

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

# Spezifische Zytokinmuster und Schrankenstörung bei interstitiellen Lungenkrankheiten

Inaugural – Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der  
Medizinischen Fakultät  
der  
Bayerischen Julius-Maximilians-Universität zu Würzburg

vorgelegt von  
Burkhard Hiller  
aus Freiberg

Würzburg, Juni 2001

Referent: Professor Dr. med. Michael Schmidt

Korreferent: Professor Dr. med. Georg Ertl

Dekan: Professor Dr. med. Volker ter Meulen

Tag der mündlichen Prüfung: 06.11.2001

Der Promovend ist Arzt

*Meiner Familie gewidmet*

## Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Interleukin-2 und sein Rezeptor .....	1
1.2	Interleukin-8 .....	3
1.3	Epitheliale Schrankenstörung .....	4
2	Fragestellung	6
3	Material	7
3.1	Patienten .....	7
3.2	Diagnosegruppen .....	8
3.2.1	Sarkoidose .....	8
3.2.2	Exogen-allergische Alveolitis .....	9
3.2.3	Idiopathische Lungenfibrose .....	9
3.2.4	Übrige interstitielle Lungenkrankheiten .....	9
3.2.5	Pneumonien .....	10
3.2.6	Kontrollgruppe .....	10
3.3	Probengewinnung und -vorbereitung .....	11
3.3.1	Bronchoalveoläre Lavage und Serumgewinnung.....	11
3.3.2	Dialysieren und Lyophilisieren der BAL .....	11
4	Arbeitsmethoden	13
4.1	Löslicher IL-2 Rezeptor im Serum und in der BALF .....	13
4.1.1	Material .....	13
4.1.2	Methode .....	13
4.1.3	Durchführung .....	14
4.1.4	Auswertung .....	15

4.2	IL-8 im Serum und in der BALF .....	15
4.2.1	Material .....	15
4.2.2	Methode .....	16
4.2.3	Durchführung .....	16
4.2.4	Auswertung .....	17
4.3	Lysozymbestimmung im Serum und in der BALF .....	17
4.3.1	Material .....	17
4.3.2	Methode .....	18
4.3.3	Durchführung .....	19
4.3.4	Auswertung .....	20
4.4	Gesamteiweißbestimmung der BALF-Proben .....	20
4.4.1	Material .....	20
4.4.2	Methode .....	20
4.4.3	Durchführung .....	21
4.4.4	Auswertung .....	22
4.5	Albuminbestimmung der BALF-Proben .....	22
4.5.1	Material .....	22
4.5.2	Methode .....	22
4.5.3	Durchführung .....	23
4.5.4	Auswertung .....	23
4.6	Angiotensin converting enzyme - Bestimmung im Serum.....	23
4.6.1	Material .....	23
4.6.2	Methode .....	24
4.6.3	Durchführung .....	24
4.6.4	Auswertung .....	24
4.7	Lungenfunktionsanalyse .....	25
4.8	Statistik.....	25
4.9	Qualitätssicherung .....	26

5	Ergebnisse	27
5.1	Allgemeines.....	27
5.2	Sarkoidose .....	27
5.2.1	Sarkoidose ohne Therapie im Stadienvergleich.....	29
5.2.2	Sarkoidose ohne Therapie - Einflußfaktor Rauchen .....	30
5.3	Exogen-allergische Alveolitis.....	31
5.4	Idiopathische Lungenfibrose .....	34
5.4.1	Idiopathische Lungenfibrose mit und ohne Therapie....	37
5.4.2	Idiopathische Lungenfibrose - Einflußfaktor Rauchen ...	37
5.5	Übrige interstitielle Lungenkrankheiten .....	38
5.6	Pneumonien .....	40
6	Diskussion	42
6.1	Diagnosegruppe Sarkoidose .....	42
6.1.1	Allgemeines.....	42
6.1.2	Diskussion der Ergebnisse .....	42
6.1.3	Sarkoidosepatienten im Stadienvergleich .....	45
6.1.4	Einflußfaktor Rauchen bei Sarkoidose.....	46
6.2	Diagnosegruppe Exogen-allergische Alveolitis .....	48
6.2.1	Allgemeines.....	48
6.2.2	Diskussion der Ergebnisse .....	48
6.3	Diagnosegruppe Idiopathische Lungenfibrose.....	49
6.3.1	Allgemeines.....	49
6.3.2	Diskussion der Ergebnisse .....	50
6.3.3	Einfluß der immunsuppressiven Therapie bei IPF .....	52
6.3.4	Einflußfaktor Rauchen bei IPF .....	52
7	Zusammenfassung	53

8	Anhang	55
8.1	Tabellen.....	55
8.1.1	Sarkoidose .....	55
8.1.2	Exogen-allergische Alveolitis .....	57
8.1.3	Idiopathische Lungenfibrose .....	58
8.1.4	Übrige interstitielle Lungenkrankheiten .....	60
8.1.5	Pneumonien .....	60
8.2	Parameter.....	61
8.3	Grafiken .....	62
9	Abkürzungen	65
10	Literaturverzeichnis	66

### 1 Einleitung

Die Ätiologien wichtiger Lungenkrankheiten sind bis heute ungeklärt, so z.B. die der Sarkoidose und der Idiopathischen Lungenfibrose [15,28]. Die intensiven Bemühungen der letzten Jahre richteten sich darauf, pathogenetische Zusammenhänge dieser Erkrankungen zu erforschen. Die Lunge hat durch ihre Funktion, den Gasaustausch zwischen Blut und Umwelt zu gewährleisten und den damit verbundenen engen Kontakt mit Erregern und anderen Noxen, eine besondere Stellung im Immunsystem des Menschen. Deshalb liegt die Vermutung nahe, daß die Ursache der meisten Lungenerkrankungen in engem Zusammenhang bzw. im immunologischen System selbst zu suchen sind. So konzentrierten sich viele Arbeiten der letzten Jahre darauf, auffällige Wertabweichungen einzelner Komponenten in die komplexen Wechselwirkungen des Immunsystems der erkrankten Lunge einzuordnen und zu verstehen.

#### 1.1 Interleukin-2 und sein Rezeptor

Erstmals wurde 1976 von Morgan und Mitarbeitern [48] im Kulturüberstand von aktivierten Blutlymphozyten ein Faktor beschrieben, der in der Lage war, T-Lymphozyten zum Wachstum anzuregen. Aufgrund dieser Beobachtungen wurde er als „T cell growth factor“ (TCGF) bezeichnet. Auf dem 2. Internationalen Lymphokin Workshop 1979 wurde für diesen Mediator der jetzige Name Interleukin-2 festgelegt. Taniguchi und sein Team [78] konnten 1983 erstmals die DNA von Interleukin-2 isolieren.

Das Polypeptid Interleukin-2 setzt sich aus 153 Aminosäuren zusammen. Es ist ein potenter immunmodulatorischer Mediator, dessen wichtigste Eigenschaft in der Aktivierung von T-Helfer Zellen, zytotoxischen T-Zellen, B-Lymphozyten, natürlichen Killerzellen und Makrophagen liegt [39]. Die Aktivierung ist rezeptorvermittelt. Bis heute sind 3 Rezeptoren unterschiedlicher Affinität



bekannt. Diese setzen sich zusammen aus drei Glykopeptiduntereinheiten, einer  $\alpha$ -,  $\beta$ - und  $\gamma_c$  - Kette.

$\alpha$  - Kette    55 kDa,    251 AS,    CD 25,    „Tac-Antigen“ (T-cell-activation)

$\beta$  - Kette    75 kDa,                      CD 122

$\gamma_c$  - Kette    64 kDa,                      CD 132

Dabei beobachtet man bei den einzelnen Untereinheiten unterschiedliche Funktionen. Die  $\alpha$  und  $\beta$  Untereinheit vermitteln vor allem die Bindung von IL-2. Die  $\beta$  und  $\gamma_c$  Untereinheit sind eher für die Signaltransduktion über den JAK 1 und 3 Kinaseweg verantwortlich. Der hochaffine Rezeptor ( $K_d = 10^{-11}$  M) ist ein Trimer aus allen drei Untereinheiten. Dieser ist nicht zu finden im unstimulierten Zustand. Findet eine Stimulation statt, wird er massiv auf T-Zellen exprimiert. Der mittelaffine Rezeptor ( $K_d = 10^{-9}$  M) besteht aus der  $\beta$  und  $\gamma_c$  Untereinheit, der niedrigaffine einzig aus der  $\alpha$  Untereinheit ( $K_d = 10^{-8}$  M). Die  $\alpha$  -Kette, als niedrigaffiner IL-2 Rezeptor, wird bei weniger als 5% der mononukleären Zellen im peripheren Blut exprimiert und dann nur in sehr niedriger Anzahl. [81]

Kommt es zur Stimulation von T-Zellen und damit zur Expression des hochaffinen IL-2 Rezeptors, wird die  $\alpha$  Untereinheit enzymatisch gespalten und vom membranständigen Rezeptor gelöst [68]. Die Menge des sogenannten gelösten IL-2 Rezeptors ist proportional mit der Rezeptorexpression an der Zelloberfläche [35]. Dieses lösliche 45 kDa Monomer kann mittels ELISA – Test quantitativ bestimmt werden und stellt somit ein Maß für die T-Zell-Aktivierung dar [34]. Zu beachten ist, daß dieses Glykopeptid in der Niere verstoffwechselt wird. So kann der Serumwert des IL-2 Rezeptors bei Nierenerkrankungen ohne vermehrte T-Zellaktivierung durch fehlenden Abbau über die Norm erhöht sein. Der Normwert wird in der Literatur mit 112-502 IU/ml (IU = 3,3 pg) angegeben.

Die Messung des löslichen IL-2 Rezeptors im Serum und in der bronchoalveolären Lavage bei interstitiellen Lungenerkrankungen stellt neben anderen Parametern die Grundlage dieser Arbeit dar.

### 1.2 Interleukin-8

Das Interleukin-8 gehört zur Gruppe der chemotaktischen Zytokine und zur Familie der C-X-C Chemokine. Es ist das jüngste entdeckte, auf Granulozyten wirksame Zytokin. Zuvor wurde die auf Granulozyten chemotaktische Aktivität dem IL-1 und TNF zugeschrieben, bis diese rekombinant hergestellt werden konnten und sich bei entsprechenden Tests keine entsprechende Wirkung zeigte. IL-8 wurde zuerst unter verschiedenen Namen beschrieben, so z.B. als GCP (Granulozyten chemotaktisches Protein) bzw. als NAP-1 (Neutrophile aktivierendes Protein). Die Synonyme wurden 1989 als Interleukin-8 zusammengefaßt. Eine Hauptfunktion des IL-8 ist die chemotaktische Wirkung auf Granulozyten. Eine weitere wichtige Funktion ist die Anlockung von T-Helfer-Zellen, so daß Granulozyten über IL-8 stark immunregulatorisch wirken.

IL-8 ist ein Protein mit 10kDa und 99 Aminosäuren im Primärprodukt. Es hat eine Leadersequenz mit 27 AS, so daß das biologisch aktive Protein nunmehr 72 AS besitzt. Daneben gibt es Formen mit 69, 70 und 77 AS, die ebenfalls biologisch aktiv sind.

IL-8 bindet mit hoher Affinität an zwei Rezeptoren, der CXCR-1 und CXCR-2. Diese Rezeptoren sind nicht selektiv für IL-8. Es können auch andere chemotaktische Stoffe an diesen Rezeptoren binden. Beide Rezeptoren haben eine transmembrane Sieben-Helix-Struktur und wirken über eine G-Protein-Kaskade. Sie unterscheiden sich bei der Rezeptoraktivierung und in zellulären Mechanismen der Rezeptor-Desensibilisierung, Internalisation und Reexpression [86]. Exprimiert werden die Rezeptoren auf neutrophilen und basophilen Granulozyten, Monozyten und einigen T-Zellen. Auf einer Zelle gibt es 20.000 - 50.000 Rezeptoren mit einem Molekulargewicht von 60 kDa [39,55].

Granulozyten spielen bei der Pathogenese vieler Erkrankungen eine wichtige Rolle. Durch Phagozytose und ihre zytotoxische Aktivität bei Antigenmarkierung von Erregern sind sie für die Infektionsabwehr entscheidend. Die Ausschüttung von IL-8 zeigt, daß Granulozyten nicht nur Effektorzellen sind, sondern auch

immunmodulatorische Aktivität durch die Beeinflussung der T-Zell-Rekrutierung besitzen. Durch die Chemotaxis auf T-Helfer-Zellen erfolgt eine weitere Immunregulation auf B-Zellen und zytotoxische T-Zellen.

Granulozyten haben auch eine Funktion in der Immunologie von Malignomen, so kommt es vor, daß Tumore infiltriert sind von eosinophilen Granulozyten. Ebenso können Dysfunktionen dieses Systems auftreten. Beispielsweise findet man bei der Psoriasis und Ichthyosis vulgaris einen erhöhten IL-8 Wert in der Haut der Patienten ohne erkennbaren Auslöser, die dadurch angereicherten Granulozyten führen zum Absterben mehrerer Hautschichten und die Haut schuppt sich großflächig ab. Eine ähnliche Pathogenese könnte sich bei fibrosierenden Erkrankungen der Lunge abspielen. Studien zeigen erhöhte IL-8 Werte in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit von Patienten mit interstitieller Lungenfibrose [89].

Die derzeitige Forschung konzentriert sich ebenso auf die Funktionsweise und Struktur der entsprechenden Rezeptoren. Können Antagonisten für diese Mittler der Immunreaktion von Zytokinen gefunden werden, besteht die Möglichkeit der therapeutischen Intervention bei chronischen Entzündungen, Autoimmunerkrankungen, allergischen Reaktionen und bei der Prävention von Transplantatabstoßungsreaktionen [5].

### 1.3 Epitheliale Schrankenstörung

Eine chronische Entzündung von Lungengewebe bewirkt Veränderungen der alveolar-kapillären Permeabilität [33]. Albumin ist ein wichtiges Plasmaprotein, daß nicht in der Lunge produziert wird. Es ist ein Indikator für eine Membranpermeabilitätsstörung und somit bedeutend für die Beurteilung des pulmonalen Krankheitsprozesses [69,49].

Ein methodischer Einfluß der Bronchoskopie auf den Albumineinstrom aus dem intravasalen Raum konnte durch die Untersuchungen von Ward und Mitarbeitern [83] nahezu ausgeschlossen werden. Sie untersuchten 1997 die Auswirkungen der bronchoalveolären Lavage auf das Verhalten des

Plasma-Albumins bei interstitiellen Lungenkrankheiten speziell mit der Fragestellung, ob sich Albumin als Faktor für die Lavageverdünnung eignet. Sie injizierten kurz vor der bronchoskopischen Untersuchung 12 Patienten mit interstitieller Lungenkrankheit und sieben gesunden Kontrollpatienten radioaktiv markiertes Albumin i.v. und untersuchten anschließend die Radioaktivität in der Lavageflüssigkeit. Die Untersuchung zeigte, daß nur bei einem Teil der Patienten und der gesunden Probanden ein minimaler, nicht relevanter, akuter Fluss des Albumins während der bronchoalveolären Lavage bestand. Ward und Mitarbeiter konnten somit belegen, daß die erhöhten Albuminwerte in der Lavage kein Artefakt der Bronchoskopie darstellen, sondern daß es sich um einen realen Effekt eines chronisch entzündlichen Umbaus des Lungengewebes handelt und somit die Krankheitsaktivität widerspiegeln kann.

Auch Jones und Mitarbeiter [32] untersuchten und verglichen, inwieweit sich Albumin und Harnstoff als Verdünnungsmarker bezüglich der bronchoalveolären Lavage bei interstitiellen Lungenkrankheiten eignen. Für Harnstoff fand Jones und Mitarbeiter eine gleichmäßige Verteilung der Werte bei Patienten mit interstitieller Lungenkrankheit und gesunden Probanden. Sie schlossen daraus, daß sich Harnstoff als Verdünnungsindikator eignet. Die Albuminwerte hingegen waren bei aktiver Sarkoidose, EAA und IPF im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant erhöht.

Um die Albuminkonzentrationen in der bronchoalveolären Lavage entsprechend beurteilen zu können, ist es notwendig ein evaluiertes Verfahren für die Lavageaufbereitung anzuwenden. Ein entsprechendes Verfahren stellt das Dialysieren und Lyophilisieren der Lavageflüssigkeit dar [66]. Kelley [38] beschrieb den Sachverhalt des Konzentrierens der Proben vor Anwendung eines Bioassays, um den Verdünnungseffekt der epithelialen Grenzflüssigkeit durch die Spüllösung zu neutralisieren. Dieses Verfahren war Grundlage dieser Arbeit.

## 2 Fragestellung

In dieser Arbeit sollte untersucht werden, wie sich das Interleukin-2 durch seinen Rezeptor, das Interleukin-8, das Albumin und das Lysozym bei interstitiellen Lungenkrankheiten in Serum und bronchoalveolärer Lavage verhalten. Um diese Werte eindeutiger interpretieren zu können, sollten weitere Parameter, speziell die Zytologie der Lavage, die Lungenfunktionsparameter, Blutgasanalyse mit CO-Diffusionskapazität, klinische und serologische Parameter herangezogen und in Beziehung gebracht werden.

Weiterhin galt es, Unterschiede zwischen Rauchern und Nichtrauchern bezüglich der genannten Interleukine bei den einzelnen Krankheitsbildern aufzuzeigen.

Schließlich sollte festgestellt werden, ob sich Korrelationen zwischen den einzelnen Diagnosegruppen bezüglich der Werte des Interleukin-2 Rezeptor, des Interleukin-8, des Albumins und Lysozyms in Serum und Lavage fanden.

### 3 Material

#### 3.1 Patienten

Im Zeitraum zwischen Januar 1995 und November 1997 wurden in der pneumologischen Abteilung der Medizinischen Universitätsklinik Würzburg 115 Bronchoskopien durchgeführt. Im Rahmen dieser diagnostischen Untersuchung konnte bronchoalveoläre Lavageflüssigkeit (BALF) und Serum der Patienten gewonnen werden. Die Indikation zur Bronchoskopie erfolgte bei allen Patienten aus diagnostischen und therapeutischen Gründen. Zur Diagnosestellung wurden neben dem bronchoskopischen Befund zusätzlich klinische, laborchemische, radiologische, zytologisch – histologische und mikrobiologische Parameter herangezogen.

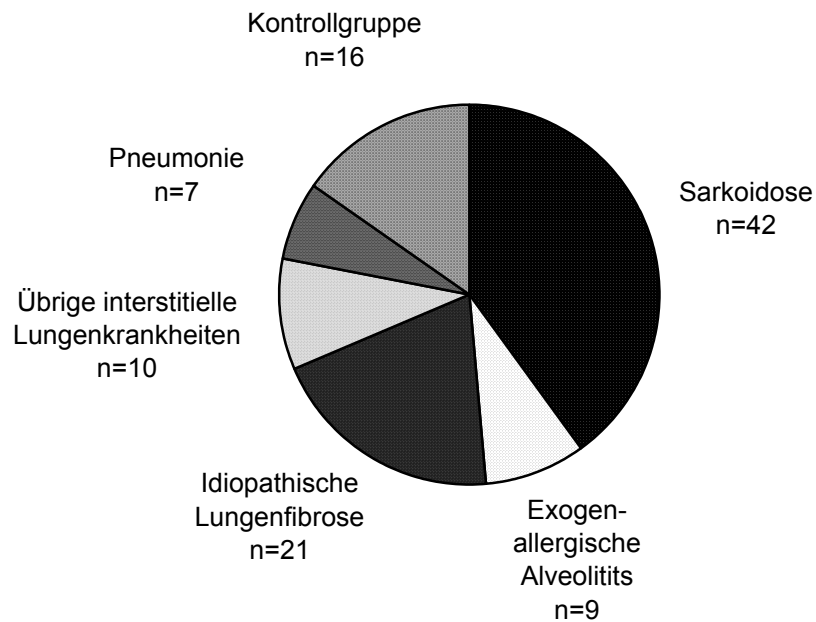
Im o.g. Zeitraum wurden drei Patienten zur Verlaufskontrolle wiederholt bronchoskopiert. Bei diesen Patienten ist ausschließlich die Erstbronchoskopie ausgewertet worden.

Bei vier Patienten mußte die Diagnose eines malignen Tumors gestellt werden, drei Patienten litten an einer chronisch obstruktiven Lungenerkrankung. Diese beiden Gruppen sind auf Grund des Studienziels nicht in die Statistik aufgenommen worden. Die Anzahl der Patienten des Gesamtkollektivs verkleinerte sich auf  $n = 105$ .

Im Untersuchungskollektiv befanden sich auch Patienten aus anderen Kliniken, die zur Diagnoseabklärung konsiliarisch bronchoskopiert wurden. Ein Patient stammte aus der Klinik für Herz- und Thoraxchirurgie, drei Patienten aus der Dermatologischen Klinik sowie fünf Patienten aus der Neurologischen Klinik.

Die Patienten wurden in folgende Diagnosegruppen eingeteilt (Grafik 3.1.1):

- 1) Sarkoidose
- 2) Exogen-allergische Alveolitis
- 3) Idiopathische Lungenfibrose
- 4) Übrige interstitielle Lungenkrankheiten
- 5) Pneumonie
- 6) Kontrollgruppe



Grafik 3.1.1 Diagnosegruppen

## 3.2 Diagnosegruppen

### 3.2.1 Sarkoidose

Die Sarkoidosepatienten bildeten mit 42 Patienten die größte Diagnosegruppe. Um eine Stadieneinteilung zu erhalten, wurde das Kollektiv nach röntgenologischen Kriterien in zwei Untergruppen aufgeteilt. Gruppe 1 beinhaltete Patienten im Stadium I, Gruppe 2 Patienten im Stadium II und III nach Wurm [16].

Zur Diagnosestellung wurden klinische und radiologische Parameter verwendet sowie histologisch nicht verkäsende Epitheloidzellgranulome nachgewiesen. Die Bronchoskopie erfolgte zur Diagnosesicherung.

Drei Patienten standen zum Zeitpunkt der bronchoskopischen Untersuchung unter Kortikoidtherapie. Bei diesen Patienten zeigten sich als Therapieerfolg weitgehend normalisierte Parameter, die jedoch nicht mehr spezifisch für das

Krankheitsbild waren. Die drei Patienten wurden deshalb bei der statistischen Auswertung nicht berücksichtigt. Bei 11 Patienten des Gesamtkollektivs konnte eine Sarkoidose differentialdiagnostisch ausgeschlossen werden. Diese wurden in die Kontrollgruppe aufgenommen.

#### 3.2.2 Exogen-allergische Alveolitis

Neun Patienten mit exogen-allergischer Alveolitis wiesen entsprechende Kriterien, wie eine Allergenexposition, pulmonale oder systemische Symptome, serologischer Antikörpernachweis auf. Hierbei war neben diesen Parametern die zytologische Untersuchung der BALF entsprechend aussagekräftig. In der histologischen Untersuchung wurde in differentialdiagnostisch schwierigen Fällen eine andere Form von interstitieller Lungenerkrankung ausgeschlossen.

#### 3.2.3 Idiopathische Lungenfibrose

Bei 21 Patienten fand sich eine Lungenfibrose ohne jeglichen histologischen, serologischen und klinisch-anamnestischen Hinweis auf eine bekannte Ätiologie. Eine weitere Aufgliederung in histopathologische Untergruppen wurde dabei nicht vorgenommen. Neun der 21 Patienten standen zum Zeitpunkt der Bronchoskopie bereits unter einer immunsuppressiven Therapie, so konnten behandelte und nichtbehandelte Patienten gegenseitig verglichen werden. Zwei Patienten wurden im o.g. Zeitraum zur Verlaufskontrolle rebronchoskopiert, hier erfolgte ausschließlich die Wertung der Erstuntersuchung.

#### 3.2.4 Übrige interstitielle Lungenkrankheiten

In die Gruppe der übrigen interstitiellen Lungenkrankheiten wurden 10 Patienten aufgenommen. In diesen Fällen fand sich eine Fibrose des Lungengewebes, die jeweils einer Ätiologie zugeordnet werden konnte. Ursächlich waren Silikosen, Kollagenosen, strahlen- und medikamenten-induzierte Lungenfibrosen. Eine entsprechende Aufgliederung wurde aufgrund der geringen Fallzahl nicht vorgenommen.



#### 3.2.5 Pneumonien

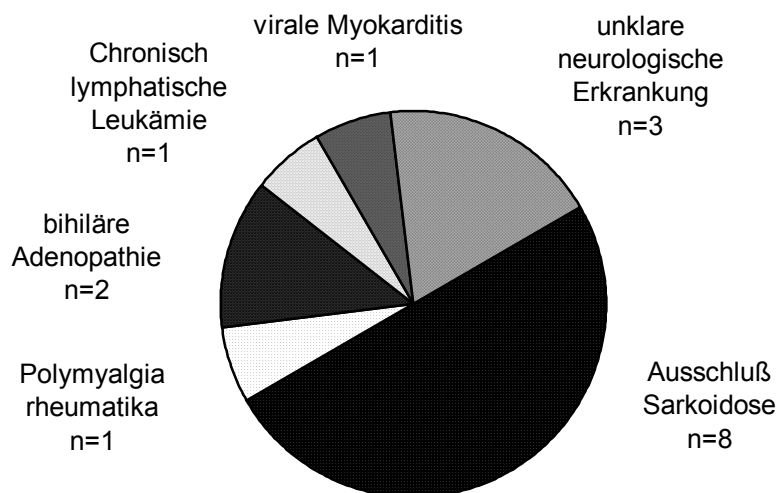
Die Gruppe der überwiegend bakteriellen und viralen Pneumonien umfaßte 7 Patienten mit entsprechenden klinischen, radiologischen, laborchemischen Befunden bzw. mikrobiologischem Erregernachweis.

#### 3.2.6 Kontrollgruppe

Eine Kontrollgruppe aus gesunden Probanden stand nicht zur Verfügung. Die in der Kontrollgruppe aufgeführten Patienten wurden aufgrund des Verdachts auf eine interstitielle Lungenerkrankung bronchoskopiert, der sich später nicht bestätigte bzw. kam es überraschend zu einer anderen Diagnose. Die Kontrollgruppe umfaßte 16 Patienten mit unterschiedlichen Krankheitsbildern und war entsprechend heterogen zusammengesetzt.

Gemäß Grafik 3.2.1 teilte sich die Kontrollgruppe wie folgt auf:

Ein Patient mit Polymyalgia rheumatica, insgesamt 11 Patienten mit Verdacht auf Sarkoidose der Lunge, davon acht mit Verdachtsausschluß, drei mit einer bilhilären Adenopathie, von diesen drei Patienten mußte bei einem Patienten die Diagnose einer Chronisch lymphatischen Leukämie (CLL) gestellt werden, ein Patient mit viraler Myokarditis und drei unklare neurologische Fälle mit Lungenbeteiligung.



Grafik 3.2.1 Kontrollgruppe

#### 3.3 Probengewinnung und -vorbereitung

##### 3.3.1 Bronchoalveoläre Lavage und Serumgewinnung

Als Prämedikation zur Bronchoskopie wurde den Patienten morgens 7,5 mg Hydrocodon s.c. verabreicht, zusätzlich bei Bedarf bis zu 2 x 10 mg Midazolam i.v. Direkt vor der Untersuchung folgte die Inhalation von 0,5 mg Salbutamol und 200 mg (1,5%) Lidocain in 10 ml isotonischer Kochsalzlösung. Lidocain-Pumpspray (1%) diente zur Anästhesie der Rachenschleimhaut. Mit Hilfe eines Woodbridge-Tubus 8,5 wurde das flexible Bronchoskop (Olympus BF 10) bei gleichzeitiger Inspektion des Trachealbaumes bis in ein Mittellappen(sub)-segment vorgeschoben. Über das in wedge-position platzierte Bronchoskop erfolgte die Lavage mit 37°C temperierter isotoner Kochsalzlösung. Das Spülvolumen betrug 80 bis 240 ml, das Aspiratvolumen 30 – 120 ml.

Schleimbeimengungen der Lavage wurden über Gaselagen abfiltriert und das so gewonnene Material sofort auf 4°C heruntergekühlt. Aus einem Teil des Aspirats folgte die Auswertung des Zellbildes und die Bestimmung der Zellzahl, der Vitalitätstest sowie eine Hämoglobinbestimmung. Der andere Teil wurde sofort weiterverarbeitet, d.h. bei 1350 U/min zentrifugiert, der Überstand abpipettiert und bei –70°C tiefgefroren.

Zur Untersuchung gehörte gleichzeitig eine Blutabnahme. Die gewonnene Blutprobe des Patienten wurde zweimal bei 1350 U/min zentrifugiert, das Serum abpipettiert und ebenfalls bei –70°C tiefgefroren.

##### 3.3.2 Dialysieren und Lyophilisieren der BAL

Um den Verdünnungseffekt der Lungenepithelflüssigkeit durch die Lavage zu kompensieren und eine vergleichbare Ausgangssituation zu schaffen, mußte die "Rohlavage" dialysiert und lyophilisiert werden. Das notwendige Procedere vor Anwendung eines Bioassays beschrieb Kelley [38] 1990 in einer Veröffentlichung über Cytokine der Lunge.

Zum Dialysieren wurden die aufgetauten Proben in Dialysier-Cellophan-Schläuche (Spectra/Por 1, Molecularporus Dialysis Membrane - Fa. Spectrum, Houston, Texas) gegeben. Mit einem Molekulargewicht cut-off von 6 - 8000 diffundierte die Lavageflüssigkeit gegen Aqua destillata über einen Zeitraum von 4 Stunden bei 4°C. Nach 2 Stunden wurde das Aqua destillata gewechselt. Anschließend folgte das Lyophilisieren der Proben. Dazu wurden 2 ml abpipettiert und in Tubes mit einer speziell perforierten Abdeckung gegeben. Der Lyophilisierungsprozeß erfolgte bei - 4°C über einen Zeitraum von zwei Tagen mit einem Gefriertrockner der Fa. Christ (alpha I-5). Im nächsten Arbeitsschritt wurde die Trockensubstanz wieder in Lösung gebracht. Dazu erfolgte die Zugabe von 0,2 ml 0,9% NaCl-Lösung. Dieses so gewonnene Material entsprach einem Zehntel des ursprünglichen Volumens, d.h. einer 10-fach konzentrierten bronchoalveolären Lavageflüssigkeit. Diese dialysierte und lyophilisierte Flüssigkeit bildete das Ausgangsmaterial für die Untersuchungen im Rahmen dieser Arbeit.

### 4 Arbeitsmethoden

#### 4.1 Löslicher IL-2 Rezeptor im Serum und in der BALF

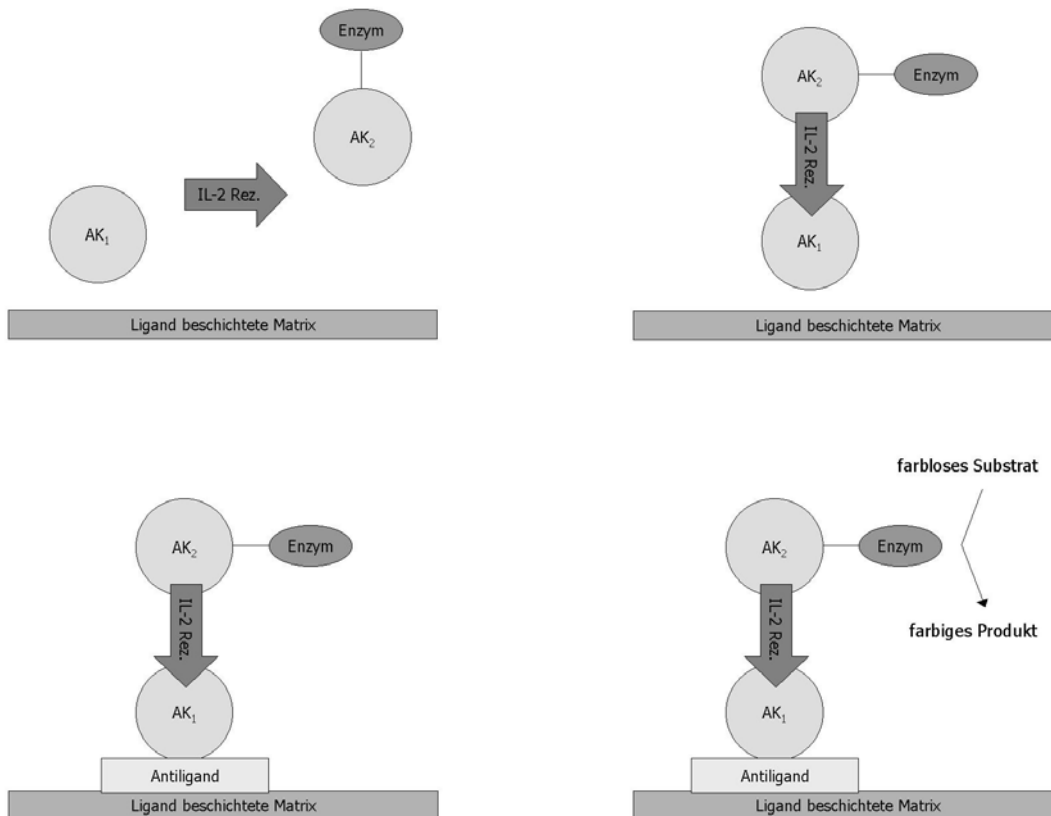
##### 4.1.1 Material

Der verwendete Kit Milenia<sup>®</sup> der Firma DPC<sup>®</sup> [20] war ein Enzymimmunoassay zur quantitativen Bestimmung von löslichen IL-2 Rezeptor im Serum, Plasma und Kulturüberständen. Der Meßbereich lag bei 240 – 7200 U/ml bei einer Empfindlichkeit von 16 U/ml. Alle verwendeten Substanzen waren Inhalt des Testkits.

##### 4.1.2 Methode

Bei dieser Testmethode handelte es sich um einen ELISA mit Flüssigphaseninkubation und anschließender Trennung der Festphase zur quantitativen Bestimmung des gebundenen IL-2 Rezeptors.

Das zu untersuchende Material wurde auf eine Ligand beschichtete Matrix gegeben zusammen mit im Überschuß befindlichen Ligand gekoppelten IL-2 Rezeptor Antikörpern und mit Meerrettichperoxidase markierten Antikörpern. In der folgenden Inkubationszeit bildete sich ein sogenannter Sandwich-Komplex aus, der aus beiden Antikörpern und dem eingeschlossenem IL-2 Rezeptor bestand. Der zugegebene multivalente Antiligand diente in einem weiteren Inkubationsschritt der Bindung des Sandwich-Komplexes an die Ligand beschichtete Matrix. Der ungebundene Rest wurde durch einen Waschvorgang entfernt. Die gebundene Meerrettichperoxidase katalysierte ein zugegebenes Substrat zu einem farbigen Endprodukt, welches nach Unterbrechung der Farbreaktion durch Zugabe einer Stopplösung photometrisch gemessen werden konnte. Die Farbintensität war direkt proportional zur IL-2 Rezeptor Konzentration des zu untersuchenden Materials. Diese wurde in U/ml angegeben.



**Grafik 4.1.1** Methode des IL-2 Rezeptor ELISA (Milenia<sup>®</sup> Kit der Firma DPC<sup>®</sup> [20]). Folgende Schritte fanden statt: Zugabe von  $AK_1$  (Ligand gekoppelter IL-2 Rezeptor Antikörper) und  $AK_2$  (Meerrettichperoxidase gekoppelter IL-2 Rezeptor Antikörper) zusammen mit Probenmaterial auf eine Ligand beschichtete Matrix, Bildung eines sogenannten Sandwich-Komplexes, Zugabe eines Antiliganden und Bindung des Sandwich-Komplexes an die Matrix, Waschvorgang zur Entfernung ungebundener Verbindungen und Zugabe eines Substrates, welches durch die katalytische Aktivität des Enzyms in eine intensiv gefärbte Verbindung umgesetzt wurde.

### 4.1.3 Durchführung

Die Vorbereitung der Proben erfolgte wie im Kapitel 3.3 beschrieben. Vor dem Test wurden die Proben schonend auf Raumtemperatur aufgetaut und anschließend vorsichtig mit dem Vortexer gemischt.

In die Vertiefungen der Mikrotiterplatte wurden 25  $\mu$ l des Standards, der Kontrollen und der Proben gegeben. Als nächstes erfolgte die Zugabe von

100 µl Ligand markierter IL-2 Rezeptor Antikörper und 100 µl Enzym markierter IL-2 Rezeptor Antikörper. Nun folgte der erste Inkubationsschritt. Die Milenia<sup>®</sup> - Mikrotiterplatte wurde mit einer Folie abgeklebt und auf dem Vortexer 60 min lang inkubiert. Dabei ist die vorsichtige Steigerung der Rotationsgeschwindigkeit des Vortexers von Stufe 0 langsam bis auf Stufe 2 beachtet worden. Nach der ersten Inkubation folgte die Zugabe von 25 µl des IL-2 Rezeptor-Anti-Liganden in jede Vertiefung. Der nun folgende zweite Inkubationsschritt verlief wie im oben beschriebenen Schema und dauerte 60 Minuten. Anschließend erfolgte der Waschvorgang. Der Reaktionsüberstand wurde durch Herausschütteln entfernt und die Mikrotiterplatte mittels einer fünffach Eppendorf Pipette jeweils dreimal mit Waschpuffer gespült. Im nächsten Arbeitsschritt wurden die noch feuchten Vertiefungen der Mikrotiterplatte mit 200 µl Substratlösung versehen. Das Substrat reagierte in einem erneuten Inkubationsschritt 30 min in einer abgedunkelten Umgebung. Nach den 30 Minuten wurde die Farbreaktion mittels der Stopplösung beendet.

### 4.1.4 Auswertung

Innerhalb von 15 min wurde die optischen Dichte bei einer Wellenlänge von 450 nm photometrisch gemessen. Verwendung fand das Photometer Dynatech MR 5000 der Firma Dynatech Laboratories [24] unter gleichzeitiger programmierter Errechnung der IL-2 Rezeptorkonzentration. Die untere Nachweisgrenze des IL-2 Rezeptors lag bei 240 U/ml.

## 4.2 IL-8 im Serum und in der BALF

### 4.2.1 Material

Der Human IL-8 Immunoassay-Kit Quantikine<sup>™</sup> der Firma R&D – Systems [64] basierte auf der quantitativen Sandwich ELISA Technik. Die Sensitivität des Kits wurde bei entsprechender Standardverdünnungsreihe mit unter 10 pg/ml angegeben. Alle verwendeten Substanzen waren Inhalt des Testkits.

### 4.2.2 Methode

Die Technik dieses Tests war analog des IL-2 Rezeptor ELISA's. Durch Bindung der zu bestimmenden IL-8 Moleküle an monoklonale Antikörper und Enzym markierte Antikörper bildete sich ein Sandwichkomplex aus. Alle ungebundenen Anteile wurden durch Spülen herausgewaschen. Das zugegebene Substrat bewirkte eine Farbreaktion, die proportional zum gebundenen IL-8 war. Die Farbreaktion wurde gestoppt und die optische Dichte der Lösung gemessen. Der IL-8 Gehalt des Untersuchungsmaterials wurde in pg/ml angegeben.

### 4.2.3 Durchführung

Erstellen der IL-8 Standard-Verdünnungsreihe:

Vor dem Herstellen der Verdünnungsreihe wurde der Originalstandard durch leichtes Schütteln gut vermischt. Der Standard hatte eine Konzentration von 2000 pg/ml. 500 µl der Assay-Verdünnungslösung wurden in die entsprechenden Reagenzgläser pipettiert. Der Originalstandard des Kits diente als höchste Konzentration der Standard-Verdünnungsreihe, die Verdünnungslösung als niedrigste. So entstand eine Standard-Verdünnungsreihe mit 2000, 1000, 500, 250, 125, 62,5, 31,2 und 0 pg/ml. Diese wurde für eine zusätzliche Qualitätskontrolle doppelt angelegt.

Die Herstellung des für den Test notwendigen Waschpuffer erfolgte mit 20 ml Assay-Pufferkonzentrat unter Verwendung von Aqua destillata zu einer Pufferlösung mit einer Gesamtmenge von 500 ml.

Zur Herstellung der Substratlösung wurde die Colorlösung A und B im Verhältnis 1:1 gemischt. Zu beachten war, diese erst 15 Minuten vor Gebrauch anzusetzen, also erst zum Ende der Inkubationszeit.

Als erstes erfolgte die Zugabe von 100 µl Assay-Verdünnungslösung in die Vertiefungen der Mikrotiterplatte, im anschließenden Arbeitsschritt 50 µl des

jeweiligen Standards und der Proben. Dabei wurde zur Qualitätssicherung jede Probe doppelt bestimmt. Die Zugabe von 100 µl des IL-8 Konjugates folgte im nächsten Schritt. Bei der ersten Inkubation mußte zwischen Serum- und Lavageproben unterschieden werden. Serumproben inkubierten 3 Stunden, die Proben der Lavage für 2 Stunden und 30 Minuten.

Anschließend wurde die Mikrotiterplatte gewaschen, der Reaktionsüberstand ließ sich durch Herausschütteln entfernen. Zum Spülen diente eine fünffach Eppendorf Pipette, mittels welcher die Mikrotiterplatte jeweils viermal mit 180 µl Pufferlösung gewaschen wurde. Im nächsten Schritt folgte die Zugabe von 200 µl Substratlösung mit einer anschließenden Inkubation von 30 Minuten bei Raumtemperatur. Die Farbreaktion wurde mit der Kit-Stopplösung blockiert, die Messung erfolgte innerhalb der nächsten 30 Minuten bei 450 nm. Dabei wurde eine vom Hersteller geforderte Wellenlängenkorrektur bei 540nm vorgenommen, um optische Beeinflussungen seitens der Mikrotiterplatte auszuschließen.

### 4.2.4 Auswertung

Die photometrische Messung mit programmierter automatischer Ausgabe der entsprechenden IL-8 Konzentrationen erfolgte mit dem Photometer Dynatech MR 5000 der Firma Dynatech Laboratories [24]. Die untere Nachweisgrenze des IL-8 lag bei 10 pg/ml.

## 4.3 Lysozymbestimmung im Serum und in der BALF

### 4.3.1 Material

Verwendet wurden Produkte der Firma Sigma [74].



Phosphatpuffer: 76 mmol/l, pH 6,3:

Es wurde ein vial Phosphatpufferextrakt (34 mmol/l, pH: 6,6 für 3,8 l; Produkt-Nr: P 8165) in etwas weniger als 1700 ml Aqua destillata gelöst, mit 1N HCl auf den pH-Wert 6,3 eingestellt und anschließend das Volumen auf 1700 ml mit Aqua destillata aufgefüllt. Zum Haltbarmachen diente 0,972 g  $\text{NaN}_3$  und die sterile Filtrierung der Pufferlösung.

Bakterienlösung:

Verwendung fanden 20 mg des *Micrococcus lysodeikticus* Lyophilisats (Produkt-Nr: M 3770), gemischt in 100 ml der Phosphatpufferlösung. Je nach Anzahl der zu messenden Proben wurde entsprechend mehr Bakterienlösung angesetzt (je Probe 3 ml). Die Suspension war beim Aufziehen immer gut gelöst, um eine gleichbleibende Bakterienkonzentration zu erreichen.

Standard:

Für die Standardverdünnungsreihe wurde 20 mg Lysozym (Sigma Produkt-Nr: L 7651 – Produkt Stand: 1996) in 100 ml isotoner Natriumchloridlösung gelöst. Die Konzentration der Lysozymlösung betrug somit 14.000 U/ml bei einer Substanzausgangskonzentration von 70.000 U/mg des Lyophilisats.

### 4.3.2 Methode

Grundlage dieses Tests war eine photometrische Trübungsmessung. Hierzu wurde der Lysozymgehalt der Proben indirekt durch den Abbau eines lysozymsensiblen Bakterienstammes gemessen. Je höher die Lysozymaktivität der Probe war, desto klarer wurde die Testlösung. Die Trübung war durch eine photometrische Messung und den o.g. Lysozymstandard objektivierbar. Der Lysozymgehalt der Proben wurde in U/ml angegeben.

4.3.3 Durchführung

Zur Qualitätskontrolle wurden je zwei Standardverdünnungsreihen SVR<sub>A</sub> und SVR<sub>B</sub> (je Standard 1 – 10) nach folgendem Schema angesetzt:

Standard Lfd. Nr.:	Konzentration des Standards [U/ml]	Volumen Lysozymlösung [ml]	Volumen isotone NaCl-Lösung [ml]
S 1	7.000	2.000	2.000
S 2	4.200	3.000	2.000
S 3	3.500	2.500	500
S 4	2.800	2.000	500
S 5	2.100	1.500	500
S 6	1.500	500	200
S 7	1.200	400	100
S 8	900	300	100
S 9	600	200	100
S 10	300	100	100
	150	100	100

Tabelle 4.3.1 Pipettierschema der Lysozym - Standardverdünnung

Der Versuchsablauf fand bei exakt 25°C statt, d.h. die Bakterienlösung wurde im Wasserbad auf 25°C temperiert und das Photometer auf 25 °C thermostatiert. Die Wellenlänge des Photometers betrug 546 nm, die Schichtdicke der Makroküvetten 1 cm. Pro Küvette wurden 3,0 ml Bakterien-suspension pipettiert.

Für die Lysereaktion wurden 50 µl Standard oder Probe zur Bakterien-suspension zugeben. Ab diesem Moment erfolgte die Zeitmessung. Anschließend wurden die Küvetten dicht abgedeckt und durch Schütteln gut gemischt. Nach den ersten 30 Sekunden erfolgte das Ablesen des ersten Extinktionswertes ( $A_1$ ), nach weiteren 120 Sekunden das Ablesen des zweiten Extinktionswertes ( $A_2$ ) am Photometer. Verwendung fand das Photometer Ultrospec 3000 der Firma Amersham Pharmacia Biotech Ltd [2].

### 4.3.4 Auswertung

Zur Erstellung der Standard-Eichkurve wurden im ersten Schritt die Extinktionsdifferenzen der Standards ( $\Delta A = A_1 - A_2$ ) ermittelt. Zur Qualitätssicherung wurden, wie oben beschrieben, zwei Standardverdünnungsreihen  $SVR_A$  und  $SVR_B$  angelegt. Die errechneten Mittelwerte der Extinktionsdifferenzen  $\Delta A$  von  $SVR_A$  und  $SVR_B$  dienten zur grafischen Darstellung der Standard-Eichkurve.

Aus den errechneten Extinktionsdifferenzen der Proben wurden die zugehörigen Lysozymaktivitäten aus der Standard-Eichkurve in U/ml ermittelt. Diese wurden analog der Standards doppelt bestimmt und die Mittelwerte der Differenzen genutzt. Die untere Nachweisgrenze des Lysozyms lag bei 150 U/ml.

Lag die Lysozymaktivität einer Probe über dem Wert des höchsten Standards, wurde die Probe mit isotoner Kochsalzlösung vierfach verdünnt und die Messung wiederholt.

## 4.4 Gesamteiweißbestimmung der BALF-Proben

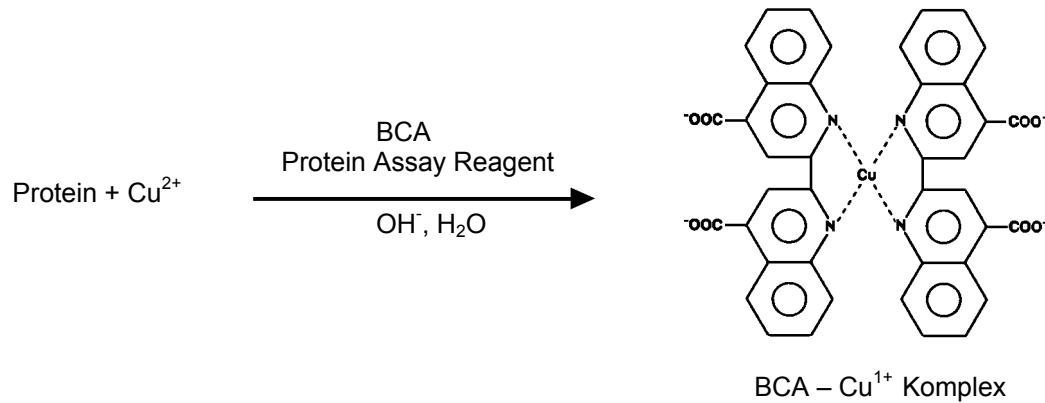
### 4.4.1 Material

Verwendung fand der BCA Protein Assay Kit der Firma Pierce [61]. Alle verwendeten Substanzen waren Inhalt des Testkits.

### 4.4.2 Methode

Das von Pierce patentierte BCA-Molekül (Bicinchoninic Acid) war ein sensitives, sehr stabiles und für  $\text{Cu}^{1+}$ -Ionen hoch spezifisches Reagenz. Seine Molekularstruktur mit vier integrierten Peptiden war für die Farbreaktion in Proteinproben unter Verwendung des Assays verantwortlich. Unter Ausnutzung der „Biuret Reaktion“ (Proteine reduzieren  $\text{Cu}^{2+}$  im alkalischen Medium zu  $\text{Cu}^{1+}$ ) bildete sich ein  $\text{BCA-Cu}^{1+}$  - Farbkomplex, der eine starke Absorption bei

562 nm zeigte. Diese Reaktion erlaubte eine spektrophotometrische Quantifizierung des Proteingehalts in wässrigen Lösungen. Die Maßeinheit für die Gesamteiweißkonzentration war g/l.



Grafik 4.4.1 Reaktionsschema des BCA - Protein Assay's nach Pierce [61]

#### 4.4.3 Durchführung

Um die Basislösung herzustellen, wurden 50 Einheiten der Kit-Lösung A mit einer Einheit der Kit-Lösung B gemischt. Im nächsten Schritt wurde eine Standardreihe mit der im Kit enthaltenen BSA-Standardlösung (bovine serum albumin) angelegt. Diese hatte eine Ausgangskonzentration von 2 g/l. Mit der Erfahrung aus Vorversuchen wurde eine Standardreihe nach folgendem Schema angelegt:

Standard Lfd. Nr.:	BSA-Lösung (2 g/l) [ml]	Aqua destillata [ml]	Konzentration des Standards [g/l]
S1	/	2,0	0
S2	0,1	1,9	0,1
S3	0,2	1,8	0,2
S4	0,4	1,6	0,4
S5	0,6	1,4	0,6
S6	0,8	1,2	0,8
S7	1,0	1,0	1,0

Tabelle 4.4.1: Pipettierschema Gesamteiweiß - Standardverdünnungsreihe

Im nächsten Arbeitsschritt wurden je 0,1 ml der Standards und der BAL-Proben in vorbereitete Reagenzgläser pipettiert. Anschließend folgte die Zugabe von 2,0 ml der vorbereiteten Basislösung. Die Reagenzgläser wurden verschlossen und gut geschüttelt und anschließend für 2 Stunden bei Raumtemperatur inkubiert. Nach der Inkubation erfolgte die photometrische Messung der Proben bei 562 nm gegen Aqua destillata. Verwendung fand das Photometer Ultrospec 3000 der Firma Amersham Pharmacia Biotech Ltd [2].

### 4.4.4 Auswertung

Zur grafischen Auswertung wurde eine Standard-Eichkurve unter Verwendung der Extinktionswerte der Standards erstellt. Die gemessenen Extinktionswerte der Proben dienten zur Ermittlung der jeweiligen Eiweißkonzentrationen in g/l. Die untere Nachweisgrenze für das Gesamteiweiß lag bei 10 µg Protein/ml.

## 4.5 Albuminbestimmung der BALF-Proben

### 4.5.1 Material

Verwendung fand der Mikroalbumin Assay der Firma Orion Diagnostika [56]. Alle verwendeten Substanzen waren Inhalt des Testkits.

### 4.5.2 Methode

Das Testprinzip basierte auf der Messung einer Immunpräzipitation in der "liquid-phase". Die Messung der Albumin-Immunpräzipitate erfolgte photometrisch. Die Ergebnisse korrelierten ausreichend mit den Werten der Immundiffusion, der Variationskoeffizient liegt unter 5%. Die Maßeinheit für die Albuminkonzentration war g/l.

### 4.5.3 Durchführung

Im ersten Arbeitsschritt wurde das Albumin-Antiserum 1:16 mit dem mitgelieferten Reaktionspuffer verdünnt und vorsichtig gemischt. Mittels der im Test enthaltenen Albuminreferenzen als Eichstandards folgte die Herstellung einer Standardreihe im Messbereich von 0,008 - 0,16 g/l.

Für die Erstellung des Leerwertes wurden 200 µl des jeweiligen Eichstandards mit 800 µl des Reaktionspuffers gemischt. Jeweils 200 µl der Proben und die mitgelieferte Albuminkontrollprobe wurden mit 800 µl der vorbereiteten Antiserumlösung gemischt. Nach einer Inkubationszeit von 30 Minuten erfolgte die Messung der Leerwertextinktion ( $A_0$ ) und die Extinktionen der Proben ( $A_n$ ) bei einer Wellenlänge von 405 nm und einer Temperatur von 25°C. Lag die Albuminkonzentration einer Probe über dem Wert des höchsten Standards, wurde die Probe mit isotoner Kochsalzlösung fünffach verdünnt und die Messung wiederholt.

### 4.5.4 Auswertung

Die Differenz  $\Delta A$  der Standards und der Proben wurde errechnet aus  $A_n - A_0$ . Die Ergebnisse der Standardextinktionen dienten zur grafischen Darstellung der Standard-Eichkurve. Anhand dieser Kurve wurden die Albuminkonzentrationen der Proben in g/l errechnet. Eine Qualitätskontrolle erfolgte mittels der im Test enthaltenen Kontrolllösung mit definierter Albuminkonzentration. Die untere Nachweisgrenze für Albumin lag bei 8 mg/l.

## 4.6 Angiotensin converting enzyme - Bestimmung im Serum

### 4.6.1 Material

Grundlage für die ACE Bestimmung im Serum stellte der ACE – kinetischer Test (KK-ACK) der Firma Bühlmann [12] dar. Alle verwendeten Substanzen waren Inhalt des Testkits.

### 4.6.2 Methode

ACE katalysiert die Umsetzung von Angiotensin I in Angiotensin II. Im Test spaltete es ein synthetisches Substrat in ein Aminosäurederivat und ein Dipeptid. Die Kinetik dieser Spaltungsreaktion lag diesem Test zugrunde. Die standardisierte Methode wurde von Hurst und Lovell-Smith [30] sowie von Neels [54] beschrieben. Sie wurde photometrisch bei 340 nm Wellenlänge gemessen. Die Maßeinheit für das gemessene ACE war U/l, der Normbereich wurde durch den Hersteller zwischen 18 – 55 U/l angegeben.

### 4.6.3 Durchführung

Die Serumproben und das Assay Substrat wurden auf Raumtemperatur gebracht. Es folgte die Vorbereitung von Reagenzgläsern für den Kalibrator, die definierten Kontrollseren und für die Serumproben. Der Kalibrator wurde zur Qualitätskontrolle doppelt bestimmt. Je 25 µl des Kalibrators, der Kontrollseren und der Serumproben wurden in die entsprechenden Reagenzgläser pipettiert.

Für die Messung erfolgte die Zugabe von 250 µl Assaysubstrat in das zu messende Reagens. Das Gemisch wurde anschließend gevortext und inkubierte im Wasserbad für 5 Minuten bei 37°C. Der Abgleich des Photometers erfolgte mit destilliertem Wasser. Gemessen wurde bei 37°C in einem Abstand von 10 Minuten.

### 4.6.4 Auswertung

Die Berechnung der Enzymaktivität der Proben erfolgte nach folgender Formel:

$$E_x = \frac{\Delta A_x}{\Delta A_c} \cdot E_c$$

$E_x$  = Enzymaktivität der Probe

$E_c$  = Enzymaktivität des Kalibrators

$\Delta A_x$  = Absorptionsdifferenz der Probe

$\Delta A_c$  = Mittelwert der Absorptionsdifferenzen des Kalibrators

Die optische Dichte des Kalibrators wurde, wie oben beschrieben, doppelt bestimmt und zur Berechnung des  $\Delta A_c$  das Mittel beider Messwerte eingesetzt. Die untere Nachweisgrenze für ACE lag bei 3 U/l.

### 4.7 Lungenfunktionsanalyse

Die Lungenfunktionsparameter wurden in den meisten Fällen einen Tag vor der bronchoskopischen Untersuchung durch eine Lungenfunktionsprüfung in Ruhe, eine Ergospirometrie und eine Blutgasanalyse aus Kapillarblut der Patienten bestimmt. Den Normalwerten lagen Literaturangaben von Amrein [3] und Cherniak [14] zugrunde.

### 4.8 Statistik

Zur Datenauswertung wurde das Statistikprogramm STASY der Firma PIC [60] unter Verwendung eines PC's benutzt. Für die vorliegenden Parameter wurden, soweit sinnvoll, Mittelwerte ( $\mu$ ) und Standardabweichungen ( $\sigma$ ) errechnet.

Um signifikante Unterschiede bezüglich der einzelnen Parameter zwischen zwei Diagnosegruppen zu verifizieren und dies von zufälligen Abweichungen zu unterscheiden, wurde der U-Test nach Mann und Whitney [10] verwendet. Dieser findet vor allem dann Anwendung, wenn die Bedingungen für den t-Test, also Normalverteilung und gleiche Varianz, nicht gegeben sind. Das Signifikanzniveau wurde wie folgt beschrieben:

$p= 0,05$  (\*),  $p= 0,01$  (\*\*) und  $p= 0,001$  (\*\*\*)

Um herauszufinden, ob sich die einzelnen Parameter innerhalb der Diagnosegruppen untereinander beeinflussten, wurde eine Korrelationsanalyse durchgeführt. Dies geschah mit dem Rangkorrelationskoeffizienten Rho ( $r_s$ ) nach Spearman [11], der sich ebenfalls verteilungsunabhängig errechnen ließ.



Für  $r_s < 0$  bestand eine negative, für  $r_s > 0$  eine positive Korrelation zwischen den zu untersuchenden Parametern. Das Signifikanzniveau des Rangkorrelationskoeffizienten Rho nach Spearman wurde wie folgt angegeben:  $p = 0,05$  (\*),  $p = 0,01$  (\*\*) und  $p = 0,001$  (\*\*\*).

### 4.9 Qualitätssicherung

Die in den oben aufgeführten Abschnitten schon erwähnten Maßnahmen zur Qualitätssicherung konzentrierten sich auf Doppelbestimmungen von Proben, Standards und Kontrollsubstanzen im Sinne von Stichproben. Diese Doppelbestimmungen fanden abhängig vom zur Verfügung stehenden Ausgangsmaterial in allen Versuchsreihen statt. Es fanden sich bei den entsprechenden Meßwerten keine signifikanten Unterschiede.

### 5 Ergebnisse

#### 5.1 Allgemeines

Im folgenden kann die Patientenzahl (n) für einzelne Parameter in den jeweiligen Diagnosegruppen, je nach Verfügbarkeit des Probenmaterials, unwesentlich differieren. Diese Schwankungen sind bei der statistischen Auswertung berücksichtigt worden.

Der ACE Wert wurde in Prozent der Norm (%dN) angegeben. Bei einem Teil der Patienten erfolgte die Bestimmung des ACE als Routineparameter mit einem Normwert von 12 – 28 U/l im Hauptlabor der Universität Würzburg, bei dem anderen Teil durch die o.g. Methode mit einem Normwert von 18 – 55 U/l. Um die Ergebnisse beider Methoden vergleichen zu können, wurde der Normwert prozentual angegeben, so daß der Normbereich zwischen 0-100% lag. Werte über 100% waren pathologisch erhöht, negative Werte, die nur in Einzelfällen vorkamen, lagen unterhalb des Normbereiches.

#### 5.2 Sarkoidose

Die statistische Auswertung der Sarkoidosepatienten erfolgte unter Berücksichtigung des röntgenologischen Stadiums der Erkrankung zum Zeitpunkt der bronchoskopischen Untersuchung (siehe Kapitel 3.2.1). Weiterhin befanden sich drei Patienten unter einer immunsuppressiven Therapie, diese Patienten wurden aus der Statistik ausgeschlossen. Es ergab sich eine Anzahl von 39 Patienten, wobei sich 23 im Stadium I und 16 im Stadium II und III befanden. Die in der Statistik berücksichtigten 39 Sarkoidosepatienten waren im Durchschnitt 41 Jahre (24 - 69 Jahre) alt.

Die Tabelle 5.2.1 zeigt Mittelwerte, Standardabweichungen der gemessenen Parameter sowie das Signifikanzniveau mittels U-Test nach Mann und Withney [10] im Vergleich zur Kontrollgruppe.

Das Signifikanzniveau wird wie folgt beschrieben:

p= 0,05 (\*), p= 0,01 (\*\*), p= 0,001 (\*\*\*)

Parameter	Patienten		Ergebnisse		
	Diagnose- gruppe	Anzahl n	Mittelwert $\mu$	Std.-abw. $\sigma$	Signifikanz p
IL-2R/S [U/ml]	Sarkoidose	38	983,0	630,5	0,283
	Kontrollgruppe	15	965,8	775,3	
IL-2R/L [U/ml]	Sarkoidose	39	58,6	90,6	0,389
	Kontrollgruppe	16	46,1	89,5	
IL-8/S [pg/ml]	Sarkoidose	35	7,1	17,7	0,333
	Kontrollgruppe	11	7,5	13,5	
IL-8/L [pg/ml]	Sarkoidose	38	159,3	218,0	0,030 *
	Kontrollgruppe	14	307,7	309,7	
LYS/S [U/ml]	Sarkoidose	38	1048,4	267,9	0,028 *
	Kontrollgruppe	15	958,7	422,9	
LYS/L [U/ml]	Sarkoidose	39	1174,4	961,9	0,034 *
	Kontrollgruppe	16	944,4	1005,6	

*Tabelle 5.2.1 unbehandelte Sarkoidose: deskriptive Statistik und Signifikanzen des U-Test [10] im Vergleich zur Kontrollgruppe, Parameter: siehe Tabelle 8.2.1*

Die Werte des IL-2 Rezeptors im Serum lagen durchschnittlich über dem oberen Grenzwert, der nach Herstellerangaben [20] mit 961 U/ml angegeben wurde, der Normmittelwert bei 523 U/ml. Vergleichbar hohe IL-2 Rezeptor Werte ohne signifikante Unterschiede fanden sich bei der Kontrollgruppe. In der bronchoalveolären Lavage konnte der IL-2 Rezeptor für beide verglichene Diagnosegruppen nachgewiesen werden. Eine quantitative Beurteilung ist nur begrenzt möglich, da Normwerte für bronchoalveolären Lavage nicht beschrieben sind.

Interleukin-8 in der Lavage ist im Absolutwert stark erhöht, zeigt aber eine negative Signifikanz zur Kontrollgruppe. Weiterhin sind die Lysozymwerte in der Lavage und im Serum deutlich erhöht und unterscheiden sich signifikant zu den gleichsam erhöhten Werten der Kontrollgruppe.

Die Tabelle 5.2.2 beschreibt Signifikanzen weiterer Parameter im Vergleich zur Kontrollgruppe.

## 5 Ergebnisse

Parameter	Patienten		Ergebnisse		
	Diagnose- gruppe	Anzahl n	Mittelwert $\mu$	Std.-abw. $\sigma$	Signifikanz p
ACE [%dN]	Sarkoidose	37	161,6	66,5	0,009 **
	Kontrollgruppe	9	106,5	37,6	
AM/L [%/L]	Sarkoidose	39	57,3	15,6	0,002 **
	Kontrollgruppe	16	71,3	14,7	
LY/L [%/L]	Sarkoidose	39	29,5	13,5	0,005 **
	Kontrollgruppe	16	19,2	12,6	
T-LY/L [%/L]	Sarkoidose	37	88,5	11,3	0,000 ***
	Kontrollgruppe	15	75,6	16,7	
T-Help/L [%/T-LY/L]	Sarkoidose	37	70,4	15,9	0,000 ***
	Kontrollgruppe	15	38,7	18,3	
T-Supp/L [%/T-LY/L]	Sarkoidose	37	19,7	9,4	0,000 ***
	Kontrollgruppe	15	41,5	19,8	
Quotient CD4/CD8	Sarkoidose	37	4,6	2,7	0,000 ***
	Kontrollgruppe	15	1,3	1,2	
TP/L [g/l]	Sarkoidose	39	0,490	0,475	0,031 *
	Kontrollgruppe	16	0,746	1,439	
ALB/L [g/l]	Sarkoidose	39	0,218	0,272	0,013 *
	Kontrollgruppe	16	0,239	0,427	

*Tabelle 5.2.2 unbehandelte Sarkoidose: deskriptive Statistik und Signifikanzen des U-Test's [10] im Vergleich zur Kontrollgruppe, Parameter: siehe Tabelle 8.2.1*

Die ermittelten Signifikanzen der Parameter sind krankheitsspezifisch für die Sarkoidose. Entsprechend auffällig ist ein signifikanter ACE Serumwert. Bei der zytologischen Untersuchung der bronchoalveolären Lavage ergaben sich hochsignifikante Ergebnisse bei der Verteilung der T-Helfer- und T-Suppressor Zellen und deren Quotient, ebenso bei der prozentualen Verteilung der Alveolar-Makrophagen, -lymphozyten und T-Lymphozyten. Signifikante Ergebnisse zeigten weiterhin die Lavagewerte des Gesamtproteingehaltes und des Albumins.

### 5.2.1 Sarkoidose ohne Therapie im Stadienvergleich

Der Stadienvergleich zeigte bezüglich der gemessenen Parameter keine signifikanten Unterschiede (siehe Tabelle 8.1.3 im Anhang). Tabelle 5.2.3 enthält signifikante Ergebnisse weiterer untersuchter Parameter.

Parameter	Patienten		Ergebnisse		
	Sarkoidose Stadium	Anzahl n	Mittelwert $\mu$	Std.-abw. $\sigma$	Signifikanz p
BKS [1h]	I	15	29,1	36,3	0,026 *
	II / III	11	10,8	9,9	
R-tot [kPa/l/sec]	I	21	0,182	0,100	0,043 *
	II / III	16	0,228	0,111	
T-Help/L [%/T-LY/L]	I	22	75,4	9,6	0,016 *
	II / III	15	63,1	20,4	
Quotient CD4/CD8	I	22	5,2	2,8	0,041 *
	II / III	15	3,7	2,4	

Tabelle 5.2.3 unbehandelte Sarkoidose im Stadienvergleich (Einteilung nach Wurm [16]), deskriptive Statistik und Signifikanzen U-Test [10], Parameter: siehe Tab. 8.2.1

Auffällig war eine im Stadium I signifikant erhöhte Blutsenkungsgeschwindigkeit, ein erhöhter totaler Atemwegswiderstand im Stadium II / III, ein signifikanter Abfall der T-Helferzellen in der Lavage sowie ein niedrigerer Quotient zwischen T-Helfer und Suppressorzellen im Stadium II / III zum Stadium I.

#### 5.2.2 Sarkoidose ohne Therapie - Einflußfaktor Rauchen

In der Sarkoidosegruppe befinden sich 29 Nichtraucher und 10 Raucher bzw. ehemalige Raucher. Eine Rauchergruppe ohne den Anteil der ehemaligen Raucher zu bilden, war aus statistischen Gründen nicht gegeben. Die Anzahl der aktiven Raucher betrug n = 2.

Der Gruppenvergleich zwischen Nichtrauchern und Rauchern / ehemaligen Rauchern zeigte bezüglich der gemessenen Parameter keine signifikanten Unterschiede (siehe Tabelle 8.1.4 im Anhang).

Tabelle 5.2.4 zeigt den Vergleich weiterer untersuchter Parameter zwischen Nichtrauchern und Rauchern / ehemaligen Rauchern der nicht therapierten Sarkoidosepatienten.

## 5 Ergebnisse

Parameter	Patienten		Ergebnisse		
	Sarkoidose- gruppe	Anzahl n	Mittelwert $\mu$	Std.-abw. $\sigma$	Signifikanz p
Alter [Jahren]	NR	29	43,0	10,2	0,021 *
	R / ExR	10	35,4	6,9	
LDH [U/l]	NR	29	182,2	56,0	0,038 *
	R / ExR	10	164,4	26,5	
BKS [1h]	NR	20	25,4	32,4	0,034 *
	R / ExR	6	8,0	6,9	
AM/L [%/L]	NR	29	54,5	14,4	0,033 *
	R / ExR	10	65,6	16,7	
PMN/L [%/L]	NR	29	13,0	11,1	0,035 *
	R / ExR	10	8,2	6,4	
TP/L [g/l]	NR	29	0,541	0,530	0,049 *
	R / ExR	10	0,342	0,217	
ALB/L [g/l]	NR	29	0,246	0,306	0,015 *
	R / ExR	10	0,137	0,111	

*Tabelle 5.2.4 unbehandelte Sarkoidose bei Nichtrauchern und Rauchern/Exrauchern, deskriptive Statistik und Signifikanzen U-Test [10], Parameter: siehe Tab. 8.2.1*

Auffällig waren die in der Nichtrauchergruppe signifikant erhöhten Proteinwerte in der Lavage. Bei der zytologischen Untersuchung fanden sich im Vergleich eine höhere Anzahl von Alveolarmakrophagen in der Gruppe der Raucher und höhere Werte für neutrophile Granulozyten in der Gruppe der Nichtraucher. Die LDH zeigte bei den Nichtrauchern signifikant höhere Werte, als bei den Rauchern. Im Durchschnitt erkrankten Raucher und ehemalige Raucher signifikant jünger an Sarkoidose als Nichtraucher.

### 5.3 Exogen-allergische Alveolitis

Zur Patientengruppe der Exogen-allergischen Alveolitis (EAA) gehörten neun Personen, drei von ihnen wurden zum Zeitpunkt der bronchoskopischen Untersuchung immunsuppressiv behandelt. Bei diesen Patienten fand sich v.a. ein Rückgang des prozentualen Anteils der Lymphozyten in der Lavage als Ausdruck der antiinflammatorischen Wirkung. Die Patienten waren im Durchschnitt 51 Jahre alt (24 - 70 Jahre). Eine zusätzliche Aufteilung der Gruppe in Raucher und Nichtraucher erwies sich als statistisch ungünstig, da die

Fallzahlen in einer entsprechenden Gruppierung nicht repräsentativ waren (Raucher n=5, Nichtraucher n=4).

Die Tabelle 5.3.1 zeigt Mittelwerte, Standardabweichungen der untersuchten Parameter und Signifikanzen mittels U-Test [10] im Vergleich zur Kontrollgruppe.

Parameter	Patienten		Ergebnisse		
	Diagnose- gruppe	Anzahl n	Mittelwert $\mu$	Std.-abw. $\sigma$	Signifikanz p
IL-2R/S [U/ml]	EAA	9	408,7	175,5	0,039 *
	Kontrollgruppe	15	965,8	775,3	
IL-2R/L [U/ml]	EAA	9	99,3	130,7	0,454
	Kontrollgruppe	16	46,1	89,5	
IL-8/S [pg/ml]	EAA	7	32,8	35,6	0,033 *
	Kontrollgruppe	11	7,5	13,5	
IL-8/L [pg/ml]	EAA	9	992,4	792,7	0,002 **
	Kontrollgruppe	14	307,7	309,7	
LYS/S [U/ml]	EAA	9	796,7	310,3	0,050 *
	Kontrollgruppe	15	958,7	422,9	
LYS/L [U/ml]	EAA	9	1592,2	1170,8	0,031 *
	Kontrollgruppe	16	944,4	1005,6	

Tabelle 5.3.1 Exogen-allergische Alveolitis, deskriptive Statistik und Signifikanzen U-Test [10], Parameter: siehe Tabelle 8.2.1

Besonders hervorzuheben waren hohe IL-8 Werte in der bronchoalveolären Lavage. Diese unterschieden sich hoch signifikant zu den ebenso erhöhten Werten der Kontrollgruppe. Die IL-8 Serumwerte waren im Durchschnitt grenzwertig erhöht und in allen gemessenen Fällen nachweisbar. Es bestand ein signifikanter Unterschied zur Kontrollgruppe. Nach den Angaben des Herstellers [64] waren 31,2 pg/ml des IL-8 der niedrigste Standard, gesunde Probanden der Kontrollgruppe des Herstellers lagen darunter bzw. waren nicht nachweisbar.

Die IL-2 Rezeptor-Werte waren im Normbereich. Der obere Grenzwert des Tests lag nach Herstellerangaben [20] bei 961 U/ml. Die Lysozymwerte der Lavage waren deutlich erhöht und unterschieden sich signifikant zur Kontrollgruppe. Bei Nichtbeachtung der Gruppe der erregerbedingten

Pneumonien fanden sich die höchsten Lysozymwerte der Lavage in der Diagnosegruppe der Exogen-allergischen Alveolitis.

Die Tabelle 5.3.2 beschreibt Signifikanzen weiterer Parameter der Diagnosegruppe der Exogen-allergischen Alveolitis im Vergleich zur Kontrollgruppe.

Parameter	Patienten		Ergebnisse		
	Diagnosegruppe	Anzahl n	Mittelwert $\mu$	Std.-abw. $\sigma$	Signifikanz p
VC [%]	EAA	9	66,3	16,8	0,024 *
	Kontrollgruppe	13	86,5	24,8	
TLC [%]	EAA	7	71,0	21,1	0,017 *
	Kontrollgruppe	12	96,9	23,3	
GeZz [Zellen]	EAA	9	451.361	210.650	0,029 *
	Kontrollgruppe	16	318.125	289.427	
AM/L [%/L]	EAA	9	37,7	20,8	0,000 ***
	Kontrollgruppe	16	71,3	14,7	
PNM/L [%/L]	EAA	9	35,11	19,92	0,000 ***
	Kontrollgruppe	16	11,10	5,70	
EOS/L [%/L]	EAA	9	4,8	7,5	0,001 ***
	Kontrollgruppe	16	0,5	0,6	

Tabelle 5.3.2 Exogen-allergische Alveolitis, deskriptive Statistik und Signifikanzen U-Test [10], Parameter: siehe Tabelle 8.2.1

Die totale Lungkapazität (TLC) und die Vitalkapazität (VC) waren als Indikatoren einer pulmonalen Restriktion signifikant zur Kontrollgruppe erniedrigt. Das Zellbild der bronchoalveolären Lavage zeigte bei einer erhöhten Gesamtzellzahl (GeZz) eine mit 22,3% im Durchschnitt weniger erhöhte Lymphozytenfraktion als erwartet. Die Zellvermehrung verteilte sich v.a. auf neutrophile und eosinophile Granulozyten, die sich hoch signifikant zur Kontrollgruppe unterschieden. Die Alveolarmakrophagen waren zur Kontrollgruppe prozentual deutlich vermindert.

Die Tabelle 8.1.5 im Anhang beschreibt Korrelationen der untersuchten Parameter innerhalb der Diagnosegruppe der Exogen-allergische Alveolitis. Besonders zu beachten waren die Werte des IL-8 in der bronchoalveolären



Lavage. Hier korrelierte unerwartet ein erhöhtes IL-8 mit einer besseren Lungenfunktion (VC, FEV1, TLC). Negative Korrelationen fanden sich zu den eosinophilen Granulozyten und zur T-Zell-Fraktion der Lavage, dabei stiegen die B-Lymphozyten stark signifikant mit den IL-8 Werten der Lavage an. Das Lysozym der Lavage zeigte stark signifikante negative Korrelationen zu den EOS% und zu den T-Helfer-Zellen, dementsprechend auch zum CD4/CD8 Quotienten.

Interessant waren die Werte des Albuminquotienten (Alb/L – Alb/S), welche die Schrankenstörung der Alveolaroberfläche widerspiegeln (Tabelle 8.1.6 im Anhang). Hier zeigte sich überraschend eine negative Korrelation zum IL-8 in der Lavage und ebenso zu den Lungenfunktionswerten (VC, FEV1). Bei einer stärkeren Schrankenstörung fanden sich v. a. ein erhöhter Lymphozytenanteil ( $p=0,002$ ) und speziell eine prozentuale Erhöhung der T-Lymphozytenfraktion ( $p=0,001$ ).

### 5.4 Idiopathische Lungenfibrose

Die Diagnosegruppe der Idiopathischen Lungenfibrose (IPF) umfaßte insgesamt 21 Fälle. Neun Patienten standen zum Zeitpunkt der bronchoalveolären Lavage unter einer immunsuppressiven Therapie.

Nichtraucher und Raucher / ehemalige Raucher verteilten sich 11:10. Es befanden sich trotz der schwerwiegenden Erkrankung zwei aktive Raucher in dieser Diagnosegruppe. Das durchschnittliche Alter lag bei 65 Jahren (37 – 85 Jahre).

Die Tabelle 5.4.1 zeigt die Mittelwerte, Standardabweichungen der gemessenen Parameter und Signifikanzen mittels U-Test [10] im Vergleich zur Kontrollgruppe.

## 5 Ergebnisse

Parameter	Patienten		Ergebnisse		
	Diagnose- gruppe	Anzahl n	Mittelwert $\mu$	Std.-abw. $\sigma$	Signifikanz p
IL-2R/S [U/ml]	IPF	21	604,7	325,9	0,180
	Kontrollgruppe	15	965,8	775,3	
IL-2R/L [U/ml]	IPF	21	108,9	136,6	0,271
	Kontrollgruppe	16	46,1	89,5	
IL-8/S [pg/ml]	IPF	18	12,9	12,3	0,119
	Kontrollgruppe	11	7,5	13,5	
IL-8/L [pg/ml]	IPF	20	373,9	378,1	0,221
	Kontrollgruppe	14	307,7	309,7	
LYS/S [U/ml]	IPF	21	797,6	170,5	0,134
	Kontrollgruppe	15	958,7	422,9	
LYS/L [U/ml]	IPF	21	1083,3	1162,0	0,187
	Kontrollgruppe	16	944,4	1005,6	

*Tabelle 5.4.1 Idiopathische Lungenfibrose, deskriptive Statistik und Signifikanzen U-Test [10], Parameter: siehe Tabelle 8.2.1*

Die ermittelten Werte der im Labor gemessenen Parameter wiesen keine signifikanten Zusammenhänge zwischen der Diagnosegruppe der IPF und der Kontrollgruppe auf. Deutlich erhöhte Werte fanden sich beim IL-8 in der bronchoalveolären Lavage. Hohe Werte zeigten sich ebenso beim Lysozym in der Lavage.

Die Tabelle 5.4.2 beschreibt Signifikanzen weiterer Parameter der Diagnosegruppe der Idiopathische Lungenfibrose im Vergleich zur Kontrollgruppe.

## 5 Ergebnisse

Parameter	Patienten		Ergebnisse		
	Diagnose- gruppe	Anzahl n	Mittelwert $\mu$	Std.-abw. $\sigma$	Signifikanz p
Alter [Jahren]	IPF	21	64,6	10,7	0,007 **
	Kontrollgruppe	16	47,4	16,0	
VC [%]	IPF	21	63,2	18,8	0,031 *
	Kontrollgruppe	13	86,5	28,4	
FEV1 [%]	IPF	20	65,8	20,5	0,000 ***
	Kontrollgruppe	12	80,4	23,7	
TLC [%]	IPF	18	64,7	15,1	0,000 ***
	Kontrollgruppe	12	96,9	23,3	
pO <sub>2</sub> [mmHg]	IPF	18	69,5	11,4	0,025 *
	Kontrollgruppe	12	77,9	16,0	
AM/L [%/L]	IPF	21	50,0	18,3	0,001 ***
	Kontrollgruppe	16	71,3	14,7	
PNM/L [%/L]	IPF	21	23,2	15,7	0,007 **
	Kontrollgruppe	16	11,1	5,7	
EOS/L [%/L]	IPF	21	2,95	2,84	0,001 ***
	Kontrollgruppe	16	0,50	0,63	

*Tabelle 5.4.2 Idiopathische Lungenfibrose, deskriptive Statistik und Signifikanzen U-Test [10], Parameter: siehe Tabelle 8.2.1*

Signifikante, krankheitsspezifische Werte beschrieb die Lungenfunktion der 21 Patienten. So fand sich eine deutliche Restriktion (TLC=64,7%, VC=63,2%). Der CO-Diffusionswert (DCO=81,4%) und der Sauerstoffpartialdruck (pO<sub>2</sub>=69,5 mmHg) waren noch als relativ gut zu beurteilen. Positive Werte zeigte der ACE-Serumspiegel (ACE=112 %dN). Die zytologische Untersuchung der bronchoalveolären Lavage zeigte deutlich erhöhte Fraktionen der neutrophilen und eosinophilen Granulozyten zum Nachteil der Alveolarmakrophagen. Der Anteil der Lymphozyten betrug 23,7%.

Der Albuminquotient als Maßstab für die epitheliale Schrankenstörung konnte bei 19 Patienten bestimmt werden. Der Durchschnittswert lag bei 2,2 bei einer Standardabweichung von 2,1. Gruppenintern korrelierten sehr signifikant der IL-2R/S mit den T-Helferzellen der Lavage. Weiterhin fanden sich stark sowie hoch signifikante negative Korrelationen zwischen IL-2R/L und den Alveolarmakrophagen der Lavage und dem Lysozym im Serum. Weitere Signifikanzen zeigten das IL8/L zu den PNM und dem Gesamteiweiß der Lavage. Die Übersicht zeigt Tabelle 8.1.7 im Anhang.

### 5.4.1 Idiopathische Lungenfibrose mit und ohne Therapie

Wie in der Tabelle 8.1.8 im Anhang dargestellt, fanden sich Signifikanzen bei der Zellverteilung in der bronchoalveolären Lavage. So war die Fraktion der T-Lymphozyten und dabei die T-Helferzellen bei den therapierten Fällen signifikant erhöht, während die eosinophilen Granulozyten signifikant abnahmen. Die Leukozyten im Blut waren stark signifikant erhöht, befinden sich jedoch noch im Referenzbereich. Auffällig und signifikant erhöht waren die Werte des Gesamteiweißes, des Albumins, des löslichen IL-2 Rezeptors und des IL-8 in der bronchoalveolären Lavage bei den in Therapie befindlichen Patienten. Ein deutlich erniedrigter FEV1-Wert der Lungenfunktionsprüfung wurde bei den immunsupprimierten Patienten gemessen, ebenso eine erhöhte LDH.

### 5.4.2 Idiopathische Lungenfibrose - Einflußfaktor Rauchen

Die Tabelle 8.1.9 im Anhang zeigt Parameter mit signifikanten Unterschieden mittels U-Test [10] im Vergleich der Nichtraucher und Raucher / ehemalige Raucher. Signifikanzen ergaben sich bei der Verteilung der polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten und der Mastzellen, welche bei den Nichtrauchern erhöht waren. Eosinophile Granulozyten dagegen waren signifikant weniger vorhanden. Ebenso waren die neutrophilen Granulozyten im Blut bei Nichtrauchern erhöht. Interessant ist das Verhalten des IL-8 in der bronchoalveolären Lavage, welches bei Nichtrauchern stark signifikant erhöht war ( $p=0,01$ ).

Eine immunsuppressive Therapie beim Vergleich der Nichtraucher mit den in der Mehrzahl ehemaligen Rauchern war aus statistischen Gründen nicht möglich. Immunsuppressiv behandelt wurden sechs von 11 Nichtrauchern und drei von 10 Rauchern bzw. ehemaligen Rauchern.

5.5 Übrige interstitielle Lungenkrankheiten

Die Gruppe der Übrigen interstitiellen Lungenkrankheiten (Übr.-ILK) mit bekannter Ätiologie umfaßte 10 Patienten. Zwei von ihnen wurden zum Zeitpunkt der bronchoalveolären Lavage bereits immunsuppressiv therapiert. Das durchschnittliche Alter der Patienten betrug 54 Jahre (23 bis 74 Jahre).

Die Tabelle 5.5.1 zeigt die Mittelwerte und Standardabweichungen der gemessenen Parameter bzw. Signifikanzen mittels U-Test [10] im Vergleich zur Kontrollgruppe.

Parameter	Patienten		Ergebnisse		
	Diagnose- gruppe	Anzahl n	Mittelwert $\mu$	Std.-abw. $\sigma$	Signifikanz p
IL-2R/S [U/ml]	Übr.-ILK	7	586,8	262,4	0,275
	Kontrollgruppe	15	965,8	775,3	
IL-2R/L [U/ml]	Übr.-ILK	10	112,0	219,4	0,214
	Kontrollgruppe	16	46,1	89,5	
IL-8/S [pg/ml]	Übr.-ILK	7	6,6	11,6	0,477
	Kontrollgruppe	11	7,5	13,5	
IL-8/L [pg/ml]	Übr.-ILK	10	271,3	267,9	0,477
	Kontrollgruppe	14	307,7	309,7	
LYS/S [U/ml]	Übr.-ILK	7	835,7	142,5	0,375
	Kontrollgruppe	15	958,7	422,9	
LYS/L [U/ml]	Übr.-ILK	10	1284,0	1048,1	0,073
	Kontrollgruppe	16	944,4	1005,6	

Tabelle 5.5.1 Übrige interstitielle Lungenkrankheiten, deskriptive Statistik und Signifikanzen U-Test [10], Parameter: siehe Tabelle 8.2.1

Der Wert des löslichen IL-2 Rezeptors im Serum befand sich im Normbereich. In der bronchoalveolären Lavage konnte er nachgewiesen werden, im Gruppenvergleich fanden sich hier die höchsten Werte bei einer sehr großen Standardabweichung. Auch der Medianwert mit 24,6 U/ml war führend im Gruppenvergleich (Grafik 8.3.2 im Anhang). Die IL-8 Konzentration im Serum war durchaus zu vernachlässigen, jedoch zeigten die Lavagewerte des Interleukin-8, wie auch der lösliche IL-2 Rezeptor, deutlich höhere Konzentrationen als Zeichen des pulmonalen Krankheitsprozesses. Signifikante

Unterschiede der o.g. Werte im Vergleich zur Kontrollgruppe fanden sich jedoch nicht.

Tabelle 5.5.2 zeigt signifikante Unterschiede weiterer Parameter der Diagnosegruppe der Übrigen interstitiellen Lungenkrankheiten mittels U-Test [10] im Vergleich zur Kontrollgruppe.

Parameter	Patienten		Ergebnisse		
	Diagnose- gruppe	Anzahl n	Mittelwert $\mu$	Std.-abw. $\sigma$	Signifikanz p
TLC [%]	Übr. ILK	8	78,1	11,0	0,015 *
	Kontrollgruppe	12	96,9	23,3	
pO <sub>2</sub> [mmHg]	Übr. ILK	7	70,7	8,7	0,047 *
	Kontrollgruppe	14	77,9	16,0	
PNM/L [%/L]	Übr. ILK	10	19,7	16,3	0,046 *
	Kontrollgruppe	16	11,1	5,7	

Tabelle 5.5.2 *Übrige interstitielle Lungenkrankheiten, deskriptive Statistik und Signifikanzen U-Test [10], Parameter: siehe Tabelle 8.2.1*

Als Ausdruck einer beginnenden Restriktion war die totale Lungenkapazität (TLC) der Fibroseerkrankten signifikant niedriger als in der Kontrollgruppe. Ebenso zeigte der Sauerstoffpartialdruck deutlich niedrigere Werte. Weitere Korrelationen beschreibt die Tabelle 8.1.10 im Anhang. Einen signifikant erhöhten Anteil der polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten in der Lavage mit einer stark signifikanten Korrelation zur IL-8 Lavagekonzentration (p=0,007) zeigte sich in dieser Diagnosegruppe.

Der Grad der Schrankenstörung, dargestellt durch den Albuminquotienten, war im Durchschnitt 1,7 und im Medianwert 0,9. Die Schrankenstörung ist somit im Diagnosegruppenvergleich als niedrig einzustufen (Grafik 8.3.7 im Anhang).

5.6 Pneumonien

Die klassischen erregerbedingten Pneumonien wurden in einer Gruppe mit sieben Patienten zusammengefaßt. Das Alter lag bei durchschnittlich 66 (55 bis 76 Jahre). Die geringe Fallzahl läßt nur begrenzte statistische Aussagen zu.

Die Tabelle 5.6.1 zeigt Mittelwerte und Standardabweichungen der gemessenen Parameter und Signifikanzen mittels U-Test [10] im Vergleich zur Kontrollgruppe.

Parameter	Patienten		Ergebnisse		
	Diagnose- gruppe	Anzahl n	Mittelwert $\mu$	Std.-abw. $\sigma$	Signifikanz p
IL-2R/S [U/ml]	Pneumonien	5	2786,8	4949,6	0,448
	Kontrollgruppe	15	965,8	775,3	
IL-2R/L [U/ml]	Pneumonien	7	68,7	101,6	0,229
	Kontrollgruppe	16	46,1	89,5	
IL-8/S [pg/ml]	Pneumonien	5	8,3	11,4	0,391
	Kontrollgruppe	11	7,5	13,5	
IL-8/L [pg/ml]	Pneumonien	7	1910,6	3243,0	0,050 *
	Kontrollgruppe	14	307,7	309,7	
LYS/S [U/ml]	Pneumonien	5	1194,0	625,7	0,256
	Kontrollgruppe	15	958,7	422,9	
LYS/L [U/ml]	Pneumonien	7	2058,6	1079,5	0,006 **
	Kontrollgruppe	16	944,4	1005,6	

Tabelle 5.6.1 Pneumonien, deskriptive Statistik und Signifikanzen U-Test [10], Parameter: siehe Tabelle 8.2.1

Die ermittelten Werte spiegeln die hohe Entzündungsaktivität dieser Erkrankungen wieder. Hervorzuheben waren die signifikant erhöhten Lavagewerte des IL-8 (Grafik 8.3.4 im Anhang) und des Lysozyms (Grafik 8.3.6 im Anhang), die im Gruppenvergleich die höchsten waren, wie auch der hohe lösliche IL-2 Rezeptor Wert im Serum (Grafik 8.3.1 im Anhang).

Tabelle 5.6.2 zeigt signifikante Unterschiede weiterer Parameter der Diagnosegruppe der Pneumonien mittels U-Test [10] im Vergleich zur Kontrollgruppe.

## 5 Ergebnisse

Parameter	Patienten		Ergebnisse		
	Diagnose- gruppe	Anzahl n	Mittelwert $\mu$	Std.-abw. $\sigma$	Signifikanz p
AM/L [%/L]	Pneumonien	7	39,1	30,1	0,010 **
	Kontrollgruppe	16	71,3	14,7	
PNM/L [%/L]	Pneumonien	7	44,6	31,9	0,006 **
	Kontrollgruppe	16	11,1	5,7	
EOS/L [%/L]	Pneumonien	6	3,67	5,05	0,024 *
	Kontrollgruppe	16	0,50	0,63	

*Tabelle 5.6.2 Pneumonien, deskriptive Statistik und Signifikanzen U-Test [10], Parameter: siehe Tabelle 8.2.1*

Hervorzuheben war die typische akut entzündliche Umverteilung der Zellen in der bronchoalveolären Lavage zugunsten der polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten, die hierbei hochsignifikant zum IL-8 in der Lavage korrelierten ( $p=0.002$ ). Weitere Signifikanzen sind in der Tabelle 8.1.11 im Anhang dargestellt.



## 6 Diskussion

### 6.1 Diagnosegruppe Sarkoidose

#### 6.1.1 Allgemeines

Bei dem Krankheitsbild der Sarkoidose handelt es sich um eine primär generalisierte Systemerkrankung des mesenchymalen Gewebes, welche sich zu 70% an der Lunge manifestiert. Die Ätiologie ist unbekannt. Die Pathogenese ist immunologisch - entzündlicher Natur [28,63,70]. Aufgrund eines unbekanntes Stimulus werden Alveolarmakrophagen und Lymphozyten aktiviert, es kommt zur Kumulation von immunkompetenten Zellen. Die für das Krankheitsbild spezifischen Granulome bestehen aus Epitheloidzellen, Riesenzellen, Makrophagen und vor allem aktivierten T-Lymphozyten, die zur Freisetzung verschiedener Mediatoren angeregt werden [87]. Eine zentrale Rolle spielt dabei das Interleukin 2. Es besteht eine erhöhte ACE-Serumaktivität durch vermehrte Produktion von ACE durch Makrophagen und Epitheloidzellen [15,28,44]. Zur Diagnosesicherung galt es, die bekannten pathogenetischen Fakten der Sarkoidoseerkrankung zu bestätigen.

#### 6.1.2 Diskussion der Ergebnisse

In dieser Arbeit wurden 39 unbehandelte Sarkoidosepatienten untersucht. 16 von 38 Patienten (42%), bei denen der lösliche IL-2 Rezeptor im Serum gemessen werden konnte, zeigten über den oberen Normwert liegende Serumwerte. 30 von 38 Patienten (79%) lagen über dem Norm-Mittelwert. Bei der Betrachtung der Medianwerte fanden sich bei den Sarkoidosepatienten die höchsten Gruppenwerte (siehe Grafik 8.3.1. im Anhang).

Auch in der bronchoalveolären Lavage konnte bei 27 von 39 Patienten (69%) der lösliche IL-2 Rezeptor nachgewiesen werden. Eine Korrelation zwischen den IL-2 Rezeptorwerten im Serum und in der Lavage fand sich nicht.

Bereits Lawrence [41] berichtete 1988 über erhöhte Interleukin-2 Rezeptor Werte bei einer Gruppe von 15 Patienten mit aktiver, nicht behandelter Sarkoidose. Es fanden sich bei 2/3 der Sarkoidosepatienten signifikant erhöhte Serum- und Lavagewerte. Es folgten weitere Studien, die diesen Sachverhalt bestätigten [31,37,75,79].

In der bronchoalveolären Lavage zeigte sich die erwartete Lymphozytose, die sich stark signifikant zur Kontrollgruppe unterschied ( $p=0,005$ ). Insbesondere war die Zellzahl der T-Lymphozyten und der T-Helfer hoch signifikant erhöht, die T-Suppressorzellen hoch signifikant erniedrigt ( $p=0,000$ ). So resultierte ein Quotientenverhältnis der CD4/CD8 Zellen von durchschnittlich 4,33, welches sich ebenso hoch signifikant gegenüber der Kontrollgruppe mit 1,3 unterschied ( $p=0,000$ ). Diese Werte bestätigten die lymphozytäre Entzündung der Sarkoidose.

Die Sarkoidosegruppe zeigte in 30 von 39 nicht therapierten Fällen (77%) einen über die Norm erhöhten ACE-Serumwert, mit einem stark signifikanten Unterschied zur Kontrollgruppe ( $p=0,009$ ). Erstmals beschreibt Lieberman [42] 1975 erhöhte ACE-Serumwerte bei Sarkoidosepatienten. Verschiedene Studien belegten die ACE-Serumspiegelerhöhungen zwischen 60% und 80% [29,62]. Es hat sich gezeigt, daß Polymorphismen einerseits des ACE Gens [67] und andererseits des Angiotensin II Typ 1 Rezeptors [77] existieren, welche für unterschiedliche ACE-Serumspiegel in der Normalbevölkerung sowie auch bei Sarkoidosepatienten verantwortlich sind. So erklären sich u. a. ACE-Normwerte bei aktiver Sarkoidose. Es besteht die Möglichkeit, daß weitere genetische Variationen im ACE-Genkomplex existieren [44]. Die ACE Serumkonzentration ist deshalb aussagekräftiger, wenn Nachweise von Polymorphismen des ACE-Genkomplexes vorliegen.

Der Gehalt an Interleukin-8 in der bronchoalveolären Lavage war im Durchschnitt deutlich erhöht. Im Serum lagen die Werte in der Mehrzahl unter dem niedrigsten Standardwert des Assays von 31,2 pg/ml und waren somit im

angegebenen Normbereich. Andere Autoren [85] gehen von geringeren IL-8 Mengen im Serum aus, die um die 8-19 pg/ml liegen, also unterhalb des im verwendeten Assay angegebenen Normbereichs. Angesichts der in dieser Arbeit ermittelten Quantitäten und der vom Hersteller [64] angegebenen Nachweisgrenze, sind diese Konzentrationen nicht relevant bzw. nicht vergleichbar.

Es zeigte sich eine schwache negative Signifikanz des IL-8 der Lavage in Richtung Kontrollgruppe, welche als heterogenen Gruppe kranker Patienten immerhin einen Wert von 308 pg/ml aufwies. Zu erklären ist dieser Sachverhalt mit der Indikationsstellung zur bronchoalveolären Lavage. Aus ungeklärten pneumologischen Symptomen wurde eine Bronchoskopie durchgeführt. In der Mehrzahl gingen diese unklaren Fälle mit einer unspezifischen entzündlichen Veränderung des Lungenparenchyms einher. Dies führt in der bronchoalveolären Lavage zu einer Erhöhung von Entzündungsmediatoren, wie z.B. Interleukin-8.

Ziegenhagen et al [88] konnte in einer Studie mit 24 Patienten eine signifikante Erhöhung der IL-8 Lavagewerte bei fortschreitender und ruhender Sarkoidoseerkrankung belegen. Als Zeichen der chemotaktischen Funktion zeigt sich eine signifikante Korrelation zwischen IL-8 in der Lavage und dem Anteil an Neutrophilen in der Lavage ( $p=0,008$ ).

Die Lysozymwerte, als Zeichen der antibakteriellen Aktivität, waren im Serum und in der Lavage signifikant erhöht. Agerberth et al [1] hat neben Lysozym auch weitere antibakteriell wirkende Peptide und Proteine untersucht und kommt zu dem Ergebnis, daß bei der Sarkoidose eine generelle Aktivierung des antibakteriellen Systems besteht. Weiterhin hat sie in ihrer Untersuchung festgestellt, daß Sarkoidosepatienten seltener an einer bakteriellen Infektion des Respirationstraktes erkranken als die Normalbevölkerung und setzt dies in Zusammenhang. Dies bestätigt auch eine hoch signifikante Korrelation des Lavagelysozyms mit dem Gesamteiweißgehalt der Lavage ( $p=0,000$ ). Weiterhin

zeigte sich eine hohe Signifikanz des Lysozyms in der Lavage zum prozentualen Anteil der neutrophilen Granulozyten in der Lavage ( $p=0.000$ ) und dementsprechend auch zum IL-8 der Lavage ( $p=0,001$ ). Interessant war eine schwache negative Korrelation zu den Alveolarmakrophagen und den Eosinophilen der Lavagezytologie. Dies bestätigt im Falle des Lysozyms, daß die antibakterielle Aktivität im engen Zusammenhang mit den neutrophilen Granulozyten steht [1].

### 6.1.3 Sarkoidosepatienten im Stadienvergleich

Die 39 Sarkoidosepatienten wurden, wie in Kapitel 3.2.1 beschrieben, nach dem radiologischen Befund in zwei Gruppen gegliedert. Die erste Gruppe, im radiologischen Stadium I nach Wurm [16], umfaßte 23 Patienten, die zweite Gruppe im Stadium II und III, 16 Patienten.

Als Zeichen der höheren Granulomlast der Stadien II und III fanden sich in der deskriptiven Statistik (Tabelle 8.1.3) ein erhöhter ACE-Serumwert, weiterhin erhöhte Werte des IL-2 Rezeptors im Serum, dazu korrelierende Lysozym Serumwerte sowie eine erhöhte Anzahl von Alveolarmakrophagen in der Lavage. Statistisch zeigten sich jedoch bei diesen Werten keine Signifikanzen.

Schwache Signifikanzen (Tabelle 5.2.3) fanden sich bei der Blutsenkung in der ersten Stunde, ein relativ unspezifischer Entzündungswert, ebenso beim totalen Atemwegswiderstand als Zeichen einer fortschreitenden Obstruktion durch die Granulombildung analog zum radiologischen Befund und ein signifikanter Rückgang der T-Helferzellen sowie des CD4/CD8 Quotienten. Aufgrund der erhöhten unspezifischen Entzündungsparameter und der signifikant erhöhten T-Helferzellen kann man diskutieren, ob die Entzündungsaktivität der Sarkoidose im röntgenologischen Stadium I insgesamt stärker ist als in den folgenden Stadien. Dazu paßte jedoch nicht der niedrigere IL-2 Rezeptor Serumwert des Stadium I, dieser könnte jedoch von der erhöhten Granulomlast der Stadien II/III überdeckt werden [8].

Unterschiedliche Prognosefaktoren für die Sarkoidose finden sich in der Literatur. Drent [21] differenzierte in seiner Studie nach der absoluten Anzahl von neutrophilen Granulozyten in der Lavage. Als Stadiengrenze nahm er die Zahl  $0,2 \times 10^4$  Zellen pro ml. Er fand bei der Gruppe mit einer niedrigen Granulozytenzahl Anzeichen einer Remission, beim Nachweis einer erhöhten Granulozytenzahl eher Zeichen einer Progression und prognostizierte den Gehalt an neutrophilen Granulozyten in der Lavage als Aktivitätsmarker und Prognosefaktor.

Ziegenhagen [88] ordnete seine Patienten nach klinischem Status in stabil und progressiv ein. Dabei fand er stark signifikant erhöhte Werte des IL-8, TNF-alpha und MIP-1 alpha in der Lavageflüssigkeit von in Progression befindlichen Patienten im Vergleich zur Kontrollgruppe. Die stabile Gruppe der Sarkoidose unterschied sich nur auf einem schwach signifikanten Niveau. Eine noch größere Differenz der Werte fand er bei der Ausprägung des m-RNA Signals der o. g. Faktoren. Ziegenhagen beschrieb in seinen Ergebnissen, daß eine Erhöhung u. a. der IL-8 Konzentration in der bronchoalveolären Lavage einen charakteristischen Faktor für eine Progression der Sarkoidose darstellt.

Müller-Quernheim [51] untersuchte prognostische Faktoren mit Hilfe der Lymphozyten der Lavage. Einerseits differenzierte er seitens der Lymphozytenzahl (Grenzwert 20%), andererseits registriert er die Aktivierung der Lymphozyten durch ihre IL-2 Sekretion. Er stellte durch ein follow up fest, daß Patienten mit stabiler oder in Regression befindlicher Sarkoidose keine Lymphozytose und wenig Aktivierung aufwiesen. Patienten mit progressiver Erkrankung zeigten dagegen eine Lymphozytose über 20% mit einer vermehrten Ausschüttung an IL-2.

### 6.1.4 Einflußfaktor Rauchen bei Sarkoidose

Insgesamt ist zu beschreiben, daß die krankheitsspezifischen Parameter der Sarkoidose bei Rauchern und ehemaligen Rauchern deutlich geringer ausgeprägt waren als bei Nichtrauchern. So war die Lymphozytose der

bronchoalveolären Lavage bei Rauchern deutlich geringer. Schwache Signifikanzen zeigten sich beim neutrophilen Granulozyten- und Alveolar-makrophagengehalt der Lavage. So fanden sich signifikant weniger neutrophile Granulozyten, aber mehr Makrophagen bei den Rauchern. Raucher erkrankten mit durchschnittlich 35,4 Jahren signifikant jünger als Nichtraucher mit 43 Jahren. Nichtraucher waren dabei dreimal so häufig vertreten als Raucher. Es zeigt sich also, daß die Sarkoidose eher eine Erkrankung der Nichtraucher ist. Jedoch ist zu diskutieren, ob die Erkrankung durch das Rauchen früher zum Ausbruch kommt.

Die Werte des ACE, die Entzündungswerte BKS und CRP und das IgG/S sowie die LDH waren bei Rauchern deutlich niedriger als bei Nichtrauchern. Schwache Signifikanzen zeigten sich dabei nur bei BKS und LDH. Auch die gemessenen Werte des IL-2 Rezeptors und des IL-8 in Serum und Lavage waren bei Rauchern doch deutlich niedriger als bei Nichtrauchern. Einzig die Lysozymwerte zeigten keine nennenswerten Unterschiede. Zusammengefaßt dargestellt sind die Werte in Tabelle 8.1.4 des Anhangs.

Peros-Golubic und Ljubic [58] untersuchten 1995 in einer Studie mit 60 Sarkoidosepatienten und 60 gesunden Rauchern und Nichtrauchern die Auswirkungen des Rauchens auf die Erkrankung. Sie kamen zu dem Erkenntnis, daß das Rauchen eine gewisse protektive Rolle bezüglich des Auftretens der Erkrankung spielt. Sie soll jedoch keinen Einfluß auf die Schwere und den Verlauf der Sarkoidose nehmen.

Murin, Bilello und Matthay [52] diskutierten in einer kürzlich veröffentlichten Studie die generell gegensätzlichen Effekte des Rauchens im Falle der Sarkoidose und der exogen-allergischen Alveolitis. Ebenso stellten sie bei den Rauchern eher eine Abnahme der Inzidenz der Sarkoidose fest.

### 6.2 Diagnosegruppe Exogen-allergische Alveolitis

#### 6.2.1 Allgemeines

Das Krankheitsbild der Exogen-allergischen Alveolitis ist geprägt von einer verzögerten Immunreaktion (Typ III) durch exogene organische Antigene. Dies sind beispielsweise Pilze, Bakterien, tierische Eiweiße und Pflanzenbestandteile. Der Verlauf der Erkrankung kann akut bzw. subakut / chronisch sein. Als Komplikation steht am Ende eines chronischen Verlaufs die Lungenfibrose und das Cor pulmonale. Im Labor findet man erhöhte Entzündungsparameter, eine Leukozytose und präzipitierende Antikörper (IgG's). Kennzeichen der bronchoalveolären Lavage sind im akuten Schub eine Granulozytose, im chronischen Stadium eine Lymphozytose mit Erhöhung der T-Suppressorzellen und einem CD4/CD8 Quotienten  $<1$  [15,28,63]. Die Erkrankung ist charakterisiert durch typische TH1-Zell-Granulome [27]. Das häufigste Antigen sind thermophile Actinomyceten, die das Krankheitsbild der Farmerlunge verursachen [27,26].

#### 6.2.2 Diskussion der Ergebnisse

Die unerwartete Korrelation des IL-8 in der bronchoalveolären Lavage mit guten Lungenfunktionswerten (VC, TLC, FEV1) läßt sich deuten mit einer nach Antigenexposition akut stattfindenden Einwanderung v. a. von neutrophilen Granulozyten ( $p=0,000$ ), neben Lymphozyten und eosinophilen Granulozyten ( $p=0,001$ ) und einer Reduzierung der Alveolarmakrophagen ( $p=0,000$ ) [23,47]. Erst bei einer Chronifizierung der Erkrankung kommt es zur Zunahme und Dominanz der Lymphozytenfraktion [23]. Dieses Zellprofil steht also für einen akuten Entzündungsschub am Beginn der Erkrankung, für den somit die guten Lungenfunktionsparameter hinweisend sind. Dazu paßt ebenso die negative Korrelation zum Albuminquotienten. Die Schrankenstörung nimmt erst mit einer Chronifizierung der Erkrankung zu. Dies zeigt auch die hoch signifikante Korrelation des Albuminquotienten mit dem Lymphozytenanteil.

Drent [23] beschrieb in diesem Zusammenhang die Abhängigkeit des Zellbildes zwischen dem Zeitpunkt der Lavage und der letzten Antigenexposition. Während der ersten Phase (<24 h) beschrieb er eine Vermehrung der absoluten und relativen Zahlen der Lymphozyten, neutrophilen und eosinophilen Granulozyten und Mastzellen bzw. eine relativ niedrige Anzahl der Alveolarmakrophagen. Nach 2-7 Tagen bestand eine Dominanz von Lymphozyten, Plasmazellen und Mastzellen mit der Erhöhung von Immunglobulinen. Nach mehr als einer Woche nahm die Zellzahl ab und die zellulären Bestandteile der Lavage zeigen die Tendenz der Normalisierung mit der Ausnahme des Lymphozytenanteils.

Einen zeitlichen Aspekt beschrieb Pforte [59] ebenso für die Expression des IL-2 Rezeptors. Sie beschrieb die Abnahme der IL-2 positiven Alveolarmakrophagen und des löslichen IL-2 Rezeptors bei Antigenkarenz. Damit lassen sich die Normalwerte des IL-2 Rezeptors in Serum und Lavage erklären.

### 6.3 Diagnosegruppe Idiopathische Lungenfibrose

#### 6.3.1 Allgemeines

Die Idiopathische Lungenfibrose ist allgemein definiert als eine progressive, entzündlich fibrosierende Erkrankung des Lungenparenchyms unbekannter Ätiologie. Die wichtigsten Symptome sind eine langsam fortschreitende Dyspnoe, einhergehend mit einer restriktiven Ventilationsstörung. Es finden sich diffuse entzündliche Infiltrate des Lungeninterstitiums und entsprechend dazu ein gestörter Gasaustausch in den Alveolen. Unter der Diagnose Idiopathische Lungenfibrose wurden bisher mehrere klinisch-pathologisch ähnliche Krankheitsbilder zusammengefaßt. Es hat sich gezeigt, daß sich die verschiedenen Untergruppen der IPF nicht unwesentlich histopathologisch und klinisch sowie therapeutisch und prognostisch unterscheiden. [36,71]



### 6.3.2 Diskussion der Ergebnisse

Die Serumwerte des Interleukin-2 Rezeptors lagen im Normbereich, jedoch im Schnitt über dem vom Hersteller [20] angegebenen Mittelwert. Die Kontrollgruppe wies einen deutlich höheren Wert des IL-2 Rezeptors auf. Der Serumwert spiegelte die gesamte entzündliche Aktivität des Körpers wieder. Da es sich um eine kranke Vergleichsgruppe handelte, muß dieses Verhältnis damit erklärt werden. Spezifischer für die Idiopathische Lungenfibrose war das gegensätzliche Ergebnis der Lavagewerte des IL-2 Rezeptors. Hier zeigte sich bei der IPF ein erhöhter, jedoch nicht signifikanter Wert zur Kontrollgruppe, als Ausdruck einer hier erhöhten entzündlichen Lungenaktivität. Im Gruppenvergleich hatten die Lungenfibrosen (IPF und Übr.-ILK) die höchsten Lavagewerte des IL-2 Rezeptors.

Tsutsumi [79] fand in einer Gruppe mit 24 IPF Patienten einen nahezu doppelt so hohen IL-2 Rezeptor Wert im Serum im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe. Im Vergleich zwischen Sarkoidose und Idiopathischer Lungenfibrose fanden sich die höheren IL-2 Rezeptor Werte im Serum immer bei Sarkoidosepatienten, jedoch hatten beide Diagnosegruppen höhere Werte als gesunde Probanden [45].

Die IL-8 Serumwerte waren quantitativ zu vernachlässigen, obwohl sie bei etwa der Hälfte der Patienten (n=11) generell nachgewiesen werden konnten. Bei gesunden Probanden lagen die IL-8 Serumwerte nach Herstellerangaben [64] immer unter dem niedrigsten Standard.

Ziegenhagen [89] konnte bei 20 IPF-Patienten hoch signifikant erhöhte Serumwerte des IL-8 feststellen. Ebenso erhöht waren die Werte in der bronchoalveolären Lavage mit Signifikanzen zur prozentualen Verteilung der neutrophilen Granulozyten. Er postulierte in seiner Studie, daß der IL-8 Serumwert den Grad der neutrophilen Alveolitis der IPF reflektiert.

Beim Vergleich der Kontrollgruppen wiesen die gesunden Probanden in Ziegenhagens Studie eine wesentlich geringere Konzentration des IL-8 in der Lavage auf als die Kontrollgruppe mit erkrankten Individuen in dieser Arbeit. Demnach kann man davon ausgehen, daß die IL-8 Werte in der bronchoalveolären Lavage der IPF Patienten in dieser Arbeit erhöht waren. Hier zeigte sich ebenso eine stark signifikante Beziehung zum prozentualen Anteil der neutrophilen Granulozyten in der Lavage ( $p=0,007$ ). Als Ausdruck der neutrophilen Alveolitis zeigte sich eine signifikante Verschlechterung des Sauerstoffpartialdruckes zur prozentualen Neutrophilenverteilung ( $p=0,016$ ).

In einer weiteren Untersuchung zeigte Ziegenhagen [88], daß die Expression von IL-8 in den BAL-Zellen charakteristisch ist für IPF- und Sarkoidosepatienten, welche eine Progression der Erkrankung zeigen.

Losa Garcia [43] untersuchte Alveolarmakrophagen hinsichtlich der basalen und mit LPS stimulierten Sekretion von IL-8 *in vitro*. Sie fand maximale Werte bei ihren IPF Patienten ( $n=5$ ). Die 21 Patienten dieser Arbeit zeigten eher eine schwache negative Signifikanz zur Verteilung der Alveolarmakrophagen.

Xaubet [84] untersuchte in seiner Arbeit den Zusammenhang zwischen der IL-8 Expression der BAL-Zellen und dem Ausmaß der Alveolitis. Dabei verglich er die Ergebnisse aus stärker fibrosierten mit weniger stark betroffenen Arealen der Lungen seiner 19 IPF Patienten und mit gesunden Kontrollen. Er kam zu dem Erkenntnis, daß die Anzahl der neutrophilen Granulozyten, weniger die der Makrophagen, in der BAL-Zytologie besser zum inflammatorischen Prozeß korreliert. Eine Korrelation des IL-8 in den Lavagezellen zur Verteilung der neutrophilen Granulozyten fand er nicht. Somit postulierte er eine genauere Beschreibung der Alveolitis durch die Neutrophilie in der bronchoalveolären Lavage.

### 6.3.3 Einfluß der immunsuppressiven Therapie bei IPF

Die Statistik (Tabelle 8.1.8 im Anhang) zeigt bei der Zellverteilung in der Lavage eine Eosinophilie bei den nicht therapierten Patienten, die unter der Immunsuppression schwach signifikant zurück geht. Entgegengesetzt verhielt sich die T-Lymphozytenfraktion. Interessant waren die signifikant erhöhten Werte der Leukozyten im Blutbild, der LDH, des Gesamteiweißes und Albumins sowie des löslichen IL-2 Rezeptors und des IL-8 in der bronchoalveolären Lavage bei den zum Zeitpunkt der bronchoskopischen Untersuchung immunsuppressiv therapierten Patienten. Zu deuten sind diese Fakten mit dem deutlich schlechteren Zustand, in dem sich die schon therapierten Patienten während der Untersuchung befanden. Dies bestätigt die schlechte Prognose der in der Mehrzahl diagnostizierten UIP und die teils schlechte Therapieantwort auf Glukokortikoide [36,46].

### 6.3.4 Einflußfaktor Rauchen bei IPF

Auf den ersten Blick erstaunlich sind die Ergebnisse bei ehemaligen Rauchern und Nichtrauchern (Tabelle 8.1.9 im Anhang). So war die Verteilung der neutrophilen Granulozyten in der bronchoalveolären Lavage und dem Differentialblutbild in der Nichtrauchergruppe schwach signifikant erhöht, ebenso die Mastzellen. Die IL-8 Konzentration der Lavage ist bei den Nichtrauchern sogar stark signifikant erhöht. Einzig die Eosinophilie ist bei den Nichtrauchern geringer ausgeprägt.

Zur Beurteilung dieser Daten muß das Stadium der Erkrankung beachtet werden. So wurden sechs von 11 Nichtrauchern bereits immunsuppressiv behandelt, bei der Gruppe der Exraucher jedoch nur drei von 10. Wenn man von den im letzten Kapitel beschriebenen Daten ausgeht, so lassen sich diese Ergebnisse eher auf die Progression der Erkrankung beziehen, als auf den Raucherstatus, zumal die meisten Patienten keine aktiven Raucher waren.

### 7 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde die Bedeutung von Zytokinen und das Auftreten einer epithelialen Schrankenstörung bei interstitiellen Lungenkrankungen untersucht. Dazu diente die Auswertung von Proben aus bronchoalveolärer Lavageflüssigkeit und Seren von Patienten bezüglich der Zytokine Interleukin-2 mittels löslichem IL-2 Rezeptor und Interleukin-8. Um die Zytokinwerte beurteilen zu können, wurden weitere klinische, laborchemische, radiologische, zytologisch – histologische und mikrobiologische Parameter herangezogen. Aussagekräftige Fallzahlen waren bei den Krankheitsbildern der Sarkoidose, der Exogen-allergischen Alveolitis und der Idiopathischen Lungenfibrose vorhanden.

Patienten mit unbehandelter Sarkoidose hatten im Durchschnitt über den Normbereich erhöhte IL-2 Rezeptor Werte im Serum (983 U/ml). Diese Werte waren im Gruppenvergleich der interstitiellen Lungenkrankheiten am höchsten. In der bronchoalveolären Lavage konnte der lösliche IL-2 Rezeptor nachgewiesen werden (58,6 U/ml), ein Normbereich wurde noch nicht definiert. Eine Korrelation zwischen Serum und Lavagewerten fand sich nicht. Die Werte des IL-8 in der bronchoalveolären Lavage waren erhöht (159,3 pg/ml,  $p=0,03$ ) und in den meisten Fällen nachweisbar. Im Gruppenvergleich lagen die IL-8 Lavagewerte auf unterem Niveau. Die Serumwerte lagen im Normbereich (7,1 pg/ml).

Die Patienten mit Exogen-allergischer Alveolitis zeigten ausgesprochen hohe, signifikante IL-8 Werte im Serum (32,8 pg/ml,  $p=0,033$ ) und in der Lavage (992,4 pg/ml,  $p=0,002$ ) in signifikanter Korrelation mit den neutrophilen Granulozyten der Lavage ( $p=0,000$ ) und einer guten klinischen Lungenfunktion (VC -  $p=0,024$ ; TLC -  $p=0,017$ ). Im Vergleich der interstitiellen Lungenkrankheiten wurden jeweils die höchsten Gruppenwerte gemessen. Der IL-2 Rezeptor war besonders in der bronchoalveolären Lavage auf hohem Niveau nachzuweisen (99,3 U/ml). Die Serumwerte lagen im Normbereich.

Die Gruppe der Idiopathischen Lungenfibrose zeigte zusammen mit den Übrigen interstitiellen Lungenkrankheiten auf höchstem Niveau liegende IL-2 Rezeptor Werte in der bronchoalveolären Lavage (IPF – 108,9 U/ml; Übr.-ILK – 112 U/ml), im Serum war der IL-2 Rezeptor im oberen Normbereich angesiedelt (604,7 U/ml). Die IL-8 Werte im Serum waren regelmäßig nachweisbar (12,9 pg/ml), in der bronchoalveolären Lavage deutlich erhöht (373,9 pg/ml).

Die Gruppen der Übrigen interstitiellen Lungenkrankheiten und der Pneumonien waren auf Grund ihrer Heterogenität und der geringen Fallzahl statistisch nicht verwertbar.

Eine epitheliale Schrankenstörung, beurteilt durch den Albuminquotienten zwischen Lavage- und Serumalbumin, zeigte sich bei allen Diagnosegruppen. Die höchsten Werte fanden sich bei der Sarkoidose (4,53) und bei der heterogenen Kontrollgruppe (5,41).

## 8 Anhang

## 8.1 Tabellen

## 8.1.1 Sarkoidose

Parameter			Ergebnisse			
Korrelation +/-			Anzahl n	Rangkoeffizient $r_s$	Signifikanz p	
IL-2R/S		TP/L	38	0,310	0,028 *	
	–	ALB/S	38	-0,406	0,005 **	
		IL-8/S	35	0,357	0,016 *	
		LYS/S	38	0,710	0,000 ***	
	–	B-LY/L	36	-0,291	0,041 *	
		T-Help/L	36	0,302	0,036 *	
	–	T-Supp/L	36	-0,300	0,036 *	
IL-2R/L		Quotient	36	0,346	0,019 *	
		TP/L	39	0,557	0,000 ***	
		ALB/L	39	0,515	0,001 ***	
	–	AM/L	39	-0,499	0,001 ***	
		LY/L	39	0,367	0,010 **	
		EOS/L	39	0,454	0,002 **	
	–	MAST/L	39	-0,335	0,018 *	
	–	LY/B	35	-0,386	0,010 **	
	IL-8/L		TP/L	38	0,301	0,032 *
			LYS/L	38	0,510	0,001 ***
		PMN/L	38	0,385	0,008 **	
		EOS/L	38	0,397	0,007 **	
LYS/S		LYS/L	38	0,316	0,025 *	
	–	EOS/L	38	-0,299	0,032 *	
LYS/L		TP/L	39	0,593	0,000 ***	
		ALB/L	39	0,333	0,018 *	
	–	AM/L	39	-0,316	0,024 *	
		PMN/L	39	0,542	0,000 ***	
	–	EOS/B	34	-0,306	0,038 *	

Tabelle 8.1.1 Sarkoidose, Rangkorrelation Spearman  $r_s$  [11], Parameter: siehe Tabelle 8.2.1

## 8 Anhang

Parameter			Ergebnisse		
Korrelation +/-			Anzahl n	Rangkoeffizient $r_s$	Signifikanz p
ALBQT		VC	37	0,317	0,026 *
		TLC	37	0,386	0,009 **
	-	AM/L	39	-0,678	0,000 ***
		PMN/L	39	0,333	0,018 *
		LY/L	39	0,577	0,000 ***
		EOS/B	34	0,337	0,024 *
		IL-2R/L	39	0,543	0,000 ***
		LYS/L	39	0,298	0,031 *

*Tabelle 8.1.2 unbehandelte Sarkoidose, Albuminquotient, Rangkorrelation Spearman  $r_s$  [11], Parameter: siehe Tabelle 8.2.1*

Parameter	Patienten		Ergebnisse		
	Sarkoidose- stadium	Anzahl n	Mittelwert $\mu$	Std.-abw. $\sigma$	Signifikanz p
ACE [%/N]	I	22	151,4	64,9	0,136
	II / III	15	176,5	68,2	
AM/L [%/L]	I	23	55,2	15,0	0,216
	II / III	16	60,3	16,4	
IL-2R/S [U/ml]	I	23	920,6	543,4	0,311
	II / III	15	1078,7	755,2	
IL-2R/L [U/ml]	I	23	78,0	107,1	0,064
	II / III	16	30,8	50,7	
IL-8/S [pg/ml]	I	20	4,7	10,5	0,325
	II / III	15	10,4	24,4	
IL-8/L [pg/ml]	I	23	172,7	267,6	0,458
	II / III	15	138,7	111,0	
LYS/S [U/ml]	I	23	1000,0	244,2	0,085
	II / III	15	1122,7	293,6	
LYS/L [U/ml]	I	23	1091,7	743,3	0,371
	II / III	16	1293,1	1228,1	

*Tabelle 8.1.3 unbehandelte Sarkoidose, Stadienvergleich (nach Wurm [16]), deskriptive Statistik und Signifikanzen U-Test [10], Parameter: siehe Tabelle 8.2.1*

Parameter	Patienten		Ergebnisse		
	Sarkoidose- gruppe	Anzahl n	Mittelwert $\mu$	Std.-abw. $\sigma$	Signifikanz p
IL-2R/S [U/ml]	NR	28	1069,2	646,1	0,064
	R / ExR	10	741,7	542,4	
IL-2R/L [U/ml]	NR	29	70,1	100,9	0,104
	R / ExR	10	25,5	36,1	
IL-8/S [pg/ml]	NR	27	8,6	19,8	0,196
	R / ExR	8	2,2	6,1	
IL-8/L [pg/ml]	NR	28	169,6	248,9	0,254
	R / ExR	10	130,5	90,8	
LYS/S [U/ml]	NR	28	1074,3	256,4	0,107
	R / ExR	10	976	299,8	
LYS/L [U/ml]	NR	29	1182,4	863,3	0,197
	R / ExR	10	1151	1259,8	

Tabelle 8.1.4 unbehandelte Sarkoidose, Nichtraucher / Raucher und ehemalige Raucher, deskriptive Statistik und U-Test [10], Parameter: siehe Tabelle 8.2.1

### 8.1.2 Exogen-allergische Alveolitis

Parameter			Ergebnisse		
Korrelation +/-			Anzahl n	Rangkoeffizient $r_s$	Signifikanz p
IL-2R/S		FEV1	8	0,766	0,013 *
		LYS/S	9	0,583	0,049 *
IL-8/L		VC	9	0,750	0,010 **
		FEV1	8	0,850	0,004 **
		TLC	7	0,679	0,046 *
	-	EOS/L	9	-0,633	0,033 *
		B-LY/L	8	0,799	0,009 **
	-	T-LY/L	8	-0,881	0,002 **
	-	T-Help/L	8	-0,714	0,023 *
		LY/B	7	0,750	0,026 *
	-	ALB/L	9	-0,683	0,021 *
		LYS/L	9	0,633	0,032 *
LYS/S		T-Supp/L	8	0,690	0,029 *
	-	Quotient	8	-0,623	0,049 *
		Leukos/B	9	0,655	0,027 *
		ALB/S	8	0,738	0,018 *
LYS/L	-	EOS/L	9	-0,853	0,002 **
	-	T-Help/L	8	-0,881	0,002 **
	-	Quotient	8	-0,850	0,004 **

Tabelle 8.1.5 Exogen-allergische Alveolitis, Rangkorrelation Spearman  $r_s$  [11], Parameter: siehe Tabelle 8.2.1



## 8 Anhang

Parameter			Ergebnisse		
Korrelation +/-			Anzahl n	Rangkoeffizient $r_s$	Signifikanz p
ALBQT		IgG/S	7	0,750	0,026 *
	-	VC	8	-0,667	0,035 *
	-	FEV1	8	-0,790	0,009 **
		LY/L	8	0,874	0,002 **
	-	B-LY/L	8	-0,748	0,016 *
		T-LY/L	8	0,929	0,001 ***
		T-Help/L	8	0,786	0,010 **
	-	IL-8/L	8	-0,714	0,023 *

*Tabelle 8.1.6 Exogen-allergische Alveolitis, Albuminquotient, Rangkorrelation Spearman  $r_s$  [11], Parameter: siehe Tabelle 8.2.1*

### 8.1.3 Idiopathische Lungenfibrose

Parameter			Ergebnisse		
Korrelation +/-			Anzahl n	Rangkoeffizient $r_s$	Signifikanz p
PNM/L	-	pO <sub>2</sub>	20	-0,474	0,016 *
IL-2R/S		T-LY/L	19	0,395	0,045 *
		T-Help/L	18	0,584	0,005 **
IL-2R/L	-	FEV1	20	-0,419	0,032 *
	-	AM/L	21	-0,556	0,004 **
		PNM/L	21	0,388	0,040 *
		T-LY/L	19	0,407	0,041 *
		T-Help/L	18	0,410	0,044 *
		IL-8/L	20	0,482	0,015 *
	-	LYS/S	21	-0,629	0,001 ***
	-	LYS/L	21	-0,369	0,048 *
IL-8/S		T-Supp/L	16	0,514	0,020 *
IL-8/L	-	AM/L	20	-0,411	0,034 *
		PNM/L	20	0,537	0,007 **
		Leukos/B	19	0,392	0,047 *
		TP/L	20	0,577	0,004 **
	-	LYS/S	20	-0,398	0,040 *
LYS/S		T-Supp/L	18	0,464	0,025 *
	-	Quotient	18	-0,542	0,009 **
LYS/L	-	DCO	8	-0,786	0,010 **

*Tabelle 8.1.7 Idiopathische Lungenfibrose, Rangkorrelation Spearman  $r_s$  [11], Parameter: siehe Tabelle 8.2.1*

## 8 Anhang

Parameter	Patienten		Ergebnisse		
	IPF - Gruppe	Anzahl n	Mittelwert $\mu$	Std.-abw. $\sigma$	Signifikanz p
LDH [U/l]	IPF - Therapie	7	263,6	45,6	0,013 *
	IPF- unbeh.	12	206,1	41,5	
FEV1 [%]	IPF - Therapie	8	57,0	18,5	0,038 *
	IPF- unbeh.	12	71,7	20,4	
EOS/L [%/L]	IPF - Therapie	9	1,44	1,74	0,013 *
	IPF- unbeh.	12	4,08	3,03	
T-LY/L [%/L]	IPF - Therapie	8	85,75	11,90	0,021 *
	IPF- unbeh.	11	67,91	24,07	
T-Help/L [%/L]	IPF - Therapie	8	55,1	20,5	0,046 *
	IPF- unbeh.	10	38,6	8,9	
Leukos/B [Zellen/ $\mu$ l]	IPF - Therapie	8	8.962,5	1.750,1	0,006 **
	IPF- unbeh.	12	6.808,3	2.214,2	
TP/L [g/l]	IPF - Therapie	9	0,663	0,697	0,011 *
	IPF- unbeh.	12	0,292	0,199	
ALB/L [g/l]	IPF - Therapie	9	0,134	0,115	0,032 *
	IPF- unbeh.	12	0,079	0,042	
IL-2R/L [U/ml]	IPF - Therapie	9	171,3	143,9	0,026 *
	IPF- unbeh.	12	62,2	115,3	
IL-8/L [pg/ml]	IPF - Therapie	8	535,5	473,5	0,038 *
	IPF- unbeh.	12	266,2	269,4	

Tabelle 8.1.8 Idiopathische Lungenfibrose, Therapieeinfluß, deskriptive Statistik und Signifikanz U-Test [10], Parameter: siehe Tabelle 8.2.1

Parameter	Patienten		Ergebnisse		
	IPF - Gruppe	Anzahl n	Mittelwert $\mu$	Std.-abw. $\sigma$	Signifikanz p
PMN/L [%/L]	NR	11	28,2	12,6	0,022 *
	R / ExR	10	17,7	17,6	
EOS/L [%/L]	NR	11	1,7	2,1	0,016 *
	R / ExR	10	4,3	3,1	
MAST/L [%/L]	NR	11	0,4	0,5	0,019 *
	R / ExR	10	0,0	0,0	
Neutr/B [%/B]	NR	9	67,7	14,0	0,029 *
	R / ExR	9	61,5	6,0	
IL-8/L [pg/ml]	NR	10	565,7	459,1	0,010 **
	R / ExR	10	182,2	96,3	

Tabelle 8.1.9 Idiopathische Lungenfibrose, Nichtraucher und Raucher/Exraucher, deskriptive Statistik und Signifikanz U-Test [10], Parameter: siehe Tabelle 8.2.1

## 8.1.4 Übrige interstitielle Lungenkrankheiten

Parameter			Ergebnisse		
Korrelation +/-			Anzahl n	Rangkoeffizient $r_s$	Signifikanz p
IL-8/L		R-tot	8	0,738	0,018 *
	-	MEF50%	10	-0,576	0,040 *
		PNM/L	10	0,738	0,007 **
	-	LY/L	10	-0,767	0,005 **
	-	T-LY/L	8	-0,810	0,007 **
LYS/L	-	GeZz/L	10	-0,719	0,009 **
		PNM/L	10	0,609	0,030 *
	-	T-LY/L	8	-0,683	0,031 *
	-	T-Help/L	8	-0,838	0,005 **
	-	Quotient	8	-0,712	0,023 *

Tabelle 8.1.10 Übrige interstitielle Lungenkrankheiten, Rangkorrelation Spearman  $r_s$  [11], Parameter: siehe Tabelle 8.2.1

## 8.1.5 Pneumonien

Parameter			Ergebnisse		
Korrelation +/-			Anzahl n	Rangkoeffizient $r_s$	Signifikanz p
IL-2R/L	-	AM/L	7	-0,739	0,029 *
		PNM/L	7	0,739	0,029 *
		TP/L	7	0,847	0,009 **
		IL8/L	7	0,721	0,034 *
IL-8/L		GeZz/L	7	0,857	0,007 **
	-	AM/L	7	-0,929	0,002 **
		PNM/L	7	0,929	0,002 **
	-	LY/B	7	-0,679	0,046 *
		Neutr/B	7	0,714	0,035 *
		TP/L	7	0,893	0,004 **
		ALB/L	7	0,750	0,026 *
		LYS/L	7	0,750	0,026 *
LYS/L	-	AM/L	7	-0,857	0,007 **
		PNM/L	7	0,857	0,007 **
	-	LY/B	7	-0,821	0,012 *
		Neutr/B	7	0,821	0,012 *
		TP/L	7	0,786	0,018 *

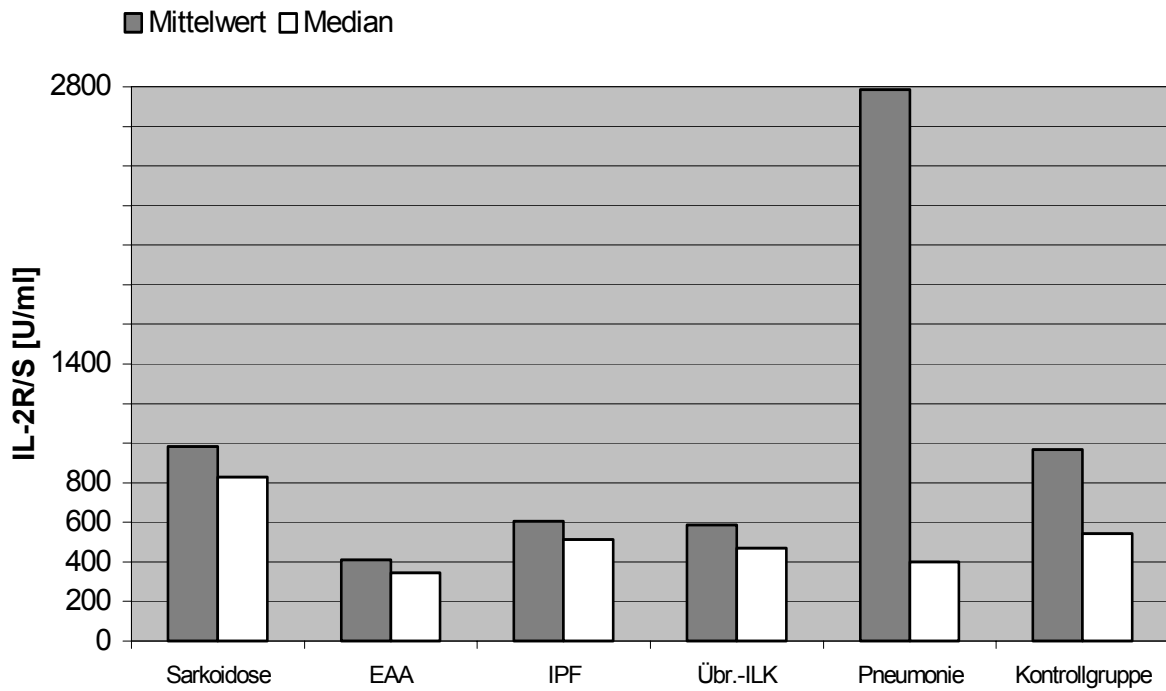
Tabelle 8.1.11 Pneumonien, Rangkorrelation Spearman  $r_s$  [11], Parameter: siehe Tabelle 8.2.1

## 8.2 Parameter

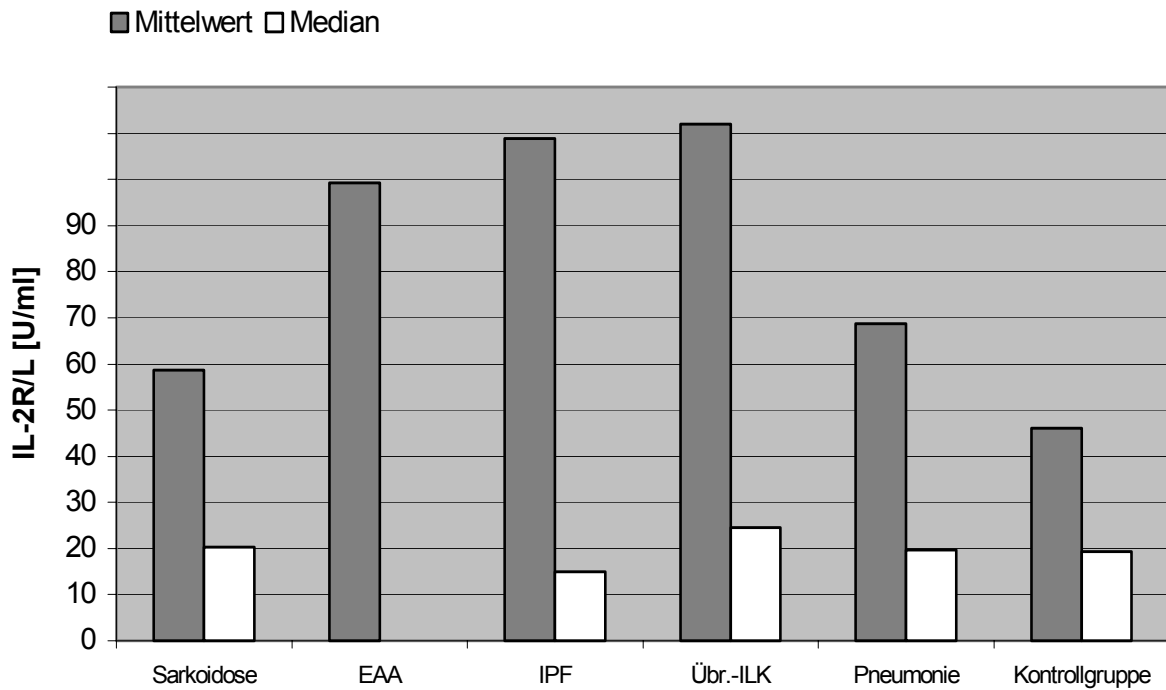
Parameter	Einheit	Erläuterung
<b><u>Klinisch-serologische Routineparameter:</u></b>		
ACE	%dN (% der Norm)	Angiotensin converting enzyme
LDH	U/l	Laktatdehydrogenase
BKS	1. Stunde	Blutkörperchen-Senkungsgeschwindigkeit
CRP	mg/dl	C-reaktives Protein
IgG/S	mg/dl	Immunglobulin G im Serum
<b><u>Lungenfunktionsparameter:</u></b>		
VC	%	Vitalkapazität
FEV1	%	größtes Ausatemvolumen in einer Sekunde Expiration
TLC	%	Totale Lungenkapazität
R-tot	kPa//sec	Totale Resistance
MEF50%	l/sec	maximaler expiratorischer Flow bei 50% der VC
DCO	%	CO Diffusionskapazität
pO <sub>2</sub>	mmHg	Sauerstoffpartialdruck
Spülvol	ml	Spülvolumen der BAL
Aspirat	ml	Aspiratvolumen der BAL
<b><u>zytologische Parameter der bronchoalveolären Lavage:</u></b>		
GeZz/L	Zellen der BALF	Gesamtzellzahl in der BALF
AM/L	% der Zellen/BALF	Alveolarmakrophagen
PMN/L	% der Zellen/BALF	polymorphkernige neutrophile Granulozyten
LY/L	% der Zellen/BALF	Lymphozyten
EOS/L	% der Zellen/BALF	eosinophile Granulozyten
MAST/L	% der Zellen/BALF	Mastzellen
B-LY/L	% der Zellen/BALF	B-Lymphozyten
T-LY/L	% der Zellen/BALF	T-Lymphozyten
T-Help/L	% der Zellen/BALF	T-Helfer-Zellen
T-Supp/L	% der Zellen/BALF	T-Suppressor-Zellen
Quotient		Quotient aus T-Helfer- / T-Suppressor-Zellen (CD4/CD8)
<b><u>hämatologische Parameter: Blutausstrichdifferenzierung</u></b>		
Leukos/B	Zellen/µl	Leukozyten
LY/B	% Zellen im Blut	Lymphozyten
Neutr/B	% Zellen im Blut	neutrophile Granulozyten
EOS/B	% Zellen im Blut	eosinophile Granulozyten
<b><u>Laborparameter:</u></b>		
TP/S	g/l	Gesamteiweiß im Serum
TP/L	g/l	Gesamteiweiß in der BALF
ALB/S	g/l	Albumin im Serum
ALB/L	g/l	Albumin in der BALF
IL-2R/S	U/ml	IL-2 Rezeptor im Serum
IL-2R/L	U/ml	IL-2 Rezeptor in der BALF
IL-8/S	pg/ml	IL-8 im Serum
IL-8/L	pg/ml	IL-8 in der BALF
LYS/S	U/ml	Lysozym im Serum
LYS/L	U/ml	Lysozym in der BALF

Tabelle 8.2.1 Erläuterung der Parameter-Abkürzungen mit Einheiten

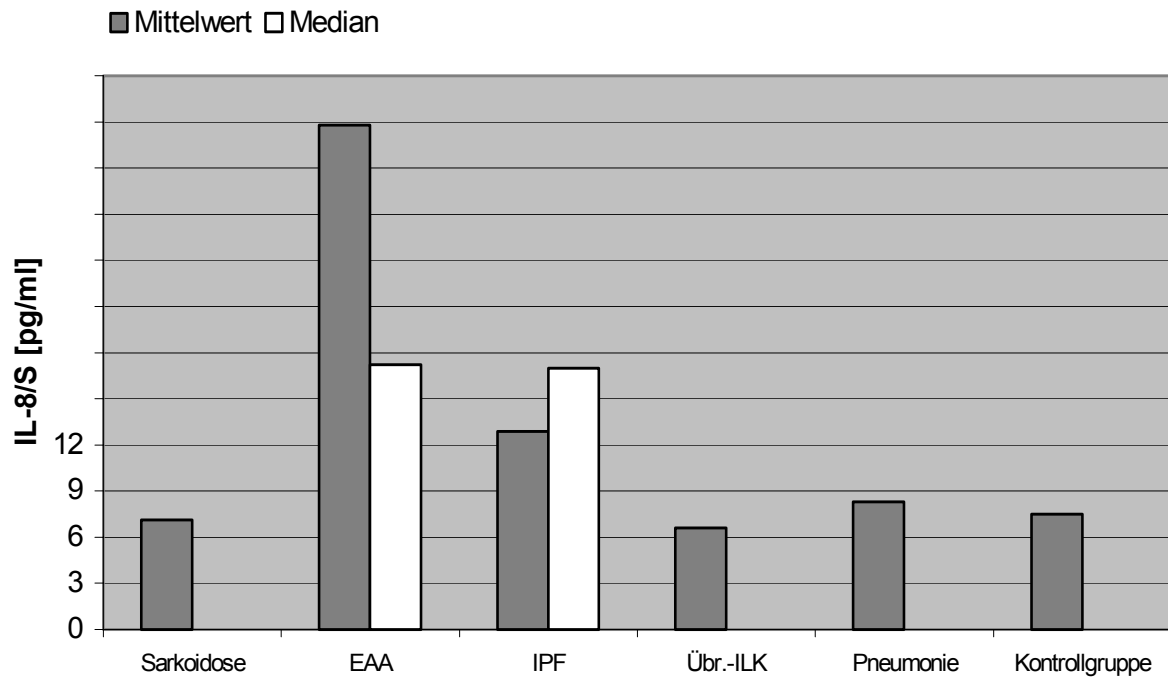
8.3 Grafiken



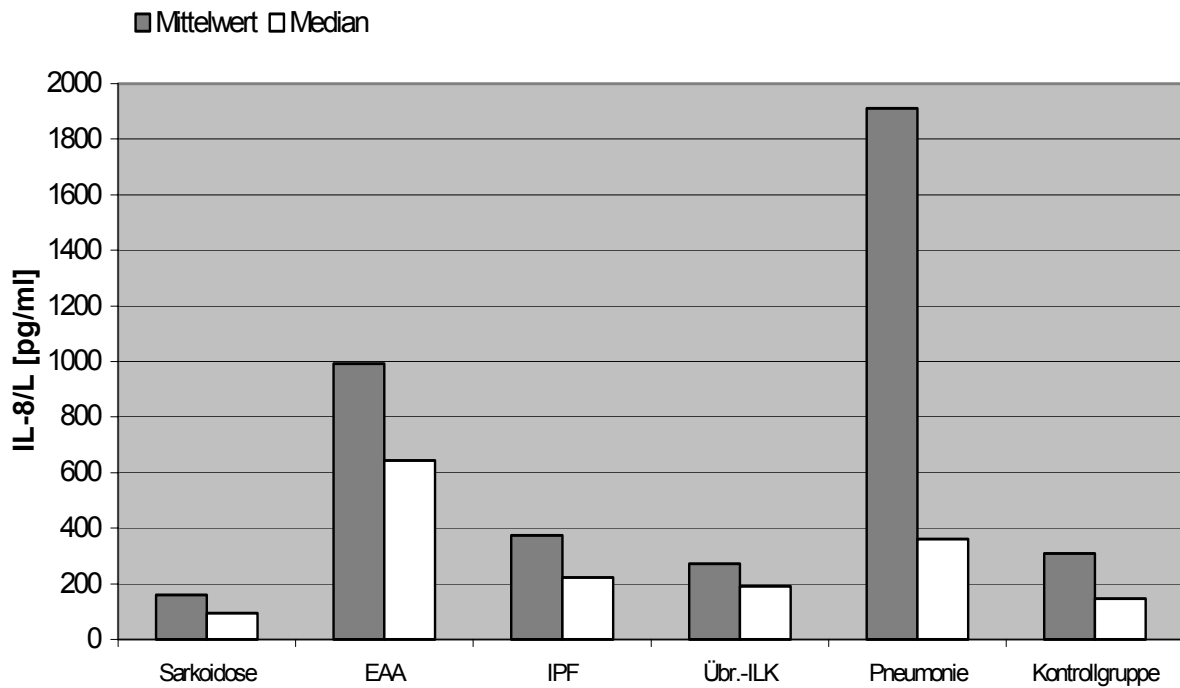
Grafik 8.3.1 IL-2 Rezeptor / Serum, Mittelwerte und Mediane im Diagnosegruppenvergleich



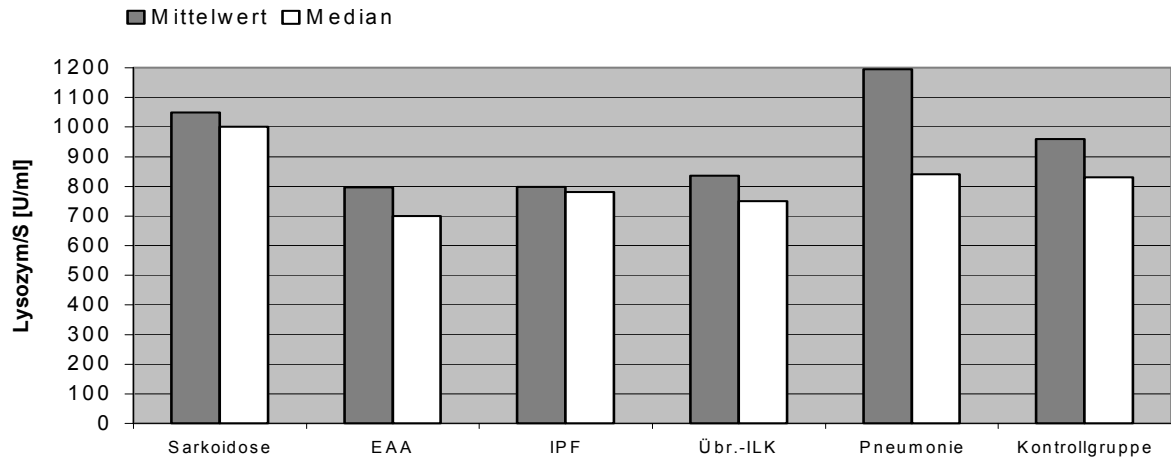
Grafik 8.3.2 IL-2 Rezeptor / Lavage, Mittelwerte und Mediane im Diagnosegruppenvergleich



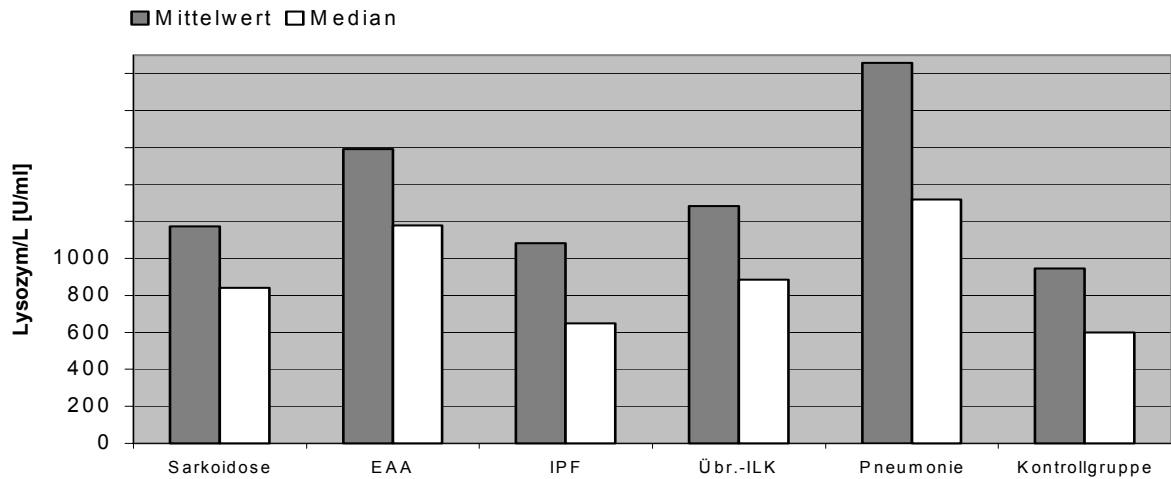
Grafik 8.3.3 IL-8 / Serum, Mittelwerte und Mediane im Diagnosegruppenvergleich



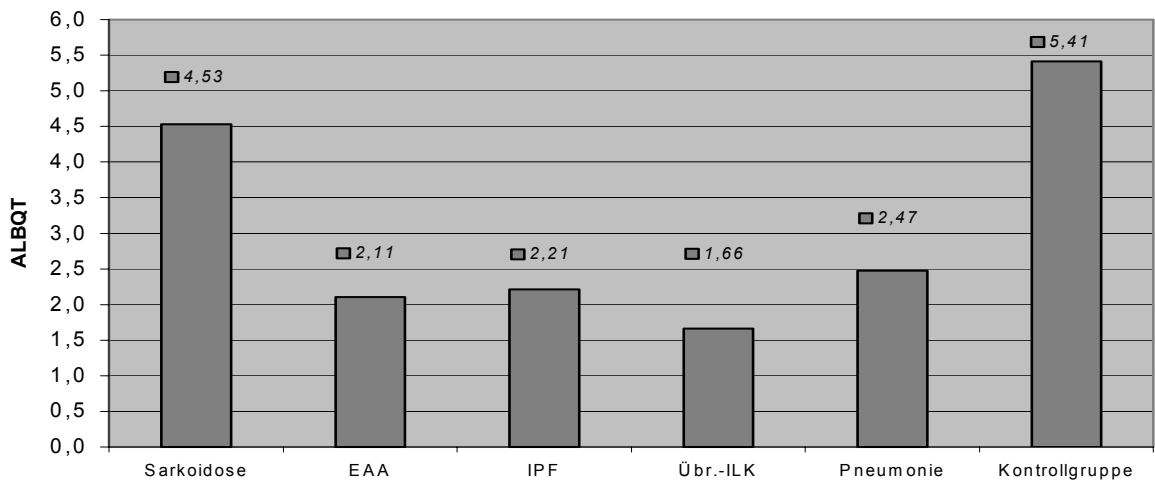
Grafik 8.3.4 IL-8 / Lavage, Mittelwerte und Mediane im Diagnosegruppenvergleich



Grafik 8.3.5 Lysozym / Serum, Mittelwerte und Mediane im Diagnosegruppenvergleich



Grafik 8.3.6 Lysozym / Lavage, Mittelwerte und Mediane im Diagnosegruppenvergleich



Grafik 8.3.7 Albuminquotient [Alb/L / Alb/S x 10<sup>-4</sup>], Mittelwerte im Diagnosegruppenvergleich

9 Abkürzungen

AS	Aminosäure/n
ALBQT	Albuminquotient
BAL(F)	bronchoalveoläre Lavage(-flüssigkeit)
BSA	bovine serum albumin
CXC	„Untergruppe der Chemokinklassifizierung“
CXCR-1 und 2	Rezeptoren 1 und 2 der CXC-Chemokinklasse
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EAA	Exogen-allergische Alveolitis
ELISA	Enzyme-linked immuno sorbent assay
GCP	Granulocyte chemotactic protein
IL-1/ -2/ -8	Interleukin-1/ -2/ -8
(s) IL-2 Rez	(soluble) Interleukin-2 Rezeptor
IPF	Idiopathische Lungenfibrose
NAP-1	Neutrophile activating protein-1
NR	Nichtraucher
MIP-1	Macrophage inflammatory protein-1
p	Signifikanz
pO <sub>2</sub>	Sauerstoffpartialdruck
R / ExR	Raucher / ehemalige Raucher
r <sub>s</sub>	Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman
S	Standard
SVR	Standardverdünnungsreihe
Std.-abw.	Standardabweichung
TCGF	T cell growth factor
TNF	Tumor necrosis factor
Übr.-ILK	Übrige interstitielle Lungenkrankheiten
UIP	Usual interstitial pneumonitis
/L	in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit
/S	im Serum
/B	im Blut



10 Literaturverzeichnis

- 1 Agerberth B, Grunewald J, Castanos-Velez E, Olsson B, Jornvall H, Wigzell H, Eklund A, Gudmundsson GH: Antibacterial components in bronchoalveolar lavage fluid from healthy individuals and sarcoidosis patients. *Am J Respir Crit Care Med* 1999 Jul; 160(1): 283-90
- 2 Amersham Pharmacia Biotech UK Limited, Little Chalfont, Buckinghamshire UK: Photometer Ultrospec 3000. Little Chalfont 1996
- 3 Amrein R, Keller R, Joos H, Herzog H: Neue Normalwerte für die Lungenfunktionsprüfung mit der Ganzkörperplethysmographie. *Dt med Wsch* 1969; 94: 1785-93
- 4 Baggiolini M, Dewald B, Moser B: HUMAN CHEMOKINES: An Update. *Annu Rev Immunol* 1997; 15: 675-705
- 5 Baggiolini M: Chemokines and leukocyte traffic. *Nature* 1998 Apr; 392: 565-568
- 6 Baumgartner KB, Samet JM, Coultas DB, Stidley CA, Hunt WC, Colby TV, Waldron JA: Occupational and environmental risk factors for idiopathic pulmonary fibrosis: a multicenter case-control study. Collaborating Centers. *Am J Epidemiol* 2000 Aug 15; 152(4): 307-15
- 7 Baumgartner KB, Samet JM, Stidley CA, Colby TV, Waldron JA: Cigarette smoking: a risk factor for idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1997 Jan; 155(1): 242-8
- 8 Bergeron A, Bonay M, Kambouchner M, Lecossie D, Riquet M, Doler P, Hance A, Tazi A: Cytokine patterns in tuberculous and sarcoid granulomas: correlation with histopathologic features of the granulomatous response. *J Immunol* 1997 Sep; 159(6): 3034-43
- 9 Boomars KA, Schweizer RC, Zanen P, van den Bosch JM, Lammers JW, Koenderman L: Eosinophil chemotactic activity in bronchoalveolar lavage from idiopathic pulmonary fibrosis is dependent on cytokine priming of eosinophils. *Eur Respir J* 1998 May; 11(5): 1009-14

- 10 Bortz J, Lienert GA: Kurzgefaßte Statistik für die klinische Forschung – Ein praktischer Leitfaden für die Analyse kleiner Stichproben. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 1998; 126-35
- 11 Bortz J, Lienert GA: Kurzgefaßte Statistik für die klinische Forschung – Ein praktischer Leitfaden für die Analyse kleiner Stichproben. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 1998; 234-37
- 12 Bühlmann Laboratories AG, Allschwil, Schweiz: ACE – kinetischer Test für die Messung von Angiotensin-I-Converting Enzyme im Serum (KK-ACK). Allschwil 1996
- 13 Chappell AG, Cheung WY, Hutchings HA: Sarcoidosis: a long term follow up study. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis* 2000 Jun; 17(2): 167-73
- 14 Cherniak RM, Raber MB: Normal standards for ventilatory funktion using an automated wedge spirometer. *Am Rev Resp Dis* 1972; 106: 38-46
- 15 Classen M, Diehl V, Kochsiek K (Hrsg.): *Innere Medizin*. Urban & Schwarzenberg, München Wien Baltimore 1994
- 16 Classen M, Diehl V, Kochsiek K (Hrsg.): *Innere Medizin*. Urban & Schwarzenberg, München Wien Baltimore 1994; 1254
- 17 Cummiskey J, La Sure R, Yee J: Bronchoalveolar angiotensin converting enzyme acitivity. Value in assessing disease activity in sarcoidosis. *J Med*. 1984; 15(3): 213-25
- 18 De Vries J, Seebregts A, Drent M: Assessing health status and quality of life in idiopathic pulmonary fibrosis: which measure should? *Respir Med* 2000 Mar; 94(3): 273-8
- 19 Denis M: Proinflammatory cytokines in hypersensitivity pneumonitis. *Am J Respir Crit Care Med* 1995 Jan; 151(1): 164-9
- 20 DPC® - Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA - USA: Milenia® IL2R Endpoint Enzyme Immunometric Assay. Los Angeles 1996

- 21 Drent M, Jacobs JA, de Vries J, Lamers RJ, Liem ICH, Wouters EF: Does the cellular bronchoalveolar lavage fluid profile reflect the severity of sarcoidosis? *Eur Respir J* 1999 Jun; 13(6): 1338-44
- 22 Drent M, van Velzen-Blad H, Diamant M, Hoogsteden HC, van den Bosch JM: Relationship between presentation of sarcoidosis and T lymphocyte profile. A study in bronchoalveolar lavage fluid. *Chest* 1993 Sep; 104(3): 795-800
- 23 Drent M, van Velzen-Blad H, Diamant M, Wagenaar SS, Hoogsteden HC, van den Bosch JM: Bronchoalveolar lavage in extrinsic allergic alveolitis: effect of time elapsed since antigen exposure. *Eur Respir J* 1993 Oct; 6(9): 1276-81
- 24 Dynex - Dynatech Laboratories, West Sussex – UK, Photometer: Dynatech MR5000, 1995
- 25 Gemsa D, Kalden JR, Resch K: *Immunologie: Grundlagen, Klinik, Praxis*. Georg Thieme Verlag Stuttgart New York 1997
- 26 Gudmundsson G, Hunninghake GW: Respiratory epithelial cells release interleukin-8 in response to a thermophilic bacteria that causes hypersensitivity pneumonitis. *Exp Lung Res* 1999 Apr-May; 25(3): 217-28
- 27 Gudmundsson G, Monick MM, Hunninghake GW: Viral infection modulates expression of hypersensitivity pneumonitis. *J Immunol* 1999 Jun; 162(12): 7397–401
- 28 Herold G und Mitarbeiter: *Innere Medizin*. Köln 1999
- 29 Hosoya S: Clinical features of 125 patients with sarcoidosis: Okayama University Hospital review of a recent 10-year period. *Acta Med Okayama* 1992 Feb; 46(1): 31-6
- 30 Hurst PL, Lovell-Smith CJ: Optimized assay for serum angiotensin converting enzyme activity. *Clin Chem* 1981; 27: 2048-52

- 31 Ina Y, Takada K, Sato T, Yamamoto M, Noda M, Morishita M: Soluble interleukin-2 receptor in patients with sarkoidosis. Possible origin. *Chest* Oct 1992; 102(4): 1128-33
- 32 Jones KP, Edwards JH, Reynolds SP, Peters TJ, Davies BH: A comparison of albumin and urea as reference markers in bronchoalveolar lavage fluid from patients with interstitial lung disease. *Eur Respir J* 1990 Feb;3(2):152-6
- 33 Jordana M, Dolovich M, Newhouse M: Lung epithelial permeability in sarcoidosis. *Sarcoidosis* 1987; 4: 116-121
- 34 Junghans RP, Stone AL, Lewis MS: Biophysical characterization of a recombinant soluble interleukin-2 receptor (Tac). *J Biol Chem* 1996; 271: 10453–60
- 35 Junghans RP, Waldmann TA: Metabolism of Tac (IL-2R $\alpha$ ): physiology of cell surface shedding and renal catabolism, and suppression of catabolism by antibody binding. *J Exp Med* 1996; 183: 1587–602
- 36 Katzenstein AL, Myers JL: Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157: 1301-15
- 37 Keicho N, Kitamura K, Takaku F, Yotsumoto H: Serum concentration of soluble interleukin-2 receptor as a sensitive parameter of disease activity in sarcoidosis. *Chest* 1990 Nov; 98(5): 1125-9
- 38 Kelley J: Cytokines of the Lung. *Am Rev Respir Dis* 1990; 141: 765-88
- 39 Kirchner H, Kruse A, Neustock P, Rink L: Cytokine und Interferone. Spektrum, Akademischer Verlag Heidelberg Berlin Oxford 1994
- 40 Kirsten AM, Kirsten D: Diagnose und Therapie der Sarkoidose. *Med Klin* 2000; 95(4): 211-2
- 41 Lawrence EC, Brousseau KP, Berger MB, Kurman CC, Marcon L, Nelson DL: Elevated concentration of soluble inter-leukin-2 receptors in serum samples and bronchoalveolar fluids in active sarcoidosis. *Am Rev Respir Dis* 1988; 137: 759–64

- 42 Lieberman J: Elevation of serum angiotensin converting enzyme (ACE) level in sarcoidosis. *Am J Med* 1975; 59: 365-72
- 43 Losa Garcia JE, Rodriguez FM, Martin de Cabo MR, Garcia Salgado MJ, Losada JP, Villaron LG, Lopez AJ, Arellano JL: Evaluation of inflammatory cytokine secretion by human alveolar macrophages. *Mediators Inflamm* 1999; 8(1): 43-51
- 44 Marshall BG, Shaw RJ: Association between angiotensin II reseptor gene polymorphism and serum angiotensin converting enzyme (SACE) activity in patients with sarcoidosis. *Thorax* 1998 June; 53: 439-40
- 45 Meliconi R, Lalli E, Borzi RM, Sturani C, Galavotti V, Gunella G, Miniero R, Facchini A, Gasbarrini G: Idiopathic pulmonary fibrosis: can cell mediated immunity markers predict clinical outcome? *Thorax* 1990 Jul; 45(7): 536-4
- 46 Michaelson JE, Aguayo SM, Roman J: Idiopathic pulmonary fibrosis: a practical approach for diagnosis and management. *Chest* 2000 Sep; 118(3): 788-94
- 47 Milanowski J, Dutkiewicz J, Potoczna H, Kus L, Urbanowicz B: Allergic alveolitis among agricultural workers in eastern Poland: a study of twenty cases. *Ann Agric Environ Med* 1998 Jun 30; 5(1): 31-43
- 48 Morgan DA, Ruscetti FW, Gallo RC: Selective in vitro growth of T-lymphocytes from human bone marrow. *Science* 1976; 193: 1007-8
- 49 Mori PA, Pesci A, Bertorelli G, Anghinolfi M, Strinati F, Barilli F, Olivieri D: The Intensity of Sarcoidosis Alveolitis Is Related to Albumin and IgG Levels in BAL. *Respiration* 1988; 54(1): 30-35
- 50 Morris JC , Waldmann TA: Advances in interleukin 2 reseptor targeted treatment. *Ann Rheum Dis* 2000; 59: 109-114
- 51 Müller-Quernheim J, Pfeifer S, Kienast K, Zissel G: Spontaneous interleukin-2 release of bronchoalveolar lavage cells in sarcoidosis is a codeterminator of prognosis. *Lung* 1996; 174(4): 243-53

- 52 Murin S, Bilello KS, Matthay R: Other smoking-affected pulmonary diseases. Clin Chest Med 2000 Mar; 21(1): 121-37
- 53 Nagai S, Hoshino Y, Hayashi M, Ito I: Smoking-related interstitial lung diseases. Curr Opin Pulm Med 2000 Sep; 6(5): 415-9
- 54 Neels HM, Scharpe SL, van Sande ME, Verkerk RM, Van Acker KJ: Improved micromethod for assay of serum angiotensin converting enzyme. Clin Chem 1982; 28(6): 1352-5
- 55 Niederle N, Bergmann L, Ganser A: Zytokine: Präklinik und Klinik. Gustav Fischer Verlag Jena 1996
- 56 Orion Diagnostica, Espoo, Finland: Microalbuminuria Assay. Espoo 1991
- 57 Perez-Arellano JL, Barrios MN, Martin T, Sanchez ML, Jimenez A, Gonzalez-Buitrago JM: Hydrolytic enzyme of the alveolar macrophage in diffuse pulmonary interstitial disease. Respir Med 1996 Mar; 90(3): 159-66
- 58 Peros-Golubicic T, Ljubic S: Cigarette smoking and sarcoidosis. Acta Med Croatica 1995; 49(4-5): 187-93
- 59 Pforte A, Brunner A, Gais P, Strobel M, Burger G, Breyer G, Haussinger K, Ziegler-Heitbrock L: Increased levels of soluble serum interleukin-2 receptor in extrinsic allergic alveolitis correlate with interleukin-2 receptor expression on alveolar macrophages. J Allergy Clin Immunol 1994 Dec; 94: 1057-64
- 60 PIC GmbH München: STASY V10 – Statistiksystem für Microcomputer. München 1981
- 61 Pierce Chemical Company, Rockford, IL – USA: BCA – Protein Assay Reagent. Rockford 1991
- 62 Prior C, Barbee RA, Evans PM, Townsend PJ, Primett ZS, Fyhrquist F, Gronhagen-Riska C, Haslam PL: Lavage versus serum measurements of lysozym, angiotensin converting enzyme and other inflammatory markers in pulmonary sarcoidosis. Eur Respir J 1990 Nov; 3(10): 1146-54
- 63 Pschyrembel (Begr.): Klinisches Wörterbuch. de Gruyter, Berlin New York 1998

- 64 R&D – Systems, Minneapolis, MN – USA: Quantikine™ Human IL-8 Immuno Assay. Minneapolis 1996
- 65 Rahman I, Skwarska E, Henry M, Davis M, O'Connor CM, FitzGerald MX, Greening A, MacNee W: Systemic and pulmonary oxidative stress in idiopathic pulmonary fibrosis. *Free Radic Biol Med* 1999 Jul; 27(1-2): 60-8
- 66 Reynolds HY: Bronchoalveolar lavage. *Am Rev Respir Dis* 1987 Jan; 137(1): 250-63
- 67 Rigat B, Hubert C, Alhenc-Gelas F, Cambien F, Corvol P, Soubrier F: An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I - converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. *J Clin Invest* 1990 Oct; 86(4): 1343-6
- 68 Robb RJ, Kutny RM: Structure-function relationships for the IL-2 receptor system. *J Immunol* 1987; 139: 855–62
- 69 Roberts CM, Cairns D, Bryant DH, Burke WMJ, Yeates M, Blake H, Penny R, Shelley L, Zaunders JJ, Breit SN: Changes in epithelial lining fluid albumin associated with smoking and interstitial lung disease. *Eur Respir J* 1993; 6: 110-15
- 70 Romagnani S: T-cell subsets (Th1 versus Th2). *Ann Allergy Asthma Immunol* 2000 Jul; 85(1): 9-18
- 71 Ryu JH, Colby TV, Hartman TE: Idiopathic pulmonary fibrosis: current concepts. *Mayo Clin Proc* 1998 Nov; 73(11): 1085-101
- 72 Schmidt M, Wirtz H: Sarcoidosis of the lung: clinical course and inflammatory activity. *Pneumologie* 1995 Mar; 49(3); 226-32
- 73 Schwartz DA, Van Fossen DS, Davis CS, Helmers RA, Dayton CS, Burmeister LF, Hunninghake GW: Determinants of progression in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1994 Feb; 149(2 Pt 1): 444-9
- 74 Sigma Chemical Company, St. Louis, MO – USA, 1996

- 75 Strausz J, Joachim MQ, Rudolf F: Changes in interleukin-2 receptor levels in active and inactive pulmonary sarcoidosis. *Orv Hetil* 1991 Aug 18; 132(33):1803-6
- 76 Sugiyama Y, Kasahara T, Mukaida N, Matsushima K, Kitamura S: Chemokines in bronchoalveolar lavage fluid in summer-type hypersensitivity pneumonitis. *Eur Respir J* 1995 Jul; 8(7): 1084-90
- 77 Takayanagi R, Ohnaka K, Sakai Y, Nakao R, Yanase T, Haji M, Inagami T, Furuta H, Gou DF, Nakamuta M: Molecular cloning, sequence analysis and expression of a cDNA encoding human type-I angiotensin receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 1992; 183; 910-6
- 78 Taniguchi T, Matsui H, Fujita T, Takaota, C, Kashima N, Yoshimoto R: Structure and expression of a cloned cDNA for human interleukin-2. *Nature* 1983; 302: 305-10
- 79 Tsutsumi T, Nagai S, Imai K, Setoyama Y, Uchiyama T, Izumi T: Soluble interleukin-2 receptor in blood from patients with sarcoidosis and idiopathic pulmonary fibrosis. *Sarcoidosis* Sep 1994, 11(2): 102-9
- 80 Wahlstrom J, Berlin M, Lundgren R, Olerup O, Wigzell H, Eklund A, Grundewald J: Lung and blood T-cell receptor repertoire in extrinsic allergic alveolitis. *Eur Respir J* 1997 Apr; 10(4): 772-9
- 81 Waldmann TA: The interleukin-2 receptor. *J Biol Chem* 1990; 266: 2681-4
- 82 Walker C, Bauer W, Braun R, Menz G, Braun P, Schwarz F, Hansel T, Villinger B: Activated T cells and cytokines in bronchoalveolar lavages from patients with various lung disease associated with eosinophilia. *Am J Respir Crit Care Med* 1994 Oct; 150(4): 1038-48
- 83 Ward C, Fenwick J, Booth H, Walters EH: Albumin is not suitable as a marker of bronchoalveolar lavage dilution in interstitial lung disease. *Eur Respir J* 1997 Sep; 10(9): 2029-33



- 84 Xaubet A, Agusti C, Luburich P, Barbera JA, Carrion M, Ayuso MC, Roca J, Rodriguez-Roisin R: Interleukin-8 expression in bronchoalveolar lavage cells in the evaluation of alveolitis in idiopathic pulmonary fibrosis. *Respir Med* 1998 Feb; 92(2): 338-44
- 85 Yokoyama T, Kanada T, Kobayashi I, Suzuki T: Serum levels of interleukin-8 as a marker of disease activity in patients with chronic sarcoidosis. *J Med* 1995; 26(5-6): 209-19
- 86 Zeilhofer HU, Schorr W: Role of interleukin-8 in neutrophil signaling. *Curr Opin Hematol* 2000; 7: 178-82
- 87 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
- 88 Ziegenhagen MW, Schrum S, Zissel G, Zipfel P, Schlaak M, Müller-Quernheim J: Increased expression of proinflammatory chemokines in bronchoalveolar lavage cells of patients with progressing idiopathic pulmonary fibrosis and sarcoidosis. *Investig Med* 1998 Jun; 46(5): 223-31
- 89 Ziegenhagen MW, Zabel P, Zissel G, Schlaak M, Müller-Quernheim J: Serum level of interleukin 8 is elevated in idiopathic pulmonary fibrosis and indicates disease activity. *Am J Respir Crit Care Med* 1998 Mar; 157: 762-8

## Danksagung

Herrn Prof. Dr. Schmidt danke ich für die Überlassung des Themas sowie für die ausgezeichneten und unbürokratischen Rahmenbedingungen in der pneumologischen Abteilung. Besonders hervorzuheben sind die gute und unkomplizierte Zusammenarbeit sowie die schnelle Korrektur der Arbeit.

Mein ganz besonderer Dank gilt meiner Frau Nici für ihre Toleranz und Geduld sowie für ihren selbstverständlichen Optimismus während der experimentellen Phase und beim Verfassen der Arbeit. Zusätzliche Motivation gab mir meine goldige Tochter Maike seit dem Mai 2000.

Meinen lieben Eltern danke ich aufrichtig für ihre großzügige Unterstützung in jeglicher Hinsicht während meiner gesamten Ausbildung. Meinem lieben Vater danke ich für die unermüdlichen Diskussionen und Motivationen während der Doktorarbeit, die vielen hilfreichen Anregungen und schließlich für das aufwendige Korrekturlesen der Arbeit.

Bei Margret Wechner möchte ich mich ganz herzlich für ihre professionelle aber auch einfühlsame und ausdauernde Betreuung bedanken. Sie verstand es hervorragend, ein aufgelockertes Klima im Labor zu schaffen und Freude an der wissenschaftlichen Arbeit zu vermitteln. Ich wünsche ihr vor allem viel Gesundheit und die Kraft, die vielen folgenden Doktoranden weiterhin so zu betreuen.

Ich danke Herrn Prof. Dr. O. Elert für die Nutzung des Patientenarchivs der Herz- und Thoraxchirurgie, sowie für die freundliche und unkomplizierte Übernahme des Zweitgutachtens.

Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. K. Kochsiek danke ich für die Möglichkeit, an der Medizinischen Klinik promovieren zu dürfen sowie für die Nutzung des Patientenarchivs.

Herrn Prof. Dr. G. Ertl danke ich, die Promotion an der Medizinischen Klinik abschließen zu dürfen.

# Lebenslauf

## Angaben zur Person

Name: Kurt Burkhart Hiller  
Wohnort: Haldenstraße 2  
75239 Eisingen  
Geburtstag und Ort: 31.12.1971 in Freiberg / Sachsen  
Familienstand: verheiratet, ein Kind

## Ausbildung

9/1978 – 6/1988 Zehnjährige Allgemeinschule in Freiberg  
9/1988 – 6/1990 Gymnasium "Geschwister Scholl" in Freiberg  
6/1990 Allgemeine Hochschulreife  
9/1990 – 9/1991 Wehrdienst - 3./ Panzergrenadierbataillon 371  
Marienberg / Sachsen  
1/1992 – 4/1992 Pflegehelfer KKH Bietigheim/Bissingen  
5/1992 – 5/1999 Studium der Humanmedizin,  
Bayrische Julius-Maximilians-Universität Würzburg  
9/1999 – 2/2001 Arzt im Praktikum, Fachgebiet Orthopädie,  
ARCUS Sportklinik Pforzheim  
3/2001 Approbation  
3/2001 – Assistenzarzt, Fachgebiet Orthopädie,  
ARCUS Sportklinik Pforzheim

Eisingen, den 18.06.2001



Burkhart Hiller