3 Zellzahlen	18
3.3.1 Korrelation zwischen TGF β 1 und den Zellzahlen (prozentual/absolut) innerhalb der Diagnosegruppen	18
3.3.2 Korrelation zwischen den relativen TGF β 1 Werten und den Zellzahlen(prozentual/absolut) innerhalb der Diagnosegruppen	20
3.3.3 TGF β 1 im Serum und Zellzahlen	21
3.4 Lungenfunktion	22
3.4.1 Lungenfunktion verglichen mit TGF β 1 (absolut) in der BALF* nach Diagnosegruppen aufgeteilt	22
3.4.2 Lungenfunktion verglichen mit TGF β 1 (relativ) proteinbezogen in der BALF* nach Diagnosegruppen aufgeteilt	23

4. DISKUSSION	24
4.1 Serumwerte	24
4.2 Der Ablauf bei fibrosierenden Lungenerkrankungen	24
4.3 Literatur zur IPF (idiopathic pulmonary fibrosis)	28
4.4 Literatur zur Sarkoidose*	32
5. ZUSAMMENFASSUNG	34
6. LITERATURVERZEICHNIS	36

1. EINLEITUNG

Unter dem Überbegriff diffuse Lungenparenchymerkrankungen werden verschiedenste Lungenerkrankungen zusammengefasst, an deren Krankheitsprozess nicht nur das Interstitium, sondern auch die Alveolarsepten und die Alveolarlumina beteiligt sein können. Sie ähneln sich in den klinischen Symptomen. Die einzelnen Erkrankungen sind jedoch z.B. durch ihre Ätiologie, durch ihr radiologisches und histopathologisches Bild, durch den klinischen Verlauf und durch ihre Prognose voneinander abzugrenzen. Die Untergruppe der idiopathischen interstitiellen Pneumonie (IIP), deren Ätiologie nicht geklärt ist, ist die problematischste Krankheitsgruppe. Man geht heute primär von einer Epithelschädigung mit Störung der normalen Wundheilung aus (14, 15). Durch ein komplexes Zusammenwirken verschiedenster Faktoren kommt es nach einem initialen Auslöser zu einer gestörten Wundheilung (39, 58, 60). Diese führt eine Fibrogenese mit sich, was eine Veränderung der Zytoarchitektur der Lunge und eine Zunahme des interstitiellen Bindegewebes mit irreversiblen Funktionsverlust zur Folge hat. Bei einer starken Progredienz der Erkrankung kommt es zu einer Destruktion des Lungengerüsts und zu einem generalisierten fibrotischen Umbau.

In meiner Untersuchung wähle ich unterschiedliche diffuse Lungenparenchymerkrankungen aus, um diese miteinander vergleichen zu können. Dabei befasse ich mich mit verschiedenen diffusen Lungenparenchymerkrankungen wie der IPF (idiopathic pulmonary fibrosis) und der NSIP (non specific interstitial pneumonia), sekundären Lungenerkrankungen idiopathischer Genese wie Sarkoidose, Vaskulitis und Kollagenosen, einer Gruppe, die unter sonstige ILD (interstitial lung disease) zusammengefasst ist, der EAA (exogen allergische alveolitis) und letztlich mit einer Kontrollgruppe, die repräsentativ für den Durchschnittsmenschen ohne interstitielle Lungenerkrankung steht.

Klinisch typische Beschwerden einer Lungenfibrose sind Belastungs- und in progredienten Fällen Ruhedyspnoe. Die Patienten klagen über unproduktiven

Husten und gelegentlich Fieberschübe. Oft ist auch eine Gewichtsabnahme zu beobachten. Des Weiteren sind Trommelschlägelfinger, Uhrglasnägel und eine Zyanose häufige Begleitsymptome. In progredienten Fällen entsteht ein pulmonaler Hochdruck mit allen seinen Nebenwirkungen. Es kann sich ein Cor pulmonale bilden und es besteht die Gefahr des Rechtsherzversagens (7, 51).

Zur Diagnosestellung werden neben den anamnestischen und klinischen Parametern verschiedene Tests und Untersuchungen hinzugezogen. Zum Standard gehören die Lungenfunktionsüberprüfung mit evtl. der Ergospirometrie und ein Röntgenthoraxbild (14). Zur letzten Abgrenzung und Diagnostik sind jedoch weitere Untersuchungen indiziert. Es stehen ausgewählte Laborparameter, wie z.B. ANA*, Rheumafaktor*, Präzipitine* und ACE*, high-resolution computed tomography (HR-CT), bei Verdacht auf IIP (idiopathic interstitial pneumonie) immer indiziert, Bronchoskopie mit bronchoalveolärer Lavage (BAL) und in schwer differenzierbaren Fällen eine Entnahme von Lungengewebe mittels einer video-assistierten Thoraskopie (VATS) zur Verfügung.

Die derzeitigen Therapieoptionen vieler IIP's*, besonders der IPF* beruhen noch auf einer überholten Ansicht der Pathogenese der Fibrose. Sie geht davon aus, dass der durch eine chronische Entzündung im Interstitiellen- und Alveolarraum entstandene Gewebeschaden und die dadurch wiederholten Reparationen eine exzessive Narbenbildung und Fibrose verursachen. Deshalb versucht man als Monotherapie oder Kombination mittels Immunsuppressiva und/oder Kortikosteroiden diese Entzündung einzudämmen (35, 14). Es sei erwähnt, dass dem Patienten als unterstützende Maßnahme zur immunsuppressiven Therapie Sauerstoff gegeben werden kann. Als letzte Instanz bleibt jedoch bei progredienten Formen nur die Lungentransplantation. Neuere Untersuchungen stellen die Immunsuppression in Frage und gehen davon aus, dass die Vernarbung des Gewebes von verschiedenen zusammenwirkenden Faktoren abhängig ist. Nach dieser Hypothese wird die Vernarbung durch einen sequentiellen Gewebeschaden, eine entzündliche

Komponente, die erst durch den Gewebeschaden entsteht, und eine genetische Komponente ausgelöst (35, 39, 60, 58). Daraus ergibt sich demzufolge das therapeutische Dilemma. Es wird nur gegen die entzündliche Komponente vorgegangen, die eventuell in der IPF* nur ein sekundäres Problem darstellt, und das pathologische Verhalten der Fibroblasten und Epithelzellen, die für die Entstehung des Narbengewebes verantwortlich sind, wird mittels der Immunsuppression nicht angesprochen (14, 59). Es wird derzeit nicht gegen die fortschreitende Fibrose vorgegangen, so dass die Therapie der IPF* oft versagt und eine Progression der Erkrankung nicht verhindert werden kann. Dies wird deutlich, wenn man sich die durchschnittliche Überlebenszeit von etwa 3 Jahren vor Augen führt. Deshalb versuchen neueste Untersuchungen und Studien neue Ansätze für die Eindämmung der Fibrose zu bieten.

Im menschlichen Lungengewebe kann eine Vielzahl von Zytokinen und Wachstumsfaktoren nachgewiesen werden. Da TGF β 1 als profibrotisches Zytokin eine Schlüsselstellung bei den komplexen Vorgängen und Interaktionen von fibrosierenden Erkrankungen zugeordnet wird, bietet dieses Zytokin einen viel versprechenden Ansatzpunkt für neue Therapiemöglichkeiten (3, 37, 38).

Meine Untersuchungen gehen der Hypothese nach, dass der TGF β 1 Spiegel direkt mit einer Fibrose zusammenhängt. Dies würde dann einen unterschiedlich hohen TGF β 1 Wert je nach der Fibrosierungsaktivität bedeuten. Eine Krankheit, die wenig Fibrose aufweist, geht somit mit einem niedrigeren TGF β 1 Wert einher, als eine Krankheit mit viel Fibrose.

Weiterhin bedeutet dies für die Diagnostik, dass die TGF β 1 Werte einen einfachen prognostischen Marker für einen fibrotischen Krankheitsverlauf bieten.

Übertragen auf die Ergebnisse meiner Studie fordert die Hypothese, dass die TGF β 1 Werte bei der Sarkoidose Typ II/III* und der IPF* besonders hoch sind, hingegen bei den kranken Kontrollen und der Sarkoidose Typ I*, die keine aktive Fibrose mit sich führen, niedriger anzusiedeln sind.

Des Weiteren gehe ich den Ansätzen nach, dass die Zellzahlen und die Lungenfunktionswerte direkt mit den TGF β 1-Werten innerhalb der Diagnosegruppen zusammenhängen.

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1 Patienten

In meine Untersuchung nehme ich insgesamt 219 Patienten, im Alter zwischen 9 und 78 Jahren, die sich im Zeitraum vom April 1997 bis August 2003 in der Pneumologischen Abteilung der Medizinischen Universitätsklinik Würzburg einer Bronchoskopie mit einer bronchoalveolären Lavage (BAL) unterzogen haben, auf. Ferner wurde ihnen in dem Zeitraum der BAL* eine Blutprobe entnommen. Neben dem bronchoskopischen Befund wurden außerdem noch klinische, laborchemische, radiologische, zytologisch-histologische und mikrobiologische Parameter herangezogen, um die Patienten in folgende 7 Diagnosegruppen einzuteilen:

- 61 Patienten mit Sarkoidose* ; davon sind 41 radiologisch dem Typ I und 20 dem Typ II /III zugeordnet
- 38 Patienten mit IPF (idiopathic pulmonary fibrosis)
- 9 Patienten mit NSIP (non specific interstitial pneumonia)
- 41 Patienten mit sonstigenILD (sonstige interstitielle Lungenerkrankungen)
- 31 Patienten mit Kollagenose
- 6 Patienten mit Vaskulitis
- 11 Patienten mit EAA (exogen allergische Alveolitis)
- 22 Patienten, bei denen keine interstitielle Lungenkrankheit nachgewiesen werden konnte, dienen als Kontrollgruppe, d.h. als einigermaßen repräsentativ für den Durchschnittsmenschen. Dies war nötig, da es bei einem gesunden Patienten keine Indikation für eine Bronchoskopie mit BAL* gibt.

2.2 Materialgewinnung

2.2.1 BAL- Bronchoalveoläre Lavage

Die bronchoalveoläre Lavage (BAL) wird im Rahmen einer diagnostischen Endoskopie mit einem flexiblen Bronchoskop durchgeführt. Die Prämedikation erfolgt routinemäßig eine halbe Stunde vor der Untersuchung mit 7,5 mg Hydrocodon-HCl (Dicodid) subcutan als Antitussivum. 2-3 Minuten vor der Bronchoskopie inhalieren die Patienten zur Anästhesie eine Lösung aus 200 mg Lidocain (1,5%), 0,5 mg Salbutamol und 10 ml 0,9% Kochsalzlösung. Die Schleimhaut des Rachenraums wird mit einem Pumpspray mit 1% Oxybuprocain-HCL anästhesiert, ohne dabei die Untersuchungsergebnisse zu beeinflussen. Ausserdem wird dem Patienten über eine Nasensonde Sauerstoff angeboten. Je nach Bedarf wird dem Patienten im Vorfeld am Untersuchungstag noch zusätzlich 3-15 mg Midazolam-HCl für eine weitere sedierende und anxiolytische Wirkung verabreicht; eine Atemdepression kann ggf. mit Flumazenil aufgehoben werden.

Während des Einführens des Bronchoskops werden die Schleimheit und die Stimmbänder mit 1% Oxybuprocain in Portionen von 0,5-2 ml direkt anästhesiert.

Nach Einführen des Bronchoskops (BF 10, Olympus Co. Hamburg) über einen Woodbridge-Tubus wird dieses nach Inspektion des Trachealbaumes bis in ein Mittellappensegment vorgeschoben und dort lumenverschießend („wedge-position“) platziert. Im Anschluss erfolgt die Spülung mit 37°C warmer 0,9% Kochsalzlösung, in Portionen zu jeweils 40 ml, wobei immer die ersten Proben wegen zu geringer Güte verworfen werden, dabei wird ein maximaler Sog von 0,2-0,4 bar nicht überschritten. Es wird ein gesamter Rückgewinn von 160 ml BAL*-Flüssigkeit (BALF*) angestrebt. Unser Spülvolumen beträgt zwischen 120 ml – 200 ml, das Aspirationsvolumen 28 ml - 122 ml. Es wird in einem Polypropylen-Gefäß aufgefangen und direkt auf plus 4°Celsius heruntergekühlt, um u.a. Zelladhäsion zu vermeiden. Daraufhin werden unter Einhaltung der Kühlkette bestimmte Parameter (Hämoglobintest, Gesamtzellzahl, Vitalitätstest)

in der Bronchoalveolären Flüssigkeit (BALF) bestimmt. Ein Anteil wird bei 1350 U/min zentrifugiert, der Überstand abpipettiert und die Aliquots zu je 1 ml bei minus 75°C eingefroren. Dieses Material stellt die Grundlage für meine Untersuchung dar. Zur Verarbeitung im ELISA* wird die BAL* langsam bei Zimmertemperatur aufgetaut.

2.2.2 Blutproben

Die im Rahmen der bronchoskopischen Untersuchung durchgeführten Blutentnahmen bilden die Grundlage für unser zweites Untersuchungsmaterial. Sie werden bei 3000 U/min für die Dauer von 10 min zentrifugiert, der Überstand wird abpipettiert und das dabei gewonnene Humanserum bei minus 75°C eingefroren. Erwähnt sei, dass nicht alle Blutproben im dem Labor der Pneumologischen Abteilung der Universitätsklinik Würzburg abgenommen wurden, teilweise werte ich auch Blutproben aus anderen Würzburger Krankenhäuser aus. Zur Verarbeitung im ELISA* wird das Serum langsam bei Zimmertemperatur aufgetaut.

2.3 Labormethoden

2.3.1 Vorbereitung, Dialysieren und Lyophilisieren der BAL*

Um die Proben ungefähr auf die Konzentration der ELF (epithelial lining fluid) zu konzentrieren, müssen wir die Proben um den Faktor 10 ankonzentrieren. Vorher muss sichergestellt sein, dass die Proben nicht von einer 0,9% NaCl Lösung in eine 9% NaCl Lösung umgewandelt werden und somit den ELISA* verfälschen, deswegen werden die Proben vor dem Lyophilisieren dialysiert.

Die bei minus 75°C gelagerten Proben werden auf Zimmertemperatur aufgetaut und danach in Dialysier-Cellophanschläuche „Spectra/Por 1, Molecularporus Dialysis Membrane“ (Fa. Spectrum Laboratories, Rancho Dominguez,

Californien) einpipettiert und die Schläuche verschlossen. Mit einem Molekulargewicht cut-off von 6000-8000 Daltons lassen wir die BALF*-Proben 4 Stunden bei plus 4°C gegen destilliertes Wasser diffundieren. Die Temperatur wird über diese Zeitspanne konstant gehalten, nach 2 Stunden wird das destillierte Wasser gewechselt, um die Diffusion erneut anzuregen.

Sobald dieser Vorgang abgeschlossen ist, pipettieren wir 10 ml ab und geben die Flüssigkeit in Tubes mit speziell perforierten Abdeckungen, Parafilm „M“ (American National Can). Daraufhin geben wir sie zum Lyophilisieren bei minus 4°C über einen Zeitraum von 2 Tagen in einen Gefriertrockner, alpha I-5 (Fa. Christ). Danach werden die gefriergetrockneten Proben wieder bei minus 75°C eingefroren und für die ELISA* –Testung bereitgehalten. Am Tag der Testung werden die Proben dann anstatt in 10 ml nur noch in 1 ml gelöst. Es erfolgt somit eine Ankonzentration um den Faktor 10, ohne jedoch die NaCl-Konzentration auf 9 % zu erhöhen.

2.3.2 Bestimmung der TGFβ 1 Werte in der BALF* und im Serum

Die TGFβ 1 Werte der BALF* und des Serums wurden quantitativ mittels eines Quantikine TGFβ 1 Immunoassays, sprich eines Sandwich ELISA* ermittelt.

Prinzip des ELISA*

Beim ELISA (enzyme-linked immuno-sorption assay) wird ein Antikörper gegen das zu messende Substrat verwendet, der chemisch mit einem Enzym verknüpft ist. Dieses Enzym katalysiert die Bildung eines farbigen Produkts bei Kontakt mit dem Substrat, das photometrisch gemessen werden kann. Dadurch kann der Antikörper auch in sehr kleinen Mengen quantitativ bestimmt werden.

2.3.3 Durchführung des Sandwich ELISA* zur quantitativen Bestimmung des TGFβ 1 Gehalts

Durch hydrophobe Wechselwirkungen werden TGFβ 1 bindende Rezeptoren Typ II am Boden der Näpfe einer Mikrotiterplatte gebunden. Durch ein TGFβ 1

Konjugat (polyklonale Antikörper gegen TGF β 1 verbunden mit Merretich Peroxidase), das ein unabhängiges Epitop bindet, wird die enzymatische Nachweisreaktion vermittelt. Mit steigender TGF β 1-Konzentration nimmt die Menge des gebundenen Konjugats zu.

Dieses Konjugat reagiert in anschließender Reaktion unter Zugabe einer farbgebenden Komponente (stabilisiertes hydrogen Peroxid gemischt mit stabilisiertem Tetramethylbenzidine) zu einem Substrat, das photometrisch bestimmt werden kann.

2.4 Problematik bei der BALF*

Im Laufe der Auswertung der BALF* taucht die Frage auf, ob die zurückgewonnene epitheliale Flüssigkeit (ELF) mit den gelösten Bestandteilen auch die zellulären Verhältnisse und pathologischen Vorgänge im Lungeninterstitium wiedergibt.

Es wurde zwar schon durch vergleichende histologische Untersuchungen verschiedener Arbeitsgruppen eine gute Übereinstimmung bei interstitiellen Lungenerkrankungen zwischen Histologie des Lungengewebes und BALF-Befunden herausgearbeitet, jedoch gibt es verschiedene Störfaktoren bei der Gewinnung der BALF*. Die Methodik hat einen nicht unerheblichen Einfluss auf die Ergebnisse, so dass die Vergleichbarkeit der gewonnenen Ergebnisse eingeschränkt sein kann. Auch die Quantität der verbrauchten Spülmenge und des zurückgewonnenen Materials scheint einen Einfluss auf die Daten zu haben, da die epitheliale Grenzflüssigkeit des Lungensegments durch die Spülmenge um einen variablen Faktor, der unbekannt ist, verdünnt wird. Man versucht dies durch Bildung der relativen TGF β 1 Werte (TGF β 1 Wert in der BALF* geteilt durch den Proteingehalt der BALF*) zu korrigieren.

Es sollte immer eine standardisierte Durchführung mit standardisierten Spülmengen angestrebt werden, um mögliche Fehlerquellen so gering wie möglich zu halten. In der Literatur wird belegt, dass beim Vergleich der Verteilung der Zellzahlen, die bei einer BAL* gewonnen werden, mit den

Zellzahlen, die sich bei einer Lungenbiopsie ergeben, Korrelationen sichtbar sind (27). Hervorzuheben ist, dass das Differentialbild der Entzündungszellen aus der BAL* für die Diagnostik und Aktivitätsbeurteilung interstitieller Lungenerkrankungen sehr hilfreich ist. Ein großer Vorteil ist auch, dass der bronchoalveoläre Raum durch die BAL* routinemäßigen Kontrollen unterzogen werden kann, ohne dass er dabei Schaden nimmt. Es kann jederzeit der Grad der Entzündung und anderer wichtiger Parameter in Bezug auf eine Fibrosierung im Interstitium wiedergegeben werden, was in Bezug auf den Verlauf und das Ausmaß der Erkrankung wichtig ist. In meiner Untersuchung sollte somit die Korrelation der relativen TGF β 1 Werte in der BALF* der Diagnosegruppen (Sarkoidose Typ I*, Typ II/III*, IPF, kranke Kontrolle), die der Korrelation der absoluten Werte bezüglich ihrer Signifikanz bestätigen (3.1.1. und 3.1.2.).

2.5 Zusammentragen restlicher wichtiger Patientendaten (Re-Evaluation)

Als Grundlage für diese Arbeit dienen mir sämtliche relevanten Patientendaten, die ich aus den Krankenblättern evaluiere. Des Weiteren nutze ich sämtliche Daten aus dem Lavagenbuch, wie z.B. die Zellzahlen und die Werte für IL-2 (Interleucin 2) im Serum und in der BALF*. Auch sämtliche Lungenfunktionswerte, die entweder im Ganzkörperplethmograph des Pneumologischen Instituts der Universitätsklinik Würzburg oder beim behandelnden Facharzt/Hausarzt in der Regel einen Tag vor dem Eingriff bestimmt wurden, beziehe ich mit ein. Somit erhalte ich allgemeine und spezielle Daten über die Patienten, die ich miteinander vergleiche.

2.6 Statistische Methoden

Diese retrospektive Studie dient der Beschreibung des Einflusses von TGF β 1 auf Fibrosierungen in der Lunge und damit einhergehende Erkrankungen. Für

die analysierten Messwerte kann man keine Gaußsche Normalverteilung annehmen. Daher werden Rangtests verwendet und in den Graphiken werden Mediane dargestellt. Zu den Medianen werden die 68%-Vertrauensbereiche des Medians eingezeichnet, in Analogie zum 1-s-Bereich, der ja auch 68% umfasst.

In den Tabellen wird — wegen der eventuellen Vergleichbarkeit mit Angaben in der Literatur — neben dem Median der arithmetische Mittelwert mit der Standardabweichung zur Darstellung der Untersuchungskollektive benutzt.

Folgende Tests kommen zur Anwendung

- Der exakte U-Test nach Mann und Whitney (auch Wilcoxon's Rangsummentest) vergleicht Messwerte zwischen zwei Gruppen.
- Die Rangvarianzanalyse nach Kruskal und Wallis wird verwendet, um Unterschiede zwischen mehr als zwei Gruppen zu beschreiben. Sie dient als übergeordneter Test, U-Tests werden a posteriori zu Einzelvergleichen herangezogen.
- Die Rangkorrelation nach Spearman, um die Abhängigkeit zweier Messwerte voneinander zu beschreiben. Die Spearmansche Korrelation setzt voraus, dass keine oder fast keine Rangbindungen bestehen, d. h. dass die Messwerte kontinuierlich sind und keine Werte mehrfach vorkommen.
- Die Rangkorrelation nach Kendall um die Abhängigkeit zweier Messwerte voneinander zu beschreiben, wenn die Spearmansche Rangkorrelation, wegen Rangbindungen nicht anwendbar ist.

Zur vergleichbaren Quantifizierung der Testergebnisse werden p-Werte angegeben. p-Werte unter 0.05 werden als „signifikant“ bezeichnet und als wesentlich interpretiert. Wie üblich werden die p-Werte entsprechend ihrer Signifikanz durch Stern-Symbole markiert:

$$p < 0.05^*, p < 0.01^{**}, p < 0.001^{***}.$$

3. ERGEBNISSE

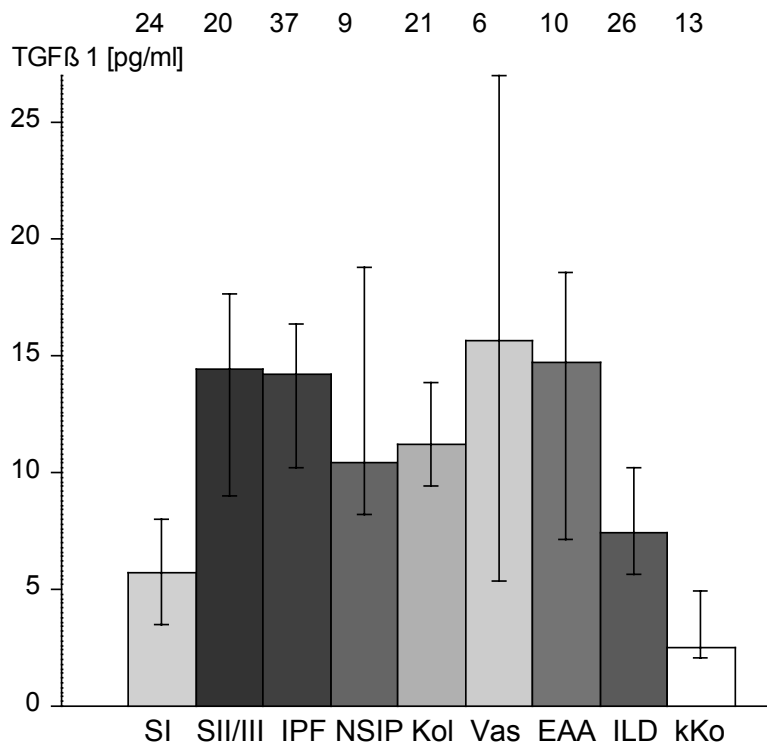
3.1. TGF β 1

Da die TGF β 1 Werte in der BALF* stark von einer Gauß-Verteilung abweichen, werde ich im Folgenden auch Mediane mit ihrem Konfidenzintervall (68%-Bereich) angeben und keine parametrischen Tests, sondern Rangtests verwenden.

3.1.1 Absolute TGF β 1 Werte verschiedenster diffuser Lungenparenchymerkrankungen in der BALF*

Diagnose	n	MW	ST	Median	68%-Bereich	p
TGFβ 1 (n = 166)						
Sarkoidose I	24	7.375	7.342	5.680	1.575 10.278	0.010 *
Sarkoidose II/III	20	16.637	18.085	14.425	3.863 21.554	
IPF	37	16.377	13.850	14.180	6.521 26.874	
NSIP	9	15.564	10.127	10.450	6.875 26.636	
Kollagenose	21	19.050	22.052	11.240	5.196 28.561	
Vaskulitis	6	16.940	14.802	15.620	1.435 32.340	
EAA	10	13.017	9.878	14.710	1.557 21.414	
sonstige ILD	26	13.996	20.360	7.435	1.962 24.239	
kranke	13	5.8238	6.581	2.480	1.006 15.220	
Kontrollen						

Tabelle 1. TGF β 1 und Diagnose. Mittelwert (MW) und Standardabweichung (ST) sowie Median mit 68%-Konfidenzintervall der Personen. p aus der Rangvarianzanalyse nach Kruskal und Wallis.



Median mit 68%-Bereich für die Werte des Transforming Growth Factor ($TGF\beta 1$) in der BALF bei den Diagnosen SI = Sarkoidose I, SII/III = Sarkoidose II/III, IPF = idiopathic pulmonary fibrosis, NSIP = Nonspecific Interstitial Pneumonia, Kol = Kollagenosen, Vas = Vaskulitis, EAA = exogen allergische Alveolitis, ILD = sonstige ILD (Interstitial Lung Disease) und kKo = kranke Kontrollen.

Die Auswertung zeigt signifikante Unterschiede zwischen den Diagnosegruppen.

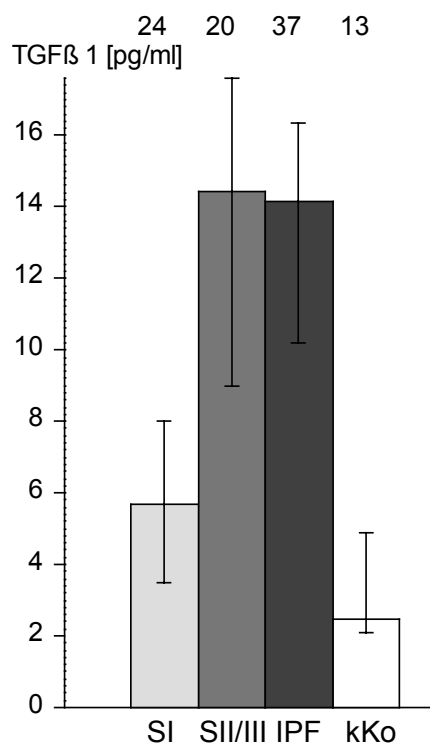
Die kranken Kontrollen (2,4) und die Sarkoidose Typ I* (5,6) weisen besonders niedrige Werte auf. Die Vaskulitis (15,6) zeigt die höchsten Werte, dicht gefolgt von der Gruppe der EAA (14,7), der Sarkoidose Typ II/III* (14,4) und der IPF* (14,1).

Eine weitere Auffälligkeit ist, dass einige Diagnosegruppen ein großes Konfidenzintervall aufweisen, besonders auffällig sind die Vaskulitiden (32,2) und die Kollagenosen (28,5) davon betroffen.

Betrachtet man die Fallanzahl, so ergibt sich, dass die Gruppe der Vaskulitis (6), der NSIP (9) und der EAA (10) nicht mehr als 10 Patientenwerte umfassen. Die größte Gruppe ist die IPF* mit 37 Werten.

Absolute TGF β 1 Werte in der BALF* bei ausgewählten Lungenparenchymerkrankungen

Da bei meiner Auswertung der Diagnosegruppen manche Gruppen ein besonders großes Konfidenzintervall oder eine besonders niedrige Fallzahl aufwiesen, habe ich mich für die weitere Auswertung und den anstehenden Vergleich auf 4 Haupt-Diagnosegruppen beschränkt, um zufällig auftretende Signifikanzen möglichst auszuschließen.



Median mit 68%-Bereich für die Werte des Transforming Growth Factor (TGF β 1) in der BALF bei den Diagnosen SI = Sarkoidose I, SII/III = Sarkoidose II/III, IPF= idiopathic pulmonary fibrosis und kKo = kranke Kontrollen.

Diagnose	n	MW	ST	Median	68%-Bereich		p
TGFβ 1 (n = 94)							
Sarkoidose I	24	7.375	7.342	5.680	1.575	10.278	0.0013**
Sarkoidose II/III	20	16.637	18.085	14.425	3.863	21.554	
IPF	37	16.376	13.850	14.180	6.521	26.874	
krankte Kontrollen	13	5.824	6.581	2.480	1.006	15.220	

Tabelle 2. TGFβ 1 und Diagnose. MW = Mittelwert, ST = Standardabweichung, Bereich = Konfidenzintervall der Personen. p aus der Rangvarianzanalyse nach Kruskal und Wallis.

Die Signifikanz für den Wachstumsfaktor TGFβ 1 in der BALF* beruht auf dem Unterschied zwischen Sarkoidose Typ I* und den kranken Kontrollen, die untereinander keine signifikanten Unterschiede zeigen, einerseits und Sarkoidose Typ II/III* und der IPF*, die auch untereinander nicht signifikant verschieden sind, andererseits.

3.1.2 Relative TGFβ 1 Werte in der BALF* (proteinbezogen)

	n	MW	ST	Median	68%-Bereich		
					Med.		
TGFβ 1/Protein							
Sarkoidose I	24	45.748	56.44	15.696	8.719	102.540	0.0089**
Sarkoidose II/III	20	43.638	39.53	27.656	9.356	98.588	
IPF	35	72.072	70.33	51.559	20.240	111.309	
krankte Kontrollen	13	19.952	17.47	10.431	6.042	33.790	

Tabelle 3. Relative TGFβ 1 der BALF bezogen auf den Proteingehalt und Diagnose. p aus der Rangvarianzanalyse nach Kruskal und Wallis.

Bezogen auf die relativen Werte verhält sich TGFβ 1 in der BALF* genauso wie die absoluten Werte, d.h. die Sarkoidose Typ I* und die kranken Kontrollen sind signifikant unterschiedlich zu Sarkoidose Typ II/III* und IPF*, aber untereinander jeweils nicht.

3.1.3 TGF β 1 im Serum

Diagnose	n	MW	TGF β 1 im Serum [pg/ml]			
			ST	Median	68% der Patienten	
Sarkoidose I	30	37848.3	12626.0	36234	27202	48601
Sarkoidose II/III	18	44557.5	15219.8	44234	33661	54948
IPF	36	43825.2	12830.7	42881	35010	51627
kranke Kontrollen	15	36213.4	16197.5	30501	22425	50198

Tabelle 4. Serum-TGF β 1 und Diagnosen. Mittelwert mit Standardabweichung und Median mit 68%-Bereich der Patienten in den Diagnosen bei n = 181 Patienten. p = 0.096 in der Rangvarianzanalyse nach Kruskal und Wallis.

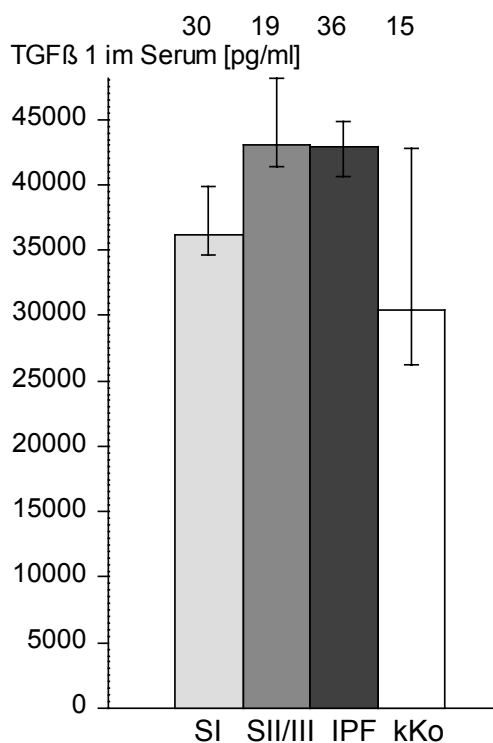


Abbildung 1. Median mit 68%-Bereich für die Werte des Transforming Growth Factor (TGF β 1) im Serum bei 4 Diagnosen Sa I = Sarkoidose I, SaII/III = Sarkoidose II/III, IPF= idiopathic pulmonary fibrosis, kKo = kranke Kontrolle.

Die Rangvarianzanalyse findet keine signifikanten Unterschiede zwischen den Diagnosegruppen. Da global kein Unterschied zu erkennen ist, habe ich die

Diagnosen nicht paarweise verglichen, da sonst paarweise durch Zufall Unterschiede entstehen können.

Daneben sei erwähnt, dass sich die niedrigsten Werte des Wachstumsfaktors im Serum bei den kranken Kontrollen (30501 pg/ml) fanden und auch die Werte der Patienten mit der Sarkoidose Typ I (36234 pg/ml) niedrig waren.

3.2 TGF β 1 in der BALF* verglichen mit den Serumwerten

Der Gehalt von Wachstumsfaktor TGF β 1 in der BALF* und im Serum korreliert nicht miteinander ($\rho = 0.12$, $p = 0.14$ in der Spearman'schen Rangkorrelation). Auch innerhalb der Diagnosegruppen findet sich keinerlei Beziehung zwischen TGF β 1 in der BALF* und im Serum.

3.3 Zellzahlen

3.3.1 Korrelation zwischen TGF β 1 und den Zellzahlen (prozentual/absolut) innerhalb der Diagnosegruppen

		Korrelation mit TGF β 1				
		n	prozentual		absolut	
			tau	p	tau	p
Sarkoidose I	Makrophagen	24	0.0074	0.96	0.2505	0.086
	PMN	24	0.1085	0.46	0.1924	0.19
	Eosinophile	24	0.1216	0.41	0.1580	0.28
	Lymphozyten	24	-0.0809	0.58	0.0327	0.82
	B-Lymphozyten	23	-0.0896	0.55	-0.0200	0.89
	T-Lymphozyten	23	0.3020	0.044 *	0.0830	0.58
	Helferzellen	23	0.2147	0.15	0.0988	0.51
	Suppressorzellen	23	-0.0727	0.63	0.0435	0.77
Sarkoidose II/III	Makrophagen	20	-0.1984	0.22	0.0532	0.74
	PMN	20	0.0217	0.89	0.3093	0.057
	Eosinophile	20	-0.2147	0.19	-0.1344	0.41
	Lymphozyten	20	0.1925	0.24	0.2660	0.10
	B-Lymphozyten	19	-0.0689	0.68	-0.0758	0.65
	T-Lymphozyten	19	0.0301	0.86	0.1479	0.38
	Helferzellen	19	0.0000	1.00	0.1243	0.46
	Suppressorzellen	19	0.0060	0.97	0.1716	0.30
IPF	Makrophagen	35	-0.2913	0.014 *	-0.0517	0.67
	PMN	35	0.3112	0.0085**	0.1373	0.25
	Eosinophile	35	0.1631	0.17	0.1308	0.28
	Lymphozyten	35	-0.0445	0.71	-0.0695	0.56
	B-Lymphozyten	33	0.2705	0.027 *	0.1629	0.18
	T-Lymphozyten	33	-0.4184	0.0006***	-0.1061	0.39
	Helferzellen	33	-0.2541	0.038 *	-0.1894	0.12
	Suppressorzellen	33	-0.0896	0.46	-0.1288	0.29
kranke Kontrollen	Makrophagen	13	-0.1842	0.38	0.0129	0.95
	PMN	13	0.1457	0.49	0.1419	0.50
	Eosinophile	13	-0.0939	0.65	-0.0302	0.89
	Lymphozyten	13	0.1419	0.50	0.0903	0.67
	B-Lymphozyten	13	0.0997	0.64	0.1244	0.55
	T-Lymphozyten	13	0.2552	0.22	0.0645	0.76
	Helferzellen	13	-0.1818	0.39	0.0387	0.85
	Suppressorzellen	13	0.1961	0.35	0.1677	0.42

Korrelation zwischen TGF β 1 und prozentualen Zellzahlen innerhalb der Diagnosegruppen. tau und p aus der Kendallschen Rangkorrelation. PMN = Polymorphkernige neutrophile Granulozyten.

Bei der Sarkoidose Typ I* ist nur ein Zusammenhang zwischen dem prozentualen Anteil der T-Lymphozyten und den absoluten TGF β 1 Werten zu erkennen.

Die Sarkoidose im fortgeschritteneren Stadium II/III* weist keine signifikanten Zusammenhänge zwischen den Zellzahlen und TGF β 1 auf.

Bei der IPF* sind mehrere Zusammenhänge zwischen den prozentualen Zellzahlen und TGF β 1 sichtbar. Je mehr PMN* vorhanden sind, desto höher ist der TGF β 1 Spiegel. Je mehr TGF β 1 jedoch vorhanden ist, desto weniger Makrophagen, T-Lymphozyten und Helferzellen sind festgestellt worden.

3.3.2 Korrelation zwischen den relativen TGF β 1 Werten und den Zellzahlen (prozentual/absolut) innerhalb der Diagnosegruppen

		Korrelation mit TGF β 1 - proteinbezogen				
		prozentual			absolut	
		n	tau	p	tau	p
Sarkoidose I	Makrophagen	24	0.1285	0.38	0.2899	0.047 *
	PMN	24	-0.0373	0.80	0.1087	0.46
	Eosinophile	24	-0.0717	0.62	-0.0305	0.83
	Lymphozyten	24	-0.1064	0.47	0.0362	0.80
	B-Lymphozyten	23	0.0560	0.71	0.0520	0.73
	T-Lymphozyten	23	0.2523	0.092	0.0751	0.62
	Helferzellen	23	0.1909	0.20	0.0909	0.54
	Suppressorzellen	23	0.0162	0.91	0.0514	0.73
Sarkoidose II/III	Makrophagen	20	-0.0371	0.82	0.0842	0.60
	PMN	20	0.0538	0.74	0.1741	0.28
	Eosinophile	20	-0.0837	0.61	-0.0363	0.82
	Lymphozyten	20	0.0212	0.90	0.0737	0.65
	B-Lymphozyten	19	-0.2316	0.17	-0.2872	0.086
	T-Lymphozyten	19	-0.1131	0.50	-0.0409	0.81
	Helferzellen	19	0.0235	0.89	-0.0526	0.75
	Suppressorzellen	19	-0.0529	0.75	-0.1228	0.46
IPF	Makrophagen	35	-0.0915	0.44	-0.0267	0.82
	PMN	35	0.2058	0.082	0.1337	0.27
	Eosinophile	35	-0.0138	0.91	-0.0077	0.95
	Lymphozyten	35	-0.1745	0.14	-0.1301	0.28
	B-Lymphozyten	33	0.2755	0.024 *	0.1553	0.20
	T-Lymphozyten	33	-0.4642	0.0001***	-0.1439	0.24
	Helferzellen	33	-0.2273	0.063	-0.1591	0.19
	Suppressorzellen	33	-0.1964	0.11	-0.1894	0.12
kranke Kontrollen	Makrophagen	13	-0.3530	0.093	-0.2308	0.27
	PMN	13	0.3159	0.13	0.1026	0.63
	Eosinophile	13	-0.0778	0.71	-0.0750	0.72
	Lymphozyten	13	0.2564	0.22	0.0513	0.81
	B-Lymphozyten	13	0.2147	0.31	0.1648	0.43
	T-Lymphozyten	13	0.2669	0.20	0.0769	0.71
	Helferzellen	13	-0.0129	0.95	0.1026	0.63
	Suppressorzellen	13	0.0260	0.90	0.1282	0.54

Korrelation zwischen proteinbezogenem TGF β 1 und prozentualen bzw. absoluten Zellzahlen innerhalb der Diagnosegruppen. tau und p aus der Kendallschen Rangkorrelation. PMN = Polymorphkernige neutrophile Granulozyten.

Bei den relativen TGF β 1 Werten besteht in der Gruppe der Sarkoidose Typ I* nur bei den absoluten Werten der Makrophagen ein Zusammenhang.

Innerhalb der Gruppe der Sarkoidose Typ II/III* ist kein Zusammenhang zwischen TGF β 1 und den Zellzahlen zu erkennen.

Die relativen TGF β 1 Werte in der Gruppe der IPF* weisen eine positive Signifikanz zu den prozentualen Zellzahlen der B-Lymphozyten und eine negative Signifikanz zu den T- Lymphozyten auf.

3.3.3 TGF β 1 im Serum und Zellzahlen

Die TGF β 1 Konzentration im Serum korreliert kaum mit den Zellzahlen. Bei höherem Anteil PMN* ist TGF β 1 erhöht (tau = 0.16, p = 0.017*) und bei höherem Anteil von T-Lymphozyten ist TGF β 1 niedriger (tau = -0.11, p = 0.024*, beides in der Kendallschen Rangkorrelation).

Aufgeteilt nach Diagnosen bleibt die Korrelation zwischen PMN* und TGF β 1 in der Gruppe mit Sarkoidose Typ I* erhalten (tau = 0.31, p = 0.017) und bei den kranken Kontrollen bleibt die negative Korrelation zwischen den T-Lymphozyten und TGF β 1 bestehen (tau = -0.42, p = 0.028*, beides in der Kendallschen Rangkorrelation).

3.4 Lungenfunktion

3.4.1 Lungenfunktion verglichen mit TGF β 1 (absolut) in der BALF* nach Diagnosegruppen aufgeteilt

Diagnose	Lungenfunktion	Korrelation mit TGF β 1 in der BALF		
		n	rho	p
Sarkoidose I	VC%	20	0.1768	0.55
	TLC%	20	-0.0722	0.80
	DCO%	15	0.1929	0.49
	PO2	18	0.0176	0.95
Sarkoidose II/III	VC%	18	-0.0662	0.83
	TLC%	18	-0.1286	0.67
	DCO%	16	0.1357	0.67
	PO2	18	-0.1417	0.64
IPF	VC%	28	-0.0452	0.82
	TLC%	28	0.0665	0.74
	DCO%	21	0.0623	0.79
	PO2	27	0.1609	0.42
kranke Kontrollen	VC%	8	0.2143	0.62
	TLC%	8	0.2143	0.62
	DCO%	7	0.5946	0.16
	PO2	8	0.3095	0.47

Korrelation der TGF β 1 mit normierten Parametern der Lungenfunktion innerhalb der Diagnosegruppen. Lungenfunktion. rho und p aus der Spearmanschen Rangkorrelation.

Vergleiche innerhalb der Diagnosegruppen lassen keinerlei Zusammenhang zwischen TGF β 1 und den Lungenfunktionsparametern erkennen.

3.4.2 Lungenfunktion verglichen mit TGF β 1 (relativ) proteinbezogen in der BALF* nach Diagnosegruppen aufgeteilt

Diagnose	Lungenfunktion	Korrelation mit TGF β 1 proteinbezogen		
		n	rho	p
Sarkoidose I	VC%	20	-0.0075	0.98
	TLC%	20	-0.1203	0.68
	DCO%	15	0.2071	0.46
	PO2	18	0.0879	0.77
Sarkoidose II/III	VC%	18	0.1311	0.67
	TLC%	18	-0.0176	0.95
	DCO%	16	0.4059	0.22
	PO2	18	-0.2301	0.45
IPF	VC%	28	0.1281	0.52
	TLC%	28	0.2280	0.24
	DCO%	21	0.0221	0.92
	PO2	27	0.2971	0.13
kranke Kontrollen	VC%	8	0.0952	0.83
	TLC%	8	-0.0238	0.96
	DCO%	7	0.6667	0.10
	PO2	8	0.1190	0.78

Korrelation der proteinbezogenen TGF β 1 mit normierten Parametern der Lungenfunktion innerhalb der Diagnosegruppen. Lungenfunktion, rho und p aus der Spearmanschen Rangkorrelation.

Bei dem Vergleich ergeben sich keine signifikanten Zusammenhänge zwischen TGF β 1 (relativ) proteinbezogen und der Lungenfunktion.

4. DISKUSSION

4.1 Serumwerte

In meiner Untersuchung lässt sich die Tendenz feststellen, dass die TGF β 1 Werte im Serum von dem Fibrosierungsgrad, bzw. von dem Vorhandensein einer Fibrose abhängig sind. Für eine eindeutige Aussage, die eine Signifikanz in der Rangvarianzmethode voraussetzt, sind meine Werte nicht aussagekräftig genug. In der Literatur wird von Anscher et al. eine derartige Korrelation zwischen den TGF β 1 Werten im Serum mit dem Auftreten interstitieller Pneumoniden bei Patientinnen, die sich aufgrund eines Mammakarzinoms einer autologen Knochenmarkstransplantation, einer Hochdosis Chemotherapie und einer Radiatio unterzogen (3), beschrieben. Von anderen Autoren wird jedoch eine Unabhängigkeit der Serumkonzentration von TGF β 1 mit Lungenfibrosen beschrieben. Dabei wird die Lungenfibrose als eine auf das Organ beschränkte Erkrankung, ohne feststellbare systemische Veränderungen, angesehen. Die profibrotischen Faktoren, wie z.B. TGF β 1, verlassen dabei die Lunge nicht in Serumkonzentration verändernden Mengen (47).

Da sich bei meiner Untersuchung insoweit keine signifikanten Zusammenhänge ergeben, unterstützen meine Ergebnisse die 2. Hypothese.

Bei signifikanten Korrelationen wären Ansätze für eine Erleichterung in der Frühdiagnostik und Verlaufsuntersuchung von fibrotisierenden Erkrankungen gegeben. Man könnte somit sogar auf eine BAL* initial oder ganz verzichten und sich auf eine simple Blutentnahme für die Diagnostik beschränken.

4.2 Der Ablauf bei fibrosierenden Lungenerkrankungen

Es kann zu einer fibrosierenden Lungenerkrankung aus verschiedenen Gründen kommen. Bisher sind zahlreiche bekannte Auslöser, wie z.B. ein

weites Spektrum von Mikroorganismen, inhalativen Noxen (z.B. Asbest, Silikate oder Ozon) und Medikamenten (z.B. Bleomycin oder Amiodaron), aber auch ionisierende Strahlen (Radiatio zur Therapie bei Karzinomen) und Autoimmunerkrankungen (z.B. Sklerodermie oder chronische Polyarthrit) als Ursache für eine Lungenfibrose bekannt. Sie kann auch sekundär im Rahmen anderer Multisystemerkrankungen wie z.B. Sarkoidose, Kollagenosen oder Vaskulitis, ausgelöst werden. Es gibt jedoch viele fibrosierende Lungenerkrankungen, bei denen die Ätiologie der progressiven Vernarbung des Gewebes ungeklärt bleibt. Derzeit werden diese Erkrankungen unter dem Überbegriff idiopathische interstitielle Pneumonie (IIP) zusammengefasst (14). Sie betragen etwa 30-40% der Fälle der diffusen Lungenparenchymerkrankungen (42). Man kann sie in sieben Subgruppen unterteilen, die IPF-UIP (idiopathische pulmonale Fibrose – usual interstitial pneumonia), NSIP (non specific interstitial pneumonia), OP (organisierende Pneumonie), DAD (diffuse alveolar damage), RB (respiratorische Bronchiolitis), DIP (Desquamative interstitielle Pneumonie) und LIP (Lymphozytäre interstitielle Pneumonie) (14).

Allen fibrotisierenden Lungenerkrankungen gemeinsam ist eine durch überschießende Narbenbildung progrediente Destruktion von Gewebe mit irreversiblen Funktionsverlust, die sich im Alveolarraum und Interstitium abspielt. Eine massive Fibrose kann durch eine respiratorische Globalinsuffizienz oder durch eine respiratorische Insuffizienz mit pulmonaler Hypertonie und einem dekompensierten Cor pulmonale lebensbegrenzend sein (7, 51).

Bei der Fibrosierung geht man von folgendem Ablauf aus (65). Nach einem Reiz ist eine initiale Erhöhung von proinflammatorischen Zytokinen, wie z.B. Interleukin-1, Interleukin 6 oder Tumor necrosis factor alpha, also eine initiale Entzündungsreaktion zu beobachten. Diese ist verbunden mit einer verstärkten Einwanderung von Granulozyten und Lymphozyten (Entzündungszellen) aus den Blutgefäßen ins Interstitium, um dem Immunsystem dabei zu helfen, die

vom Organismus als Fremdkörper angesehenen Stoffe zu eliminieren. Im Anschluß daran limitieren u.a. sogenannte profibrotische Zytokine, wie z.B. Transforming growth factor- β , connective tissue growth factor und platelet-derived growth factor (65), die Entzündungsreaktion und reparieren den entstandenen Gewebeschaden. Unter physiologischen Bedingungen und zur Wahrung der Organintegrität sollte sich dieser Vorgang der Eliminierung und Reparatur im Gleichgewicht befinden. Er wird durch ein komplexes Zusammenwirken von verschiedensten Faktoren, wie z.B. Zytokinen und Proteasen geregelt. Einer der Schlüsselfaktoren in dem komplexen Zusammenwirken von Mediatoren bei fibrosierenden Erkrankungen ist das pluripotente Zytokin TGF β , was verschiedenste Modelle und immunhistochemische Untersuchungen an humanem Gewebe bei Lungen-, Leber- und Nierenfibrose zeigten (3, 11, 38, 49). Dies wird auch auf Grund der Tatsache verdeutlicht, dass Wunden des Fetus, die ohne Narbenbildung abheilen, niedrigere TGF β 1 Werte aufweisen als Verletzungen von Erwachsenen. Meine Ergebnisse unterstützen die Hypothese, dass TGF β 1 eine zentrale Rolle zukommt, da bei der IPF*, die eine irreversible pathologische Schädigung des Lungenparenchyms beschreibt, die TGF β 1 Konzentrationen in der BALF* wesentlich erhöht ist. Das deutet darauf hin, dass ein erhöhter TGF β 1 Spiegel in der BALF* immer ein Zeichen der progredienten irreversiblen Schädigung der Lunge in Form der Fibrosierung ist.

Man geht derzeit von der Hypothese aus, dass eine initiale Entzündungsreaktion nicht nötig ist und ein ungeklärtes pathologisches Verhalten der Epithelzellen und Fibroblasten als Störfaktoren für das physiologische Gleichgewicht gelten (58, 65).

Aus den verschiedenen Ätiologien gehen unterschiedliche Überlebenszeiten und verschiedene sinnvolle Therapiemöglichkeiten hervor. Deshalb ist es wichtig, jeden Erkrankten der richtigen Diagnosegruppe zuzuordnen, um ihn optimal therapieren zu können.

In der normalen Lungenentwicklung, der physiologischen Funktion der Lunge und in der Entstehung von Lungenkrankheiten spielt TGF β 1 eine wichtige Rolle (5, 45). In meiner Untersuchung war bei jedem Patienten, auch den „kranken Kontrollen“ ohne Lungenfibrose, TGF β 1, sowohl im Serum, als auch in der BALF* nachzuweisen, was die Rolle von TGF β 1 in der physiologischen Regulation der Homeostase der Lunge unterstreicht. Es gibt TGF β in 3 verschiedenen Isoformen (β 1, β 2, β 3), deren strukturelle Merkmale in einer 60-80 prozentigen sequentiellen Homologie übereinstimmen. Viele biologische Aktivitäten sind gleich oder unterscheiden sich nur in der Intensität des Effekts, jedoch wurden auch einige unterschiedliche Eigenschaften gefunden.

Alle 3 Isoformen sind während der physiologischen Lungenentwicklung in hoher Konzentration vorhanden und für eine regelrechte Überlebenszeit notwendig. Sie sind u.a. für die Morphologie der Lungenaufzweigungen und die epitheliale Zelldifferenzierung mit Entwicklung der Surfactant-Proteine zuständig (5, 42).

Da TGF β 1 die praedominante Form zu sein scheint, habe ich meine Untersuchungen auf diese Isoform beschränkt (11).

Aktives humanes Transforming growth factor- β 1 (TGF β 1) ist ein 25 kDa schweres, über Disulfid-Brücken gebundenes, nicht glycolisiertes Homodimer (1, 16, 43). Es wird normalerweise als inaktiver oder latenter Komplex sezerniert (52). Um biologisch aktiv wirken zu können, muß das Zytokin aktiviert werden und ein sogenanntes „latency associated peptide“ (LAP) vom latenten Komplex abgetrennt werden; man geht derzeit von einer oxidativen, proteolytischen oder integrin-vermittelten Abspaltung des „latency associated peptide“ (LAP) aus. Des Weiteren müssen spezifische TGF β 1 Rezeptoren exprimiert sein und das Signal muss intrazellulär mittels sogenannter SMAD*-Moleküle weitergeleitet werden (5, 33, 60).

TGF β 1 kann von den meisten Zellen gebildet werden und seine Rezeptoren können auch von allen Zellen exprimiert werden. In der Lunge sind es zumeist Makrophagen, Epithelzellen und Fibroblasten.

TGF β 1 wirkt bei zahlreichen physiologischen Vorgängen mit. Es ist ein pluripotentes Zytokin mit breitem Wirkspektrum. Im Folgenden sind die

fundamentalen Aufgaben aufgezeigt. TGF β 1 wirkt beim (Epithel-) Zellwachstum antiproliferativ, was eine Epithelschädigung mit sich zieht, des Weiteren wird es mit der Apoptose von Epithelzellen in Verbindung gebracht (41). Es lockt auf chemotaktilem Weg Fibroblasten an und fördert ihre Umwandlung in Myofibroblasten, außerdem fördert es die Vermehrung der Synthese und die Inhibition des Abbaus der extrazellulären Matrix durch die Veränderung des Gleichgewichts von Kollagenasen (Matrix Metalloproteinasen-MMP*) und Kollagenase-Inhibitoren (tissue inhibitor of metalloproteinasis-TIMP*) (49, 21). Diese multiplen Faktoren führen zu einer Vermehrung von extrazellulärer Matrix, insbesondere Kollagen und Fibronectin. Dieses wurde in verschiedenen Gen-Transfer-Modellen gezeigt. Kolb et al z.B. induzierten durch adenoviral überproduzierten TGF β 1 eine massive Lungenfibrose in vivo(37), des Weiteren zeigt er dieses anhand eines erhöhten TGF β 1 Wertes bei Mäuselungen, die aufgrund einer Bestrahlung eine deutliche Lungenfibrose zeigen (38).

Als weiterer wichtiger Punkt wird TGF β 1 eine lebensnotwendige immunsuppressorische Wirkung zugesagt, die u.a. akut-entzündliche Prozesse limitiert (43). TGF β 1 kann die Zell-Matrix-Verbindungen durch die Expression von sogenannten „Zell-Matrix Adhäsions Protein Komplexen“ regulieren. Als letzten Punkt dieser vielfältigen komplexen Auswirkungen ist an dieser Stelle zu erwähnen, dass TGF β 1 behandelte Zellen eine höhere Affinität zu Matrix Komponenten, wie Fibronectin, Kollagen und Laminin haben (28, 30). Abschließend sei dazu gesagt, dass die genaue Wirkungsweise von TGF β 1 immer von dem Entwicklungszustand der Zellen und der Zellumgebung abhängig ist.

4.3 Literatur zur IPF (idiopathic pulmonary fibrosis)

IPF* stellt als eine von den sieben IIPs* die häufigste histologische Variante dar. Sie weist mit einem mittleren Überleben von etwa 3 Jahren die schlechteste Prognose auf. Die IPF* kann nur durch eine integrierte klinische, radiologische und histo-pathologische Untersuchung eindeutig von den anderen IIPs* abgegrenzt werden. Bei einer offenen Lungenbiopsie ist das histologische

Muster der UIP (usual interstitial pneumonia) ein *conditio sine qua non* für die Entität der IPF*. Da ein histologisches UIP* Muster auch bei anderen fibrotischen Lungenerkrankungen, wie Asbestose, strahlen- und arzneimittelinduzierter Pneumonie, Kollagenosen oder Spätstadien einer EAA (exogen allergischen Alveolitis) auftreten kann, verlangt die Diagnose bei einer chirurgischen Biopsie mit UIP* Muster jedoch einige weitere Kriterien, um eine IPF* zu diagnostizieren.

Es müssen also initial andere Ätiologien, wie toxische Arzneimittelreaktionen, bekannte Exposition gegenüber inhalativen Umwelttoxinen und Kollagenosen, ausgeschlossen werden. Des Weiteren sollten pathologische Lungenfunktionsbefunde mit Hinweis auf Restriktion und/oder Gasaustauschstörung und charakteristische Veränderungen im Röntgenthorax oder im HR-CT* vorhanden sein (14, 51).

Die IPF tritt im mittleren bis höherem Lebensalter auf, d.h. 2/3 der Patienten sind über 60 Jahre alt. Der Verlauf wird durch langsam progrediente Atemnot bei Belastung charakterisiert, so dass ein akutes Auftreten die Erkrankung ausschließt. Fieber wird bei der IPF* nicht beobachtet, diese Fälle sind eher der BOOP (kryptogen organisierende Pneumonie) zuzuordnen. In über 90 Prozent der Fälle ist bei der Auskultation der Lunge ein beidseitig basales inspiratorisches Knisterrasseln zu hören. Weitere klinische Befunde sind in bis zu 70 Prozent Uhrglasnägel und Trommelschlägelfinger (7, 14).

Im Röntgenthoraxbild ist eine scharfe Begrenzung zwischen Zwerchfellschatten und Herzkontur meist nicht mehr vorhanden. Periphere und basal betonte retikuläre Veränderungen, oft auch sogenannte Honigwaben, sind zu erkennen. Diese sind im HR-CT* noch deutlicher zu beobachten. Weiterhin wird die Krankheit durch ein retikuläres Verschattungsmuster, mit Honigwabenbildung und Traktionbronchiektasen charakterisiert. Innerhalb der Areale mit retikulären Verdichtungen können auch milchglasartige Verdichtungen zu sehen sein. Bei einem Drittel der Erkrankten fehlen diese typischen Veränderungen im HR-CT*. Wenn die Klinik und das HR-CT* nicht charakteristisch sind, besteht die Indikation zur chirurgischen Lungenbiopsie. Eine transbronchiale Biopsie kann

nur zum Ausschluß anderer ähnlicher Krankheitsbilder dienen. Histologisch zeigt sich die IPF* besonders durch ein zeitlich heterogenes Erscheinungsbild mit Bezirken normaler Lunge, interstitieller zellulärer Infiltration, Fibrose und Honigwabenbildung aus. Es befinden sich Fibroblastenherde im Randbereich fibrotischer Narben. Der Lungenbefall ist herdförmig, mit peripherer Verteilung im Lobulus und in der Gesamtlunge zu beobachten.

In Zweifelsfällen ist, im Hinblick auf den zu erwartenden Verlauf, ein IPF* typisches HR-CT* Muster einer anders lautenden Histologie überlegen, da selbst die chirurgische Lungenbiopsie nur wenige Prozent der gesamten Lunge sondieren kann, während das HR-CT* die morphologische Analyse der Gesamtlunge bietet (14, 51, 7).

Die bisher gültige Hypothese, dass sich die Lungenfibrose bei der IPF* aus einer chronischen Entzündung entwickelt, wird zunehmend angezweifelt. Vielmehr geht man derzeit von einer neuen Hypothese aus. Diese betont, dass die IPF* aus einer „epithelial-fibroblastären“ und nicht einer primär entzündlichen Komponente entsteht (15, 35).

Die IPF* zeichnet sich durch Auf- und Umbau der extrazellulären Matrix aus. Dies führt zur irreversiblen Zerstörung der Lungenarchitektur. Ein besonders histopathologisches Merkmal ist die Ausprägung von multiplen, herdförmigen, fibroblastären Herden („fibroblast foci“), welche ein Ausdruck für die vermehrte aktive Kollagenproduktion sind. Die Ursache wird dabei einer Epithelschädigung mit einer Störung der physiologischen Wundheilung zugeschrieben, so dass das homöostatische Gleichgewicht zwischen Aufbau und Abbau von Kollagen gestört ist. Entzündliche Veränderungen sind dabei vermutlich nur von sekundärer Natur (58, 40, 60), da in Experimenten mit strahleninduzierter Fibrose gezeigt werden konnte, dass sich Fibroblasten nach anfänglicher Stimulation im Sinne einer „autokrinen Selbststimulation“ durch profibrotische Faktoren, wie TGF β 1, verselbstständigen können und unabhängig von einem initialen Reiz von Außen oder des Immunsystems eine Progression der Fibrose verursachen können (38).

So wie meine Ergebnisse beschreiben auch Salez et al. eine Abhängigkeit der TGFβ 1 Werte von dem Fibrosierungsgrad, da sie auch einen signifikanten Unterschied der TGFβ 1 Werte in der BALF* zwischen den kranken Kontrollen und der IPF* herausgefunden haben (57).

TGFβ 1 hat antiinflammatorische Wirkungen (11, 43), dabei besteht die Hypothese, dass es die Proliferation und Differentiation der T-Zellen hemmt (44, 61). In meiner Untersuchung wird die Hemmung der Proliferation der T-Zellen durch die negative Korrelation der absoluten und relativen TGFβ-1 Werte in der BALF* zu den T-Lymphozyten ausgedrückt, die Hemmung der Differentiation durch die negative Korrelation der absoluten TGFβ 1 Werte zu den Helferzellen.

TGFβ 1 hat verschiedene Effekte auf die B-Zellen, z.B. soll es die IgA (Immunglobulin A) Produktion anregen(44, 46), in der IPF* scheint TGFβ 1 nach meinen Ergebnissen die B-Zellproliferation anzuregen.

Für PMN ist TGFβ 1 potentiell chemoattraktiv (13, 50), in den Ergebnissen der IPF* in meiner Untersuchung findet diese Hypothese auch Anwendung, da bei einem hohen TGFβ 1 Wert auch die Anzahl der PMN* in der BALF* erhöht sind.

TGFβ 1 hat auch auf Monozyten einen chemoattraktiven Effekt (2, 66, 67), wenn sich diese jedoch in Makrophagen umwandeln, werden sie durch TGFβ 1 gehemmt (12, 26), was auch meine Ergebnisse für die IPF bestätigen. Bei einem hohen TGFβ 1 Spiegel in der BALF* sind die Makrophagen signifikant erniedrigt.

Das schlechte Ansprechen der derzeitigen Standardtherapie, d.h. Kortikosteroide als Monotherapie oder kombiniert mit Immunsuppressiva mit nur 10-15 Prozent der Fälle, erweist sich als besonders schwierig (32, 55, 63). Nach der neuen Hypothese der Pathogenese der IPF* ergibt sich das therapeutische Dilemma. Mittels der derzeitigen Therapie werden nur sekundäre entzündliche Einflüsse der Pathogenese angesprochen. Für die Hemmung des Primärereignisses der Fibroblastenaktivierung stehen noch keine wirksamen zugelassenen Medikamente zur Verfügung.

Das Ziel der Therapie sollte primär die Suppression der profibrotischen Faktoren, wie TGF β 1, bzw. die Entkopplung ihrer Wirkungsweise sein.

Erste Bemühungen in dieser Richtung zeigten bereits Kolb et al, die in Tierversuchen eine TGF β 1 induzierte Lungenfibrose durch das Proteoglykan Decorin in vivo wesentlich eindämmen konnten (36, 37). Asakura et al (4) berichten in diesem Zusammenhang, dass niedrige TGF β 1 Konzentrationen in älteren fibrosierten Bereichen mit einem hohen Vorhandensein an Decorin zusammenhängen. Decorin soll dabei ein negatives Feedback-Signal in Bezug auf TGF β 1 sein. Des Weiteren wurden Möglichkeiten aufgezeigt, spezielle TGF β 1 Rezeptoren zu blockieren und somit eine Progression der Fibrose in Tiermodellen aufzuhalten (8). Weitere Ansätze für eine adäquate Therapie bietet die intrazelluläre Signalweiterleitung von TGF β 1 durch so genannte SMADs*. In Tierversuchen wurde gezeigt, dass eine Ausschaltung verschiedener SMADs* durch sog. Knock-Out Versuche ebenfalls eine Progression der Fibrose verhinderten (9).

4.4 Literatur zur Sarkoidose

Bei der Sarkoidose (Morbus Besnier-Boeck-Schaumann, benigne Lymphogranulomatose) handelt es sich um eine primär generalisierte Systemerkrankung des mesenchymalen Gewebes, die mit einer granulomatösen Entzündungsreaktion in den betroffenen Organen, zumeist der Lymphknoten (95-98%) und der Lunge (ca. 90%) einhergeht (15). Aufgrund eines unbekanntes Stimulus werden Alveolarmakrophagen und Lymphozyten aktiviert, es kommt zur Kumulation von immunkompetenten Zellen. Die das Krankheitsbild charakterisierenden nichtverkäsenden Granulome bestehen aus Epitheloidzellen, Riesenzellen, Makrophagen und vor allem aktivierten T-Lymphozyten, die zur Freisetzung verschiedener Mediatoren angeregt werden (69). Neben der Ausbildung von Granulomen kann diese zelluläre Immunreaktion zu Veränderungen der normalen Lungenstruktur (Fibrosierung) und zu Funktionsstörungen der Lunge führen. Die genaue Pathogenese der Granulombildung ist nicht geklärt (22, 48, 54, 68). Als charakteristische Blutwerte können das Angiotensin konvertierende Enzyme (ACE), das von den

Epitheloidzellen des Granuloms freigesetzt wird und somit ein Marker für die Granulomlast des Körpers ist, der zirkulierende IL-2-Rezeptor (Interleucin-2-Rezeptor), der als Maß für die Aktivierung der T-Lymphozyten gilt, und der Kalziumwert, da die mononukleären Zellen der Granulome 1,25-Dihydroxy-Vitamin D produzieren, was mit einer Hyperkalzämie und Hyperkalziurie einhergeht, bestimmt werden. Diese Blutwerte sind jedoch nicht spezifisch für die Diagnose der Sarkoidose (7, 51).

In meiner Studie zeigt sich, dass bei einer Sarkoidose Typ I*, die noch keine Lungenfibrose aufweist und eine Heilung meist spontan erfolgt, die TGF β 1 Werte nicht signifikant anders sind, als bei denen der „kranken Kontrollen“. Dieses Ergebnis wird auch von Salez et al in ihren Untersuchungen beschrieben (57). Bei der Sarkoidose des Typs II/III*, die von einer irreversiblen pathologischen Beteiligung des Lungengewebes ausgeht, sind die TGF β 1 Konzentrationen in der BALF* in meiner Untersuchung signifikant erhöht. Salez et al finden bei Ihren Bemühungen auch einen erhöhten TGF β 1 Wert bei Sarkoidosepatienten mit verschlechterter Lungenfunktion. Daraus kann die Schlussfolgerung gezogen werden, dass ein erhöhter TGF β 1 Spiegel in der BALF* ein Zeichen für die progrediente irreversible Schädigung der Lunge in Form der Fibrosierung ist. Des Weiteren wird die Bedeutung von TGF β 1 als profibrotisches Zytokin gestützt. Auch andere Untersuchungen haben schon impliziert, dass ein erhöhter TGF β 1 Spiegel mit einer erhöhten Gefahr der Lungenfibrose einhergeht (19, 24). Kontrovers dazu ist das Ergebnis einer Forschungsgruppe, welche einen hohen TGF β 1 Wert bei Sarkoidose Patienten finden, die dann spontan ausheilen (70), was vermutlich mit den immunmodulierenden Eigenschaften dieses Faktors in Zusammenhang steht.

Die TGF β 1 Werte in der BALF* können möglicherweise als Aktivitätskontrolle in Bezug auf die begleitende Lungenfibrose verwendet werden, wobei ein hoher TGF β 1 Spiegel für eine aktive Fibrose steht.

6. ZUSAMMENFASSUNG

In meiner retrospektiven Studie nahm ich 219 Patienten mit diffusen Lungenparenchymerkrankungen auf. Dabei fokussierte ich mich auf 61 Sarkoidose Patienten, wobei ich 41 radiologisch dem Typ I und 20 dem Typ II/III zuordnete, sowie 38 IPF* Patienten und 22 aus einer Kontrollgruppe ohne interstitielle Lungenkrankheit. Mittels eines Sandwich ELISA*-Tests aus der BALF* und dem Serum ermittelte ich die jeweiligen TGF β 1 Konzentrationen.

Bei einem Vergleich der Serum TGF β 1 Werte ergaben sich keine bedeutsamen Unterschiede zwischen den Diagnosegruppen, woraus zu schliessen ist, dass das Zytokin die Lunge nicht in ausreichender Menge verlässt. Deshalb ist der TGF β 1 Wert im Serum nicht geeignet, eine charakterisierende Aussage in Bezug auf interstitielle Lungenkrankheiten zu treffen.

Bei der Auswertung der TGF β 1 Werte aus der BALF* zeigten sich indessen signifikante Ergebnisse. In weniger fibrotischen Erkrankungen wie der Kontrollgruppe ohne ILD* und der Sarkoidose mit dem radiologischen Typ I waren signifikant niedrigere TGF β 1 Werte vorhanden als bei stärker fibrotischen Erkrankungen wie der IPF* und der Sarkoidose mit dem radiologischen TYP II/III. TGF β 1 hängt also von dem Fibrosierungszustand ab und ist nicht krankheitsspezifisch, sondern charakterisiert einen fibrotischen Phänotyp.

Die TGF β 1 Werte in der BALF* und in dem Serum korrelierten nicht signifikant mit der Lungenfunktion der Patienten.

Bei Vergleichen der TGF β 1 Werte der BALF* mit den Zellzahlen in der IPF* zeigte sich eine positive Korrelation zu den B-Lymphozyten und den Polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten (PMN*), jedoch eine negative Korrelation zu den T-Lymphozyten, den Helferzellen und den Makrophagen. Dies unterstreicht die komplexe Wirkungsweise des Zytokins TGF β 1 bei fibrosierenden Vorgängen.

Das Zytokin TGF β 1 eignet sich gut als Angriffspunkt für eine die Fibrose hemmende Begleittherapie bei Erkrankungen mit einem stark ausgeprägtem fibrotischen Phänotyp. Ob eine Verminderung bzw. Normalisierung des TGF β 1 Spiegels in der BALF* mit einer verlängerten Überlebenszeit oder sogar einer vollkommenen Heilung einer Erkrankung einhergeht, bleibt jedoch noch offen.

7. Literaturverzeichnis

A

1 Alevizopoulos, A. and N. Mermoud (1997)

BioEssays 19:581

2 Allen J.B., Manthey C.L., Hand A.R., Ohura K., Ellingworth L. Wahl S.M.

Rapid onset synovial inflammation and hyperplasia induced by transforming growth factor β

J. Exp.Med. 1990; 171:231-47

3 Anscher, M.S., Peters W.P., Reisenbichler H., Petros W.P., Jirtle R.L.

Transforming growth factor β as a predictor of liver and lung fibrosis after autologous bone marrow transplantation for advanced breast cancer

New England Journal of Medicine 1993; 328(22):1592-1598

4 Asakura S.,Kato I.I.,Fujino S.,et al.

Role of transforming growth factor- β 1 and decorin in development of central fibrosis in pulmonary adenocarcinoma

Immun Pathol 1999; 30:1136-1144

B

5 Bartram U.

The Role of Transforming Growth Factor β in Lung Development and Disease

CHEST 2004;125:754-765

6 Behr J.

Diagnostik der idiopathischen Lungenfibrose

Pneumologie 2001 55:144-148

7 Berdel W.E., Böhm M., Classen M., Diehl V., Kochsiek K., Schmiegel W.

Innere Medizin

Urban & Fischer 5.Auflage S. 504-518

8 Bonniaud P, Margetts PJ, Kolb M, Schroeder JA, Kapoun AM, Damm D,

Murphy A, Chakravarty S, Dugar S, Higgins L, Protter AA, Gauldie J.

Progressive TGF- β 1-induced Lung Fibrosis is Blocked by an Orally Active ALK5 Kinase Inhibitor.

Am J Respir Crit Care Med. 2004 Nov 24;

9 Bonniaud P, Kolb M, Galt T, Robertson J, Robbins C, Stampfli M, Lavery C, Margetts PJ, Roberts AB, Gauldie J.

Smad3 null mice develop airspace enlargement and are resistant to TGF-beta-mediated pulmonary fibrosis.

J Immunol. 2004 Aug 1;173(3):2099-108.

10 Bonniaud P, Margetts PJ, Kolb M, Schroeder JA, Kapoun AM, Damm D, Murphy A, Chakravarty S, Dugar S, Higgins L, Protter AA, Gauldie J.

Progressive Transforming Growth Factor {beta}1-induced Lung Fibrosis Is Blocked by an Orally Active ALK5 Kinase Inhibitor.

Am J Respir Crit Care Med. 2005 Apr 15;171(8):889-98. Epub 2004 Nov 24.

11 Border W.A., Noble N.A.,

Transforming growth factor β in tissue fibrosis

N Engl J Med 1994;10:1286-1292

12 Bottalico L.A., Wager R.E., Agellon L.B., Assoian R.K., Tabas I.

Transforming growth factor- β 1 inhibits scavenger receptor activity in THP-1 human macrophages

J.BiolChem. 1991; 266:22866-71

13 Brandes M.E., Mai U.E., Ohura K., Wahl S.M.,

Type I transforming growth factor- β receptors on neutrophils mediate chemotaxis to transforming growth factor- β

J.Immunol. 1991; 147:1600-6

C

14 Costabel U.,Guzman J.

Lungenfibrosen

DER INTERNIST 2003 (Suppl 1) 44;S35-S43

15 Costabel U.

Sarcoidosis: clinical update.

Eur Respir J Suppl. 2001 Sep;32:56s-68s.

16 Cox ,D.A. and T. Maurer (1997)

Clin. Immunopathol. 83:25

D

17 Daniil Z, Kitsanta P, Kapotsis G, Mathioudaki M, Kollintza A, Karatza M, Milic-Emily J, Roussos C, Papiris S.

CD8+T lymphocytes in lung tissue from patients with idiopathic pulmonary fibrosis.

Respir Res. 2005 Jul 24;6(1):81

18 De Gruyter

Pschyrembel Klinisches Wörterbuch 259. Auflage

19 Denis M., Gharidian E.,

Transforming growth factor beta is generated in the course of hypersensitivity pneumonitis: contribution to collagen synthesis

E

20 Environ Health Perspect (2000)

108(suppl 4) : 751-762

21 Edwards D.R.,Murphy G.,Reynolds J.J.,et al.

Transforming growth factor- β modulates the expression of collagenase and metalloproteinase inhibitor

EMBO J 1987; 6:1899-1904

F

22 Ferlinz, R.

Pneumologie in Praxis und Klinik,

Thieme Verlag, New York, Heidelberg 19994

G

23 Gaede KI, Amicosante M, Schurmann M, Fireman E, Saltini C, Müller-Quernheim J

Function associated transforming growth factor-beta gene polymorphism in chronic beryllium disease.

J Mol Med. 2005 May;83(5):397-405. Epub 2005 Mar 5.

24 Giri S.N.,Hyde D.M., Hollinger M.A.,

Effect of antibody to transforming growth factor β on bleomycin induced accumulation of lung collagen in mice

Thorax 1993; 48: 959-966

25 Grande J.P.

Role of transforming growth factor- β in tissue injury and repair.

Proc Soc Exp Biol 1997; 214:27-40

26 Han J., Hajjar D.P., Tauras J.M., Feng J., Gotto A.M. Jr., Nicholson A.C.

Transforming growth factor- β 1(TGF β 1) and TGF β 2 decrease expression of CD36, the type B scavenger receptor, through mitogen-activated protein kinase phosphorylation of peroxisome proliferators-activated receptor- γ

J.Biol.Chem. 2000; 275:1241-46

H**27** Haslam P.L., Turton C.W.G., Heard B.,Lukoszek A.,et al.

Bronchoalveolar Lavage in pulmonary fibrosis: comparison of cells obtained with lung biopsy and clinical features

Thorax 1980; 35:9-18

28 Heino J.,Ignatz R.A., Hemler M.E.,et al.

Regulation of Cell adhesion receptors by transforming growth factor- β

J Biol Chem 1989; 264:380-388

29 Homolka

Idiopathische Lungenfibrose: schlechte Prognose beim beatmeten Patienten

Pneumologie 2002; 56: 161-162

I**30** Ignatz R.A., Massague J.

Cell adhesion protein receptors as targets for transforming growth factor action

Cell 1987; 51:189-197

J**31** Joseph A. Lasky

Environ Health Perspect 2000 108(suppl4):751-762

K**32** Keely J.,Shull S.,Walsh J.J.,Cutroneo K.R.,Absher N.

Auto-induction og Tgf- β in human lung fibroblasts

Am J Resp Cell Mol Biol 1993; 8:417-424

- 33** Khalil n.,Parekh T.V.,O'Connor R.,Antman N.,Kepron W.,.....
Regulation of the effects of Tgf- β 1 by activation of latent Tgf- β 1 and differential expression of Tgf- β receptors in idiopathic pulmonary fibrosis
Thorax 2001; 56:907-915
- 34** Kingsley, D.M. (1994)
Genes Dev. 8:133
- 35** Kolb M., Schmidt M.
The Role Of Cytokines and Growth Factors in Fibroproliferative Lung Disease
PNEUMOLOGIE 2003;57:91-97
- 36** Kolb M., Schmidt M.
Transient Transgene Expression of Decorin in the Lung Reduces the Fibrotic Response to Bleomycin Am J Crit Care Med 2000 Vol163.pp 770-777
- 37** Kolb M., Margetts P.J.,
Proteoglycans decorin and biglycan differentially modulate Tgf- β -mediated fibrotic responses in the lung
Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 2001:L1327-L1334
- 38** Kolb M.,Willner J.,Körberlein E.,Hoffmann U.,Kirschner J,Flentje M.,Schmidt M.
Autokrine Aktivierung von Fibroblasten nach Bestrahlung
Pneumologie 1999 53: 296-301
- 39** Kolb M., Gauldie J., Sime P.J.,
A new direction in the pathogenesis of idiopathic pulmonary fibrosis
Respir Res 2002; 3:1
- 40** Krein PM, Winston BW
Roles for insulin-like growth factor I and transforming growth factor-beta in fibrotic lung disease
Chest. 2002 Dec;122(6 Suppl):289S-293S
- 41** Kuwano K, Kunitake R, Maeyama T, Hagimoto N, Kawasaki M, Matsuba T, Yoshimi M, Inoshima I, Yoshida K, Hara N
Attenuation of bleomycin-induced pneumopathy in mice by a caspase inhibitor
Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2001 Feb;280(2):L316-25

L

42 Lasky J.A., Brody A.R.

Interstitial Fibrosis and Growth Factors,

Environ Health Perspect. Aug 2000, 108suppl. 4:751-762

43 Lawrence, D.A. (1996)

Eur. Cytokine Netw. 7:363.

44 Lebman D.A., Edmiston J.S.,

The role of TGF β in growth, differentiation, and maturation of B lymphocytes

Microbes Infect. 1999; 1:1297-304

45 Liu W., Wang D.R., Cao Y.L.

Tgf- β : a fibrotic factor in wound Scarring and a potent Target for anti-scarring gene therapy

Curr Gene Ther. 2004; 4(1).123-136

46 Li M.O., Wan Y.Y., Sanjabi S., Robertson A.K., Flavell R.A.

Transforming Growth Factor-beta Regulation of Immune Responses

Annu Rev Immunol. 2005; 24:4.1-4.48

M

47 Müller-Quernheim J.

serum markers for the staging of disease activity of Sarkoidosis and other interstitial lung diseases of unknown etiology

Sarcoidosis Vasc. Diffuse lung Dis. 1998; 15:22-37

48 Müller- Quernheim J., Pfeifer S., Strausz J., Ferlinz R.,

Correlation of Clinical and Immunologic Parameters of the Inflammatory Activity of Pulmonary Sarcoidosis

Am.Rev.Resp.Dis. 1991;144:1322-1329

N**O**

49 O'Kane S, Ferguson MW

Transforming growth factor beta s and wound healing

Int J Biochem Cell Biol. 1997 Jan;29(1):63-78

P**Q**

R

50 Reibman J., Meixler S., Lee T.C., Gold L.I., Cronstein B.N., et al.
Transforming growth factor β 1, a potent chemoattractant for human
neutrophils, hypasses classic signaltransduction pathways
Prac.Natl.Arad.Sci. 1991;88:6805-9

51 Renz-Polster H., Krautzig S., Braun J.
Basislehrbuch Innere Medizin
Elsevier Urban & Fischer 3.Auflage S. 475-484

52 Reynolds, H.Y. (1987)
Bronchoalveolar Lavage
Am.Rev.Respir.Dis.135:250-263

53 Reynolds, H.Y., Huck, L.J. (1990)
Immunologic Responses in the Lung Respiration 57:221-228

54 Riede U.-N., Schaeffer H.-E., Wehner H.
Allgemeine und spezielle Pathologie
Thieme Verlag 1989

55 Rodemann H.P., Binder A., Burger A., Güven N., Löffler H., Bamberg M.
The underlying mechanism of fibrosis
Kidney Int 1996; 49:32-36

S

56 Salez F
Transforming growth factor- β 1 in sarcoidosis.
Eur Respir J 1998;12:913-999

57 Salez F, Gosset P, Copin MC, Lamblin Degros C, Tonnel AB, Wallaert B
Transforming growth factor-beta1 in sarcoidosis
Eur Respir J. 1998 Oct;12(4):913-9
Am J Respir Cell Mol Biol 1992; 7:156-160

58 Selman M., King T.E., Pardo A.
Idiopathic pulmonary fibrosis: Prevailing and Evolving Hypotheses about its
pathogenesis and implications for therapy
Ann Intern Med 2001; 134:136-151

59 Sheppard D.

Pulmonary fibrosis: a cellular overreaction or a failure of communication?

J Clin Invest 2001; 107: 1501-1502

60 Sheppard D.

Integrin-mediated activation of transforming growth factor β 1 in pulmonary fibrosis

Chest 2001; 120:49s-53s

61 Stavnezer J.

Regulation of antibody production and class switching by TGF β

J. Immunol. 1995; 155:1647-51

62 Suk-Joong Yong

(2001) CHEST 2001 120:68s-70s

T**63** Tremblay G.M., Jordana M., Gauldie J., Särnstrand B.

Fibroblast as effector cells in Fibrosis. Pulmonary fibrosis

Lung biology in health and disease Vol80 Marcel Dekker NY; 1995 541-577

U**V****64** Vogel E.

Transforming Growth Factor β 1 und Plated Derived Growth Factor AB im Serum und in Bronchoalveolärer Lavage bei ideopathischen Lungenfibrosen

65 Vaillant P., menard O., Vignaud JM., Martinet N., Martinet Y.

The role of cytokines in human lung fibrosis

Monaldi Arch Chest Dis. 1996; 51(2):145-152

W**66** Wahl S.M., Hunt D.A., Wakefield L.M., McCartney-Francis N., Wal L.M., et al

Transforming growth factor type β induces monocyte chemotaxis and growth factor production

Proc. Natl. Acad. Sci. 1987; 84:5788-92

67 Wiseman D.M., Polverini P.J., Kamp D.W., Leibovich S.J.

Transforming growth factor β (TGF β) is chemotactic for human monocytes and induces their expression of angiogenic activity

Biochem.Biophys.Res.Comm. 1988; 157:793-800

X

Y

68 Yasutaka J., Katsutoshi T. et al

Soluble Interleukin 2 Receptors in Patients with Sarcoidosis, Possible Origin

Chest 1992; 102: 1128-1133

Z

69 Ziegenhagen M., Benner U., Zissel G., Zabel B., Schlaak M., Müller

Quernheim J.,

Sarcoidosis: Tnf-alpha release from alveolar macrophages and serum level of sIL-2R are prognostic markers

Am.J.Respir.Crit.Care.Med 1997 Feb;156:1586-92

70 Zissel G, Homolka J, Schlaak J, Schlaak M, Muller-Quernheim J.

Anti-inflammatory cytokine release by alveolar macrophages in pulmonary sarcoidosis

Am J Respir Crit Care Med. 1996 Sep;154(3 Pt 1):713-9

Danksagung

Herrn Privat-Dozent Dr. med. M. Kolb danke ich für die Überlassung dieses interessanten Themas, für die freundliche Hilfestellung, sowie für die wertvollen Ratschläge bei der Erstellung und der regelmässigen Korrektur der Arbeit.

Herrn Professor Dr. med. G. Ertl danke ich, dass er das Amt des Korreferenten übernommen hat.

Frau M. Wechner danke ich für ihre freundliche Hilfsbereitschaft im Labor und geduldige Beratung bei Problemen.

Frau I. Haubitz danke ich für die tatkräftige Unterstützung am PC.

Weiterhin möchte ich mich bei meiner Familie bedanken, die mich mit unermüdlichem Rat und aufmunternden Worten bei der Erstellung dieser Arbeit unterstützt hat.

CURRICULUM VITAE

NAME: Alexander Boeck

ANSCHRIFT: Max-Dauthendey-Strasse 1
97072 Würzburg
0931/88 037 82

GEBURTSDATUM/-ORT: 24. April 1979, Braunschweig

ELTERN: Dr. jur. utr. Ruprecht Boeck, stellv.
Chefsyndikus
Sigrid Boeck, Physiotherapeutin

GESCHWISTER: Dr. med. Konstantin Boeck, 28 Jahre,
Assistenzarzt Unfallchirurgie Hannover
Viktoria Boeck, 19 Jahre Studentin

SCHULBILDUNG: 1985 - 1989 Grundschule Lehndorf
1989 - 1991 Orientierungsschule
Lehndorf
1991 - 1995 Hoffmann-von Fallersleben
Gymnasium
1995 - 1998 Gymnasium Neue
Oberschule

SCHULABSCHLUSS: Abitur Juni 1998

BUNDESWEHR: Juli 1998 - August 1999
Sportförderkompanie
Schwimmen/Warendorf

ZAHNMEDIZINSTUDIUM: Beginn Wintersemester 1999/2000 an
der Bay. Julius-Maximilians-Universität
Würzburg
Staatsexamen Juni 2005

ASSISTENZZAHNARZT: seit 1.07.2005 in der Praxis Dr. G. Lilly

FREMDSPRACHEN: 9 Jahre Englisch
5 Jahre Latein (Latinum)

Alexander Boeck