

Exhalative Marker bei der Idiopathischen Lungenfibrose und anderen diffus parenchymatösen Lungenerkrankungen

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
des Fachbereichs Medizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von Brinkmeier, Maike
aus Bielefeld

Gießen 2016

Aus dem
Zentrum für Innere Medizin
Medizinische Klinik und Poliklinik II (Leiter Prof. Dr. W. Seeger)
Klinische Forschergruppe Lungenfibrose (Leiter Prof. Dr. A. Günther)
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Gutachter: Prof. Dr. Günther

Gutachter: Prof. Dr. Wygrecka

Tag der Disputation: 14.06.2018

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	1
1.1	Definition und Klassifikation der interstitiellen Lungenerkrankungen	2
1.2	Idiopathisch Interstitielle Pneumonien.....	3
1.2.1	Idiopathisch Pulmonale Fibrose.....	3
1.2.1.1	Klinische Manifestation, Diagnostik und Therapie.....	4
1.2.1.2	Epidemiologie.....	7
1.2.1.3	Pathogenese	7
1.2.2	Nicht-spezifische Interstitielle Pneumonie.....	11
1.2.3	Kryptogen Organisierende Pneumonie	12
1.2.4	Akut Interstitielle Pneumonie	13
1.2.5	Respiratory bronchiolitis-ILD.....	14
1.2.6	Desquamative interstitielle Pneumonie	15
1.2.7	Nicht-klassifizierbare IIP	16
1.3	Andere untersuchte ILD.....	16
1.3.1	Sarkoidose	16
1.3.2	Exogen Allergische Alveolitis.....	17
1.3.3	Fibrosen innerhalb des rheumatoiden Formkreises	18
1.4	Andere chronische Lungenerkrankungen	18
1.5	Der Alveoläre Lining Fluid (ALF).....	19
1.6	Stellenwert invasiver und nicht-invasiver Untersuchungen bei Screening und Verlaufsbeobachtung pneumologischer Erkrankungen	20
1.6.1	BAL-Gewinnung	20
1.6.2	Sputum-Gewinnung.....	21
1.6.3	Atemkondensat	21
1.6.3.1	Entstehung und Zusammensetzung des Atemkondensats	21

1.6.3.2	Beurteilung des EBC	22
1.6.4	Lungenfunktionsparameter	24
1.7	Biomarker für interstitielle Lungenerkrankungen	24
1.7.1	Exhalierendes Stickstoffmonoxid (NO)	25
1.7.1.1	Herkunft und Biochemie des NO	25
1.7.1.2	Beurteilung von FeNO als Biomarker.....	26
1.7.2	Mögliche Biomarker im EBC - Arachidonsäure-Derivate.....	27
1.7.2.1	8-Isoprostan	28
1.7.2.2	Prostaglandin E2	29
1.7.3	Andere Biomarker bei ILD	30
2.	Fragestellung.....	33
3.	Material und Methoden.....	34
3.1	Materialien.....	34
3.1.1	Geräte	34
3.1.1.1	Geräte der Lungenfunktion	34
3.1.1.2	Konzentrierung der Proben.....	34
3.1.1.3	Festphasenextraktion	35
3.1.1.4	ELISA	35
3.1.2	Verbrauchsmaterialien.....	36
3.2	Methoden	36
3.2.1	Europäisches IPF Register (eurIPFreg).....	36
3.2.2	Einverständniserklärung und Datensicherung.....	37
3.2.3	Untersuchte Patientenkollektive.....	37
3.2.4	Klinische Datenerhebung.....	45
3.2.5	Lungenfunktionsmessung.....	45
3.2.6	FeNO-Messung	45
3.2.7	Gewinnung der bronchoalveolären Spülflüssigkeit (BALF)	46

3.2.8	Gewinnung des Atemkondensats	46
3.2.9	PGE2 / 8-Isoprostan Enzyme linked Immunosorbent Assay (ELISA).....	47
3.2.9.1	Totales 8-Isoprostan und Aufreinigung über Festphasen-Extraktion.....	49
3.2.9.1	Konzentrierung der Atemkondensate.....	49
3.2.10	Statistische Auswertung	49
4.	Ergebnisse	51
4.1	FeNO-Ergebnisse.....	51
4.1.1	FeNO-Werte in den verschiedenen Kollektiven	51
4.1.2	Korrelationen von FeNO-Werten mit klinischen Parametern.....	52
4.1.3	Beeinflussende Faktoren auf die FeNO-Messung bei allen Patienten.....	56
4.1.4	Intraindividueller FeNO-Verlauf.....	56
4.1.5	FeNO-Werte in Exazerbation.....	57
4.2	Freies 8-Isoprostan im EBC.....	59
4.3	PGE2 im EBC.....	60
4.4	Freies und totales 8-Isoprostan in der BALF.....	61
4.5	Zusammenhang zwischen freiem und totalem 8-Isoprostan	63
4.6	PGE2 in der BALF	63
4.6.1	Zeitlicher Verlauf von klinischen Parametern und Korrelation mit 8-Isoprostan- und PGE2-Spiegeln aus der BALF	64
4.6.2	Vergleich der ELISA-Ergebnisse von EBCs und BALFs von Patienten während des gleichen stationären Aufenthalts.....	71
5.	Diskussion.....	72
5.1	FeNO-Ergebnisse.....	72
5.1.1	Methodik der FeNO-Messung.....	72
5.1.2	Einordnung der FeNO-Werte in die Literatur.....	76
5.1.2.1	NO im IPF-Kollektiv	76
5.1.2.1.1	Neue Aspekte des NOS-ADMA-DDAH-Weges.....	82
5.1.2.2	NO in den verschiedenen ILD-Gruppen.....	86

5.1.2.3	NO-Werte bei COPD-Patienten	91
5.1.2.4	NO in Bronchialkarzinom-Patienten	94
5.2	ELISA-Ergebnisse der Eicosanoide	96
5.2.1	Methodische Schwierigkeiten von 8-Isoprostan und Prostaglandin E2	96
5.2.2	Spiegeln die Ergebnisse der Eicosanoid-Bestimmung im EBC die des BALFs beziehungsweise des ALFs wider?	98
5.3	PGE2.....	99
5.4	8-Isoprostan	101
6.	Zusammenfassung	105
7.	Summary.....	106
8.	Abkürzungsverzeichnis.....	107
9.	Abbildungsverzeichnis.....	112
10.	Tabellenverzeichnis.....	114
11.	Literaturverzeichnis	114
12.	Anhang.....	143
13.	Erklärung zur Dissertation	153
14.	Danksagung	154

1. Einleitung

Die Idiopathische Lungenfibrose (IPF) ist eine progressiv verlaufende und gleichzeitig die häufigste Form der idiopathischen interstitiellen Pneumonien (IIP), deren Gruppe interstitielle Pneumonien unbekannter Ursache beinhaltet (Travis et al. 2013), (American Thoracic Society und European Respiratory Society 2002). Trotz intensiver Forschung ist der Pathomechanismus der IPF noch nicht restlos aufgedeckt worden. Aktuell wird von einem Epithelzellschaden mit nachfolgend gestörter Wundheilung innerhalb einer gestörten epithelial-mesenchymalen Interaktion ausgegangen (Xu et al. 2014), (Wilson und Wynn 2009). Die Prognose ist mit dem medianen Überleben von 2,5 - 3,5 Jahren nach Diagnosestellung schlecht (King et al. 2001) und therapeutisch steht man erst am Anfang einer zielgerichteten Behandlung. Oft bleibt nur eine Lungentransplantation als Ultima Ratio. Zur Diagnostik der IPF werden in der allgemeinen Praxis bislang invasive Untersuchungen, wie zum Beispiel die videoassistierte Thorakoskopie (VATS), die bronchoalveoläre Lavage (BAL) und die hochauflösende Computertomografie (HRCT) durchgeführt. Der Bedarf an spezifischen, nicht-invasiven Untersuchungsmethoden ist groß. Die Vorteile könnten in einer frühzeitigen Diagnosestellung mit einer schnelleren Therapieeinleitung begründet liegen. Außerdem bestünde die Möglichkeit, respiratorische Erkrankungen einfach, schnell reproduzierbar und kostengünstig zu überwachen. Insbesondere könnten so dem Patienten unangenehme Untersuchungen und deren Risiken, wie zum Beispiel Gasaustauschstörungen, Blutungen und Pneumonien, erspart bleiben (Effros et al. 2002). In der ausgeatmeten Luft werden verschiedene Gase und Moleküle transportiert, die möglicherweise als Biomarker die pathophysiologischen Veränderungen in der Lunge widerspiegeln können. Ihren Ursprung nehmen sie aus der alveolär bedeckenden Flüssigkeitsschicht (ALF), die als Abwehrbarriere, Gastransport und Medium für Botenstoffe fungiert (Kubáň und Foret 2013).

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Frage, ob sich die IPF mit nicht-invasiven Biomarkern in der Ausatemluft diagnostizieren und gegenüber anderen Entitäten abgrenzen lässt. Zum einen wurde das Gas Stickstoffmonoxid (NO) untersucht, das bereits bei Asthmapatienten klinisch genutzt wird (Kharitonov et al.), (Franklin et al.), (American Thoracic Society und European Respiratory Society 2005). Zum anderen wurden Prostaglandin E₂ und 8-Isoprostan im Atemkondensat untersucht.

1.1 Definition und Klassifikation der interstitiellen Lungenerkrankungen

Die interstitiellen Lungenerkrankungen (ILD) umfassen eine größere Gruppe von Lungenerkrankungen, die über eine diffuse Narbenbildung des Lungeninterstitiums zu einer Fibrose führen (Cushley et al. 1999). Diese Gruppe an Erkrankungen wird auch als Diffus Parenchymatöse Lungenerkrankung (DPLD) bezeichnet.

Je nachdem, ob die zugrundeliegende Ursache bekannt ist oder nicht, kann man dieILDs dementsprechend gliedern. Die Abbildung 1 soll einen Überblick über die wichtigsten Entitäten derILDs vermitteln. In der vorliegenden Arbeit werden alle Entitäten, die klinisch zur Verfügung standen, mit Hauptaugenmerk auf die IPF erläutert.

Interstitielle Lungenerkrankungen

Bekannte Ursachen:

- Pneumokoniosen
- Exogen Allergische Alveolitis (EAA)
- ILDs durch Medikamente und Bestrahlung
- ARDS: Acute respiratory distress Syndrome

Unbekannte Ursachen:

- Sarkoidose
- Kollagenosen / Vaskulitiden (Connective Tissue Disease: CTD-ILD)

- IIP:**
- IPF } chronisch fibrosierend
 - NSIP } }
 - AIP } akut/subakut verlaufend
 - COP } }
 - RB-ILD } Zigarettenrauch assoziiert
 - DIP } }
- } **"major"**
- LIP } }
 - Pleuroparenchymale Fibroelastosis } **"rare"**
- Nicht-klassifizierbare IIP

Abbildung 1: Interstitielle Lungenerkrankungen: Schematische Abbildung der wichtigstenILDs. NSIP: Nicht-spezifische Interstitielle Pneumonie, AIP: Akut Interstitielle Pneumonie, COP: Kryptogen Organisierende Pneumonie, RB-ILD: Respiratory bronchiolitisILD, DIP: Desquamativ Interstitielle Pneumonie, LIP: Lymphozytäre Interstitielle Pneumonie. Modifiziert nach (Travis et al. 2013), (American Thoracic Society und European Respiratory Society 2002).

1.2 Idiopathisch Interstitielle Pneumonien

Eine heterogene Gruppe unbekannter Ursache unter den interstitiellen Lungenerkrankungen bilden die idiopathisch interstitiellen Pneumonien (IIP) (Travis et al. 2013), (American Thoracic Society und European Respiratory Society 2002). Bei den IIP führt ein inflammatorischer und fibrotischer Umbauprozess zu parenchymatösen Schäden in der Lunge und letztendlich zu einer Fibrose (Cushley et al. 1999).

Nach der ATS/ERS-Klassifikation 2013 beinhaltet die IIP die folgenden Typen: Die IPF, die Desquamative Interstitielle Pneumonie (DIP), die respiratory bronchiolitis-ILD (RB-ILD), die Akute Interstitielle Pneumonie (AIP), die Nicht-spezifische Interstitielle Pneumonie (NSIP) und die Kryptogen Organisierende Pneumonie (COP) (American Thoracic Society und European Respiratory Society 2002), (Travis et al. 2013).

Diese sechs Typen gehören zu den häufigen IIP, der sogenannten "*major*" Gruppe, die man wiederum in die chronisch fibrosierenden (IPF und NSIP), in die akut oder subakut verlaufenden (COP und AIP) sowie in die Zigarettenrauch-assoziierten (RB-ILD und DIP) gruppieren kann (Travis et al. 2013). In die "*rare*" Gruppe gehören die Idiopathische Lymphozytäre Interstitielle Pneumonie (iLIP) und die Idiopathische Pleuroparenchymale Fibroelastose (iPPFE). Bis auf die DIP und die RB-ILD, die sicher im Zusammenhang mit Nikotinabusus stehen, haben alle anderen Entitäten eine ungeklärte Ätiologie und werden als idiopathisch bezeichnet (Travis et al. 2013). Zuletzt gibt es noch die nicht-klassifizierbaren IIP (American Thoracic Society und European Respiratory Society 2002), (Travis et al. 2013). Bei allen IIPs wird eine interdisziplinäre Zusammenarbeit zwischen Pneumologen, Radiologen und Pathologen zur Diagnosefindung gefordert (Travis et al. 2013).

1.2.1 Idiopathisch Pulmonale Fibrose

Die IPF ist die häufigste (Coulthart et al. 1994) und am schwerwiegendsten verlaufende IIP, deren histopathologisches Kennzeichen die heterogene Fibrosierung mit Fibroblastenzellnestern darstellt (Raghu et al. 2011). Sie ist definiert als eine chronische Form der interstitiellen Lungenentzündung unbekannter Ursache, die vorzugsweise im höheren Lebensalter auftritt (Raghu et al. 2011). In den meisten Fällen schreitet die Erkrankung kontinuierlich fort (Gross und Hunninghake 2001), wobei der Verlauf variabel ist. Durch den Progress der chronischen Fibrosierung kommt es zu dem Bild einer

restriktiven Ventilationsstörung mit einer verschlechterten respiratorischen Situation und einer vermehrten Atemarbeit (Martinez et al. 2000).

Das mittlere Überleben liegt zwischen drei und sechs Jahren (Douglas et al. 2000), (Gribbin et al. 2006), (Plessen et al. 2003), (King et al. 2001) und es steht bis jetzt keine ausreichende Therapie zur Verfügung (Raghu et al. 2011).

Neben der sporadischen IPF wird auch eine seltenere familiäre Form der IPF beschrieben, bei der definitionsgemäß zwei oder mehr Mitglieder einer Familie erkrankt sein müssen (Raghu et al. 2011), (Marshall et al. 2000), (Hodgson et al. 2002), (Bitterman et al. 1986). Einige genetische Mutationen wurden bereits festgestellt (Mutationen in Surfactant Protein C Wang et al. 2009, Nogee et al. 2001 und A2 Wang et al. 2009 sowie in der Telomerase Armanios et al. 2007, Mushiroda et al. 2008). In der Regel erkranken die Patienten in einem früheren Lebensalter, bezüglich der klinischen Ausprägung konnte jedoch kein Unterschied festgestellt werden (Marshall et al. 2000), (Ravaglia et al. 2014).

1.2.1.1 Klinische Manifestation, Diagnostik und Therapie

Zu den typischen klinischen Zeichen der IPF zählen eine ungeklärte chronische Belastungsdyspnoe, unproduktiver Husten, bibasiläres inspiratorisches Knisterrasseln (Sklerosiphonie) sowie Uhrglasnägel und Trommelschlegelfinger (Douglas et al. 2000), (King et al. 2001), (Tukiainen et al. 1983).

Objektivierbar ist die pulmonale Verschlechterung in der restriktiven Lungenfunktion mit einer verminderten Vitalkapazität (VC), einer verminderten totalen Lungenkapazität (TLC) sowie mit einer eingeschränkten Diffusionskapazität für CO (DLCO) (American Thoracic Society und European Respiratory Society 2002), (Raghu et al. 2011). Außerdem sind eine subjektiv zunehmende Dyspnoe in der Borg-Skala (Schwartz et al. 1994) und eine verminderte Gehstrecke im Sechs-Minuten-Gehtest (6 MGT) mit verminderter Sauerstoffsättigung (SaO₂) messbar (Flaherty et al. 2006). In der Blutgasanalyse (BGA) sind Veränderungen, wie eine Hypoxie und Hyperkapnie, feststellbar (Nava und Rubini 1999). Der klinische Verlauf der IPF ist variabel (Collard et al. 2007), (Carrington et al. 1978), (Kim et al. 2006). Die IPF kann relativ stabil, schleichend progredient oder rasch progredient verlaufen. Gehäufte Exazerbationen können zu einer schnellen Krankheitsprogression führen und einen fatalen Ausgang nehmen (Collard et al. 2007). Die Lebensqualität hängt am stärksten von der Schwere der Dyspnoe ab (Martinez et al. 2000).

Die Patienten versterben an respiratorischem Versagen und / oder Komorbiditäten (Tukiainen et al. 1983), (Gross und Hunninghake 2001), (Nava und Rubini 1999).

Begleiterkrankungen, wie die Pulmonale Hypertonie mit einer Rechtsherzbelastung, dem gastro-ösophagealen Reflux (Hershcovici et al. 2011), dem obstruktiven Schlafapnoe Syndrom (OSAS), Übergewicht und Emphyseentwicklung haben eine wichtige Bedeutung und können das Überleben beeinflussen (Raghu et al. 2011), (American Thoracic Society und European Respiratory Society 2002).

In der evidenzbasierten Richtlinie zur Diagnose und Management der IPF aus dem Jahr 2011 werden folgende Kriterien zur Diagnosestellung formuliert (Raghu et al. 2011):

1. Andere bekannte Ursachen für eine ILD, wie zum Beispiel berufliche Umwelteinflüsse, systemische Erkrankungen aus beispielsweise dem rheumatologischen Formkreis oder viralen Ursprungs sowie Medikamente und Bestrahlung, müssen ausgeschlossen sein (American Thoracic Society und European Respiratory Society 2002), (American Thoracic Society 2000).

2. Im HRCT liegt einwandfrei ein definitives UIP-Muster (*usual interstitial pneumonia*) vor. Es existieren drei mögliche Gruppen für die Wahrscheinlichkeit eines UIP-Musters (definitiv-möglich-nicht vereinbar). Ein definitives UIP-Muster präsentiert sich beidseits subpleural bis basal als retikuläres Muster mit Honigwaben (*honeycombing*) sowie möglichen Traktionsbronchiektasen. Bei Patienten mit einem definitiven UIP-Muster im HRCT ist eine offene Lungenbiopsie zur Diagnosestellung entbehrlich (Johkoh et al. 1999a), (Raghu et al. 2011).

3. Nachweis eines histopathologischen UIP-Musters, gekennzeichnet durch eine Komplexfibrosierung mit Aufhebung der Lungenstruktur, welche mit oder ohne Honigwaben besonders subpleural und paraseptal auftritt. Weiter charakteristisch sind fleckige Fibrosierungen im Parenchym mit Fibroblastennestern, den sogenannten *fibroblast foci*, und das Fehlen anderer Zeichen, die für andere Diagnosen sprechen würden, wie zum Beispiel hyaline Membranen, Granulome oder eine peribronchiovaskuläre Lokalisation (Katzenstein und Myers 1998), (Travis et al. 2000), (Raghu et al. 2011).

Die Genauigkeit der Diagnose erhöht sich deutlich durch eine interdisziplinäre Diskussion unter Beteiligung erfahrener Pneumologen, Radiologen und Pathologen (Raghu et al. 2011).

Therapeutisch stand lange Zeit kein effizientes Medikament zur Verfügung. Zunächst wurden unter der Vermutung einer zugrundeliegenden chronischen Inflammation Steroide

und Zytostatika eingesetzt. Es konnte jedoch kein Überlebensvorteil beobachtet werden (Raghu et al. 2011), (Raghu et al. 2012b). Zahlreiche Studien wurden geführt, in denen versucht wurde, die bei der IPF pathologisch veränderten Signalwege und Effektormoleküle zu blockieren. Eine Beeinflussung der Erkrankungsprogression oder der Mortalität konnte jedoch nicht erreicht werden (Inhibition von: Tumornekrosefaktor α (TNF α) (Etanercept) (Raghu et al. 2008), Endothelin (Bosentan) (King et al. 2011), Thrombin (inhalatives Heparin) (Markart et al. 2010), (Warfarin) (Noth et al. 2012), *platelet derived growth factor* (PDGF) (Imatinib) (Daniels et al. 2010)).

N-Acetyl-Cystein (N-ACC) fungiert als Vorläufer des Antioxidans Glutathion und greift somit in den oxidativen Stress der IPF ein (Gillissen und Nowak 1998). In der IFIGENIA-Studie (Demedts et al. 2005) konnte eine signifikante Abmilderung der Lungenfunktionsverschlechterung unter N-ACC in Kombination mit Azathioprin und Prednisolon beobachtet werden (Demedts et al. 2005), (Raghu et al. 2011). In der darauffolgenden PANTHER-IPF Studie (Raghu et al. 2012a) wurde ein Studienarm aufgrund von erhöhter Mortalität mit dieser Dreierkombination abgebrochen (Albera et al. 2013) und in der Monotherapie mit N-ACC wurde kein signifikanter Unterschied im Hinblick auf die FVC-Veränderung zum Placeboarm beobachtet (Martinez et al. 2014). Dennoch wird N-ACC häufig klinisch angewendet, besonders in Kombination mit Langzeitsauerstoff und Pirfenidon (Cottin 2014).

Erste Erfolge bezüglich des Krankheitsprozesses wurden mit der Substanz Pirfenidon erzielt (Adamali und Maher 2012), (Arai et al. 2014), (Noble et al. 2011), der eine anti-fibrotische Wirkung beigemessen wird (Günther et al. 2012). Die Zulassung hat Pirfenidon 2011 für die Behandlung der leichten bis mittelschweren IPF in der Europäischen Union erhalten (InterMune Deutschland GmbH 15.03.2012) sowie im Oktober 2014 in den USA (Roche 16.10.2014). Die RECAP Studie konnte ein positives Nebenwirkungsprofil auch im Langzeitverlauf für Pirfenidon beobachten (Cottin und Maher 2015).

Neue Therapieansätze zielen auf die gestörten, fibrotischen Wundheilungsprozesse ab, zu denen unter anderem Nintedanib (BIBF 1120) zählt (Richeldi et al. 2014b). Dieser Tyrosinkinase-Inhibitor blockiert intrazellulär die Signalwege von *platelet derived growth factor receptor* (PDGFR), *vascular endothelial growth factor receptor* (VEGFR) und *fibroblast growth factor receptor* (FGFR) (Richeldi et al. 2014a), (Hilberg et al. 2008). Weitere experimentelle Zielmoleküle sind IL-13 (Tralokinumab) (Murray et al. 2014), Integrin $\alpha v \beta 6$ (STX-100) (Adamali und Maher 2012), PAR1 (Scotton et al. 2009), F X (Scotton et al. 2009), Angiotensin II (Königshoff et al. 2007) und DDAH2 (Pullamsetti et al. 2011)).

Unter die nicht-medikamentöse Therapie fällt die Langzeit-Sauerstoff Therapie und die pulmonale Rehabilitation, die einen positiven Einfluss auf die Gehstreckendistanz im 6 MGT und die Lebensqualität nehmen kann (Raghu et al. 2011). Wichtig ist auch die Vermeidung von Infektionen durch präventive Impfmaßnahmen und frühzeitige Antibiotikagabe (Raghu et al. 2011). Auch die Möglichkeit einer Lungentransplantation sollte bei infrage kommenden Patienten in Erwägung gezogen werden (Raghu et al. 2011). Das mediane Überleben nach einer Lungentransplantation beträgt 4,5 Jahre (International Society for Heart & Lung Transplantation 2014).

1.2.1.2 Epidemiologie

Untersuchungen zur Epidemiologie beruhen zum größten Teil auf retrospektiven Studien von Sterberegistern oder ICD Codes. Die Daten sind mit Problemen behaftet, da zum Zeitpunkt der Studiendurchführung meist keine validen Diagnosekriterien vorhanden waren und damit auch andere IIP untersucht worden sein könnten. Die Studien haben sehr unterschiedliche Populationen untersucht (Länder, wie Mexiko, Finnland, England und die USA), sodass eine Vergleichbarkeit der Studien schwierig ist.

Am häufigsten erkranken Männer im fortgeschrittenem Lebensalter zwischen dem sechzigsten und siebzigsten Lebensjahr (Gribbin et al. 2006), (Scott et al. 1990), (Raghu et al. 2006), (Raghu et al. 2011), (Plessen et al. 2003), (Iwai et al. 1994), (Schweisfurth et al. 2003). In der englischsprachigen Literaturübersicht von Nalysnyk et al. wurden 15 Studien zur Prävalenz und Inzidenz der IPF untersucht. Dabei wurde eine Prävalenz in den USA von 14-27,9 pro 100.000 und in Europa von 1,25-23,4 pro 100.000 Einwohner geschätzt (Nalysnyk et al. 2012). Die jährliche Inzidenz liegt in den USA zwischen 6,8-8,8 pro 100.000 und in Europa zwischen 0,22-7,4 pro 100.000 Einwohner (Nalysnyk et al. 2012).

Das mittlere Überleben nach Diagnosestellung schwankt zwischen 3,9 (Gribbin et al. 2006) - 4,1 Jahre (Plessen et al. 2003).

1.2.1.3 Pathogenese

Der Name IPF impliziert, dass die Ätiologie und der genaue Pathomechanismus der Erkrankung nicht geklärt sind. Die Fibrose resultiert aus der vermehrten Synthese von extrazellulärer Matrix (EZM), hier besonderes einer vermehrten Kollagenansammlung.

Histopathologisch erkennt man die typischen *fibroblast foci*, die kontraktile Myofibroblasten beinhalten (Gross und Hunninghake 2001).

Selman et al. haben das Konzept eines alveolären Schadens mit einer abnormen Wundheilung etabliert (Selman und King T. E., Pardo A. 2001), (Geiser 2003). In der dabei vorliegenden gestörten epithelialen-mesenchymalen Interaktion (Selman und Pardo 2002) kommt es zu einem Nebeneinander von sich in Apoptose befindenden und hypertrophierten Typ II Pneumozyten (Günther et al. 2012). Dazu passend, hat Uhal et al. die Apoptose von hyperplastischen Epithelzellen beobachtet, die benachbart zu den *fibroblast foci* liegen (Uhal et al. 1998). Letztendlich führt die Pneumozyt II Apoptose über verschiedene Reparatur-Mechanismen zu einer Vielzahl von pro-fibrotischen Antworten (Günther et al. 2012).

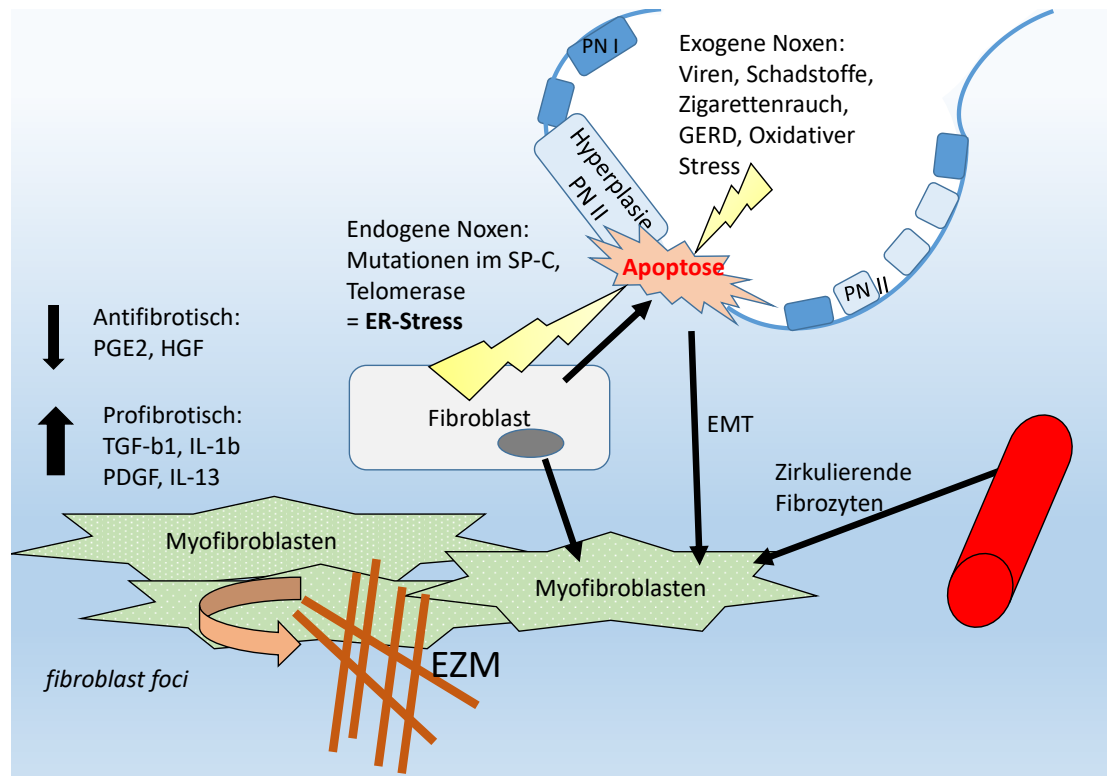


Abbildung 2: Pathogenese der IPF: Epithelialer Zellschaden durch endogene und exogene Ursachen mit fibrotischer Antwort. PN: Pneumozyt, EMT: Epithelial-mesenchymale Transition, EZM: Extrazelluläre Matrix. Modifiziert nach (Camelo et al. 2014), (Wynn 2011).

Wodurch jedoch der Typ II Pneumozyt in den programmierten Zelltod getrieben wird, bleibt spekulativ. Endogen könnte erhöhter und verlängerter endoplasmatischer Retikulum Stress (ER-Stress) eine Rolle spielen (Günther et al. 2012). Dieser tritt zum Beispiel aufgrund von genetischen Mutationen auf, die zum fehlerhaften Prozessieren von Proteinen und zu DNA-Schäden durch sich verkürzende Telomerasen führen (Günther et al. 2012).

In der familiären Form der IPF wurden verschiedene Mutationen beschrieben, wie zum Beispiel die der Telomerasen (TR) und ihrer Reversetranskriptase (TERT) (Armanios et al. 2007), (Mushiroda et al. 2008). Diese Mutationen führen zur ständigen Verkürzung der Telomere, was folglich zu einem chronischen DNA-Schaden führt (Alder et al. 2008), (Armanios et al. 2007). Weitere Mutationen wurden für die Gene der Surfactant Proteine A und C (SP-A und SP-C) beschrieben (Wang et al. 2009). Dabei führt die Akkumulation des mutierten und missgefalteten SP-C im Typ II Pneumozyten (Nogee et al. 2001) zur Auslösung von ER-Stress, der durch sekundäre Hits, wie zum Beispiel Virusinfektionen (Bridges et al. 2006), noch aggraviert werden kann. Dieser chronische ER-Stress treibt die Typ II Pneumozyten letztendlich in die Apoptose (Günther et al. 2012).

Auch bei der sporadischen IPF liegt ein erhöhter ER-Stress vor, der ebenfalls zur Apoptose der Typ II Pneumozyten führen kann (Korfei et al. 2008). Was aber der auslösende Grund für den erhöhten ER-Stress in der sporadischen IPF ist, bleibt fraglich. Der Typ II Pneumozyt ist durch seine hohe sekretorische Leistung als Surfactant Produzent erhöhtem ER-Stress ausgesetzt (Korfei et al. 2008). Auch hier könnten Virusinfektionen ihren Beitrag zu einem erhöhten ER-Stress leisten (Korfei et al. 2008).

Nicht zu vernachlässigen sind exogene Faktoren, wie Zigarettenrauch, oxidativer Stress (Cullinan und Diehl 2006), (Kuwano et al. 2003), (Waghray et al. 2005), Viren, inhalierte Partikel (Camelo et al. 2014) und Gastro-Ösophagealer Reflux (Camelo et al. 2014), (Hershcovici et al. 2011), (Tanjore et al. 2012), (Gross und Hunninghake 2001), (Selman und Pardo 2006).

Oxidativer Stress ist durch ein Ungleichgewicht zwischen der Produktion von reaktiven Sauerstoff- (ROS) und Stickstoffspezies (RNS) sowie anti-oxidativer Abwehr gekennzeichnet (Robert Koch-Institut 2008). ROS und RNS verursachen einen direkten Schaden an DNA, Proteinen und Lipiden, sodass die Membranintegrität und -fluidität beeinflusst werden (Churg 1996). Myofibroblasten von IPF-Patienten produzieren zum Beispiel über *transforming growth factor-β1* (TGF-β1) reichlich Wasserstoffperoxid (H₂O₂) und schädigen damit die Typ II Pneumozyten (Waghray et al. 2005). Außerdem werden weniger Zytokine für die epitheliale Migration und Proliferation aus dem Fibroblasten ausgeschüttet, wie zum Beispiel der *hepatocyt growth factor* (HGF) (Marchand-Adam et al. 2006), (Prasad et al. 2014).

Folglich führen diese ständigen Epithelzellverletzungen zu einem Regenerationsverlust des Typ II Pneumozyt. Alternative Reparaturmechanismen werden über die gestörte epithelial-mesenchymale Interaktion vermittelt, die zu einer profibrotischen Antwort mit einer Anhäufung von Myofibroblasten führen (Xu et al. 2014). Verschiedene Ansätze versuchen zu klären, wie es nach dem Typ II Pneumozyten Schaden beziehungsweise seiner Apoptose zu einer Fibrose-Antwort kommt (Günther et al. 2012).

Einerseits kann es zu einer epithelial-mesenchymalen Umwandlung (*epithelial mesenchymal transition*: EMT) kommen, bei der unter Einwirkung von TGF- β 1 Typ II Pneumozyten zu Myofibroblasten transdifferenzieren können (Willis et al. 2005), (Chapman 2011). Dieser Transit wird möglicherweise über lokal produzierte Gerinnungsfaktoren, wie zum Beispiel dem Faktor zehn (FX) (Scotton et al. 2009), Faktor zwei (FII) (Wygrecka et al. 2013) und sieben (FVII) (Wygrecka et al. 2011), via TGF- β 1 und *protease-activated receptors* (PAR) reguliert.

Residente Fibroblasten können sich durch PDGF aus Thrombozyten und TGF- β 1 und TNF α zu Myofibroblasten differenzieren (Selman und Pardo 2006).

Eine andere Möglichkeit ist die Invasion von zirkulierenden Fibrozyten in die geschädigte Lunge durch Zytokine (Moeller et al. 2009), (Phillips et al. 2004).

Allgemein anerkannt ist die Tatsache, dass Typ II Pneumozyten als eine Art Progenitorzelle von Epithelzellschäden dienen (Selman und Pardo 2006). Inwieweit der Epithelschaden durch die Rekrutierung von Progenitorzellen oder BM-*MSC (bone-marrow mesenchymal stem cells)* die epitheliale Wundheilung in IPF-Patienten verursacht wird, ist noch fraglich (Xu et al. 2014), (Camelo et al. 2014), (Rojas et al. 2005).

Außerdem könnte eine Immortalität von Fibroblasten zu einer vermehrten Fibrose mit gestörter Heilung führen (Xu et al. 2014). Dabei handelt es sich wahrscheinlich um eine Apoptose-Resistenz, die über eine Histon-Modifikation mit erniedrigter Fas-Rezeptor-Expression erfolgt (Huang et al. 2013).

Ein anderer Ansatz ist darauf ausgerichtet, dass durch den Untergang der Typ II Pneumozyten das Gleichgewicht zwischen pro-fibrotischen und anti-fibrotischen Mediatoren gestört wird. Der Fibroblasten kontrollierende Mediator Prostaglandin E 2 (PGE2) ist zum Beispiel erniedrigt (Okunishi et al. 2011), (Günther et al. 2012), (Maher et al. 2010). Zu den pro-fibrotischen Zytokinen gehören: TGF- β (Gauldie et al. 1999), *connectiv tissue growth factor* (CTGF) (Yang et al. 2014), PDGF (Chambers 2008), Faktor zehn (FX) (Scotton et al. 2009), FGFb (Prasad et al. 2014), Angiotensin II via Angiotensin Rezeptor 2 (Königshoff et al. 2007), FVII (Wygrecka et al. 2011) und Faktor IIa (Wygrecka et al. 2013).

Weitere wichtige Schauplätze der Pathogenese sind Ungleichgewichte des Immunsystems (Th₁/Th₂ Antwort) (Wynn 2011), der Koagulation (*tissue factor*), Fibrinolyse (Plasmin, Urokinase) und Anti-Fibrinolyse (Plasminogen-Aktivator-Inhibitor: PAI 1 und 2) (Selman und Pardo 2002), (Chambers 2008) der Angiogenese (Hanumegowda et al. 2012) sowie des Auf- und Abbaus der EZM (Matrixmetalloproteinasen: MMP / *tissue inhibitors of metalloproteinases*: TIMP) (Craig et al. 2014), (Selman und Pardo 2002), (Nkyimbeng et al. 2013), (Wynn 2011).

1.2.2 Nicht-spezifische Interstitielle Pneumonie

Katzenstein und Fiorelli haben 1994 für nicht genau zuordnungsfähige histopathologische Befunde die Gruppe der NSIP geschaffen (Katzenstein und Fiorelli, 1994). Diese Form hat eine bessere Prognose als die IPF und unterscheidet sich von den anderen histopathologischen Befunden der IIP (Katzenstein und Fiorelli, 1994), (Daniil et al. 1999), (Travis et al. 2000). Klinisch zeigt sich die NSIP sehr vielfältig, genauso wie die histologischen Biopsien, die von leichten Inflammationen bis zur ausgeprägten homogenen Fibrose reichen und damit eine eindeutige Klassifizierung erschweren (Katzenstein und Fiorelli, 1994), (Travis et al. 2000), (American Thoracic Society und European Respiratory Society 2002). Hauptsymptome der NSIP sind Dyspnoe, Husten, Fatigue und Gewichtsverlust. Uhrglasnägel und Trommelschlegelfinger treten weniger häufig auf als bei der IPF (Cottin et al. 1998). Insgesamt sind die Patienten mit einer NSIP jünger als die IPF-Patienten, im Median befinden sie sich zwischen dem 40.-50. Lebensjahr (Daniil et al. 1999). In der BAL kann sich eine Lymphozytose oder ein gemischtes Bild aus erhöhten Lymphozyten, Neutrophilen und / oder Eosinophilen zeigen (American Thoracic Society und European Respiratory Society 2002), (Cottin et al. 1998). Im Röntgen-Thorax werden basale bilaterale fleckige Infiltrate beschrieben (American Thoracic Society und European Respiratory Society 2002). Im HRCT zeigt sich die NSIP sehr vielgestaltig, wobei die Haupteigenschaft das symmetrische bilaterale Milchglas subpleural darstellt. Weiter können irreguläre Linien, fleckige retikuläre Verdichtungen und Traktionsbronchiektasen vorkommen. Honigwaben und Konsolidationen sind weniger häufig zu finden (American Thoracic Society und European Respiratory Society 2002), (Cottin et al. 1998). Histopathologisch kann man die NSIP anhand des Fibrosierungsgrades beziehungsweise der Zellularität in einen zellulären oder einen fibrotischen Typ einteilen (Katzenstein und

Fiorelli, 1994; Travis et al. 2000). Beim zellulären Typ erkennt man zunächst eine milde bis moderate interstitielle chronische Inflammation mit Lymphozyten und Plasmazellen. In Bereichen der Inflammation erscheinen Hyperplasien von Typ II Pneumozyten (Travis et al. 2000). Dieser histologische Typ hat eine ausgezeichnete Prognose (Travis et al. 2000). Die NSIP vom fibrosierenden Typ fasst Lungenbiopsien zusammen, die ausschließlich eine Fibrose aufweisen und welche fibrosierende Anteile mit zellulärer Inflammation zeigen (Travis et al. 2000). Dieser fibrosierende Typ zeigt eine dichte bis lockere interstitielle Fibrose, die schwer von der IPF zu unterscheiden ist (Travis et al. 2000). Die Langzeitprognose des fibrosierenden Typs der NSIP ist wesentlich schlechter, sodass dieser wichtige Unterschied eine Differenzierung zwischen dem zellulären und fibrosierenden Typ unabdingbar macht (Travis et al. 2000). Anders als bei der IPF findet man hier nicht die typischen *fibroblast foci* (Travis et al. 2000). Falls ein NSIP Muster in der Biopsie gefunden wird, sollte man gründlich nach den potenziellen Ursachen suchen, denn die NSIP kann die beginnende Manifestation einer Kollagenose oder einer EAA darstellen (Cottin et al. 1998). Oftmals ist es schwierig, klinisch zwischen der NSIP und der IPF zu unterscheiden, sodass man auf eine histologische Sicherung angewiesen ist (Fang et al. 2012). In einer proteomischen Analyse von IPF- und fibrosierenden NSIP-Proben wurden höhere Schutzmechanismen vor oxidativem Stress und ER-Stress bei der fibrotischen NSIP beschrieben, welches möglicherweise den entscheidenden Unterschied zwischen den Entitäten darstellt (Korfei et al. 2013).

1.2.3 Kryptogen Organisierende Pneumonie

Der Name COP wird, anstelle der Bronchiolitisch Obstruierend Organisierenden Pneumonie (BOOP) bevorzugt verwendet (American Thoracic Society und European Respiratory Society 2002). Zur Namensgebung hat das histopathologische Bild beigetragen, das sich durch die Proliferation und Organisation von Bindegewebs-Knospen im Lumen der Bronchioli auszeichnet (Geddes 1991), (Davison et al. 1983), (Epler et al. 1985), (King 1992), (American Thoracic Society und European Respiratory Society 2002). Die chronische Inflammationsreaktion der Alveolarwand spiegelt sich in der Infiltration von Lymphozyten, Plasmazellen, Neutrophilen und Eosinophilen wider (Davison et al. 1983). Die COP kann als subakute Inflammationsreaktion auf verschiedene Stimuli verstanden werden, wobei in

den meisten Fällen die Ursache ungeklärt bleibt (Geddes 1991). Zu den geklärten Ursachen zählen Erkrankungen aus dem rheumatischen Formkreis und Sekundarreaktionen nach Infektionen (American Thoracic Society und European Respiratory Society 2002). Epidemiologisch zeigt sich keine geschlechtliche Tendenz, Nichtraucher sind häufiger betroffen als Raucher (King 1992), (American Thoracic Society und European Respiratory Society 2002). Das durchschnittliche Erkrankungsalter liegt zwischen dem 50.-60. Lebensjahr (Cordier et al. 1989), (King 1992). Hauptsymptome sind Husten, Atemlosigkeit, Gewichtsverlust und der subakute Beginn nach grippeähnlichen Symptomen. In der Auskultation ist ein Knisterrasseln zu hören, Uhrglasnägel und Trommelschlegelfinger treten kaum auf (Müller et al. 1987), (Cordier et al. 1989), (King 1992). In der Lungenfunktion zeigt sich ein restriktives Ventilationsmuster, die DLCO ist vermindert (Müller et al. 1987). In der Bildgebung erkennt man diffuse und inhomogene Atemwegs-Konsolidationen (Müller et al. 1987), (Cordier et al. 1989), (King 1992), die besonders subpleural und oder peribronchovaskulär ausgebildet sind (Lee et al. 1994). Es können auch Milchglas-Trübung und Knötchen auftreten (Lee et al. 1994). In der BAL zeigt sich eine unspezifische Lymphozytose (King 1992). Es besteht eine gute Ansprache auf eine orale Steroidtherapie, wobei ein Rückfall häufig zu verzeichnen ist. Dennoch beinhaltet die COP eine gute Prognose (King 1992), (Davison et al. 1983).

1.2.4 Akut Interstitielle Pneumonie

Die AIP ist eine rasch progressiv verlaufende IIP mit einer sehr hohen Mortalität, die bei 50% und mehr liegt (Olson et al. 1990), (Katzenstein et al. 1986). Als Erstes beschrieben wurde diese akut fulminante Form der IIP von Hamman und Rich und wurde folglich als *Hamman-Rich Syndrom* bezeichnet (Askin 1990).

Das histopathologische Bild ist bei diffusem alveolärem Schaden (DAD) nicht von dem des *acute respiratory distress syndrome* (ARDS), das durch Sepsis oder Schock ausgelöst wird, zu unterscheiden (American Thoracic Society und European Respiratory Society 2002), (Katzenstein et al. 1986). Im Unterschied hierzu hat die AIP allerdings keine bekannten Ursachen (Katzenstein et al. 1986). Histopathologisch betrachtet, handelt es sich beim DAD um einen akuten Schaden des Alveolarepithels. In der exsudativen Phase kommt es durch die akute Schädigung zu einer erhöhten Permeabilität, zu einem interstitiellen Ödem und zur Ausbildung von hyalinen Membranen und Thromben in kleinen pulmonalen Arterien. In der folgenden Organisationsphase treten Fibroblasten-Proliferation ohne wesentliche

Kollagenablagerung und Typ II Pneumozyten Hyperplasien auf (Olson et al. 1990), (Johkoh et al. 1999b), (Katzenstein et al. 1986), (Katzenstein und Myers 1998).

Das geschlechtliche Verhältnis ist ausgeglichen und das mittlere Erkrankungsalter liegt um das 50. Lebensjahr (Olson et al. 1990). In der Lungenfunktion zeigt sich eine restriktive Ventilationsstörung mit reduzierter Diffusionskapazität. Bei vielen Patienten ist eine Prodromalsymptomatik erkennbar, bei der folgende Symptome zu beobachten sind: Dyspnoe, Tachypnoe, Husten und Fieber, welche in nur wenigen Tagen zum respiratorischen Versagen führen (Olson et al. 1990), (Katzenstein et al. 1986), (Katzenstein und Myers 1998). Eine Hypoxie entwickelt sich schnell und ist meist nicht durch Sauerstoffsubstitution auszugleichen, sodass die Patienten beatmungspflichtig werden (Olson et al. 1990). Im Röntgen-Thorax sind bilaterale Infiltrate erkennbar (Olson et al. 1990), außerdem werden im HRCT Milchglas, Traktionsbronchiektasen und ein verformtes Lungengerüst sichtbar (Johkoh et al. 1999b). Es sind einige wenige Fälle beschrieben, bei denen der initiale alveoläre Schaden überstanden wird und das Überleben nicht beeinflusst wurde (Katzenstein et al. 1986). Bis jetzt gibt es keine etablierte Therapie.

1.2.5 Respiratory bronchiolitis-ILD

Die RB-ILD gehört zu den IIP mit dem histopathologischen Bild der respiratorischen Bronchiolitis. Dieses Krankheitsbild wurde zuerst von Niewoehner et al. 1974 beschrieben (Niewoehner et al. 1974). Die RB-ILD und die DIP stellen die Nikotin-assoziierten IIP dar. Bei der RB-ILD treten pigmentierte intraluminale Makrophagen in den Bronchioli respiratorii auf (Niewoehner et al. 1974), (Myers et al. 1987). Im Unterschied zur DIP sind diese Makrophagen-Ansammlungen weiter proximal gelegen (Myers et al. 1987). Weiter tritt in der Submukosa und peribronchial eine Infiltration von Lymphozyten und Histozyten auf. Eine milde peribronchiale Fibrose reicht bis in benachbarte Alveolarsepten, die begrenzt sind von hyperplastischen Typ II Pneumozyten (American Thoracic Society und European Respiratory Society 2002). Die DIP stellt eine wesentlich intensivere Form dar. Patienten mit einer RB-ILD sind zumeist asymptomatisch oder zeigen unspezifische respiratorische Symptome (Niewoehner et al. 1974). In der Fallbeschreibung von Myers et al. von 1987 zeigt sich das Bild der RB-ILD bei stark aktiven Rauchern (mehr als 30 Packungsjahre) (Myers et al. 1987). Es handelt sich um eine Erkrankung des jüngeren Menschen mit einem

mittleren Erkrankungsalter von 36 Jahren, häufiger sind Männer betroffen (Myers et al. 1987), (Katzenstein und Myers 1998). Die häufigsten Symptome sind Husten und Dyspnoe ohne das Auftreten von Trommelschlegelfinger oder Uhrglasnägel (Myers et al. 1987), (Katzenstein und Myers 1998). Im Röntgen-Thorax zeigen sich Bronchialwandverdickungen (Heyneman et al. 1999), diffus fein-retikuläre Verdichtungen, bilaterale Pleuraverdickungen und bibasilläre Atelektasen (Myers et al. 1987). Im HRCT zeigen sich zentrilobuläre Knötchen, Milchglas-Trübung und selten eine milde Fibrose (Heyneman et al. 1999). In der Lungenfunktion kann eine gemischte restriktive/obstruktive Ventilationsstörung sichtbar werden, genauso wie eine moderate Diffusionsstörung (Myers et al. 1987). Die obstruktive Komponente kann durch ein meist begleitendes zentrilobuläres Emphysem erklärt werden (Heyneman et al. 1999), (American Thoracic Society und European Respiratory Society 2002). Die Prognose ist sehr gut, die meisten Patienten zeigen nach Beendigung des Nikotinabusus keine Symptome mehr (Heyneman et al. 1999), (Myers et al. 1987).

1.2.6 Desquamative interstitielle Pneumonie

Liebow et al. beschreiben als Erste die DIP in einem Case Report (Liebow et al. 1965). Dabei waren sie der Annahme, dass abgeschilferte Typ II Pneumozyten in den Alveolarräumen zu finden seien (Liebow et al. 1965). Später stellten sich diese Zellen als intraalveoläre Makrophagen-Ansammlungen heraus, die besonders alveolär auftreten. Die Makrophagen beinhalten ein feingranuläres bräunliches Raucherpigment und es zeigt sich eine kubische Typ II Pneumozyten Hyperplasie (Travis et al. 2000), (Katzenstein und Myers 1998). Weitere Charakteristika sind die milde bis moderate fibrotische Verdickung der Alveolarsepten und die milde lymphozytäre Inflammation (Travis et al. 2000), (Katzenstein und Myers 1998). In seltenen Fällen kann die DIP auch bei Nichtrauchern auftreten (Craig et al. 2004), (Travis et al. 2000). Für einige Autoren sind die DIP und die RB-ILD anatomisch benachbarte Manifestationen derselben Krankheit (Katzenstein und Myers 1998).

Am häufigsten sind rauchende Männer zwischen dem 40.-50. Lebensjahr betroffen (Liebow et al. 1965), (Carrington et al. 1978), (Katzenstein und Myers 1998). Klinisch präsentieren sich folgende langsam einschleichende Symptome: Dyspnoe, Husten und Gewichtsverlust (Liebow et al. 1965), wobei Trommelschlegelfinger und Uhrglasnägel nur teilweise auftreten (Carrington et al. 1978), (Katzenstein und Myers 1998). In der Lungenfunktion kann

möglicherweise eine leichte Restriktion mit moderat verminderter Diffusionskapazität erkannt werden (Katzenstein und Myers 1998), (Liebow et al. 1965). Radiologisch fällt in den unteren Lungenabschnitten eine Milchglas-Trübung auf (Liebow et al. 1965). Die Prognose ist generell gut, den Patienten werden Nikotinentzug und eine Steroidtherapie nahegelegt. Die Zehnjahresüberlebensrate liegt bei 70 % (Katzenstein und Myers 1998), (Carrington et al. 1978).

1.2.7 Nicht-klassifizierbare IIP

In der ATS/ERS-Klassifikation von 2002 wird eine Gruppe der nicht-klassifizierbaren IIP aufgeführt, bei der es auch nach ausführlicher Diagnostik nicht zu einer zufriedenstellenden Zuordnung zu einer IIP kommt (American Thoracic Society und European Respiratory Society 2002), (Travis et al. 2013). Dieser Fall kann dann auftreten, wenn zum Beispiel wichtige Befunde nicht zur Diagnosestellung herangezogen werden können oder aber eine große Diskrepanz zwischen den unterschiedlichen Befunden besteht (Ryerson et al. 2013), (American Thoracic Society und European Respiratory Society 2002), (Travis et al. 2013). Insgesamt machen sie circa 10 % der ILD aus (Ryerson et al. 2013).

1.3 Andere untersuchte ILD

1.3.1 Sarkoidose

Die Sarkoidose ist eine Multisystemerkrankung, die als Hauptmanifestationsort die Lungen befällt und deren Ursache nicht geklärt ist (Iannuzzi und Fontana 2011). Sie gehört zu den granulomatösen Erkrankungen und ist gekennzeichnet durch das Auftreten mehrkerniger, nicht-verkäsender Riesenzellgranulome (Iannuzzi und Fontana 2011). Die Diagnose Sarkoidose kann dann gestellt werden, wenn die klinischen und radiologischen Befunde durch die nicht-verkäsenden Granulome bestätigt werden und andere Ursachen ausgeschlossen wurden (Hunninghake et al. 1999).

Als Löfgren-Syndrom wird die akute Sarkoidose bezeichnet, die unter anderem durch eine Sprunggelenksarthritis, das Erythema nodosum, eine bilaterale Lymphadenopathie und eine hohe Spontanheilungsrate gekennzeichnet ist. Bei der chronischen Form, die recht

unspezifisch mit Husten, Thoraxschmerz und Dyspnoe verläuft, kann es bis zur Ausprägung einer Lungenfibrose kommen (Iannuzzi und Fontana 2011).

Meistens erkranken Frauen zwischen dem 20. und 40. Lebensjahr daran, wobei auch die ethnischen Herkunft von Bedeutung ist (Rybicki et al. 1997), (Baughman et al. 2001), (Iannuzzi und Fontana 2011). In der BAL sind eine CD4/CD8-Erhöhung (Winterbauer et al. 1993), im Labor ein erhöhter ACE-Spiegel (Lieberman 1975), (Iannuzzi und Fontana 2011) und eine Hyperkalzämie zu erkennen (Harrell und Fisher 1939), (Baughman et al. 2001). In der Lungenfunktion werden eine restriktive Ventilationsstörung und eine erniedrigte Diffusionskapazität beschrieben (Baughman et al. 2001), (Iannuzzi und Fontana 2011). Je nach Ausprägung der Lymphadenopathie wird die Sarkoidose mittels Röntgen-Thorax in fünf Stadien nach Scadding unterteilt (Scadding 1961). Therapeutisch herrscht noch Uneinigkeit über die Dauer und Höhe der Steroidtherapie, sie ist allerdings die primäre Therapie, gefolgt von Methotrexat (Iannuzzi und Fontana 2011), (Schutt et al. 2010).

1.3.2 Exogen Allergische Alveolitis

Die EAA ist eine durch eine Vielzahl von organischen Stäuben ausgelöste allergische Erkrankung, die bei suszeptiblen Menschen zur Ausbildung von präzipitierenden IgG (Typ III) und einer zellgebundenen Reaktion (Typ IV nach Coombs und Gell) führt (Calvert et al. 1999), (Bourke et al. 2001). Zu dem Spektrum der auslösenden Partikel gehören unter anderem Vogelfedern, Sägespäne sowie Pilzsporen aus schimmeligem Heu, Käserinde, und Klimaanlageanlagen. Häufig sind Männer im mittleren Lebensalter betroffen, wobei Raucher weniger häufig erkranken (Bourke et al. 2001). Die akuten Symptome (circa vier Stunden nach Exposition und innerhalb von 24-48 Stunden wieder abklingend) sind grippeähnlich mit Fieber, Abgeschlagenheit, Reizhusten und Dyspnoe (Bourke et al. 2001), (Fink et al. 1968). Auskultatorisch zeigen sich eine bibasale Sklerosiphonie, im Labor eine Leukozytose und eine retikulonoduläre Zeichnungsvermehrung im Röntgen-Thorax (Bourke et al. 2001). In der Lungenfunktion erkennt man eine Reduktion der Volumina sowie in der BGA einen gestörten Gasaustausch (Kokkarinen et al. 1993). In der BAL stellt man einen erniedrigten CD4/CD8-Quotienten fest (Barrios et al. 1987). Histologisch erkennt man eine nicht-verkäsende granulomatöse Entzündung mit Lymphozyten und mehrkernigen Riesenzellen in den distalen Lungenabschnitten (Pérez-Padilla et al. 1996). Bei anhaltender Exposition kann sich eine chronische Lungenfibrose mit einem Cor Pulmonale entwickeln.

Therapeutisch sollten an erster Stelle die Expositionsprophylaxe stehen und im akuten Stadium eine Steroidtherapie eingeleitet werden (Bourke et al. 2001).

1.3.3 Fibrosen innerhalb des rheumatoiden Formkreises

Lungenfibrosen, die sich aufgrund einer vorhandenen rheumatischen Erkrankung entwickeln, bezeichnet man als *connective tissue disease-associated ILD* (CTD-ILD) (Fischer und Du Bois 2012).

Die CTD ist durch zirkulierende Antikörper und einen autoimmunvermittelten Organschaden charakterisiert (Solomon und Fischer 2013), (Lauretis et al. 2011). Zu dieser heterogenen Gruppe zählen die systemische Sklerodermie, Polymyositis/Dermatomyositis, der systemische Lupus erythematoses, das Sjögren Syndrom, gemischte Kollagenosen, die Rheumatoide Arthritis und die Vaskulitiden (Solomon und Fischer 2013). Häufig entspricht das histopathologische Muster in CTD-ILD dem der NSIP oder dem der UIP (Solomon und Fischer 2013). Es gibt aber auch CTL-ILD mit organisierender Pneumonie (OP), DAD- und LIP-Mustern (Lauretis et al. 2011). CTD-ILD sind mit einer besseren Prognose verbunden als IIP, da hier anti-inflammatorische und immunsuppressive Therapieansätze zu Verfügung stehen (Vij und Streck 2013).

In den untersuchten Kollektiven traten zwei Kollagenosen (undifferenzierte Kollagenose und ein systemische Sklerodermie) und zwei Vaskulitiden auf (Wegener-Granulomatose und eine MPO-Vaskulitis = Mikroskopische Polyangiitis), diese werden fortan mit Koll./Vask. abgekürzt.

1.4 Andere chronische Lungenerkrankungen

In der vorliegenden Arbeit wurden auch andere chronische Lungenerkrankungen erfasst. So zum Beispiel Asthma, COPD, Bronchialkarzinom, Infekte, Pneumokoniose (Steinkohle Werk) und Patienten mit einer pulmonalen Hypertonie.

Das Allergische Asthma ist eine chronisch inflammatorische Erkrankung des atopischen Formkreises, welche die Atemwege betrifft. Es kommt bei suszeptiblen Individuen zu einer reversiblen Bronchialobstruktion mit anfallsartiger Luftnot und gesteigerter bronchialer Sekretion und Dyskrinie (Buhl et al. 2006). Die Folge der persistierenden Atemwegsentszündung ist ein *airway remodeling* mit Verdickung der Bronchialwände sowie einer Atemwegshyperreagibilität (Kharitonov und Barnes 2006).

Die Chronisch Obstruktive Bronchitis ist gekennzeichnet durch eine nicht oder nicht vollständige reversible Bronchialobstruktion, die maßgeblich durch Zigarettenrauch ausgelöst wird (Vogelmeier et al. 2007). Hierbei kommt es zu einer chronischen Inflammation der Bronchien mit chronischem Husten und Schleimproduktion sowie zum Teil auch zur Ausbildung eines Emphysems (Kubáň und Foret 2013).

Das Bronchialkarzinom ist ein häufiger Tumor in Europa, die Inzidenz liegt bei 52 pro 100.000 Personen pro Jahr. Insgesamt sind mehr Männer als Frauen betroffen. Es wird in einen kleinzelligen und einen nicht-kleinzelligen Typ eingeteilt. Zu dem letztgenannten Typ zählen histologisch das Adeno-, das Plattenepithel- und das Großzellige-Karzinom. Es ist besonders durch seine frühe Metastasierung und die späte Diagnosestellung gekennzeichnet. Es kann anhand der TNM-Klassifikation in vier Stadien eingeteilt werden, je nach Stadium entscheidet sich dann die Therapie, wobei in den meisten Fällen keine kurative Therapie mehr möglich ist (Goeckenjan et al. 2011).

1.5 Der Alveoläre Lining Fluid (ALF)

Der evolutionäre Übergang vom Wasser zum Land hat zu der Entwicklung einer verkleinerten und in den Körper verlagerten Lunge geführt, ein Vorgang, der eine besondere Herausforderung an den Gasaustausch stellte (Fronius et al. 2012). So entwickelten sich spezialisierte, metabolisch aktive Typ II Pneumozyten und die circa 50 µm dünne Alveolarepithelzelle bedeckende Flüssigkeitsschicht (Fronius et al. 2012), (Kubáň und Foret 2013). Der ALF besteht hauptsächlich aus einem Plasma Ultrafiltrat und dem von Typ II Pneumozyten produzierten Surfactant (Wilson 2005). Die Aufgabe des Surfactant, eines Gemisches aus Phospholipiden und Proteinen, ist es, die Oberflächenspannung herabzusetzen und einen Kollaps der Alveolen in der Endexpiration zu verhindern (Lüllmann-Rauch 2003). Weiter beinhaltet der ALF eine Anzahl an anti-mikrobiellen Komponenten (Lysozym, Immunglobuline, Surfactant Proteine A und D, Defensin und Zytokine), die für die Abwehr von inhalierten Partikeln und Mikroorganismen zur Verfügung stehen (Wilson 2005), (Fronius et al. 2012). Eine weitere wichtige Aufgabe des ALF ist der Schutz vor Austrocknung der Alveolarzellen (Fronius et al. 2012). Somit bilden insgesamt vier Schichten die Blut-Luft-Schranke von luminal nach peripher aufgezählt: ALF, Alveolarepithel, Basallamina und Endothelzellen (Fronius et al. 2012).

1.6 Stellenwert invasiver und nicht-invasiver Untersuchungen bei Screening und Verlaufsbeobachtung pneumologischer Erkrankungen

Ein großes wissenschaftliches Interesse richtet sich auf die Erforschung von nicht-invasiven Untersuchungsmethoden der Lunge, die eine einfache und frühzeitige Diagnosestellung erlauben (Horváth et al. 2005).

Der ALF enthält möglicherweise eine Vielzahl an Mediatoren, die eine pathophysiologische Veränderung anzeigen könnten. Mit den Methoden der BAL, Sputum- und Atemkondensat-Sammlung (*exhaled breath condensate*: EBC) wird versucht, diese Veränderungen im ALF widerzuspiegeln (Kubáň und Foret 2013).

Die erwähnten Methoden repräsentieren den ALF allerdings nur indirekt, sodass seine genaue Zusammensetzung bislang nicht vollständig erfasst wurde (Kubáň und Foret 2013). Ziel der gegenwärtigen Untersuchung ist es, spezifische Biomarker zu finden, die eine veränderte Physiologie im ALF anzeigen und im klinischen Alltag einsetzbar sind (Vignola et al. 2002).

1.6.1 BAL-Gewinnung

Die Gewinnung der BAL ist eine verlässliche und standardisierte Methode, den ALF des unteren respiratorischen Trakts zu mobilisieren (Jackson et al. 2007), (Costabel und Guzman 2001), (Haslam und Baughman 1999). Dabei werden zelluläre und azelluläre Anteile unterschieden. Die BAL wird unter Lokalanästhesie mithilfe eines flexiblen Bronchoskops durchgeführt und birgt Risiken (Cherniak et al. 1990), (Tötsch et al. 2007), (Effros et al. 2004). Allein die Durchführung der Bronchoskopie und die Installation von Kochsalzlösung führen zu einer Reizung und stellen somit eine invasive Methode dar (van der Vaart, H. et al. 2006), (Balbi et al. 2007), (Jackson et al. 2007). Die Spülung von subsegmentalen Bronchien kann nur relativ unspezifisch den Ort von pathophysiologischen Prozessen widerspiegeln und beinhaltet einen unbestimmten Verdünnungsfaktor (Balbi et al. 2007). Die BAL-Gewinnung ist nicht beliebig wiederholbar und sollte im Kontext der klinischen Daten interpretiert werden (Tötsch et al. 2007). Nichtsdestotrotz hat sich die BAL klinisch etabliert und wird routinemäßig bei verschiedenen ILD, wie der Sarkoidose und der

IPF, angewandt (American Thoracic Society 2000), (Reynolds 2000), (Hunninghake et al. 1999).

1.6.2 Sputum-Gewinnung

Die Sputum-Gewinnung kann schnell durchgeführt werden, wobei der Patient mit Bronchodilatoren und einem hyperosmolaren Kochsalz Aerosol vorbehandelt wird (Raulf-Heimsoth 2010), (Kubáň und Foret 2013), (Kharitonov und Barnes 2001). Anwendung findet die Sputum-Gewinnung größtenteils im mikrobiologischen Bereich (zum Beispiel im Rahmen der TBC-Diagnostik). Es ist eine sichere Methode, die durch das Vorhandensein einer Leitlinie standardisiert ist (Djukanovic et al. 2002). Es kann allerdings zu transitorischen Veränderungen mit einer Erhöhung der Neutrophilen kommen (Holz et al. 1998), die insgesamt eine Reizung der physiologischen Verhältnisse darstellt (van der Vaart, H. et al. 2006), (Balbi et al. 2007), (Holz et al. 1998). In manchen Fällen kommt es sogar zum Spasmus der Bronchien (Kharitonov und Barnes 2001). Letztendlich bleibt der Ort der Probenentnahme unspezifisch und die Wiederholbarkeit der Probengewinnung eingeschränkt (Holz et al. 1998), (Effros et al. 2004). Somit kann man die induzierte Sputum-Gewinnung eher als semi-invasive Methode bezeichnen.

1.6.3 Atemkondensat

Das Atemkondensat (EBC) wird gesammelt, indem der exhalierter Atem abgekühlt wird und in einem Sammelröhrchen kondensiert (Kharitonov und Barnes 2006), (Kubáň und Foret 2013). Es besteht die starke Vermutung, dass Veränderungen innerhalb der EBC-Zusammensetzung pathophysiologische Veränderungen im ALF anzeigen können (Montuschi 2005), die als Biomarker mit dem EBC transportiert werden (Quirce et al. 2010), (Horváth et al. 2005).

1.6.3.1 Entstehung und Zusammensetzung des Atemkondensats

Die Hauptbestandteile des EBC stellen kondensiertes Wasser, volatile Moleküle und nicht-volatile Moleküle dar (Horváth et al. 2005). Während der Expiration diffundieren volatile Moleküle und Wasserdampf direkt vom epithelialen Flüssigkeitsfilm (der Alveolen und der Atemwege) in die Ausatemluft (Effros et al. 2012), (Liang et al. 2012).

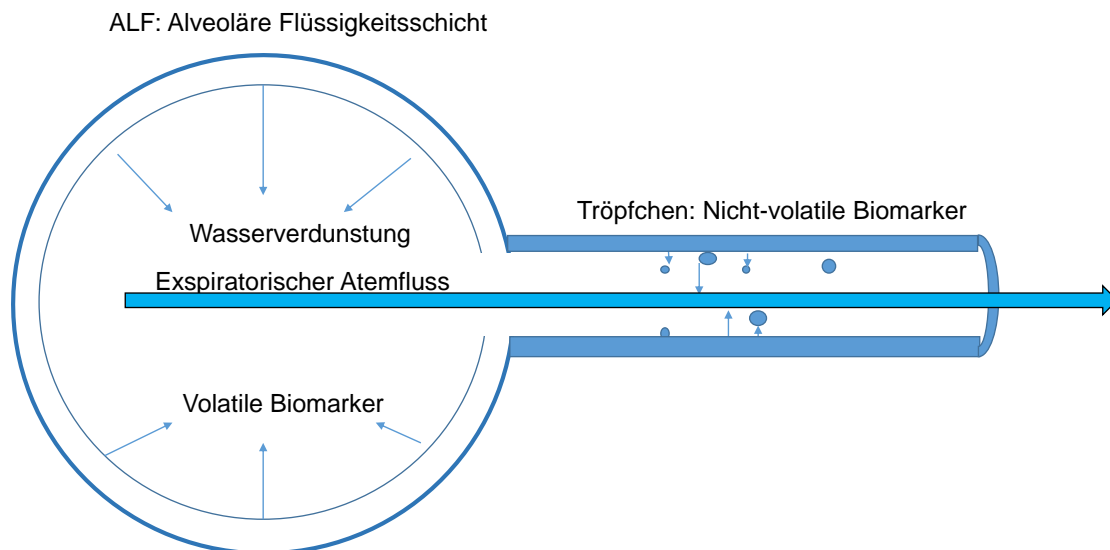


Abbildung 3: Entstehung des Atemkondensats: Entstehung von volatilen und nicht-volatilen Anteilen des EBC. Modifiziert nach (Liang et al. 2012) und (Effros et al. 2012).

Die nicht-flüchtigen Moleküle haben ebenfalls ihren Ursprung im bedeckenden Film der Atemwege (Effros et al. 2012), (Liang et al. 2012), (Effros et al. 2002), (Davis et al. 2012), (Gessner et al. 2001) und sind hydrophob (Horváth et al. 2005). Sie gelangen wahrscheinlich als Tröpfchen in die Ausatemluft, indem sie entweder durch die übertragenden Kräfte von Turbulenzen vom ALF abgerissen werden (Davis et al. 2012) oder beim Wiederöffnen von verschlossenen Alveolen entstehen (Davis et al. 2012), (Holmgren et al. 2013), (Johnson, G., R. und Morawska 2009). Die letztgenannte Entstehungsmöglichkeit wird in der aktuellen Literatur favorisiert.

1.6.3.2 Beurteilung des EBC

Bei der EBC-Sammlung werden weder Flüssigkeiten in den Atemtrakt installiert noch große instrumentale Aufwände betrieben, die zu einer Irritation der Atemwege führen könnten. Der ALF bleibt während der EBC-Sammlung unbeeinträchtigt, während es bei der Lavage zum abrupten Spülen und Aspirieren des ALF kommt (Effros et al. 1990). Dadurch kann das Verfahren selbst bei Lungenkranken und beatmeten Patienten angewendet werden (Horváth et al. 2005), (Kharitonov und Barnes 2001), (Jackson et al. 2007). Insgesamt ist das EBC als eine schnelle (Liang et al. 2012), günstige und komplikationslose Methode

(Liang et al. 2012), (Horváth et al. 2005) mit einem großen Potenzial für die Diagnosefindung und Therapiekontrolle zu bewerten (Vignola et al. 2002).

Dennoch bleibt das methodische Verfahren bislang begrenzt (Kubáň und Foret 2013). So fehlen zum Beispiel standardisierte Sammelbedingungen und große Studien, um Referenzwerte von gesunden Personen zu etablieren (Balbi et al. 2007). Auch eine Standardisierung des EBC-Geräts wäre vonnöten, die das Design, das Oberflächenmaterial, die Kühlungstemperatur und die Ventilationsparameter vereinheitlicht (Kubáň und Foret 2013).

Die exhalieren Mediatoren haben eine unterschiedliche Stabilität (Horváth et al. 2005). Damit sind Schwierigkeiten in der Lagerung und Aufarbeitung der EBC verbunden (Leung et al. 2006). Außerdem können orale Speichel- oder nasopharyngeale Kontaminationen beim EBC auftreten (Jackson et al. 2007).

Die Fraktion der nicht-volatilen Tröpfchen im EBC scheint von Mensch zu Mensch verschieden und von vielen Faktoren abhängig zu sein (Balbi et al. 2007), (Jackson et al. 2007). Demnach wird für die Vergleichbarkeit von EBC-Markern zwischen Individuen nach einem Verdünnungsfaktor beziehungsweise einem inneren Standard gesucht (Balbi et al. 2007). Dies ist jedoch noch nicht ausgereift, sodass bereits die longitudinale Interpretation mit der relativen Änderung von EBC-Markern vorgeschlagen wurde (Quirce et al. 2010), (Balbi et al. 2007).

Beim Nachweis mit kommerziellen Enzym- und Radioimmunassays (EIA und RIA) liegen viele Biomarker nahe ihres Detektionslimits, sodass der Bedarf an sensitiveren Assays und Methoden, wie der Massenspektrometrie (MS) und der Hochleistungsflüssigkeitschromatografie (HPLC), gegeben ist (Balbi et al. 2007), (Horváth et al. 2005). Diese spezifischeren und sensitiveren Referenzmethoden sind allerdings teuer und zeitintensiv (Roberts und Morrow 2000). Andere Arbeitsgruppen haben jedoch eine gute Nachweisbarkeit mit kommerziellen ELISA erhalten, auch die Wiederholbarkeit der Messergebnisse war gegeben (Jackson et al. 2007).

Die aufgeführten Störfaktoren erschweren die Reproduzierbarkeit (Jackson et al. 2007), (Leung et al. 2006) und Vergleichbarkeit von Ergebnissen, was die Beurteilung schwierig gestaltet. Trotz seines großen klinischen Potenzials und intensiver Erforschung ist das EBC bis jetzt noch nicht in die klinische Routine gelangt und lässt viele Fragen offen (Quirce et al. 2010), (Horváth et al. 2005), (Vignola et al. 2002), (Balbi et al. 2007), (Kubáň und Foret 2013).

1.6.4 Lungenfunktionsparameter

Die Lungenfunktionsparameter können mit einer kombinierten Spirometrie (Atemvolumina) und Bodyplethysmografie bestimmt werden. Restriktive Veränderungen in der Lungenfunktion sind typisch, aber nicht spezifisch für die IPF. Ein großer Vorteil der Lungenfunktion besteht darin, dass sie nicht-invasiv ist. Außerdem ist sie schnell durchzuführen und in vielen Klinik verfügbar. Nachteilig ist, dass einige Parameter mit arbeitsabhängig vom Patienten sind. Zur Differenzierung zwischen den verschiedenen ILDs reicht die Lungenfunktionsmessung nicht aus (Chetta et al. 2004), jedoch ist sie in dem Maß hilfreich, dass man respiratorische Verschlechterungen oder eine Abnahme der Gasaustauschleistung longitudinal bewerten kann, um dann zum Beispiel Therapieentscheidungen zu treffen (Chetta et al. 2004).

Bei der Progression der Fibrose und Zunahme der Restriktion zeigt sich eine Erniedrigung der Totalen Lungenkapazität (TLC) und der Vitalkapazität (VC) (Chetta et al. 2004). Ein reduziertes Überleben ist bei IPF-Patienten dann zu erwarten, wenn die jährliche Abnahme der VC größer als 10 % ist oder die DLCO mehr als 20% abnimmt (Hanson et al. 1995). Durch Verlust und Verdickung der Gasaustauschfläche kommt es zur Abnahme der Diffusionskapazität für CO (DLCO und KCO) und somit zu einem gestörten Gastransport (Chetta et al. 2004).

Weitere prognostische Aussagekraft liegt in der Gehstreckendistanz und der BGA im 6 MGT. Diese Tests werden häufig als Funktionstests im Zuge der Lungenfunktionsdiagnostik durchgeführt. Mura et al. haben gezeigt, dass die Gehstrecke als relativer Vergleichswert in % im 6 MGT zum Diagnosezeitpunkt ein wichtiger Faktor für das Überleben darstellt (Mura et al. 2012).

1.7 Biomarker für interstitielle Lungenerkrankungen

Es folgt eine Übersicht über die Biomarker, die potenziell zur Diagnostik einer ILD infrage kommen. Mögliche Kompartimente, diese Biomarker zu untersuchen, sind das periphere Blut, BALF, EBC und der exhalierete Atem. Aktuell gibt es keine validierten Biomarker, die routinemäßig für IPF-Patienten benutzt werden (Vij und Noth 2012).

1.7.1 Exhalierendes Stickstoffmonoxid (NO)

Das fraktionierte exhalierendes Stickstoffmonoxid (FeNO) kann mit kommerziell erhältlichen, tragbaren Messgeräten detektiert werden. Das chemische Messverfahren beruht auf der Chemilumineszenz, bei der unter der Reaktion von NO und Ozon Lichtquanten detektiert werden (Silkoff et al. 2006), (American Thoracic Society und European Respiratory Society 2005).

1.7.1.1 Herkunft und Biochemie des NO

Stickstoffmonoxid besteht aus einem Stickstoffmolekül und einem Sauerstoffmolekül, die mit einer Doppelbindung miteinander verbunden sind. Es entsteht bei der Umsetzung der Aminosäure L-Arginin zu L-Citrullin durch die NO-Synthetase (NOS) (Alderton et al. 2001), (Gustafsson et al. 1991). Die NOS kommen in vielen verschiedenen Zelltypen vor (Epithelzellen aus den Alveolen und den Atemwegen, Makrophagen, Neutrophile, Eosinophile, Mastzellen, Endothelzellen und glatte Muskelzellen) (Liang et al. 2012). Es gibt drei verschiedene Isotypen von NOS, zu denen die endotheliale (eNOS, NOS3), die neuronale (nNOS, NOS1) und die induzierbare NO-Synthetase (iNOS, NOS2) gehören (Moncada et al. 1991). Die beiden erstgenannten NOS werden konstitutiv gebildet, sind kalziumabhängig und bilden physiologisch kleine Mengen an NO (Kharitonov und Barnes 2001), (Hansel et al. 2003). Die iNOS stellt dahingegen eine induzierbare Isoform dar und produziert während einer Inflammationsreaktion große Mengen NO (Moncada et al. 1991). NO ist ein wichtiger physiologischer und pathophysiologischer Botenstoff, der zu den reaktiven Stickstoffspezies (RNS) zählt (Moncada 1999). Im pulmonalen System hat NO vaso- und bronchodilatatorische (Belvisi et al. 1992), neurotransmitterähnliche und inflammatorische Eigenschaften (Cameli et al. 2014). Im vaskulären System spielt NO als Regulator des Blutflusses und -drucks eine wichtige Rolle (Hansel et al. 2003), während es als Teil der nicht-spezifischen Immunantwort von aktivierten Makrophagen ausgeschüttet wird, um lokal zu einer Vasodilatation und Entzündungsreaktion zu führen (Moncada et al. 1991). So wird die iNOS von Zellen der Abwehr durch Zytokine gebildet (TNF α und Interferon- γ) (Warner et al. 1995), sodass große Mengen an NO und RNS gebildet werden (Hansel et al. 2003), (Dworski 2000), (Liang et al. 2012). Hierzu gehören Nitrit (NO $_2^-$), Nitrat (NO $_3^-$), 3-Nitrotyrosin (3-NT) und S-Nitrosothiole (RS-NO) (Kubáň und Foret 2013). NO kann mit reaktiven Sauerstoffspezies reagieren und Peroxynitrit (ONOO $^-$) bilden (Dworski 2000). Diese RNS führen zu einer direkten Zellschädigung, sodass NO als Marker für oxidativen

Stress eine Bedeutung hat (American Thoracic Society und European Respiratory Society 2005) und in Zusammenhang mit gestörter Wundheilung steht (Schwentker et al. 2002). Die Abbildung 4 präsentiert eine Übersicht über die Entstehung von NO und RNS.

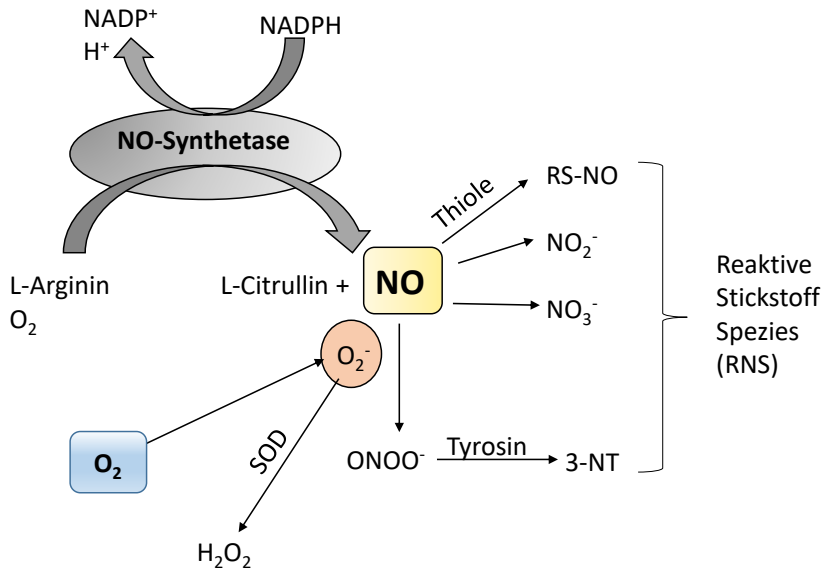


Abbildung 4: Oxidativer und nitrogener Stress: Entstehung von reaktiver nitrogener Spezies (RNS) und reaktiver Sauerstoffspezies (ROS). NO als Ausgangsprodukt für RNS. RS-NO: S-Nitrosothiole, 3-NT: 3-Nitrotyrosin, NO₂⁻: Nitrat, NO₃⁻: Nitrit, O₂⁻: Superoxidation, SOD: Superoxiddismutase, H₂O₂: Wasserstoffperoxid. Modifiziert nach (Kubáň und Foret 2013), (Alderton et al. 2001).

1.7.1.2 Beurteilung von FeNO als Biomarker

Der große Vorteil der FeNO-Messung ist, dass sie komplett nicht-invasiv, kostengünstig, schnell und einfach durchzuführen ist. Außerdem ist sie intensiv erforscht worden, sodass ein standardisiertes Vorgehen existiert (American Thoracic Society und European Respiratory Society 2005), (Silkoff et al. 2006).

Die geringe Tagesvariabilität, die gute Durchführbarkeit und die Wiederholbarkeit der Methode (Kharitonov et al. 2003), (Kharitonov 2004) machen die FeNO Messung zu einem validierten klinischen Werkzeug (Balbi et al. 2007). FeNO wird zur Diagnose von eosinophiler Atemwegsinflammation (Silkoff et al. 2006), (Dweik et al. 2011) und zur Bestimmung der Steroidansprache bei chronischer Atemwegsinflammation empfohlen, hierbei liegt der Schwerpunkt auf dem Erkennen unnötiger Steroidtherapien (Dweik et al. 2011). Im klinischen Alltag wird es als zusätzlicher nützlicher Test angesehen, um bei Asthmapatienten den Inflamationsprozess sowie die Therapiekontrolle zu überwachen

(Smith et al. 2004), (Kharitonov und Barnes 2006), (Beck-Ripp et al. 2002). Es besteht die Möglichkeit, dass der Patient selbstständig im häuslichen Setting die Messungen durchführt (Kharitonov 2004), (Silkoff et al. 2006). Es wurden bereits Studien veröffentlicht, die Referenzwerte angeben (Travers et al. 2007), jedoch werden Cut-off-Werte für die Interpretation bevorzugt verwendet (Dweik et al. 2011).

Nichtdestotrotz bleibt es fraglich, ob die Anwendung von FeNO als Biomarker auf weitere Atemwegserkrankungen übertragbar ist (Kharitonov und Barnes 2001), (Silkoff et al. 2006), (Quirce et al. 2010). Im Hinblick auf den Gebrauch bei ILDs sind einige Untersuchungen bereits durchgeführt worden, so konnten zum Beispiel erhöhte FeNO-Werte bei EAA- und IPF-Patienten nachgewiesen werden (Guilleminault et al. 2013), (Paredi et al. 1999).

1.7.2 Mögliche Biomarker im EBC - Arachidonsäure-Derivate

Die Arachidonsäure ist eine mehrfach ungesättigte Omega-6-Fettsäure, die sich zwischen den Phospholipiden der Zellmembran befindet und einen hydrophoben Charakter hat. Sie wird durch die Aktivität der Phospholipase A₂ freigesetzt und durch die Cyclooxygenase (COX 1 oder 2) oder die 5-Lipoxygenase umgesetzt (siehe Abbildung 5) (Tesfaigzi et al. 2001), (Kawahara et al. 2014). Auf dem erstgenannten Weg entstehen so die folgenden Prostaglandine: Thromboxan A₂ (TXA₂), Prostazyklin (PGI₂) und PGA₂, PGD₂, PGE₂ und PGF_{2α}. Diese Prostaglandine setzen über einen G-Protein gekoppelten Rezeptorweg verschiedene biologische Wirkungen um. Im Gegensatz dazu sind Isoprostane Isomere der Prostaglandin (Roberts und Fessel 2004), die auf nicht-enzymatischem Weg mittels Peroxidation entstehen (Roberts und Morrow 1996). Über den Lipoxygenaseweg entstehen Leukotriene (Tesfaigzi et al. 2001), (Kawahara et al. 2014).

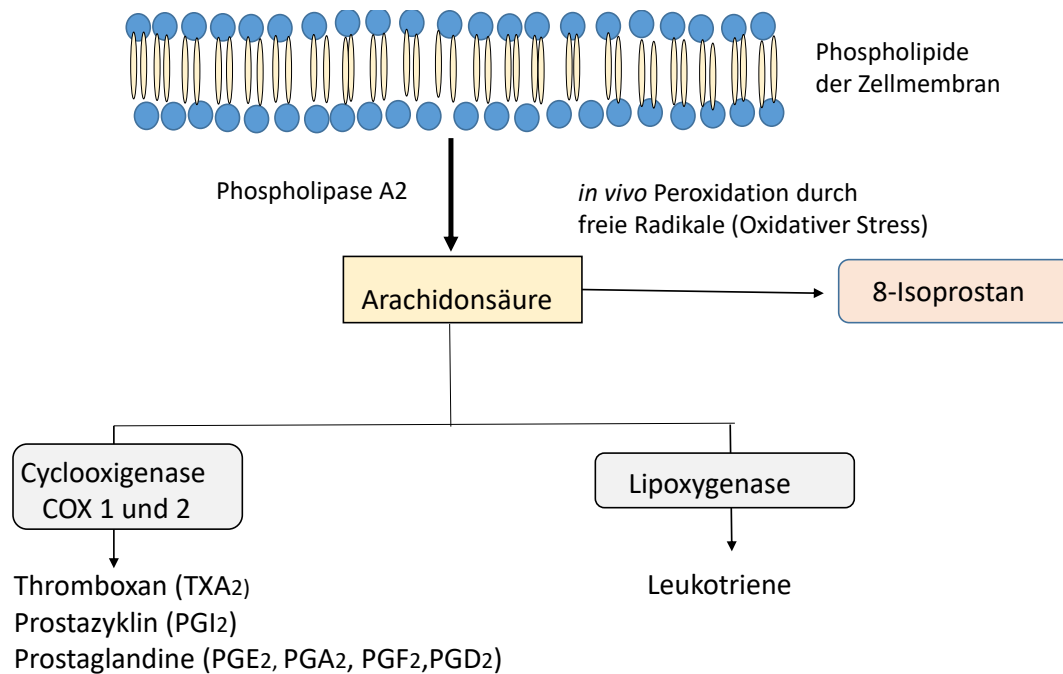


Abbildung 5: Arachidonsäure-Wege: Arachidonsäurederivate aus der Phospholipiddoppelschicht. Modifiziert nach (Liang et al. 2012), (Morrow et al. 1990) und (Tesfaigzi et al. 2001).

1.7.2.1 8-Isoprostan

Das 8-Isoprostan ist, chemisch betrachtet, relativ stabil, es entsteht *in vivo* und ist ein spezifischer Marker für oxidativen Stress (Praticò et al. 2001), (Janssen 2001). Es unterliegt kaum täglichen Schwankungen (Wang et al. 1995) und hat eine Halbwertszeit von wenigen Minuten (Basu 1998).

Ist der Körper oxidativem Stress ausgesetzt, entsteht durch Peroxidation der Arachidonsäure 8-Isoprostan. Ursächlich sind radikale Sauerstoffspezies (wie zum Beispiel RNS, siehe 1.7.1.1 Herkunft und Biochemie des NO), die unabhängig vom COX-Weg zu der Peroxidation führen (Morrow et al. 1990), (Montuschi et al. 1999), (Praticò et al. 2001), (Janssen 2001).

Das 8-Isoprostan kann entweder aus freier Arachidonsäure oder aber an Phospholipiden der Zellmembran über Ester gebunden sein. Die Letztgenannten bilden die Mehrheit der 8-Isoprostane (Morrow et al. 1992). Der oxidative Stress beeinflusst damit direkt die Membranfließeigenschaft und die Zellintegrität über die Membranzusammensetzung (Morrow et al. 1992), (Montuschi et al. 2004). Das gebundene 8-Isoprostan kann dann über die Phospholipase A₂ abgetrennt und in den Blutkreislauf gelangen und möglicherweise als

länger anhaltender Marker für oxidativen Stress dienen (Janssen 2001), (Morrow et al. 1992). Um das totale 8-Isoprostan zu bestimmen, ist es deshalb nötig, die Proben zuvor mit einer Base (Kaliumhydroxid: KOH) von den Lipiden zu lösen (Cayman Chemical Company 2011) (siehe Kapitel 3.2.9.2 Totales 8-Isoprostan und Aufreinigung über Festphasenextraktion).

Das 8-Isoprostan hat seine biologische Aktivität als pulmonaler (Kang et al. 1993) und renaler (Morrow et al. 1990) Vasokonstriktor. Weiter konnte nachgewiesen werden, dass es menschliche glatte Muskelzellen aus der Lunge *in vitro* kontrahiert (Kawikova et al. 1996) und die Thrombozyten-Aktivität erhöht (Patrono und FitzGerald 1997).

8-Isoprostan kann in vielen Medien festgestellt werden, zum Beispiel im Plasma, Urin, (Morrow et al. 1990) EBC (Liang et al. 2012) und in der BALF (Montuschi et al. 1998), (Janssen 2001). Normale 8-Isoprostan Werte im EBC liegen im ng/Liter Bereich (Horváth et al. 2005) und stellen eine Schwierigkeit für die Messverfahren dar (Janicka et al. 2010). Lyophilisierung und Aufreinigungsschritte werden deshalb häufig angewandt (Janicka et al. 2010).

Bezüglich des 8-Isoprostans bei ILD-Patienten wurden schon einige Studien durchgeführt, jedoch bleibt seine Bedeutung als Marker von oxidativem Stress experimentell.

1.7.2.2 Prostaglandin E2

Prostaglandine und Isoprostane haben Ähnlichkeiten, so besitzen beide einen Zykllopentan-Ring und zwei Kohlenstoffketten (Kawahara et al. 2014).

Prostaglandine wirken auf vier verschiedene Prostaglandin-Rezeptoren (EP1-EP4) und führen über gekoppelte intrazelluläre Wege zu vielfältigen Reaktionen (Kawahara et al. 2014), die proinflammatorische und antiinflammatorische Wirkungen haben können (Zasłona et al. 2014). Das in der Arbeit untersuchte PGE2 stellt mit der Bindung an den EP2-Rezeptor und mit seiner antiinflammatorischen Wirkung ein wichtiges Produkt des COX-Weges in der Lunge dar (Barnes et al. 2009), (Churchill et al. 1989). Die Konzentration im ALF liegt bei 5×10^{-8} Mol/l und damit nahe an seiner biologischen Aktivitätskonzentration (Ozaki et al. 1987). Die Aussagekraft von PGE2 im EBC ist noch nicht abschließend geklärt (Kubáň und Foret 2013). In der Pathogenese der IPF wird eine Erniedrigung des PGE2, das Fibroblasten-kontrollierende Eigenschaften besitzt, angenommen, die eine Folge der in Apoptose gehenden Typ II Pneumozyten ist (Okunishi et al. 2011), (Günther et al. 2012).

1.7.3 Andere Biomarker bei ILD

Im folgenden Abschnitt werden kurz weitere potenzielle Biomarker erwähnt, die allerdings nicht in der vorliegenden Arbeit untersucht wurden.

H₂O₂, Wasserstoffperoxid, ist ein starker Oxidationspartner und kann als ROS angesehen werden (Conner et al. 2002). Im EBC stellt es ein nicht-stabiles und volatiles Molekül dar (Horváth et al. 2005). Es wird zum einen eine schlechte Wiederholbarkeit mit relativ großer Messvariabilität beschrieben, zum anderen sind die Nachweismethoden noch nicht ausgereift, sodass die Ergebnisse nahe am Detektionslimit liegen (Horváth et al. 2005), (Van Beurden, W. J. et al. 2002). Dementsprechend wird die Empfehlung formuliert, sensitivere Methoden in weiteren Studien zu entwickeln (Horváth et al. 2005), (Van Beurden, W. J. et al. 2002). In Bezug auf die IPF wurde in einer Studie erhöhtes H₂O₂ im Atemkondensat von IPF-Patienten festgestellt (Psathakis et al. 2006).

SP-A und SP- C sind Surfactant assoziierte Proteine, die als mögliche Biomarker im Blut bei IPF-Patienten Bedeutung haben können. So sind erhöhte SP-A und -C Spiegel im Blut von IPF-Patienten nachgewiesen worden, welche mit einer schlechteren Prognose assoziiert wurden (Greene et al. 2002), (Kinder et al. 2009). Erhöhte SP-A Werte in der BAL scheinen ebenfalls eine schlechte Prognose anzuzeigen (Kinder et al. 2009). Damit haben beide Marker möglicherweise das Potenzial, als diagnostischer und prognostischer Marker eingesetzt zu werden (Vij und Noth 2012).

Hohe Blutwerte von Krebs der Lungen 6 Antigen (KL-6) (Glykoprotein, das bei Regeneration von Typ II Alveolarzellen produziert wird, auch MUC-1 genannt) sind mit IIP assoziiert (Zhang und Kaminski 2012), (Ishikawa et al. 2012). Es ist chemotaktisch wirkend und vermittelt die Proliferation und Überleben von Fibroblasten (Ohshimo et al. 2005). Es kann im Blut und in der BALF nachgewiesen werden (Kohno et al. 1993). Die Übersichtsarbeit von Ishikawa et al. zeigt, dass KL-6 ein geeigneter Marker für die Diagnose, die Beurteilung und Vorhersage von IIP sein kann (Ishikawa et al. 2012).

Serum CC Chemokine Ligand 18 (CCL18) ist ein chemotaktisch wirkendes Protein (Vij und Noth 2012), das von Alveolarmakrophagen gebildet wird und vermehrt im Serum und BAL von ILD-Patienten nachzuweisen ist (Prasse et al. 2006), (Vij und Noth 2012). CCL18 hat möglicherweise einen prognostischen Charakter, so sind Werte über 150 ng/ml mit einer erhöhten Mortalität bei IPF-Patienten assoziiert (Prasse et al. 2006).

Die Matrix Metalloproteinasen (MMP) scheinen mit der Pathogenese der IPF assoziiert zu sein (Zhang und Kaminski 2012). Als zinkabhängige Protease ist ihre Aufgabe der Ab- und Umbau von extrazellulärer Matrix (Lüllmann-Rauch 2003). Die MMP1, 7, (Rosas et al. 2008) 8 (Craig et al. 2014) und 13 (Nkyimbeng et al. 2013) werden vermehrt im Lungengewebe von Fibrosepatienten exprimiert und haben möglicherweise einen diagnostischen Nutzen.

Das BNP (*brain natriuretic peptide*) wird in der Herzinsuffizienz Diagnostik genutzt, da es vermehrt im Blut nachweisbar ist, wenn eine Volumenbelastung des Ventrikels besteht. Auch in der IPF, die bei fortgeschrittener Erkrankung zu einem pulmonalen Hochdruck mit konsekutiver Rechtherzbelastung führt, konnten erhöhte BNP-Werte im peripheren Blut nachgewiesen werden (Corte et al. 2010). Erhöhte BNP-Werte scheinen hierbei im Zusammenhang mit erhöhter Sterblichkeit zu stehen (Vij und Noth 2012), (Corte et al. 2010).

VGEF (*vascular endothelial growth factor*) ist als Biomarker schwierig zu beurteilen, da die Angiogenese sicherlich ihren Anteil an der Entstehung von fibrotischen Lungenerkrankungen hat, aber ihr Zusammenhang zur IPF noch nicht bis ins Detail geklärt worden ist (Hanumegowda et al. 2012), (Vij und Noth 2012), (Ando et al. 2010). Es scheint ein Ungleichgewicht aus Angiogenese fördernden und hemmenden Chemokinen zu bestehen (Hanumegowda et al. 2012).

YKL-40, ist ein Chininkinase-ähnliches Protein, das in Verbindung mit Inflammation und Zellproliferation gebracht wird (Vij und Noth 2012). Es ist nicht spezifisch für die IPF, jedoch konnten erhöhte Werte in der BALF und im Serum gefunden werden (Furuhashi et al. 2010). Außerdem wurde es in der Immunhistochemie vermehrt festgestellt und scheint eine wesentliche Funktion im interstitiellen Umbau zu besitzen (Furuhashi et al. 2010).

Osteopontin ist ein Glykoprotein, das vermehrt im Lungengewebe von IPF-Patienten exprimiert wird (Pardo et al. 2005). Es konnte bei Patienten mit ILD erhöht in BALF und im Plasma festgestellt werden (Pardo et al. 2005), (Kadota et al. 2005). Außerdem führt Osteopontin zu einer Proliferation und Migration von Fibroblasten und Zellen des Alveolarepithels (Pardo et al. 2005). Durch seinen Einfluss auf MMP und TIMP scheint Osteopontin eine Bedeutung für die Pathogenese der IPF zu haben (Pardo et al. 2005).

Verschiedene Zytokine können im profibrotischen Prozess vermehrt exprimiert werden. Besonders kommt hier TGF- β 1 zum Tragen, welches in der Pathogenese der IPF hochreguliert zu sein scheint (Gauldie et al. 1999). Das Interleukin 13 (IL 13) induziert profibrotische Mediatoren (TGF-b1, PDGF, *Insuline like growth factor* 1, MMP9, CCL 18, Fibronectin). Dies konnte bereits erhöht in der BALF nachgewiesen werden (Hancock et al. 1998). Auch hier ist die Bedeutung als Biomarker nicht abschließend geklärt.

2. Fragestellung

Die Problematik der raschen Progression bei der IPF und das Risiko des Eingriffs der offenen Thorakoskopie machen häufig eine histologische Sicherung nicht möglich. Mithilfe der vorgestellten nicht-invasiven Methoden können im klinischen Alltag Verlaufsveränderungen möglicherweise einfach und kostengünstig festgestellt werden, wodurch dem Patienten eine sichere Diagnose und schnellere Therapieeinleitung ermöglicht werden könnten.

Unter Berücksichtigung des aktuellen Kenntnisstandes zur Pathogenese, Diagnosekriterien und den therapeutischen Möglichkeiten bei der Idiopathischen Lungenfibrose wurden in der vorliegenden Dissertation die folgenden Fragestellungen bearbeitet:

- Stellen die FeNO-Messung und die Analyse der Atemkondensate eine nicht-invasive Untersuchungsmethode dar, um sicher zwischen ILD zu unterscheiden und den Krankheitsverlauf zu bestimmen?
- Kann mittels exhalativer FeNO-Messung zwischen einer Exazerbation und einer Progression der IPF beziehungsweise anderen ILD unterschieden werden?
- Inwieweit beeinflusst die Medikamenteneinnahme den FeNO-Wert bei Patienten?
- Korreliert der FeNO-Wert mit Lungenfunktionsveränderungen?
- Inwieweit unterliegen FeNO-Werte intraindividuellen Schwankungen?
- Können die Eicosanoide Prostaglandin E2 und 8-Isoprostan im Atemkondensat und in der bronchoalveolären Lavage nachgewiesen werden und gibt es Unterschiede in der Konzentration bei verschiedenen ILDs?
- Inwieweit kann das EBC die BAL widerspiegeln beziehungsweise neue Informationen liefern?
- Wie verhalten sich die Eicosanoide in Bezug auf den klinischen Verlauf der ILD und kann für die IPF ein bestimmtes Biomarkerprofil erkannt werden?
- Inwieweit spiegelt das freie 8-Isoprostan das totale 8-Isoprostan wider?

3. Material und Methoden

3.1 Materialien

3.1.1 Geräte

- TURBO–DECCS (Transportable Unit for Research on Biomarkers Obtained from Disposable Exhaled Condensate Collection Systems) ItalChill, Parma, Italien
- NIOX Mino, Aerocrine, Bad Homburg, Deutschland
- Pneumotachograph, EcoVent, CareFusion, Jaeger, Würzburg, Deutschland
- Vortex Vibrax VXR basic, IKA, Staufen, Deutschland
- ELISA-96-well-Plattenlesegerät, Spectra Fluor Plus mit Auswertungs-Software: Magellan 2, Tecan, Crailsheim, Deutschland
- Shaker OV3, Biometra, Göttingen, Deutschland
- Multipipette plus, Eppendorf, Hamburg, Deutschland
- Einkanalpipette, 0,5-10 µl, Eppendorf, Hamburg, Deutschland
- Einkanalpipette, 10-100 µl, Eppendorf, Hamburg, Deutschland
- Einkanalpipette, 100-1000 µl, Eppendorf, Hamburg, Deutschland

3.1.1.1 Geräte der Lungenfunktion

Standort: Lungenfachklinik Waldhof Elgershausen:

- Power Cube – Body, Ganshorn, Niederlauer, Deutschland
- Abl90 flex, Radiometer, Brønshøj, Dänemark

Standort: Universitätsklinikum Gießen und Marburg (UKGM)

- Master Screen Body, Jaeger, Würzburg, Deutschland
- Software Lab. Manager V.5.3.0

3.1.1.2 Konzentrierung der Proben

Zum fünffachen Aufkonzentrieren wurde die Vakuumzentrifuge benutzt.

- UniVapo 150H, UniEquip, Twyford Berkshire, England
- Chemie-HYBRID-Pumpe RC 6, Vacuubrand, Wertheim, Deutschland

3.1.1.3 Festphasenextraktion

- C-18 Röhren, Cayman, Michigan, USA
- Evaporator EVA2-EC 2, VLM, Bielefeld, Deutschland
- Glas-Auffangbecken mit Röhren-Aufsatz

3.1.1.4 ELISA

Verwendet wurden kommerzielle ELISA:

- 8-Isoprostan EIA Kit Cayman Chemical Company, Michigan, USA:
 - 8-Isoprostan EIA- Antiserum
 - 8-Isoprostan AChE Tacer
 - 8-Isoprostan EIA Standard
 - EIA Buffer Konzentrat (10 x)
 - Waschpufferkonzentrat (400 x)
 - Polysorbat 20: ist eine grenzflächenaktive Substanz
 - Maus Anti-Kaninchen IgG beschichtete Platte
 - Ellman's Reagenz
 - EIA Tracer Färbung
 - EIA Antiserum Färbung

- Prostaglandin E2 EIA Kit Cayman Chemical Company, Michigan, USA:
 - Prostaglandin E2 monoklonaler Antikörper
 - Prostaglandin E2 AChE Tracer
 - Prostaglandin E2 EIA Standard
 - EIA Buffer Konzentrat (10 x)
 - Waschpufferkonzentrat (400 x)
 - Polysorbat 20: ist eine grenzflächenaktive Substanz
 - Ziegen Anti-Maus IgG beschichtete Platte
 - Ellman's Reagenz
 - EIA Tracer Färbung
 - EIA Antiserum Färbung

3.1.2 Verbrauchsmaterialien

- DECCS (Disposable Exhales Condensate Collection System) ItalChill, Parma, Italien
- NIOXMinO Einwegfilter (Aerocrine, Bad Homburg, Deutschland)
- Combitips advanced, 5 ml, Eppendorf, Hamburg, Deutschland
- Pipettenspitzen, Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland
- 1,5 ml Reaktionsgefäße, Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland
- 50 ml Falcon-Röhrchen, BD Medical, Franklin Lakes, USA
- Pasteur-Einmalpipetten (Glas 230 mm), VWR International, Darmstadt, Deutschland
- Hochreines Wasser (*Ultra-pure water: UPW*)
- NaCl (0,9 %), B. Braun AG, Melsungen, Deutschland
- Aqua dest., B. Braun AG, Melsungen, Deutschland
- LN₂: Flüssiger Stickstoff, Messer, Griesheim, Deutschland
- Trockeneis
- Ethanol (99,8 %) Sigma-Aldrich, St. Louis, USA
- Ethylacetat mit Methanol (1 %)
- Methanol (1 %)
- KOH (15 %)
- 1 molare Kalium-Phosphat Puffer-Lösung (1M KH₂PO₄)
- Essigsäure (30 %)

3.2 Methoden

3.2.1 Europäisches IPF Register (eurIPFreg)

Die Europäische Union hat das „*European IPF Network (eurIPFnet): Natural Course, Pathomechanisms and Novel Treatment Options in Idiopathic Pulmonary Fibrosis*“ als europäisches Verbundprojekt im Jahr 2008 im siebten Rahmenprogramm (FP7) gefördert, um neue Therapien für die IPF zu finden und die diagnostischen Möglichkeiten zu verbessern (Günther und Müller 2008), (Europäische Kommission-CORDIS), (Günther et al. 2008). Aus dem eurIPFnet ging das europäische IPF-Register (eurIPFreg) mit Biobank hervor. Das eurIPFreg hat sich in Europa zur führenden internetbasierenden Datenbank zur kontinuierlichen Datenerhebung von IPF-Patienten entwickelt (Günther et al. 2008). In das Register sind im April 2014 insgesamt 1450 Patienten, darunter 760 mit einer IIP sowie

Patienten mit anderen Formen einer Lungenerkrankung als Kontrollen, eingeschlossen worden. Neben klinischen Daten umfasst es auch eine Biomaterialsammlung, die es ermöglicht, die IPF, IIP sowie andere chronisch pulmonale Erkrankungen zu erforschen, präziser zu diagnostizieren sowie neue Therapiemöglichkeiten zu etablieren (eurIPFreg 2008), (Günther 2011).

3.2.2 Einverständniserklärung und Datensicherung

Für die Teilnahme am europäischen IPF Register unterschrieben alle Patienten die Einwilligung (*informed consent*), nachdem sie diese in ihrer Muttersprache durchlesen konnten und Zeit hatten, offene Fragen mit einem Arzt zu klären. Aus datenschutzrechtlichen Gründen werden die erhobenen medizinischen Daten in pseudonymisierter Form gespeichert, die eine nicht-autorisierte Rückverfolgung auf den Patienten nach dem aktuellen Stand der Technik unmöglich macht. Die Patienten-Identifikationsdaten werden von den klinischen Daten getrennt und an zwei verschiedenen Orten gespeichert. Für die identifizierenden Daten wird eine Pseudonym-Nummer (PID) generiert, die mit den klinischen Daten in Gießen aufbewahrt werden. Die personenidentifizierenden Daten werden zusammen mit der PID von der Ludwig-Maximilian-Universität München verwaltet. Die zugehörigen Biomaterialien sind mit einer *lab-ID* im eurIPFreg registriert (Günther und Müller 2008), (eurIPFreg 2013).

Ein entsprechend positives Votum der Ethikkommission der Justus-Liebig-Universität Gießen (Aktenzeichen 111/08) und des hessischen Datenschutzes liegen vor.

3.2.3 Untersuchte Patientenkollektive

Im Zuge dieser klinisch-experimentellen Doktorarbeit sind zwischen 2011 bis 2014 insgesamt 120 Patienten in das europäische IPF-Register aufgenommen worden. Im Rahmen der Routinebehandlung sind klinische Daten sowie biologische Proben an den Standorten Klinik Waldhof Elgershausen und in der Fibroseambulanz des UKGM, Standort Gießen gesammelt worden.

Als Einschlusskriterien wurden Patienten mit Lungenerkrankungen ausgewählt, welche die Einwilligungserklärung unterschrieben haben. Die Diagnosestellung der IIPs erfolgte anhand der ATS-Kriterien (American Thoracic Society 2000). Das Kontrollkollektiv umfasst Patienten ohne pulmonale Vorerkrankungen mit unterschriebener Einwilligungserklärung.

Ausgeschlossen wurden solche Patienten, bei denen keine Einwilligung vorlag und deren respiratorische Situation eine EBC-Sammlung nicht möglich machte.

Nachfolgend wird in tabellarischer Form eine Charakterisierung der Patientenkollektive vorgenommen. Unter a wurde in den Tabellen das Hauptkollektiv mit zusammengefassten ILDs beschrieben, während unter b eine genauere Betrachtung der ILD-Untergruppen vorgenommen wurde. Die Tabelle 1 beschreibt das FeNO-Kollektiv. In der Tabelle 2 werden die Patienten charakterisiert, bei denen zum selben Zeitpunkt gesammelte EBCs und BALs mittels ELISA untersucht wurden, dabei waren die EBCs mittels Vakuumentrifuge konzentriert worden. Die Tabelle 3 beschreibt das BALF ELISA-Kollektiv, bei dem zusätzlich das totale 8-Isoprostan bestimmt wurde.

Tabelle 1 a: Hauptpatienten-Kollektiv FeNO: Vergleich von klinischen und funktionellen Parametern. Die Daten sind angegeben in Median (Interquartilsbereich) oder in n (%). Als ILDs sind die nicht-klassifizierbaren IIPs, RB-ILD, COP, EAA, Sarkoidose und CTD-ILDs zusammengefasst. Falls Daten nicht von allen Patienten vorhanden waren, ist die Anzahl (n) angegeben. Berechnung p mit Kruskal-Wallis Test. #: Chi²-Test, °: Mann-Whitney-U Test, ns.: nicht-signifikant.

	Gesund n = 20	IPF n = 11	ILD n = 23	COPD n = 24	BC n = 16	p-Wert	
Alter in Jahren	30 (25-49)	70 (66-73)	68 (49-73)	68 (61-74)	65 (58-70)	< 0.0001	***
Geschlecht (♀/♂)	19/1	2/9	10/13	10/14	3/13	< 0.0001 #	***
Aktive Raucher, n (%)	8 (40)	1 (9)	2 (9)	4 (17)	2 (13)		
Nie Raucher, n (%)	10 (50)	3 (27)	8 (35)	4 (17)	0 (0)	< 0.0001 #	***
Ex Raucher, n (%)	2 (10)	7 (64)	13 (57)	16 (67)	14 (88)		
CRP (mg/dl)		0,5 (0,3-1,3)	0,5 (0,2-1,3)	0,7 (0,43-1,4)	0,5 (0,15-1,08)	0,29	ns.
BAL: Recovery (ml)		50 (17-69), n: 8	68 (58-76), n: 20			0,0336 °	*
Makrophagen %		58 (35-81), n: 8	72 (48-83), n: 20			0,3870 °	ns.
Neutrophile %		24 (12-30), n: 8	5,5 (2-11,75), n: 20			0,0040 °	**
Eosinophilen %		3 (0,3-5,8), n: 8	1,5 (0-3,75), n: 20			0,4033 °	ns.
Lymphozyten %		8 (5-25), n: 8	16,5 (8-33), n: 20			0,3732 °	ns.
CD4/CD8		1,7 (0,85-4,55), n: 5	2,2 (1,1-4,9), n: 15			0,6941 °	ns.
VCin % Soll	102 (87-112)	75 (47-83)	77 (55-92)	68 (46-81), n: 23	79 (66-87)	< 0.0001	***
FVC% Soll	97 (83-110)	68 (45-88)	83 (47-97)	57 (40-72), n: 22	76 (62-87)	< 0.0001	***
TLC% Soll	103 (94-108)	57 (47-75)	78 (62-98)	87 (78-119), n: 22	85 (79-97)	< 0.0001	***
FEV1% Soll	95 (87-109)	90 (57-95)	84 (57-109)	53 (43-66), n: 23	78 (67-91)	< 0.0001	***
FEV1/VCin % Soll	99 (91-106)	112 (109-138)	113 (104-131)	83 (68-104)	106 (92-110)	0,0003	***
ITGV% Soll	99 (91-112)	64 (50-90)	88 (66-109)	113 (93-170), n: 23	91 (77-114)	0,0015	**
RV% Soll	104 (91-124)	50 (24-80)	89 (57-121)	140 (86-197), n: 22	98 (84-133)	0,0012	**
RV/TLC% Soll	104 (93-112)	60 (50-142)	110 (78-124)	147 (120-172), n: 23	112 (95-137)	0,0008	***
R tot kPa x s/l	0,23 (0,21-0,29)	0,32 (0,25-0,65)	0,34 (0,26-0,43)	0,61 (0,5-0,8), n: 23	0,43 (0,33-0,54)	< 0.0001	***
DLCO % Soll	91 (79-108)	38 (26-54), n: 10	57 (37-74), n: 17	20 (16-31), n: 7	40 (31-52), n: 6	< 0.0001	***
KCO% Soll	88 (77-99)	53 (33-62), n: 10	67 (65-93), n: 15		22,5 (13-32), n: 2	0,0003	***
SaO ₂ in %	97 (95-98), n:10	94 (94-95)	96 (95-97)	94 (92-95)	95 (94-96)	0,0048	**
pO ₂ (mmHg)	80 (71-89), n:10	73 (69-75)	81 (74-87)	69 (63-76,5)	75,5 (69-83)	0,0952	ns.
pCO ₂ (mmHg)	34 (33-37), n:10	41 (36-46)	39 (37-42)	42 (40-48,25)	39 (37-44,25)	0,0147	*
O ₂ Bedarf Anzahl, n (%)	0 (0)	3 (27)	3 (15)	8 (33,3)	2 (12,5)	0,0416 #	*
Gehstrecke in Metern		270 (120-360)	360 (293-480), n: 10	360 (270-360), n: 4	300, n: 1	0,1557	ns.
VO ₂ max (ml/kg/min)		13 (11,5-21,5), n: 5	19 (14-25), n: 7	17, n: 1	18 (14-22), n: 2	0,6404	ns.
Digital Clubbing, n (%)	0 (0)	9 (82)	5 (22)	2 (8,3)	0 (0)	< 0.0001 #	***
Sklerosiphonie, n (%)	0 (0)	10 (91)	4 (17)	2 (8,3)	0 (0)	< 0.0001 #	***
NSAR, n (%)	0 (0)	6 (55)	9 (39)	8 (33,3)	8 (50)	0,0055 #	**
PPI, n (%)	0 (0)	5 (45)	10 (43)	14 (58)	12 (75)	< 0.0001 #	***
Steroide systemisch, n (%)	0 (0)	8 (73)	15 (65)	19 (79)	7 (44)	< 0.0001 #	***
Steroide inhalativ, n (%)	0 (0)	3 (27)	4 (20)	4 (16,7)	0 (0)	0,0706 #	ns.
Pirfenidon, n (%)	0 (0)	5 (45)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	nicht möglich	
Verstorbene, n (%)	0 (0)	3 (27)	2 (10)	4 (16,7)	5 (31,25)	0,0620 #	ns.

Tabelle 1 b: ILD-Patientenkollektiv FeNO: Vergleich von klinischen und funktionellen Parametern für das ILD-Patientenkollektiv. Die Daten sind angegeben in Median (Interquartilsbereich) oder in n (%). Falls Daten nicht von allen Patienten vorhanden waren, ist die Anzahl (n) angegeben. Berechnung p mit Kruskal-Wallis Test, # Chi²-Test, ns.: nicht-signifikant.

	Nichtklass. IIPs n = 2	RB-ILD n = 2	COP n = 8	EAA n = 5	Sarkoidose n = 3	CTD-ILD n = 3	p-Wert	
Alter in Jahren	75 (69-81)	39 (34-43)	71 (65-76)	69 (50-74)	50 (42-68)	62 (44-67)	0,1026	ns.
Geschlecht (♀/♂)	2/0	2/0	2/6	2/3	0/3	2/1	0,0977 #	ns.
Aktive Raucher, n (%)	0 (0)	2 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)		
Nie Raucher, n (%)	2 (100)	0 (0)	3 (38)	2 (40)	1 (33)	0 (0)	0,0014 #	**
Ex Raucher, n (%)	0 (0)	0 (0)	5 (63)	3 (60)	2 (67)	3 (100)		
CRP (mg/dl)	1,8 (0,3-3,3)	0,95 (0,7-1,2)	0,35 (0,23-2,03)	0,5 (0,15-2,75)	0,8 (0,3-1,2)	0,1 (0-22,6)	0,9348	ns.
BAL: Recovery (ml)	70 (55-85)	80, n: 1	68 (56-72)	73 (65-84), n: 4	60 (55-65)	73 (73-73), n: 2	0,3243	ns.
Makrophagen %	50 (45-55)	93, n: 1	78 (62-89)	51 (17-76), n: 4	72 (45-72)	71 (57-85), n: 2	0,2726	ns.
Neutrophile %	20 (2-37)	6, n: 1	4 (1-9)	4 (2-7), n: 4	11 (4-13)	20 (10-30), n: 2	0,3619	ns.
Eosinophilen %	7,5 (7-8)	0, n: 1	1,5 (0-3,8)	2 (0,5-5,8), n: 4	0 (0-1)	1 (0-2), n: 2	0,2202	ns.
Lymphozyten %	23 (11-35)	1, n: 1	13 (6-26)	39 (18-79), n: 4	24 (16-42)	8 (3-13), n: 2	0,1631	ns.
CD4/CD8	5,8, n: 1		1,65 (0,45-3,85), n: 6	1,9 (0,65-2,63), n: 4	1,8 (1,8-7,5)	50, n: 1	0,2890	ns.
VCin % Soll	62 (40-83)	64 (35-92)	87 (64-103)	61 (38-97)	71 (63-96)	74 (55-108)	0,8230	ns.
FVC% Soll	67 (42-92)	61 (31-90)	83 (48-104)	65 (42-100)	83 (71-97)	83 (67-112)	0,8450	ns.
TLC% Soll	72 (63-80)	84 (64-104)	83 (65-98)	78 (44-95)	64 (58-102)	62 (49-114)	0,9376	ns.
FEV1% Soll	81 (52-109)	57 (29-84)	91 (58-104)	82 (50-113)	82 (80-111)	103 (80-110)	0,8677	ns.
FEV1/VCin % Soll	135 (134-136)	89 (84-93)	108 (97-115)	129 (104-131)	115 (112-124)	136 (108-153)	0,0348	*
ITGV% Soll	85 (84-86)	108 (96-119)	91 (65-132)	88 (46-105)	87 (66-92)	108 (48-127)	0,7328	ns.
RV% Soll	95 (89-100)	127 (124-129)	88 (58-113)	72 (49-129)	49 (49-120)	80 (10-134)	0,6192	ns.
RV/TLC% Soll	133 (108-157)	140 (122-158)	104 (69-122)	113 (87-138)	79 (70-110)	113 (18-122)	0,3513	ns.
R tot kPa x s/l	0,33 (0,31-0,34)	0,19 (0,11-0,26)	0,33 (0,25-0,48)	0,41 (0,27-0,69)	0,37 (0,23-0,42)	0,34 (0,28-0,45)	0,5887	ns.
DLCO % Soll	37 (17-57)	65 (49-81)	61 (33-73), n: 3	43 (28-68)	74 (61-89)	53,5 (41-66), n: 2	0,3518	ns.
KCO% Soll	65, n: 1	79,5 (66-93)	66 (35-94), n: 3	65 (46-86)	92,5 (67-118), n: 2	81 (67-95), n: 2	0,4987	ns.
SaO ₂ in %	93,5 (91-96)	96,5 (96-97)	95,5 (92,5-96,75)	96 (94,5-97,5)	97 (96-98)	96 (95-97)	0,4846	ns.
pO ₂ (mmHg)	68,5 (56-81)	88,5 (87-90)	75 (65,25-83,5)	82 (72,5-90,5)	84 (79-89)	86 (74-91)	0,3282	ns.
pCO ₂ (mmHg)	36,5 (36-37)	41 (39-43)	39 (38,25-41,75)	37 (34,75-38,5)	41 (40-45)	44 (37-44)	0,0549	ns.
O ₂ Bedarf Anzahl, n (%)	1 (50)	0 (0)	1 (13)	1 (20)	0 (0)	0 (0)	0,5751 #	ns.
Gehstrecke in Metern	215 (120-310)	600, n: 1	480, n: 1	360 (270-450), n: 4		420 (360-480), n: 2	0,1853	ns.
VO ₂ max (ml/kg/min)		18, n: 1		14 (12-25), n: 3	22 (19-28)		0,3679	ns.
Digital Clubbing, n (%)	1 (50)	1 (50)	1 (12,5)	0 (0)	1 (33,3)	1 (33,3)	0,5291 #	ns.
Skleosiphonie, n (%)	1 (50)	0 (0)	0 (0)	1 (20)	1 (33,3)	1 (33,3)	0,4574 #	ns.
NSAR, n (%)	0 (0)	1 (50)	3 (37,5)	1 (20)	1 (33,3)	3 (100)	0,2304 #	ns.
PPI, n (%)	1 (50)	1 (50)	2 (25)	2 (40)	2 (66,6)	2 (66,6)	0,7738 #	ns.
Steroide systemisch, n (%)	1 (50)	1 (50)	7 (87,5)	3 (60)	2 (66,6)	1 (33,3)	0,6133 #	ns.
Steroide inhalativ, n (%)	1 (50)	1 (50)	2 (25)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0,3472 #	ns.
Verstorbene, n (%)	1 (50)	0 (0)	1 (12,5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0,3885 #	ns.

Tabelle 2 a: Hauptpatienten-Kollektiv ELISA von BALF und EBC derselben Patienten zum gleichen Zeitpunkt. Vergleich von Parametern für jedes Kollektiv. Die Daten sind angegeben in Median (Interquartilsbereich) oder in n (%). Als ILDs sind die klinischen nicht-klassifizierbaren IIP, COP, DIP, EAA, Sarkoidose, CTD-ILD und Pneumokoniose zusammengefasst. Falls klinische Daten nicht von allen Patienten vorhanden waren, ist die Anzahl (n) angegeben. Berechnung p mit Kruskal-Wallis Test, #: Chi²-Test, °: Mann-Whitney-U Test, ns.: nicht-signifikant.

	Gesunde n = 14	IPF n = 4	ILDs n = 12	p-Wert	
Alter in Jahren	39 (24-51)	65 (48-72)	75 (53-77)	0,0010	***
Geschlecht (♀/♂)	13/1	1/3	4/8	0,0182 #	*
Aktive Raucher, n (%)	7 (50)	1 (25)	3 (25)		
Nie Raucher, n (%)	6 (43)	1 (25)	2 (17)	0,0827 #	ns.
Ex Raucher, n (%)	1 (7)	2 (50)	7 (58)		
CRP (mg/dl)		1,15 (0,4-1,9)	2,6 (0,2-6,5)	0,5828 °	ns.
BAL: Recovery (ml)		99 (90-127)	84 (62-108)	0,1816 °	ns.
Makrophagen %		82 (46-88)	65 (36-87)	0,6274 °	ns.
Neutrophile %		8 (3-46)	18 (7-50)	0,3313 °	ns.
Eosinophilen %		7 (5-8)	2 (1-4)	0,0120 °	*
Lymphozyten %		2 (2-4)	4 (3-12)	0,1691 °	ns.
VCin % Soll	100 (85-117), n: 11	65 (53-68)	67 (40-77)	0,0001	***
FVC% Soll		67 (59-71)	47 (33-72), n: 7	0,4466 °	ns.
TLC% Soll	102 (92-111), n: 10	76 (73-83)	83 (73-90)	0,0049	**
FEV1% Soll	95 (88-106), n: 11	69 (65-78)	71 (34-77)	0,0003	***
FEV1/VCin % Soll	95 (90-103)	111 (101-134)	96 (93-114)	0,1228	ns.
ITGV% Soll	100 (90-114), n: 10	144 (103-184)	105 (90-136)	0,4661	ns.
RV% Soll	95 (88-125), n: 10	100 (86-123)	134 (79-158)	0,4961	ns.
RV/TLC% Soll	104 (91-110), n: 10	129 (109-141)	135 (103-198)	0,0991	ns.
R tot% Soll	79 (59-116), n: 10	59 (46-75)	90 (64-125)	0,1871	ns.
DLCO % Soll	97 (91-119)	44 (36-48)	39 (25-49), n: 11	0,0001	***
KCO% Soll	89 (77-100), n: 11	66 (23-79)	62 (39-81), n: 11	0,0066	**
SaO ₂ in %	97 (97-98), n: 10	97 (96-97)	94 (93-95)	0,0005	***
pO ₂ (mmHg)	80 (73-89), n: 10	77 (69-81)	64 (57-77)	0,0366	*
pCO ₂ (mmHg)	36 (33-39), n: 10	42 (41-42)	39 (35-42)	0,0208	*
O ₂ Bedarf Anzahl, n (%)	0 (0)	1 (25)	5 (42)	0,0290 #	*
Gehstrecke in Metern		360 (180-363)	315 (150-360)	0,4511 °	ns.
VO ₂ max (ml/kg/min)		17,5 (15-20), n: 2	12 (11-14), n: 2	< 0,0001 °	***
NYHA (I-IV)		3 (2-3), n: 3	2, n: 3	nicht mög.	
Digital Clubbing, n (%)	0 (0)	3 (75)	4 (33)	0,0043 #	**
Skleosiphonie, n (%)	0 (0)	4 (100)	6 (50)	0,0003 #	***
NSAR, n (%)	0 (0)	1 (25)	1 (8)	0,2005 #	ns.
PPI, n (%)	0 (0)	0 (0)	9 (75)	< 0,0001 #	***
Steroide systemisch, n (%)	0 (0)	0 (0)	5 (42)	0,2445 #	ns.
Steroide inhalativ, n (%)	0 (0)	0 (0)	1 (8)	nicht mög.	
Pirfenidon, n (%)	0 (0)	2 (50)	0 (0)	nicht mög.	
Verstorbene, n (%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	nicht mög.	

Tabelle 2 b: ILD-Patientenkollektiv ELISA von BALF und EBC derselben Patienten zum selben Zeitpunkt. Vergleich von klinischen Parametern für das ILD-Patientenkollektiv. Die Daten sind angegeben in Median (Interquartilsbereich) oder in n (%). Falls klinische Daten nicht von allen Patienten vorhanden waren, ist die Anzahl (n) angegeben. Berechnung p mit Kruskal-Wallis Test, #: Chi²-Test, ns.: nicht-signifikant.

	Nichtklass. IIPs n = 2	COP n = 2	DIP n = 1	EAA n = 4	Sarkoidose n = 1	Pneumokoniose n = 1	CTD-ILD n = 1	p-Wert	
Alter in Jahren	61 (47-74)	68 (60-75)	41	75 (56-78)	77	80	76	0,0182	*
Geschlecht (♀/♂)	0/2	1/1	1/0	0/4	1/0	0/1	1/0	0,1356 #	ns.
Aktive Raucher, n (%)	1 (50)	0 (0)	1 (100)	1 (25)	0 (0)	0 (0)	0 (0)		
Nie Raucher, n (%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (100)	0 (0)	1 (100)	0,1551 #	ns.
Ex Raucher, n (%)	1 (50)	2 (100)	0 (0)	3 (75)	0 (0)	1 (100)	0 (0)		
CRP (mg/dl)	3,55 (0,1-7)	2,75 (1,3-4,2)	4,9	4,85 (0,45-9,48)	0,1	0,4	3,7	0,7961	ns.
BAL: Recovery (ml)	62	96 (85-106)	50	86 (69-105)	115	45	108	0,1613	ns.
Makrophagen %	91 (88-93)	30 (18-42)	67	71 (51-86)	20	34	84	0,1802	ns.
Neutrophile %	12 (4-20)	62 (55-68)	29	8 (6-27)	77	15	8	0,2891	ns.
Eosinophilen %	3 (2-4)	1 (0-2)	0	3 (2-3)	0	5	6	0,1684	ns.
Lymphozyten %	3 (2-4)	8 (3-12)	4	7 (2-35)	3	45	2	0,5523	ns.
VCin % Soll	49 (39-58)	75 (67-83)	34	72 (48-77)	88	34	67	0,1949	ns.
FVC% Soll	47, n: 1		33	68 (63-72), n: 2	93	33	37	0,3170	ns.
TLC% Soll	89 (86-91)	108 (84-132)	73	73 (47-84)	111	73	76	0,2443	ns.
FEV1% Soll	44 (31-56)	74 (71-76)	31	76 (48-91)	77	32	73	0,3423	ns.
FEV1/VCin % Soll	87 (80-94)	101 (90-112)	96	110 (98-119)	92	96	114	0,3624	ns.
ITGV% Soll	129 (113-144)	144 (103-184)	104	81 (45-111)	163	104	86	0,5082	ns.
RV% Soll	177 (142-212)	169 (115-223)	158	64 (48-112)	148	158	98	0,2845	ns.
RV/TLC% Soll	182 (141-223)	126 (130-161)	210	90 (81-129)	130	210	128	0,2170	ns.
R tot% Soll	151 (148-153)	101 (91-111)	44	84 (64-120)	97	44	82	0,1981	ns.
DLCO % Soll	32 (25-39)	49, n: 1	20	53 (38-70)	45	32	24	0,2624	ns.
KCO% Soll	51 (39-62)	81, n: 1	27	79 (64-97)	53	35	50	0,1923	ns.
SaO ₂ in %	94 (94-94)	95 (94-95)	94	93 (90-97)	92	95	93	0,8085	ns.
pO ₂ (mmHg)	59 (52-65)	70 (62-77)	81	66 (55-89)	61	72	60	0,7182	ns.
pCO ₂ (mmHg)	39 (39-39)	33 (31-34)	43	35 (35-48)	40	39	42	0,3172	ns.
O ₂ Bedarf Anzahl, n (%)	2 (100)	1 (50)	0 (0)	1 (25)	0 (0)	0 (0)	1 (100)	0,3343 #	ns.
Gehstrecke in Metern	270 (240-300)	120	360	360	330	360	240	0,3860	ns.
VO ₂ max (ml/kg/min)	14			10,5				nicht mögl.	
NYHA (I-IV)			2, n:1	2, n: 4	2, n:1			nicht mögl.	
Digital Clubbing, n (%)	2 (100)	0 (0)	1 (100)	1 (25)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0,1958 #	ns.
Skleosiphonie, n (%)	1 (50)	0 (0)	1 (100)	3 (75)	0 (0)	0 (0)	1 (100)	0,3208 #	ns.
NSAR, n (%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (25)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	nicht mögl.	
PPI, n (%)	2 (100)	1 (50)	0 (0)	4 (100)	1 (100)	0 (0)	1 (100)	0,1557 #	ns.
Steroide systemisch, n (%)	1 (50)	1 (50)	1 (100)	0 (0)	0 (0)	1 (100)	1 (100)	0,2466 #	ns.
Steroide inhalativ, n (%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (25)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	nicht mögl.	
Pirfenidon, n (%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	nicht mögl.	
Verstorbene, n (%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	nicht mögl.	

Tabelle 3 a: Hauptpatienten-Kollektiv des BALF-ELISA: Vergleich von klinischen und funktionellen Parametern. Die Daten sind angegeben in Median (Interquartilsbereich) oder in n (%). Als ILDs sind die NSIP, EAA und Sarkoidose zusammengefasst. Falls Daten nicht von allen Patienten vorhanden waren, ist die Anzahl (n) angegeben. Berechnung p mit Kruskal-Wallis Test, °: Mann-Whitney-U Test, #: Chi²-Test, ns.: nicht-signifikant.

	Gesunde n = 20	IPF n = 21	ILD n = 31	p-Wert	
Alter in Jahren	30 (25-58)	60 (55-65)	55 (43-67)	0,0027	**
Geschlecht (♀/♂)	11/9	6/15	17/14	0,1263 #	ns.
Aktive Raucher, n(%)	1 (5)	1 (1)	1 (8)		
Nie Raucher, n(%)	1 (5)	2 (9,5)	12 (39)	0,7711 #	ns.
Ex Raucher, n(%)	3 (15)	12 (57)	10 (32)		
LDH (U/l)	157 (125-195), n: 11	245 (203-313), n: 20	238 (186-298), n: 29	0,0001	***
CK (U/l)	78 (65-96), n: 8	74 (49-98)	77 (51-118), n: 26	0,9146	ns.
CRP (mg/dl)	2,5 (0,8-4), n: 8	2 (1,3-6,6)	4 (1,6-6)	0,3312	ns.
BAL: Recovery (ml)	98 (87-104), n: 8	100 (80-110)	98 (80-113)	0,9322	ns.
Makrophagen %	89 (83-94), n: 8	84 (69-90)	65 (41-82)	0,0031	**
Neutrophile %	3,5 (1-5), n: 8	5 (2,5-9,5)	4 (2-19)	0,5202	ns.
Eosinophilen %	1 (0-1), n: 8	3 (1-4)	1 (0-2,25), n: 30	0,0155	*
Lymphozyten %	5,5 (4,25-12), n: 8	6 (2,5-14,5)	19 (6-36)	0,0133	*
CD4/CD8	4,3, n: 1	2,3 (1,4-4,6), n: 11	4,8 (0,9-9), n: 23	0,4706	ns.
VCin % Soll	95 (91-116), n: 8	64 (54-72), n: 20	71 (55-92)	0,0035	**
FVC% Soll	97 (84-119), n: 6	67 (53-75)	70 (56-94), n: 30	0,014	*
TLC% Soll	103 (95-126), n: 8	69 (56-82), n: 20	89 (71-105)	0,0001	***
FEV1% Soll	98 (89-109), n: 8	71 (55-77), n: 20	74 (59-87)	0,003	**
FEV1/VCin % Soll	107 (97-112), n: 8	110 (102-118), n: 20	104 (98-110), n: 30	0,2606	ns.
ITGV% Soll	104 (88-129), n: 6	67 (55-87), n: 20	85 (72-108)	0,0015	**
RV% Soll	139 (110-148), n: 8	75 (66-100), n: 20	111 (92-148)	< 0,0001	***
RV/TLC% Soll	117 (97-137), n: 6	110 (98-122), n: 20	133 (109-146), n: 30	0,0293	*
R tot% Soll	88 (80-103), n: 8	86 (69-100)	110 (93-133)	0,01	**
DLCO % Soll	69 (63-75), n: 2	43 (34-52), n: 19	55 (44-83), n: 27	0,01	**
KCO% Soll	77, n: 1	65 (59-81), n: 20	82 (61-97), n: 26	0,3105	ns.
SaO ₂ in %	95 (95-95), n: 3	94 (93-96), n: 20	94 (92-95), n: 30	0,6495	ns.
pO ₂ (mmHg)	77 (72-92), n: 5	70 (66-74), n: 19	67 (60-75), n: 26	0,0489	*
pCO ₂ (mmHg)	37 (34-41), n: 5	38 (36-41), n: 19	38 (35-41), n: 26	0,7014	ns.
O ₂ Bedarf Anzahl, n(%)	0 (0)	4 (20)	6 (19)	0,0003 #	***
Gehstrecke in Metern		405 (352-477)	406 (314-454), n: 26	0,6377 °	ns.
VO ₂ max (ml/kg/min)		13,7 (12,2-18), n: 15	16,4 (13,4-20,4), n: 21	0,2414 °	ns.
NYHA I-IV		3 (2-3), n: 15	2 (2-3), n: 15	0,1551 °	ns.
BORG im 6MGT		3 (2-6), n: 19	1 (1-3), n: 25	0,0400 °	*
Digital Clubbing, n(%)	0 (0)	10 (14)	4 (31)	0,0003 #	***
Sklerosiphonie, n(%)	0 (0)	17 (24)	17 (55)	< 0,0001 #	***
NSAR, n(%)	0 (0)	4 (19)	8 (26)	0,0510 #	ns.
PPI, n(%)	2 (10)	3 (14)	11 (35)	0,0594 #	ns.
Steroide systemisch, n(%)	0 (0)	7 (33)	8 (26)	0,0211 #	*
Steroide inhalativ, n(%)	4 (20)	1 (5)	7 (23)	0,2140 #	ns.
Verstorbene, n(%)	0 (0)	8 (38)	2 (15)	0,0006 #	***

Tabelle 3 b: ILD-Patientenkollektiv des BALF-ELISA: Vergleich von klinischen und funktionellen Parametern für das ILD-Kollektiv. Die Daten sind angegeben in Median (Interquartilsbereich) oder in n (%). Falls die Daten nicht von allen Patienten vorhanden waren, ist die Anzahl (n) angegeben. Berechnung p mit Kruskal-Wallis Test, #: Chi²-Test, ns.: nicht-signifikant.

	NSIP n = 5	EAA n = 13	Sarkoidose n = 13	p-Wert	
Alter in Jahren	68 (30-71)	62 (48-69)	44 (37-58)	0,0555	ns.
Geschlecht (♀/♂)	2/3	7/6	8/5	0,7099 #	ns.
Aktive Raucher, n(%)	0 (0)	0 (0)	1 (8)		
Nie Raucher, n(%)	1 (20)	8 (62)	3 (23)	0,459 #	ns.
Ex Raucher, n(%)	2 (40)	5 (38)	3 (23)		
LDH (U/l)	196 (182-303)	288 (214-316), n: 12	207 (176-289), n: 12	0,1334	ns.
CK (U/l)	32 (30-137)	71 (67-128), n: 11	96 (47-118), n: 10	0,4783	ns.
CRP (mg/dl)	13,4 (2,3-27,1)	2,5 (1,3-5,6)	4,15 (1,5-7,1),n: 12	0,3992	ns.
BAL: Recovery (ml)	85 (66-119)	100 (91,5-115,5)	93 (79-106,5)	0,4153	ns.
Makrophagen %	62 (38-88)	54 (32,5-71,5)	78 (56-92,5)	0,0906	ns.
Neutrophile %	4 (2-52)	13 (3,5-29,5)	2 (1-3), n: 12	0,0073	**
Eosinophilen %	0 (0-4,5)	2 (0,25-3), n: 12	0 (0-1)	0,1517	ns.
Lymphozyten %	9 (3-24)	26 (10,5-43)	15 (4,5-41)	0,338	ns.
CD4/CD8	0,9, n: 1	2,15 (0,5-3,75), n: 10	8,75 (6,6-15), n: 12	0,0025	**
VCin % Soll	59 (34-79)	60 (47-73)	92 (78-105), n: 20	0,0017	**
FVC% Soll	58 (34-80)	57 (46-73)	95 (78-108), n: 12	0,0021	**
TLC% Soll	75 (33-86)	72 (62-90)	102 (93-112)	0,002	**
FEV1% Soll	66 (38-79)	63 (51-74)	87 (78-98)	0,0052	**
FEV1/VCin % Soll	105 (101-123)	109 (101-119)	100 (89-107), n: 12	0,0601	ns.
ITGV% Soll	76 (61-109)	80 (69-104)	94 (84-114)	0,2426	ns.
RV% Soll	77 (42-181)	96 (91-140)	128 (109-152)	0,0903	ns.
RV/TLC% Soll	124 (73-199)	142 (128-149)	125 (104-139), n: 12	0,1071	ns.
R tot% Soll	108 (77-181)	120 (94-152)	102 (91-118)	0,4341	ns.
DLCO % Soll	44 (40-79),n: 3	49 (30-51),n: 11	83 (72-95)	0,0021	**
KCO% Soll	63 (40-117),n: 3	64 (45-79), n:10	95 (82-100)	0,0122	*
SaO ₂ in %	95 (90-97)	92 (90-94)	95 (93-96), n: 12	0,0643	ns.
pO ₂ (mmHg)	70 (57-86)	63 (57-69), n: 12	74 (63-82), n: 9	0,235	ns.
pCO ₂ (mmHg)	35 (33-48)	38 (35-41),n: 12	38 (34-40),n: 9	0,9347	ns.
O ₂ Bedarf Anzahl, n(%)	2 (40)	4 (31)	0 (0)	0,9331 #	ns.
Gehstrecke in Metern	370 (198-472)	387 (312-417),n: 12	424 (390-472), n: 9	0,2347	ns.
VO ₂ max (ml/kg/min)	18,8 (7,8-26,1), n: 4	14,4 (14-17,9), n: 7	15,8 (12,4-20,4),n: 10	0,8732	ns.
NYHA I-IV	3 (2-3),n: 3	2,5 (2-3),n: 8	2 (1,25-2,75),n: 4	0,4951	ns.
BORG im 6MGT	4 (2-8)	1,5 (1-3), n: 12	1 (0,1-1), n: 8	0,0264	*
Digital Clubbing, n(%)	0 (0)	4 (31)	0 (0)	0,0416 #	*
Sklerosiphonie, n(%)	4 (80)	11 (85)	2 (15)	0,0009 #	***
NSAR, n(%)	3 (60)	2 (15)	3 (23)	0,1465 #	ns.
PPI, n(%)	3 (60)	4 (31)	4 (31)	0,4572 #	ns.
Steroide systemisch, n(%)	3 (60)	3 (23)	2 (15)	0,1465 #	ns.
Steroide inhalativ, n(%)	1 (20)	3 (23)	3 (23)	0,9887 #	ns.
Verstorbene, n(%)	0 (0)	2 (15)	0 (0)	0,2276 #	ns.

3.2.4 Klinische Datenerhebung

Die meisten klinischen Daten konnten im Rahmen des Routineaufenthalts der Patienten erhoben werden beziehungsweise retrospektiv aus dem Archiv und dem Krankenhaus-Informationssystem nachgetragen werden. Im Waldhof wird mit der Software ORBIS (Agfa HealthCare, Bonn, Deutschland) und im UKGM mit der Software KAOS (Citrix, Fort Lauderdale, USA) gearbeitet. Zu der klinischen Datenerhebung gehören: Alter, Geschlecht, Krankheitsverlauf, Medikamenteneinnahme, Nikotinabusus, Blutgasanalysen in Ruhe / Belastung, Dyspnoe-Angabe (Borg Skala) (Borg 1982) und Gehstrecke im 6 MGT (nach ATS-Richtlinien durchgeführt) (American Thoracic Society 2002) sowie Spiroergometrien, Bronchoskopiebefunde, BAL-Zytologien (die nicht älter oder nicht jünger als sechs Monate zur EBC- bzw. FeNO-Messung sind) und VATS-Befunde.

3.2.5 Lungenfunktionsmessung

Die Bodyplethysmografie wurde im Klinikalltag mit den Geräten Master Screen Body (Jaeger, Würzburg, Deutschland) und dem Power Cube-Body (Ganshorn, Niederlauer, Deutschland) nach den ATS-Empfehlungen durchgeführt. Eine Nasenklemme wurde bei allen Messungen benutzt.

Durch die *Single-breath*-Methode wird die Diffusionskapazität der Lunge für Kohlenstoffmonoxid (CO) bestimmt. Hierbei wird ein Gasgemisch in festgelegter Konzentration inhaliert und für zehn Sekunden der Atem angehalten. Aus der ausgeatmeten CO-Fraktion können dann die DLCO und unter Berücksichtigung des Korrekturfaktors für Hämoglobin die KCO errechnet werden (Waldhof: 0,25% CO, 18% Helium sowie 17% O₂, Rest Stickstoff. Gießen: 0,2% CO- und 8% Helium-Gasgemisch).

3.2.6 FeNO-Messung

Die FeNO-Messung erfolgte mit dem Gerät NIOX Mino (Aerocrine, Bad Homburg, Deutschland). Bei allen Patienten wurden eine Nasenklemme benutzt und der NIOX Mino-Einwegfilter (Aerocrine, Bad Homburg, Deutschland) vor jeder Messung gewechselt. Es wurde im Standard-Modus gemessen, das heißt, dass in der Inspiration mindestens - 3 cmH₂O und in der Expiration für zehn Sekunden ein Druck von 10-20 cmH₂O erreicht werden. Der expiratorische Fluss liegt bei 50 ± 5 ml/s (BTPS) (American Thoracic Society und European Respiratory Society 2005).

Der Patient wird aufgefordert, zunächst auszuatmen, dann tief bis zur totalen Lungenkapazität durch den Filter einzuatmen und dann langsam unter gleichmäßigem Druck durch den Filter auszuatmen. Das Atemmanöver wird zunächst erklärt und dann mit einem Spiegel zur Selbstkontrolle durchgeführt (Aerocrine 2006).

3.2.7 Gewinnung der bronchoalveolären Spülflüssigkeit (BALF)

Die Bronchoskopien sind im Rahmen der Diagnostik in der Klinik Waldhof Elgershausen und im UKGM durchgeführt worden (nicht bei jedem Patientenkollektiv, denn es wurde eine Abwägung zwischen Nutzen und Risiko vorgenommen). Alle Patienten sind hierfür mindestens vierundzwanzig Stunden zuvor aufgeklärt worden. Zur kontinuierlichen Überwachung wurden die Messungen des Blutdrucks, der Sauerstoffsättigung mittels Pulsoxymetrie und der Elektrokardiografie durchgeführt. Es erfolgte das Legen eines peripher venösen Zugangs und die Lokalanästhesie mit Xylocain-Rachenspray. Zur Sedierung bei der flexiblen Bronchoskopie wurde Propofol fraktioniert (intravenös) gegeben. Bei einer bekannten Obstruktion erfolgte außerdem eine Prednisolon-Gabe. Das flexible Bronchoskop konnte dann über einen Beißring eingeführt werden und die lokale Anästhesie der Stimmbänder mit Oxybuprocainhydrochloridlösung 0,05 % durchgeführt werden.

In der Regel wurde der Mittellappen mit 120 bis 150 ml 0,9%iger vorgewärmter NaCl-Lösung gespült (Waldhof 160 ml, UKGM 150 ml). Falls eine Bronchoskopie des Mittellappens nicht möglich war, wurde der rechte Unterlappen gespült. Die Spülflüssigkeit wurde dann wieder abgesaugt und durch eine sterile Kompresse filtriert, um sie von groben Verunreinigungen zu reinigen. Danach wurde sie bei 300 g für zehn Minuten und 4°C zentrifugiert, damit sich der zelluläre vom flüssigen Anteil trennte. Der Überstand (*BALF*) wurde abpipettiert und bei -80°C tiefgefroren (euroIPFreg 2013).

3.2.8 Gewinnung des Atemkondensats

Die EBC-Sammlung erfolgte nach den Empfehlungen der Arbeitsgruppe ATS/ERS (Horváth et al. 2005) mit dem *TURBO-DECCS* Gerät (ItalChill, Parma, Italien) (Abbildung 6). Das *TURBO-DECCS* Gerät besitzt ein thermoelektrisches Modul, das über den Peltier-Effekt funktioniert. Der Atemstrom des Patienten wird über Einweg-Polyethylen-Röhrchen in das Sammel-Tube des Geräts geleitet und dort abgekühlt. Dieses Rohrsystem besteht aus einem Mundstück, einem Einwegventil, einem Speichelfänger und einem 50 ml Sammel-Tube. Das *DECCS*-Polyethylen-Röhrchen System (ItalChill, Parma, Italien) wurde bei jedem

Patienten gewechselt. Die Sammeltemperatur wurde auf -5°C eingestellt und gewartet, bis die Zieltemperatur erreicht wurde. Dabei sollte der Proband den Mund vor der Durchführung ausspülen und einige Stunden Nahrungs- und Nikotinkarenz eingehalten haben (falls dies nicht zutraf, wurde dies entsprechend notiert). Eine Nasenklemme kam zum Einsatz, um eine Verunreinigung durch die Nasenschleimhaut zu verhindern. Der Patient sollte ruhig und gleichmäßig über das Mundstück ein- und ausatmen.

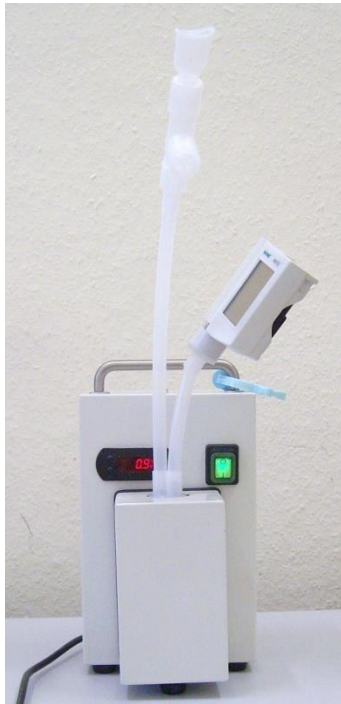


Abbildung 6: EBC-Sammelgerät : TURBO-DECCS, eigenes Foto. tiefgefroren.

Der Pneumotachograf (EcoVent, CareFusion, Jaeger, Würzburg, Deutschland) wurde in das Polyethylen-Rohrsystem zwischengeschaltet, damit die Atemvolumina standardisiert bei 150 Liter bestimmt werden konnten (Gessner et al. 2001). Diese Sammelbedingungen ergeben dann ein EBC-Sammelvolumen von circa 1-3 ml. Dabei wurde darauf geachtet, dass nur ein geringer Kontakt zur Raumluft bestand. Nach der Sammlung wurde das EBC zügig in Reaktionsgefäße gefüllt und bei -80°C

3.2.9 PGE2 / 8-Isoprostan Enzyme linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Der ELISA (Cayman Chemical Company, Michigan, USA) ist ein monoklonaler kompetitiver Assay, der für den quantitativen Nachweis von PGE2 und 8-Isoprostan in Biomaterialien verwendet wird. Er beruht auf dem enzymatischen Immunadsorptionsverfahren (EIA-Prinzip), wobei es zu einer Antikörper-Antigen Reaktion und zu einer enzymatischen Farbreaktion der Acetylcholinesterase kommt, die mit einem Photometer bestimmt werden kann (Abbildung 7).

Es wurden der EIA-Puffer, der Waschpuffer und die Standards vorbereitet und die Tracer und die Antikörper mit einem Farbstoff gefärbt. Die 96-well-Mikrotiterplatte ist mit einem Antikörper (PGE2: Ziegen-Anti-Maus-Antikörper, 8-Isoprostan: Maus-Anti-Hasen Antikörper) vorbeschichtet. Die Plattenbelegung erfolgte mit EIA-Puffer, 50 μl Standard/Proben, 50 μl Tracer und 50 μl Antikörper. Danach wurde die Platte mit einem Plastikfilm bedeckt und für 18 Stunden bei 4°C inkubiert. In dieser Zeit konnten die freien monoklonalen Antikörper das Substrat (Antigen: PGE2 /8-Isoprostan) beziehungsweise den Tracer (PGE2 / 8-Isoprostan mit Acetylcholinesterase verbunden) binden. Diese Antigen-

Antikörperkomplexe konnten dann wiederum über ihren Fc-Teil von dem festen Antikörper auf der Mikrotiterplatte fixiert werden. Die Konzentration des Tracers bleibt bei diesem Verfahren konstant, während die des Probenmaterials variiert und somit der Tracer mit dem Biomarker um die Antikörper konkurriert.

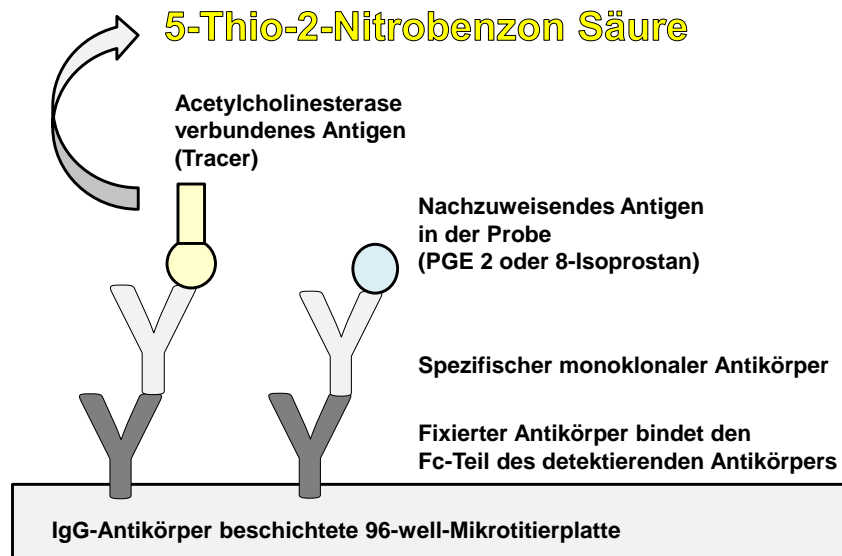


Abbildung 7: ELISA: Prinzip eines kompetitiven *ELISA*, modifiziert nach Cayman (Cayman Chemical Company 2011).

Am Folgetag wurde zunächst das Ellman's Reagenz mit 20 ml *UPW* hergestellt. Damit nicht gebundene Antikörper und Antigene sowie Tracer von der Mikrotiterplatte entfernt werden konnten, wurde die Platte geleert und fünf Mal mit 300 µl Waschpuffer gewaschen (Cayman Chemical Company 2011). In jedes well wurden 200 µl Ellman's Reagenz und 5 µl Tracer in das well *total activity* hinzugefügt. Dann wurde die Platte wieder mit dem Plastikfilm abgedeckt und mit Aluminiumfolie abgedunkelt und im Shaker OV3 (Biometra, Göttingen, Deutschland) für 60-90 Minuten (PGE2) beziehungsweise 90-120 Minuten (8-Isoprostan) inkubiert. Es erfolgte die enzymatische Farbreaktion der antikörpergebundenen Acetylcholinesterase des Tracers mit dem im Ellman's Reagenz befindlichen Acetylthiocholiniodid. Letztendlich entstand dabei 5-Thio-2-nitrobenzoesäure, welches eine starke Extinktion bei 412 nm hat. Das Lesen der Platte und somit der quantitative Nachweis der gelben Farbreaktion des Tracers erfolgten bei 405-420 nm photometrisch im *ELISA-Reader* (maximale Bindung (B0) zwischen 0,3-1,0). Die Detektionslimits betragen für PGE2 15 pg/ml und für 8-Isoprostan 2,7 pg/ml.

3.2.9.1 Totales 8-Isoprostan und Aufreinigung über Festphasen-Extraktion

Für den dritten ELISA wurde ein Aufreinigungsschritt durchgeführt, um das totale 8-Isoprostan in den BAL-Proben zu bestimmen. Da 8-Isoprostan häufig an Lipide verestert vorliegt, wurde es von diesen durch Hydrolyse gelöst. Dazu wurden 50 µl KOH-Lösung (15 %) zu 100 µl Probenvolumen gegeben und für 60 Minuten bei 40 °C inkubiert. Danach wurde mit 400 µl Kaliumphosphat-Puffer auf pH 7-7,4 neutralisiert.

Zur Aufreinigung wurden die C-18 *Solid Phase Extraction* (SPE)-Säulchen mit 5 ml Methanol (1 %) aktiviert und anschließend mit 5 ml Aqua dest. gewaschen. Als Nächstes wurden die Proben auf die Säulen gegeben und dann mit 5 ml UPW und anschließend mit 5 ml Hexanen gewaschen und die Säulen getrocknet. Die Elution des gebundenen 8-Isoprostans erfolgt mit 5 ml eines Gemisches aus Ethylacetat und Methanol (99:1). Danach wurde das Ethylacetat im Stickstoffstrom getrocknet und anschließend mit 500 µl EIA-Puffer wieder in Lösung gebracht.

3.2.9.1 Konzentrierung der Atemkondensate

Um eine verbesserte Nachweisbarkeit der EBCs zu erreichen, wurden die Proben für die ELISA-Bestimmungen fünffach konzentriert. Hierzu wurden 600 µl Probe in der Vakuumzentrifuge lyophilisiert. Danach wurde das Lyophilisat mit 120 µl NaCl (0,9 %) aufgenommen und für den jeweiligen *ELISA* 50 µl eingesetzt.

In manchen Fällen, in denen kein ausreichendes Volumen für eine Konzentrierung vorhanden war, erfolgte eine vierfache (450 µl lyophilisiert und mit 125,5 µl NaCl 0,9 % aufgenommen) beziehungsweise dreifache Konzentrierung (350 µl lyophilisiert und mit 116,7 µl NaCl 0,9 % aufgenommen).

3.2.10 Statistische Auswertung

Die Ergebnisse wurden mit dem Programm GraphPad Prism 5 (GraphPad Software, La Jolla, USA) ausgewertet und als Median mit Interquartilsabständen angegeben.

Danach wurden für mehr als zwei Gruppen der H-Test (Kruskal-Wallis Test) bzw. bei zwei Stichproben der zweiseitige, nicht-parametrische Mann-Whitney-U Test angewandt. Bei nominal verteilten Merkmalen kam der Chi²-Test zum Einsatz. Für die Darstellung im

zeitlichen Verlauf wurden eine lineare Regressionsanalyse durchgeführt und der Korrelationskoeffizient nach Spearman bestimmt.

Falls die ELISA-Ergebnisse unterhalb des Detektionslimits (PGE2: 15 pg/ml, 8-Isoprostan: 2,7 pg/ml) lagen, wurde das Ergebnis kleiner als der minimale Standard gewählt (8-Isoprostan: 11,1 pg/ml im EBC). Die Ergebnisse mit einem $p < 0,05$ werden als statistisch signifikant angegeben.

4. Ergebnisse

4.1 FeNO-Ergebnisse

4.1.1 FeNO-Werte in den verschiedenen Kollektiven

Wie in der Abbildung 8 veranschaulicht wird, sind insgesamt 94 FeNO-Messungen an den verschiedenen Kollektiven durchgeführt worden. Als ILDs wurden die nicht-klassifizierbaren IIP, RB-ILD, COP, EAA und Sarkoidosen zusammengefasst und sind noch einmal separat in Blau dargestellt.

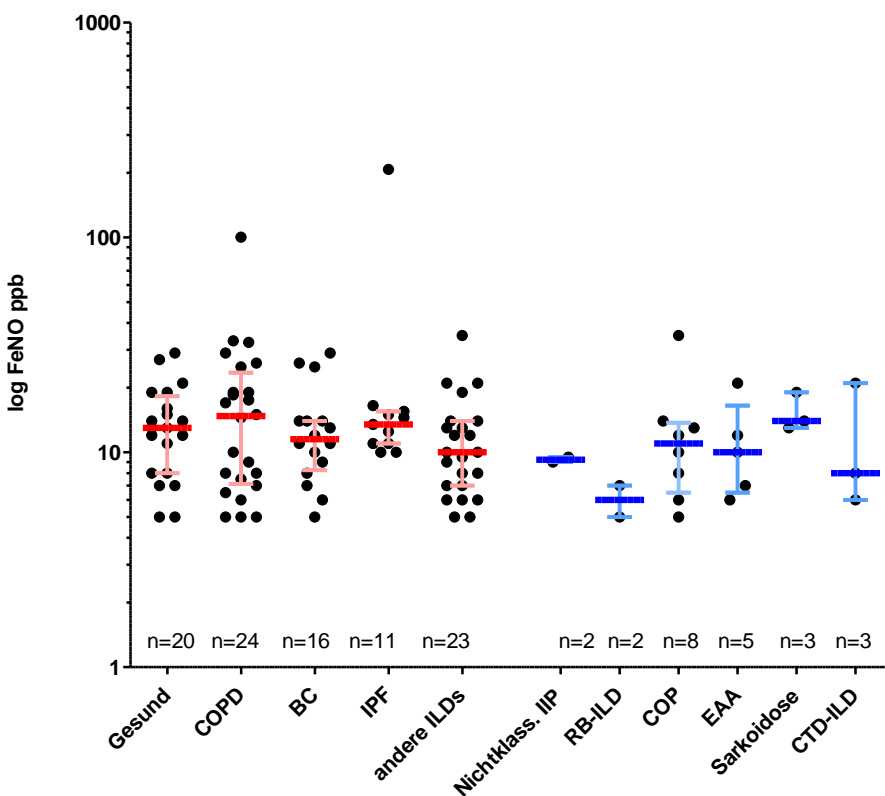


Abbildung 8: FeNO-Werte in den verschiedenen Kollektiven. Darstellung von Medianen mit Interquartilsbereichen. Als andere ILDs wurden die nicht-klassifizierbaren IIP, RB-ILD, COP, EAA, Sarkoidose und CTD-ILD zusammengefasst. Diese sind einzeln noch einmal blau dargestellt. Eigene Abbildung.

Die Mediane von Gesunden (13 ppb), COPD-Patienten (14,75 ppb), Erkrankten mit Bronchialkarzinom (11,5 ppb) und IPF-Patienten (13,5 ppb) lagen allesamt in einem ähnlichen Bereich. Der Median der ILD-Gruppe war mit 10 ppb etwas geringer im Vergleich zur IPF. Innerhalb der ILD-Gruppe liegen die Patienten mit nicht-klassifizierbarer IIP (9,25 ppb), COP (11 ppb) und EAA (10 ppb) in einem nahen Bereich, während die RB-ILD (6 ppb)

und die CTD-ILD (8 ppb) niedrigere FeNO-Mediane und die Sarkoidose (14 ppb) höhere zeigte. In den Haupt- und ILD-Untergruppen war kein signifikanter Unterschied festzustellen. Als Ausreißer fallen in der COPD- und der IPF-Gruppe jeweils ein Patient mit relativ hohen FeNO-Werten (IPF: 207 ppb, COPD: 100 ppb) auf, die beide gesondert in 4.1.4 betrachtet werden.

4.1.2 Korrelationen von FeNO-Werten mit klinischen Parametern

Zur Überprüfung, inwieweit FeNO-Werte mit dem klinischen Progress der Lungenfibrose korrelieren, wurden für IPF und andere ILDs FeNO-Werte mit Parametern der Lungenfunktion, der Blutgasanalyse und der Spiroergometrie korreliert und eine lineare Regressionsanalyse durchgeführt.

Während die Vitalkapazität (VC), die totale Lungenkapazität (TLC), das intrathorakale Gasvolumen (ITGV), die relative Überblähung (RV/TLC), der Sauerstoff- und Kohlenstoffdioxidpartialdruck (pO_2 und pCO_2) praktisch nicht mit dem FeNO-Wert bei IPF-Patienten korrelierten ($r < 0,3$), zeigte sich eine positive Korrelation für die DLCO ($r = 0,57$, $p = 0,09$) und die KCO ($r = 0,67$, $p = 0,04$). Demnach würde ein erniedrigter FeNO-Wert auf eine erniedrigte DLCO und KCO hinweisen.

Bei den anderen ILD-Erkrankten zeigt sich diese Verteilung nicht. Auch hier sind für die meisten lungenfunktionellen Parameter (VC, TLC, DLCO, KCO, pO_2 und pCO_2) nur schwache Korrelationen zum FeNO-Wert zu finden. Allerdings zeigen sich eine inverse, signifikante Korrelation von FeNO zur ITGV ($r = - 0,44$, $p = 0,03$) und eine inverse, höchst signifikante Korrelation zwischen FeNO und RV/TLC ($r = - 0,69$, $p = 0,0003$).

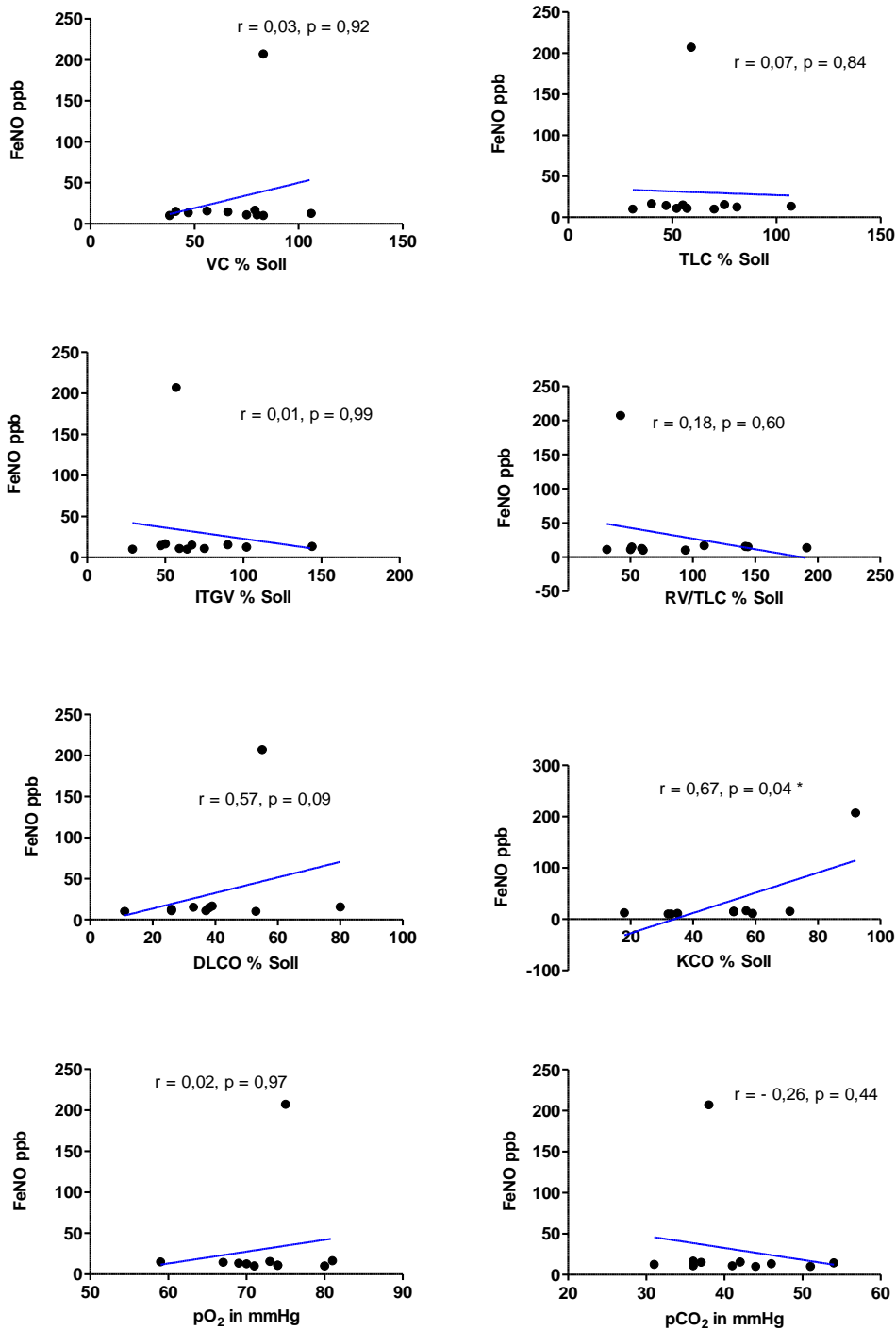


Abbildung 9: Korrelation mit linearer Regressionsgerade von Lungenfunktionsparametern mit FeNO-Wert für das IPF-Kollektiv. VC= Vitalkapazität, TLC= Totale Lungenkapazität, ITGV= Intrathorakales Gasvolumen, RV/TLC= Relative Überblähung, DLCO= Diffusionskapazität für CO, KCO= um das alveoläre Volumen korrigierte DLCO, pO_2 = Sauerstoffpartialdruck, pCO_2 = Kohlendioxidpartialdruck. r = Korrelationskoeffizient nach Spearman. Eigene Abbildung.

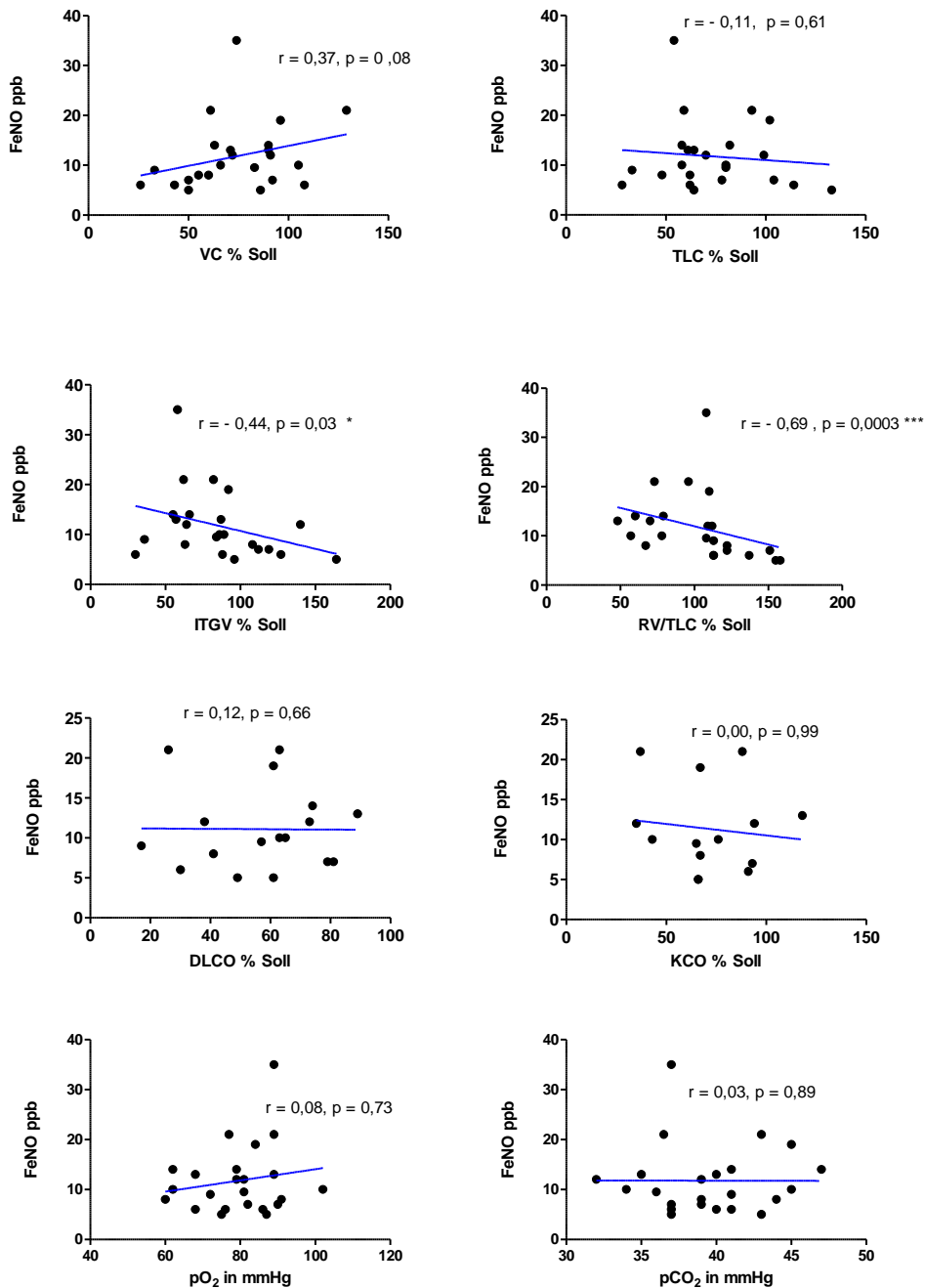


Abbildung 10: Korrelation mit linearer Regressionsgerade von Lungenfunktionsparametern mit FeNO-Wert für das ILD-Kollektiv. VC= Vitalkapazität, TLC= Totale Lungenkapazität, ITGV= Intrathorakales Gasvolumen, RV/TLC= Relative Überblähung, DLCO= Diffusionskapazität für CO, KCO= um das alveoläre Volumen korrigierte DLCO, pO_2 = Sauerstoffpartialdruck, pCO_2 = Kohlendioxidpartialdruck. r = Korrelationskoeffizient nach Spearman, * $p < 0,05$, *** $p < 0,0005$. Eigene Abbildung.

Um den Zusammenhang zwischen der Sauerstoffaufnahme und der körperlichen Belastung zu überprüfen, wurden die FeNO-Werte mit den Gehstrecken des Sechs-Minuten-Gehtests und der VO₂max der Spiroergometrie korreliert. Aufgrund der geringen Verfügbarkeit von Untersuchungen und den daraus resultierenden geringen Fallzahlen sind in der Abbildung 11 zum einen IPF-Patienten alleine und zum anderen IPF-Patienten mit allen anderen Patienten dargestellt, um eine höhere Gruppenanzahl zu erhalten, wobei die Korrelationsanalyse offensichtlich sehr stark durch einen Ausreißer beeinflusst wird.

Es ist keine Korrelation des FeNO-Werts zur Gehstrecke im 6 MGT feststellbar.

Für die maximale Sauerstoffaufnahme der VO₂max in der Spiroergometrie ist eine positive Korrelation zum FeNO-Wert für die IPF ($r = 0,6$) und für alle Patienten ($r = 0,02$) erkennbar, die jedoch nicht signifikant miteinander korrelierten.

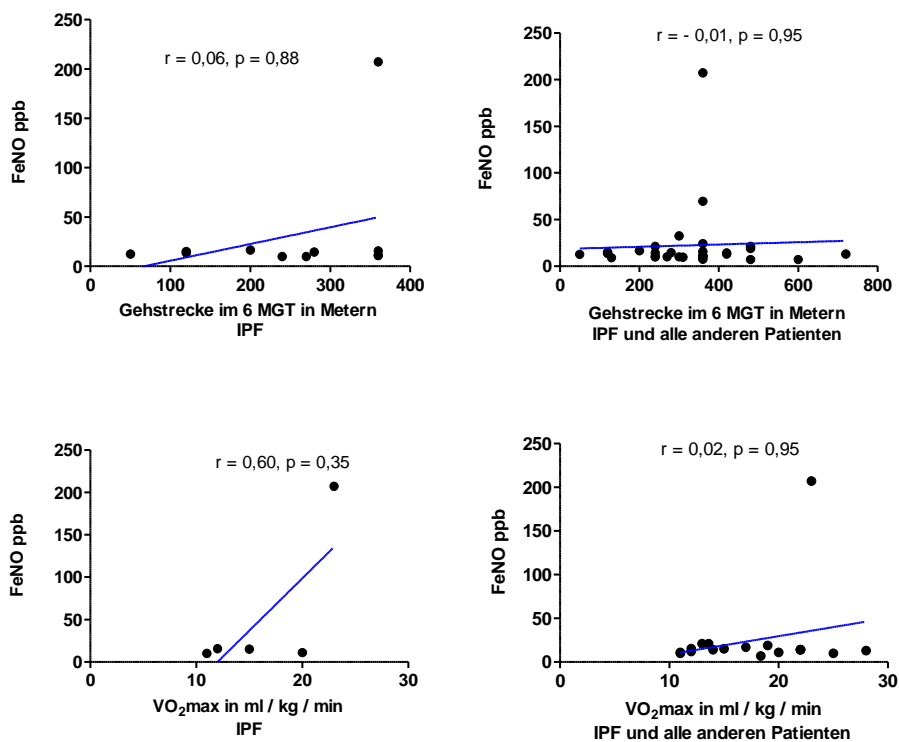


Abbildung 11: Korrelation der Gehstrecke im Sechs-Minuten-Gehtest (6 MGT) und der maximalen Sauerstoffaufnahme (VO₂max) in der Spiroergometrie zum FeNO-Wert. Lineare Regressionsgerade eingezeichnet, r = Korrelationskoeffizient nach Spearman. Eigene Abbildung.

4.1.3 Beeinflussende Faktoren auf die FeNO-Messung bei allen Patienten

Zur Klärung der Frage, inwieweit das Rauchverhalten und die Medikamenteneinnahme den FeNO-Wert beeinflussen, wurde der FeNO-Wert für alle Patienten getrennt nach Raucherstatus (nie, aktiv, ehemalig), NSAID-, Steroid- und Protonenpumpen-Inhibitoren-Einnahme (PPI) analysiert.

Patienten mit einem aktiven Rauchverhalten (Median: 8 ppb) sind durch signifikant niedrigere FeNO-Werte als ehemalige Raucher gekennzeichnet (Median: 14 ppb) und Nie-Raucher (Median: 13 ppb).

Der Median des FeNO-Werts bei NSAID-Einnahme (Median: 14 ppb) ist nicht signifikant höher als ohne Einnahme (Median: 12 ppb). Ebenso konnte bei den Variablen Steroideinnahme und PPI-Einnahme kein Unterschied auf den FeNO-Wert beobachtet werden.

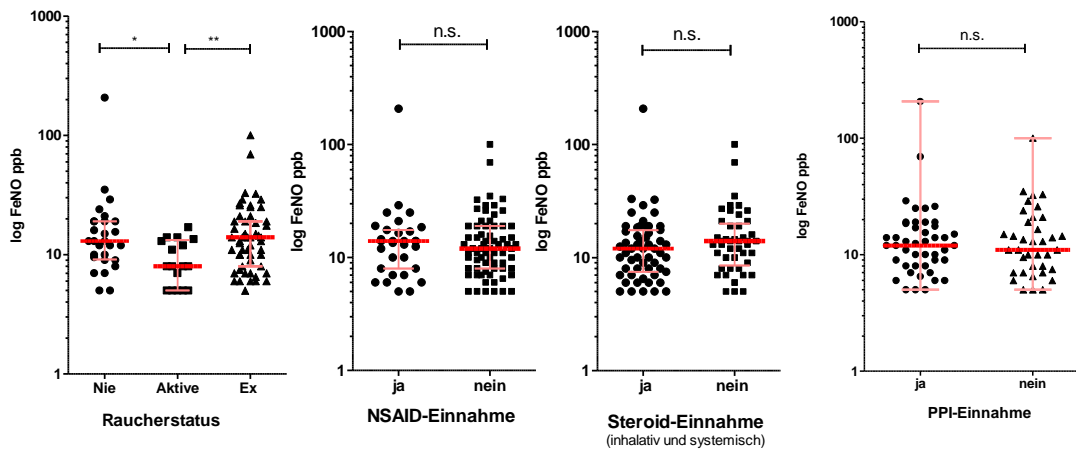


Abbildung 12: Beeinflussende Faktoren auf den FeNO-Wert bei allen Patienten: Darstellung des Raucherstatus, der Steroid-, der NSAID- und der PPI-Einnahme im Zusammenhang mit dem FeNO-Wert für alle Patienten. Median mit Interquartilsbereich, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ (Kruskal-Wallis Test und Mann-Whitney Test). Eigene Abbildung.

4.1.4 Intraindividuellem FeNO-Verlauf

Die FeNO-Messung erfolgte im Rahmen eines stationären Aufenthalts, dabei wurde die intraindividuelle Variabilität durch wiederholte Messungen bestimmt. Zwischen den verschiedenen Zeitpunkten lagen ein bis elf Tage. Es werden exemplarisch das IPF- und

das COPD-Kollektiv in Abbildung 13 dargestellt. Es zeigte sich insgesamt eine gute Wiederholbarkeit der FeNO-Messungen.

In der Gruppe der COPD gab es einen Ausreißer, der zunächst einen FeNO-Wert von 13 ppb hatte und dann im Verlauf FeNO-Werte von 151 und 137 ppb zeigte. Recherchen ergaben eine Infektexazerbation mit erhöhter Körpertemperatur und verfärbtem Sputum, sodass eine Antibiotika-Therapie eingeleitet wurde.

In der Gruppe der IPF gab es einen Ausreißer, der über mehrere Tage hinweg Werte um die 200 ppb zeigte. Als Komorbiditäten wurde eine rheumatoide Arthritis angegeben, die mit Prednisolon und Leflunide behandelt wurde. Der Rheumafaktor war mit 141 IU/ml erhöht. In der BAL zeigte sich eine eosinophile Begleitreaktion (5 % eosinophile Zellen in der BAL-Zytologie). Es konnten keine Exazerbation, Asthma bronchiale oder Churg-Strauss-Vaskulitis nachgewiesen werden (normwertige Bluteosinophilen, gesamt IgE, p- und c-ANCA). Der Patient befand sich zur Sicherung der IPF in stationärer Behandlung.

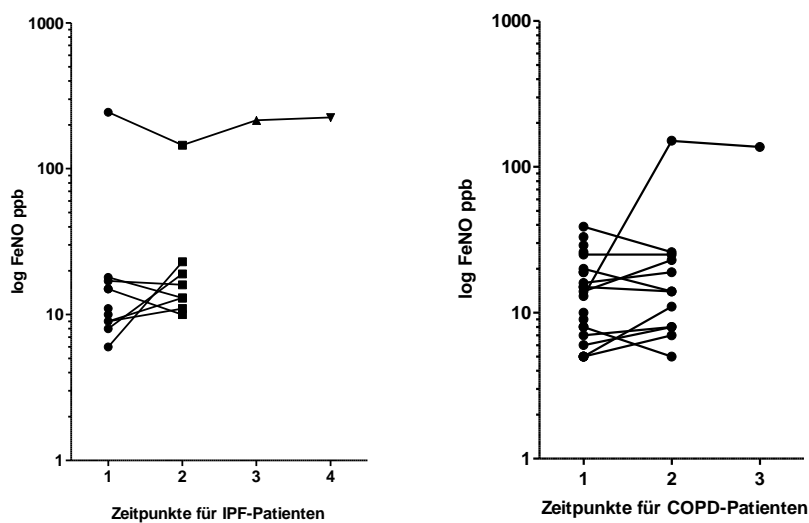


Abbildung 13: Intraindividuelle FeNO-Verlauf: Unterschied der FeNO-Messung anhand des IPF- und des COPD-Kollektivs während eines stationären Aufenthalts. Eigene Abbildung.

4.1.5 FeNO-Werte in Exazerbation

Inwieweit der FeNO-Wert eine Inflammationsreaktion beziehungsweise eine Exazerbation widerspiegeln könnte, wurde für alle Patienten (Abbildung 14) und für die COPD-Patienten (Abbildung 15) dargestellt (die Steroid-Einnahme für die Gesamtheit findet sich in der Abbildung 12). Ob eine Exazerbation vorlag, wurde anhand von vier Kriterien (Diagnose in

der Patientenakte, Sputumverfärbung, Antibiotika-Einnahme und mikrobiologischer Keimnachweis) beurteilt und Gruppen gebildet, deren FeNO-Werte miteinander verglichen wurden.

Es zeigten sich leicht höhere FeNO-Mediane bei der Stratifikation nach dem Exazerbationsstatus im Brief (13,5 ppb) und den verfärbten Sputum (13,5 ppb), während diejenigen mit einer antibiotischen Behandlung (10 ppb) und positivem Keimnachweis (9 ppb) etwas niedrigere FeNO-Mediane zeigten als die Nichtexazerbierten. Jedoch wurde in keinem Vergleich ein signifikanter Unterschied festgestellt.

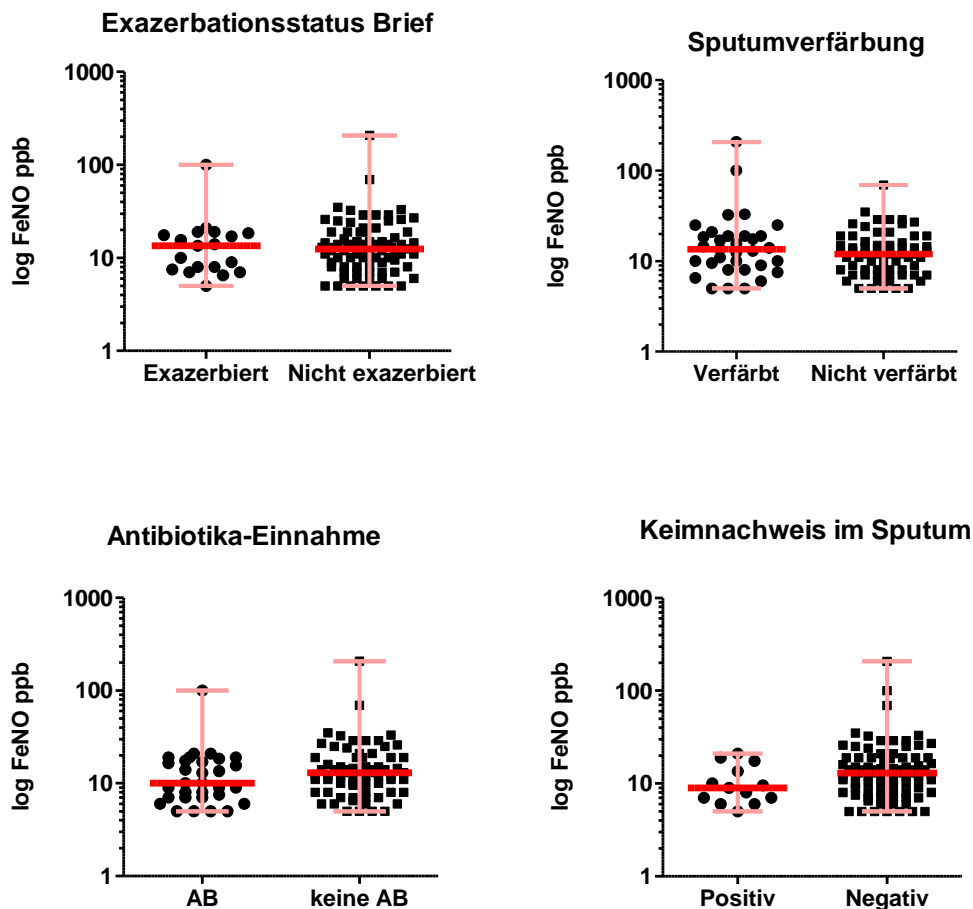


Abbildung 14: Darstellung der FeNO-Werte aller Patienten, stratifiziert nach klinischen Parametern: Exazerbation, Sputumverfärbung, Keimnachweis im Sputum und Antibiotika-Einnahme. AB= Antibiotika-Einnahme. Median mit Interquartilsbereich. Eigene Abbildung.

Bei der COPD kommt es im Verlauf der Erkrankung häufiger zu einer Infekt assoziierten Exazerbation, weshalb oftmals eine stationärer Aufenthalt vonnöten ist und eine

antibiotische und anti-obstruktive (Steroid-) Therapie begonnen wird. Bei den COPD-Patienten zeigte sich lediglich bei der Aufteilung der FeNO-Werte nach verfärbten Sputen leicht höhere Mediane (17 ppb versus 10 ppb), während die übrigen Stratifikationen geringere FeNO-Mediane im Vergleich zu den Nichtexazerbierten zeigten. In keinem Vergleich wurde ein signifikanter Unterschied festgestellt.

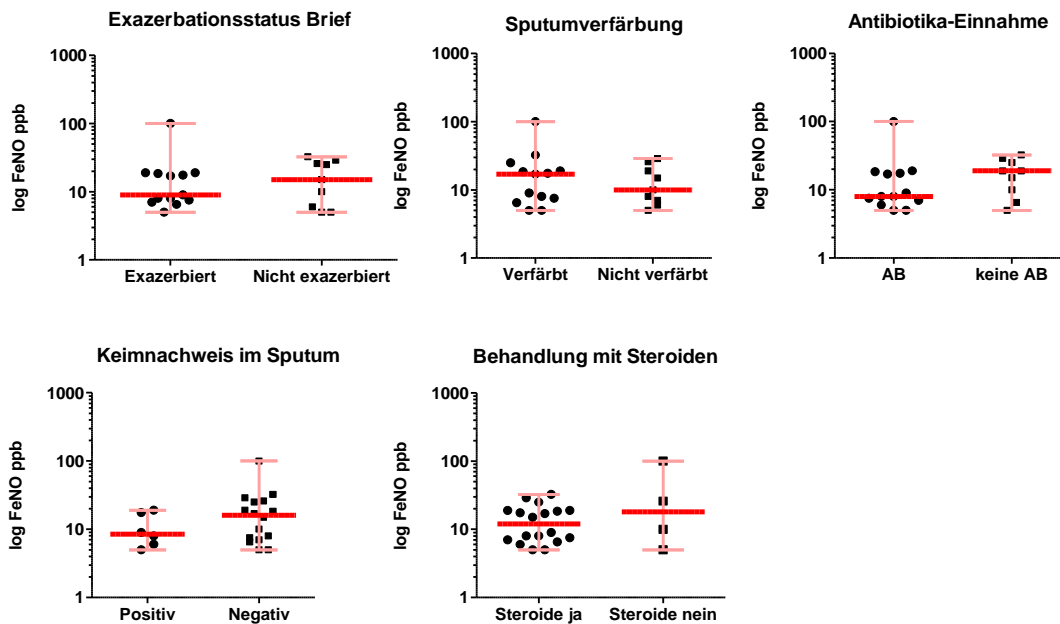


Abbildung 15: Darstellung der FeNO-Werte von COPD-Patienten, stratifiziert nach klinischen Parametern: Exazerbation, Sputumverfärbung, Keimnachweis im Sputum, Antibiotika-Einnahme und Steroidbehandlung (inhalativ oder systemisch). Median mit Interquartilsbereich. Eigene Abbildung.

4.2 Freies 8-Isoprostan im EBC

Das Eicosanoid 8-Isoprostan wurde mit einem kommerziellen ELISA (Cayman) im nativen Atemkondensat detektiert. Insgesamt lagen die Werte aber im unteren Bereich der Standardkurve, wobei zwei Einzelmesswerte von 30 Doppelbestimmungen unterhalb des kleinsten Standards lagen (nicht abgebildet).

Um auch EBCs mit einem geringen 8-Isoprostangehalt messen zu können, wurden die Proben durch Lyophilisierung aufkonzentriert und mit diesen der ELISA durchgeführt.

Allerdings blieb auch hierbei eine Probe unterhalb des kleinsten Standards. In der Abbildung 16 zeigt die IPF den höchsten Median (8,3 pg/ml), gefolgt von den Gesunden (6,05 pg/ml) und den ILD (4,11 pg/ml). Es besteht kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen in Bezug auf das freie 8-Isoprostan.

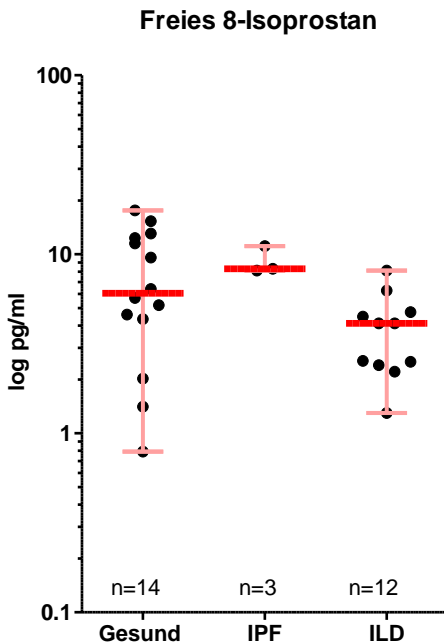


Abbildung 16: Freies 8-Isoprostan im EBC: Konzentrierte EBC-Proben wurden eingesetzt, die Ergebnisse wurden anschließend wieder um den Konzentrationsfaktor korrigiert. Als ILDs wurden die nicht-klassifizierbaren IIP, EAA, DIP, COP, Sarkoidose, CTD-ILD und Pneumokoniose zusammengefasst. Median mit Interquartilsbereich. Eigene Abbildung.

4.3 PGE2 im EBC

Im nativen Atemkondensat war PGE2 nur schwer zu detektieren und lag mit 26 Einzelwerten aus den 30 Doppelbestimmungen unterhalb des kleinsten Standards, sodass eine Konzentrierung der Proben als sinnvoll erachtet wurde.

Das Konzentrieren der Proben erfolgte mittels Lyophilisierung. In der Abbildung 17 wurden diese konzentrierten EBC-Proben zur PGE2-Bestimmung eingesetzt, von denen für PGE2 alle messbar waren. Die Gesunden zeigten den höchsten PGE2-Median (9,9 pg/ml), während die IPF (7,03 pg/ml) und die ILD (6,61 pg/ml) etwas geringere Mediane aufwiesen. Es besteht kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen.

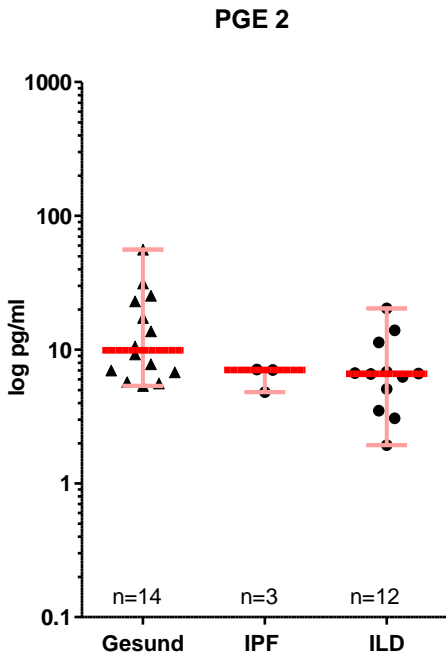


Abbildung 17: PGE2 im EBC: Konzentrierte EBC-Proben eingesetzt, die Ergebnisse wurden anschließend wieder um den Konzentrationsfaktor korrigiert. Als ILDs wurden die nicht-klassifizierbaren IIP, EAA, DIP, COP, Sarkoidose, CTD-ILD und Pneumokoniose zusammengefasst. Median mit Interquartilsbereich. Eigene Abbildung.

4.4 Freies und totales 8-Isoprostan in der BALF

Der Frage nachgehend, inwieweit die Eicosanoide in der BALF nachweisbar sind, wurden aus BALF-Proben das 8-Isoprostan und PGE2 bestimmt und mit klinischen Daten über den zeitlichen Verlauf korreliert, um einen möglichen Krankheitsprogress aufzuzeigen. Hierbei wurde zusätzlich zum freien 8-Isoprostan über einen weiteren Schritt das totale 8-Isoprostan bestimmt. Als ILD wurden die NSIP, EAA und Sarkoidose zusammengefasst, eine detaillierte Abbildung (differenziert nach einzelnen Kollektiven) befindet sich im Anhang (Abbildung 29).

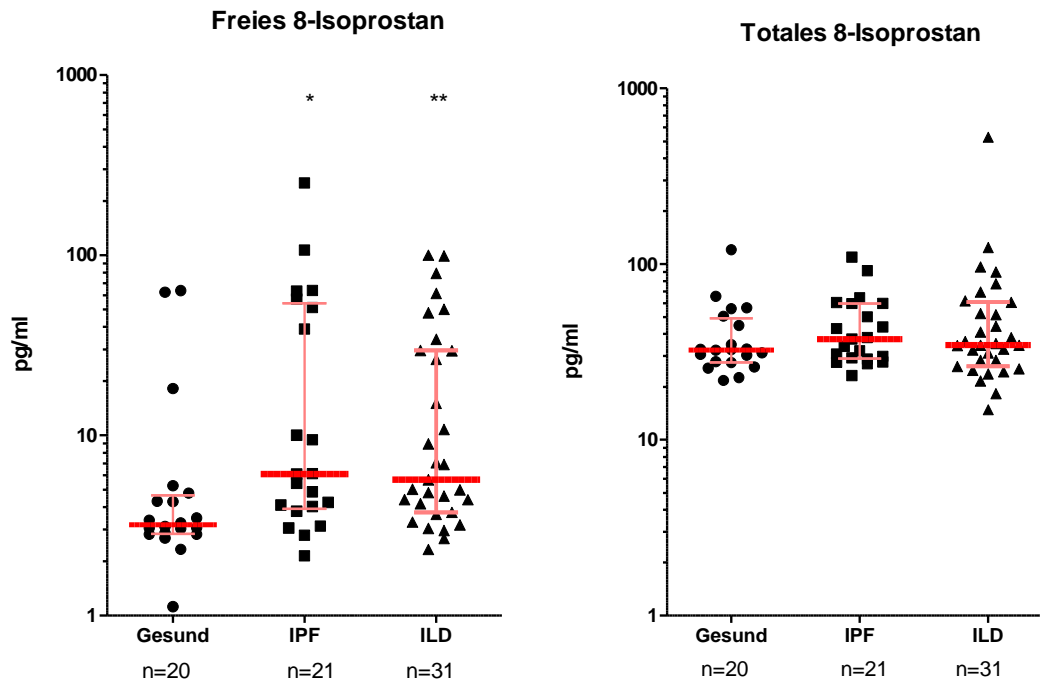


Abbildung 18: Darstellung des freien und des totalen 8-Isoprostans aus der BALF der gleichen Patienten. Als ILDs wurden die NSIP, EAA und Sarkoidosen zusammengefasst. Darstellung als Median mit Interquartilsbereich, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ (Kruskal-Wallis Test und Mann-Whitney Test). Eigene Abbildung.

In der BALF waren für alle Proben Messwerte oberhalb des kleinsten Standards nachweisbar. In Bezug auf das 8-Isoprostan erkennt man, dass das freie 8-Isoprostan (Mediane zwischen 3-6 pg/ml) in geringerer Konzentration in der BALF vorlag als das totale 8-Isoprostan (Mediane zwischen 30-40 pg/ml). Auffällig ist allerdings, dass das freie 8-Isoprostan eine viel breitere Streuung zeigte als das totale 8-Isoprostan.

Die IPF (6,1 pg/ml) und die ILD (5,67 pg/ml) zeigten signifikant höhere Mediane als die gesunde Kontrollgruppe (3,19 pg/ml) für das freie 8-Isoprostan. Dieser Unterschied zeigte sich im totalen 8-Isoprostan, bei dem die Mediane alle in einem nahen Bereich lagen, nicht (Gesund: 32,48 pg/ml, IPF: 37,39 pg/ml und ILD: 34,63 pg/ml).

Betrachtet man die ILD-Untergruppe detailliert, so hat die NSIP für das freie 8-Isoprostan den geringsten Median (4,19 pg/ml) und unterscheidet sich damit nicht von den Gesunden, während die EAA (5,67 pg/ml) und die Sarkoidose (26,5 pg/ml) sich signifikant von der gesunden Kontrollgruppe unterscheiden (Abbildung 29 im Anhang).

In der genaueren Betrachtung des totalen 8-Isoprostans zeigt die EAA (31,29 pg/ml) den geringsten Median, gefolgt von der NISP (34,63 pg/ml) und der Sarkoidose (41,11 pg/ml) (Abbildung 29 im Anhang).

4.5 Zusammenhang zwischen freiem und totalem 8-Isoprostan

8-Isoprostan gilt als Biomarker für oxidativen Stress, der COX-unabhängig entsteht. Dabei kann 8-Isoprostan verestert an Fettsäuren oder nach Abspaltung über die Phospholipase A₂ frei vorkommen (Summe vom freien und veresterten entspricht dem totalen 8-Isoprostan). Um den Zusammenhang zwischen dem freien und dem totalen 8-Isoprostan darzustellen, wurden alle vorhandenen Werte in die Korrelationsanalyse einbezogen. Im Anhang befindet sich die Abbildung für die einzelnen Kollektive noch einmal detailliert (Abbildung 30). Es zeigte sich eine positive Korrelation zwischen dem freien und dem totalen 8-Isoprostan mit einem Korrelationskoeffizienten von $r = 0,44$ der höchst signifikant war.

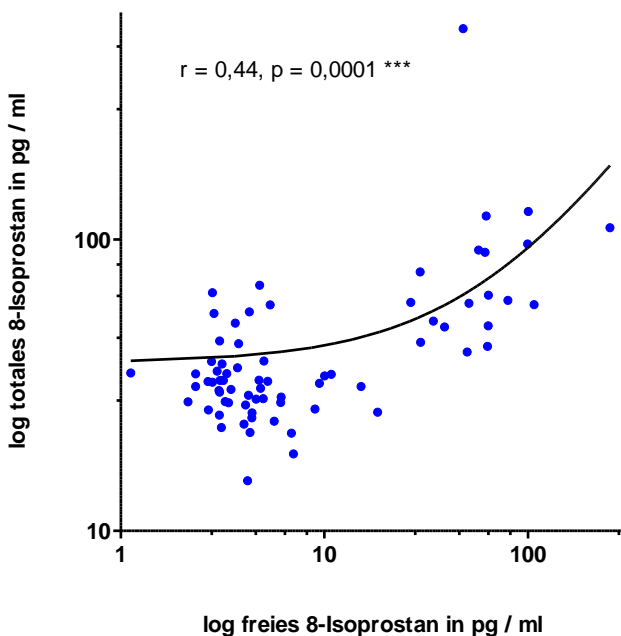


Abbildung 19: Zusammenhang zwischen freiem und totalem 8-Isoprostan: Korrelation mit linearer Regressionsgerade zwischen freiem und totalem 8-Isoprostan. r = Korrelationskoeffizient nach Spearman. Eigene Abbildung.

4.6 PGE2 in der BALF

In der BALF war PGE2 in allen Proben nachweisbar. Insgesamt lagen die Mediane für die Gesunden (22,08 pg/ml), IPF-Patienten (23,34 pg/ml) und ILD-Patienten (24,51 pg/ml) nahe beieinander, sodass es keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen gab. Betrachtet man sich die ILD-Untergruppen genauer (Anhang: Abbildung 29), so weist die

NISP (27,33 pg/ml) den höchsten PGE2-Mediane auf, gefolgt von der EAA (24,51 pg/ml) und der Sarkoidose (22,18 pg/ml). Jedoch besteht auch hier kein signifikanter Unterschied.

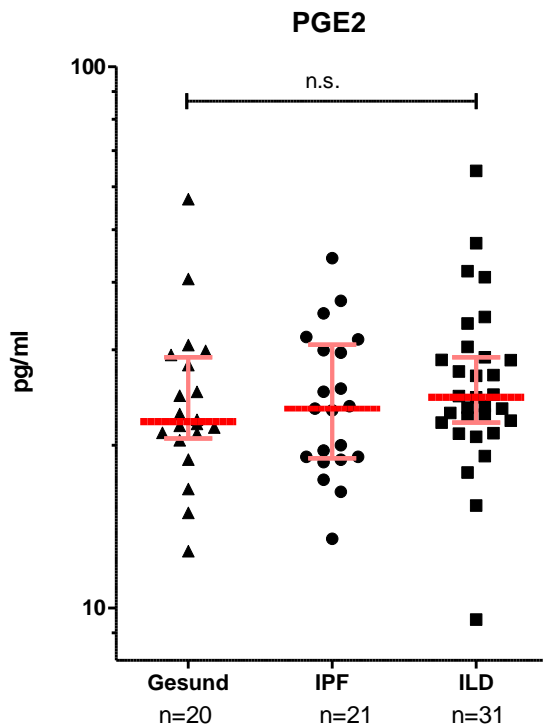


Abbildung 20: PGE2 in der BALF: Darstellung des PGE2 aus der BALF. Als ILD wurden die NSIP, EAA und Sarkoidosen zusammengefasst. Darstellung als Median mit Interquartilsbereich, (Kruskal-Wallis Test und Mann-Whitney Test). Eigene Abbildung.

4.6.1 Zeitlicher Verlauf von klinischen Parametern und Korrelation mit 8-Isoprostan- und PGE2-Spiegeln aus der BALF

Um zu überprüfen, inwieweit 8-Isoprostan- und PGE2-Spiegel aus BALF-Proben den Krankheitsprogress wiedergeben, wurden sich zeitlich verändernde klinische Parameter mit den ELISA-Ergebnissen korreliert. Die Steigung der FVC jedes Patienten wurde in einer Korrelationsanalyse mit linearer Regressionsgerade zu den ELISA-Ergebnissen aufgetragen.

Eine Übersicht über die Häufigkeitsverteilung des zeitlichen Verlaufs der klinischen Parameter befindet sich jeweils links als Summenhäufigkeitsdiagramme. Für diese Auswertung wurden IPF und ILD zusammengefasst. Die Gruppe der ILD umfasst die NSIP,

EAA und Sarkoidose. Eine detaillierte Betrachtung der IPF und der ILD befindet sich im Anhang (Abbildung 31-37).

Bekanntlich wird bei fibrosierenden Lungenerkrankungen im Verlauf der Erkrankung eine restriktive Ventilationsstörung ausgebildet. In der Abbildung 21 wurde dementsprechend die forcierte Vitalkapazität (FVC) näher betrachtet. Es ist ersichtlich, dass circa 20 % der IPF- und ILD-Fälle einen Abfall der FVC % Soll pro Jahr zeigten.

Es ergaben sich keine signifikanten Korrelationen. Mit der zeitlichen Veränderung der FVC % Soll ergaben sich ein negativer Korrelationsindex für PGE2 ($r = -0,12$) und das totale 8-Isoprostan ($r = -0,05$), während das freie 8-Isoprostan ($r = 0,01$) kaum korrelierte. Im Anhang befindet sich die Abbildung, getrennt für IPF und ILD (Abbildung 31) sowie für die VC (Abbildung 32).

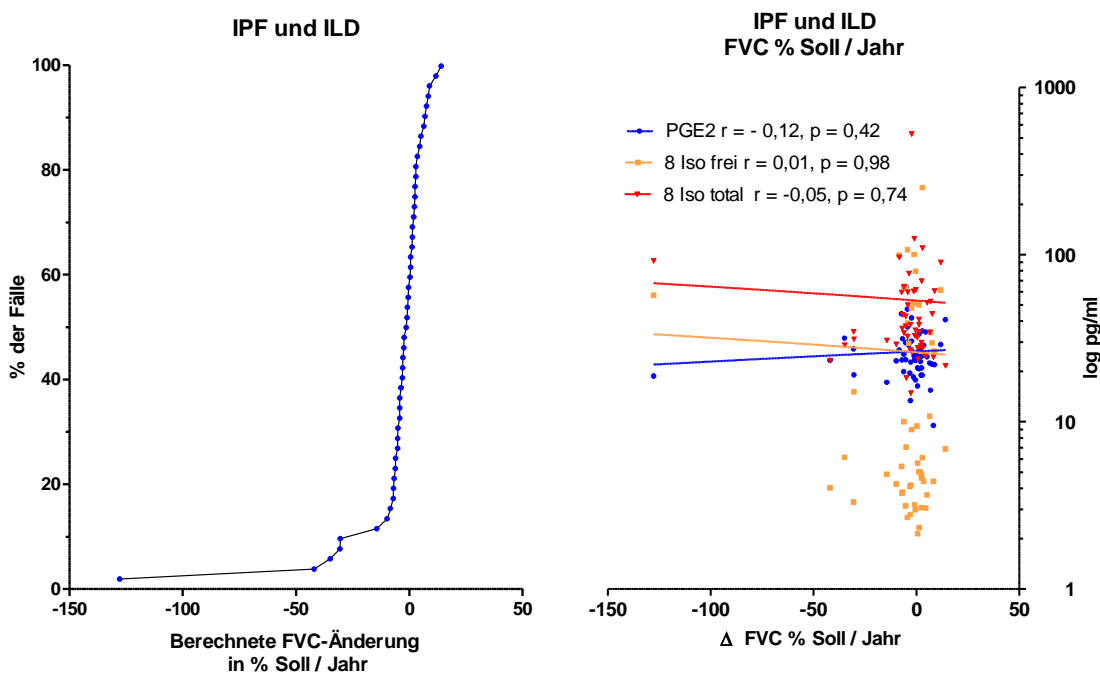


Abbildung 21: Berechnete jährliche Veränderung der forcierten Vitalkapazität (FVC) in % Soll. In dem linken Summenhäufigkeitsdiagramm ist die zeitliche Veränderung der FVC anhand der Häufigkeit aller IPF- und ILD-Patienten zusammengefasst. r = Korrelationskoeffizient nach Spearman. Eigene Abbildung.

Inwieweit die bestimmten Biomarker aus der BALF mit den typischen Gasaustauschstörungen (Verminderung von DLCO und KCO) der IPF und ILD korrelieren,

wurde in den Abbildungen 22 und 23 aufgezeigt. Die meisten Patienten zeigten kaum eine zeitliche Veränderung in der relativen Diffusionskapazität von CO (DLCO % Soll), nur einige wenige (unter 10 % der Fälle) hatten einen starken Verlust der DLCO % Soll zu verzeichnen. Ein Teil der Patienten war sogar durch eine Verbesserung der DLCO gekennzeichnet, dies waren ausnahmslos keine IPF-Patienten, wie dies in der getrennten Betrachtung der IPF und ILD im Anhang zu erkennen ist (Abbildung 33). PGE2 und das freie 8 Isoprostan korrelieren nicht signifikant mit der DLCO % Soll. Nur das totale 8-Isoprostan ($r = -0,29$) korreliert signifikant invers mit der DLCO % Soll.

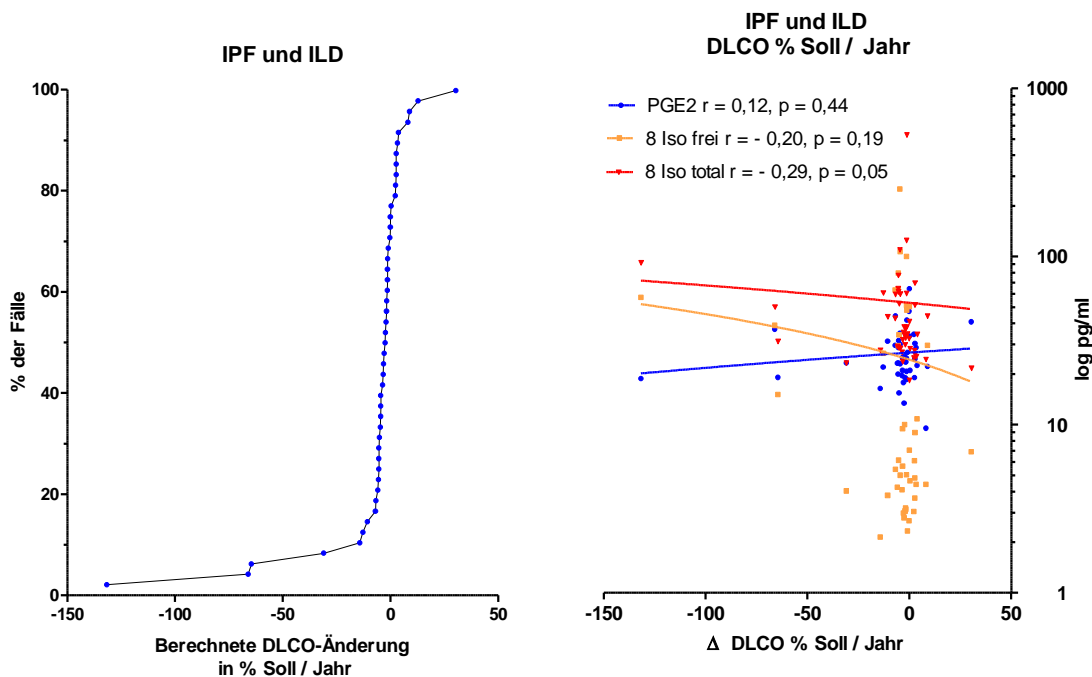


Abbildung 22: Berechnete jährliche Veränderung der Diffusionskapazität für CO (DLCO) in % Soll. In dem linken Summenhäufigkeitsdiagramm ist die zeitliche Veränderung der DLCO % Soll anhand der Häufigkeit aller IPF- und ILD-Patienten zusammengefasst. r = Korrelationskoeffizient nach Spearman. Eigene Abbildung.

Für die korrigierte Diffusionskapazität (KCO) zeigten ebenfalls nur wenige Patienten eine rasante Abnahme der KCO % Soll über die Zeit. In der Korrelationsanalyse zeigte sich für die untersuchten exhalativen Marker keine signifikante Korrelation zur zeitlichen Veränderung der KCO % Soll. Die wenigen Patienten, die eine Verbesserung der KCO %

Soll / Jahr zeigten, waren keine IPF-Patienten, wie dies in der getrennten Betrachtung der IPF und ILD im Anhang zu erkennen ist (Abbildung 34).

Weiter zeigt sich, dass die IPF, einzeln gesehen, eine wesentlich höhere inverse Korrelation aufweist als die Gruppe der ILD. Die IPF zeigt für PGE2 ($r = -0,56$, $p = 0,0108$) und für das totale 8-Isoprostan ($r = -0,52$, $p = 0,0191$) eine signifikante, inverse Korrelation, während das freie 8-Isoprostan ($r = -0,27$, $p = 0,25$) nicht signifikant korreliert. Für die ILD bestehen keine signifikanten Korrelationen (PGE2 $r = -0,17$, freies 8 Iso $r = -0,26$ und totales 8 Iso $r = -0,32$).

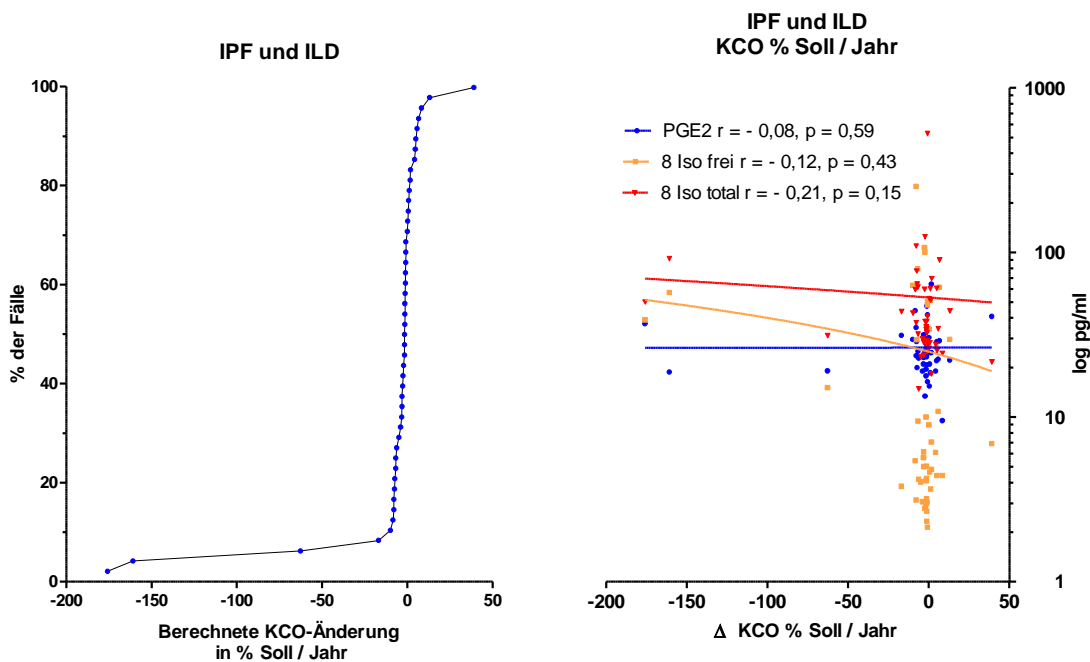


Abbildung 23: Berechnete jährliche Veränderung der um das Alveolarvolumen korrigierten Diffusionskapazität für CO (KCO) in % Soll. In dem linken Summenhäufigkeitsdiagramm ist die zeitliche Veränderung der KCO % Soll anhand der Häufigkeit aller IPF- und ILD-Patienten zusammengefasst. r = Korrelationskoeffizient nach Spearman. Eigene Abbildung.

Typischerweise kommt es mit dem respiratorischen Progress auch zu einem Verlust der Gehstrecke im Sechs-Minuten-Gehtest. In der Abbildung 24 erkennt man, dass circa 25 % der IPF- und ILD-Patienten einen messbaren Verlust der Gehstrecke aufwiesen, während andererseits ungefähr 10 % der Patienten eine Verbesserung der Gehstreckendistanz

zeigen (genauer betrachtet, handelt es sich bei den Patienten mit Gehstreckenverbesserung um andere ILDs als IPF, siehe Abbildung 35).

In der Korrelationsanalyse resultierte kein signifikanter Zusammenhang zwischen den exhalativen Markern und der Gehstrecke. Die Isoprostane (freies 8 Iso $r = -0,10$, totales 8 Iso $r = -0,08$) stiegen invers zu der Gehstrecke an, während PGE2 ($r = 0,17$) sich gleichzeitig mit der Gehstrecke änderte. Mit einem Verlust der Gehstrecke gehen also scheinbar eine Erniedrigung des PGE2 und eine Erhöhung des freien und totalen 8-Isoprostan einher.

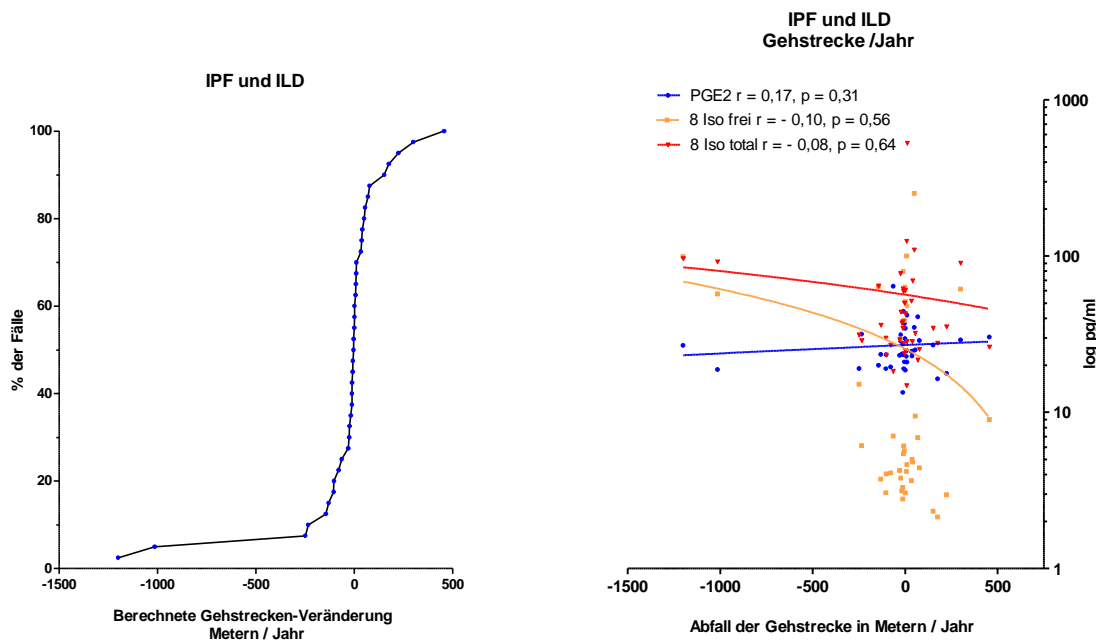


Abbildung 24: Berechnete jährliche Veränderung der Gehstrecke in Metern / Jahr. In dem linken Summenhäufigkeitsdiagramm ist die zeitliche Veränderung der Gehstrecke im Sechs-Minuten-Gehtest anhand der Häufigkeit aller IPF- und ILD-Patienten zusammengefasst. r = Korrelationskoeffizient nach Spearman. Eigene Abbildung.

Eine objektivierbare Methode, den respiratorischen Progress und den damit einhergehenden körperlichen Leistungsabfall festzustellen, ist die Messung der maximalen Sauerstoffaufnahme (VO_2max) in der Spiroergometrie. Die VO_2max gibt an, wie viel Milliliter Sauerstoff der Körper im Zustand der Ausbelastung maximal pro Minute verwerten kann. Die Anzahl der verwendeten Patienten ist durch die Berechnung der Steigung zu mindestens zwei unterschiedlichen Zeitpunkten sehr gering. Einzelne Spiroergometrien

wurden nicht berücksichtigt (befinden sich jedoch in einer separaten Abbildung im Anhang, Abbildung 38).

Man erkennt, dass fast 70 % der Patienten einen Abfall der $VO_2\text{max}$ und circa 30 % eine Verbesserung zeigten. In der getrennten Betrachtung von IPF und ILD (Anhang, Abbildung 37) zeigte die IPF nur Verluste der $VO_2\text{max}$, während die anderen ILDs weniger schwere Abfälle aufwiesen und für die 30 % der Fälle verantwortlich waren, die eine Verbesserung in der $VO_2\text{max}$ zeigten. Die Mediane der beiden Gruppen unterschieden sich hoch signifikant voneinander (IPF: - 2,3 ml / kg / min / Jahr, ILD: 0,1 ml / kg / min / Jahr, $p=0,0038$).

In der Korrelationsanalyse ergibt sich keine Signifikanz zwischen den untersuchten Biomarkern und der zeitlichen Veränderung der $VO_2\text{max}$ / Jahr (PGE2 $r = -0,19$, freies 8 Iso $r = -0,11$, totales 8 Iso $r = -0,02$). Differenzierter sieht es bei der einzelnen Betrachtung der IPF aus (Anhang, Abbildung 37). PGE2 ($r = -0,82$, $p = 0,03$) korrelierte signifikant invers zum Abfall der $VO_2\text{max}$ / Jahr. Das freie und das totale 8-Isoprostan korrelieren weiterhin nicht. Die ILD alleine zeigte nur schwach positive bis keine Korrelationen (PGE2: $r = 0,08$, freies 8 Iso: $r = 0,14$, totalen 8 Iso: $r = 0,25$) ohne Signifikanz. Schaut man sich die ILD-Gruppe genauer an, hat auch die NSIP einen negativen Median, während die EAA und die Sarkoidose einen positiven haben (nicht dargestellt). Möglicherweise spiegelt dies so die Progression der Erkrankungen der IF und NSIP wider. Die EAA und die Sarkoidose nehmen zumeist einen positiven Verlauf, dies zeigt sich auch in der Zunahme der $VO_2\text{max}$ über die Zeit.

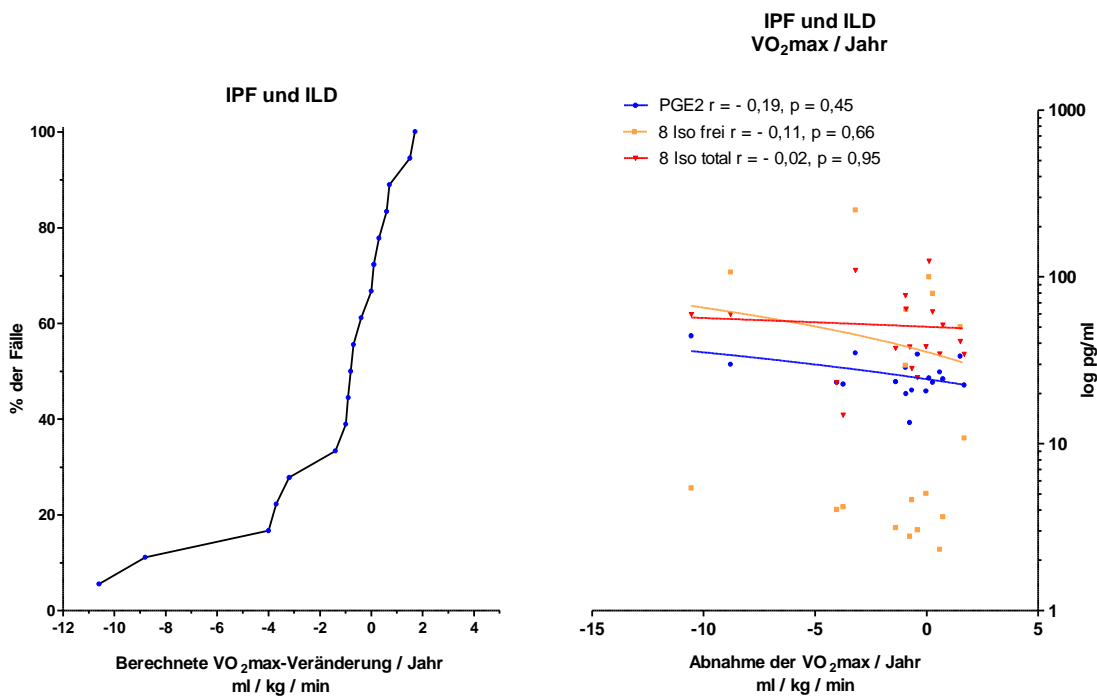


Abbildung 25: Berechnete jährliche Veränderung der maximalen Sauerstoffaufnahme in der Spiroergometrie. In dem linken Summenhäufigkeitsdiagramm ist die zeitliche Veränderung der VO_{2max} anhand der Häufigkeit aller IPF- und ILD-Patienten zusammengefasst $r =$ Korrelationskoeffizient nach Spearman. Eigene Abbildung.

Zur Beurteilung der Dyspnoe wurde die Borg-Skala entwickelt. Anhand von Zahlenwerten (1: keine; 10: maximale Dyspnoe) kann der Patient seine Dyspnoe subjektiv bewerten. Im Anhang wurde auch eine Korrelationsanalyse zu den sich verändernden Angaben in der Borg-Skala gemacht, bei der jedoch das unterschiedliche subjektive Empfinden von Dyspnoe bei verschiedenen Patienten berücksichtigt werden sollte. Dabei zeigte PGE2 ($r = -0,47$, $p = 0,0069$) eine inverse und hoch signifikante Korrelation zur Zunahme der Borg-Skala (Anhang, Abbildung 36).

4.6.2 Vergleich der ELISA-Ergebnisse von EBCs und BALFs von Patienten während des gleichen stationären Aufenthalts

Der Frage nachgehend, ob das EBC ein mögliches Abbild der BALF darstellt, wurden in dieser Versuchsreihe tiefgefrorene EBCs und BALFs von Patienten des gleichen stationären Aufenthalts zusammengetragen und gemeinsam analysiert.

Um auf eine für die Auswertung ausreichend hohe Gruppengröße zu kommen, wurden folgende Erkrankungen zusammengefasst: IPF, ILD (Nicht-klassifizierbare IIP, EAA, DIP, COP, Sarkoidose, CTD-ILD, Pneumokoniose), COPD und Asthma (insgesamt 17 zeitgleiche EBCs und BALFs).

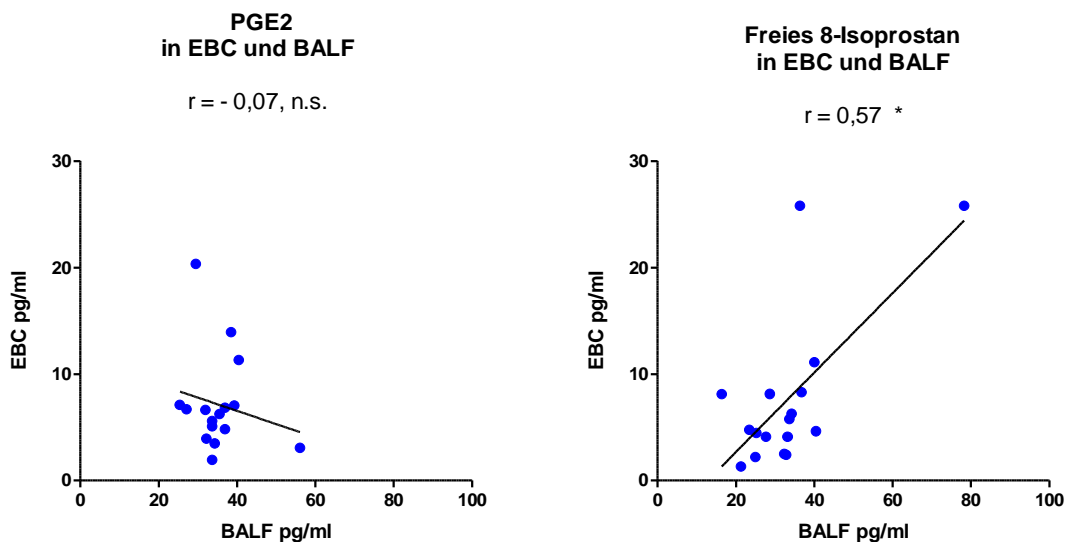


Abbildung 26: Korrelationsanalyse von BALF und EBC-Ergebnissen. r = Korrelationskoeffizient nach Spearman, * $p < 0,05$. Eigene Abbildung.

In der Abbildung 26 wurde der Zusammenhang zwischen der Konzentration von PGE2 und 8-Isoprostan im EBC und in der BALF bestimmt. Für das freie 8-Isoprostan erkennt man eine signifikante und positive Korrelation ($r = 0,57, p = 0,0177$), sodass hier gilt: Je höher die Konzentration in der BALF ist, desto höher ist auch die Konzentration im EBC.

Für das PGE2 im EBC und in der BALF konnte keine Korrelation festgestellt werden ($r = -0,07$).

Vergleicht man die Mediane miteinander, so ist das PGE2 in der BALF (Median: 34,27 pg/ml, IQB 32,06 - 38,91) um den Faktor fünf höher als im EBC (Median 6,61 pg/ml, IQB 4,59 - 8,16) und das freie 8-Isoprostan (32,85 pg/ml, IQB 25,09 - 36,56) um den Faktor sieben höher als im EBC (Median: 4,48 pg/ml, IQB 2,51- 6,27).

5. Diskussion

In der Arbeit soll die Bedeutung der exhalativen Biomarker für die Differenzierung und Prognose von ILD und anderen chronischen Lungenerkrankungen untersucht werden. Die Messung des FeNO und der Nachweis von PGE₂ und 8-Isoprostan im EBC mittels ELISA wurden hierzu mit klinischen Parametern verglichen.

5.1 FeNO-Ergebnisse

5.1.1 Methodik der FeNO-Messung

In der vorliegenden Doktorarbeit wurde NO bei einer Flussrate von 50 ml/s bestimmt, wie es von den ATS-Leitlinien empfohlen wird (American Thoracic Society und European Respiratory Society 2005). Die FeNO-Messung bezieht sich auf die Plateau-Phase des NOs in der Exhalation (Silkoff et al. 2006).

Experimentelle FeNO-Messungen zu mehreren Flussraten verfolgen einen neuen methodischen Ansatz. So konnten einige Arbeitsgruppen bei NO-Messungen zu mehreren Flussraten (z.B. 10, 50, 100, und 200 ml/s) zwischen einer bronchialen und einer alveolären NO-Konzentration unterscheiden und somit unterschiedlich hohe NO-Werte bei bronchialen und alveolären Erkrankungen nachweisen (Tsoukias, N., M. und George, S., C. 1998), (Lehtimäki et al. 2000), (Lehtimäki et al. 2001), (Silkoff et al. 2000), (Schildge 2011). Die Überlegungen beruhen auf dem Zwei-Kompartiment-Modell von Tsoukias und George (Tsoukias, N., M. und George, S., C. 1998), welches in der Abbildung 27 erklärt wird. Um auf den methodischen Unterschied einzugehen, wird das Zwei-Kompartiment-Modell nun detailliert erläutert. Es wird zwischen dem Alveolar-Raum (Kompartiment 1) und den Atemwegen (Kompartiment 2) differenziert. Die Variablen charakterisieren die Atemwege (D_{awNO} : Diffusionskapazität der Atemwege, J'_{awNO} : Maximale Flussrate in den Atemwegen) und die Alveolen (C_{aNO} : Alveoläre NO-Konzentration) (Silkoff et al. 2000), (Silkoff et al. 2006), (Schildge 2011). D_{awNO} beschreibt den bronchialen NO-Fluss und hängt von der NO-Diffusionskapazität und dem Konzentrationsgefälle zwischen Bronchialwand und Lumen ab (Lehtimäki et al. 2001). Der bronchiale NO-Fluss beschreibt die Gesamtheit des NOs, das von der Bronchialwand ins Lumen pro Zeiteinheit übertritt (Lehtimäki et al. 2001). Die alveoläre und die bronchiale NO-Konzentration können geschätzt werden, indem man exhalierendes NO zu verschiedenen Flussraten misst und das NO gegen die Flussrate

aufzeichnet (Tsoukias, N., M. und George, S., C. 1998), (Lehtimäki et al. 2001). Die Steigung entspricht der alveolären NO-Konzentration und der Achsenabschnitt der bronchialen NO-Konzentration (Lehtimäki et al. 2001).

Zum Beispiel konnten Brindicci et al. erhöhtes peripheres C_{aNO} von COPD-Patienten auf die Schwere der kleinen Atemwegsinflammation zurückführen (Brindicci et al. 2005). Eine finnische Studie konnte zwischen erhöhtem C_{aNO} für Fibrosepatienten (IPF und EAA) und bronchialem NO in Asthmapatienten differenzieren (Lehtimäki et al. 2001).

In der hier vorliegenden Arbeit konnte für IPF- bzw. ILDPatienten keine Unterscheidung anhand des FeNO-Werts vorgenommen werden. Inwieweit eine FeNO-Messung bei mehreren Flussraten Unterschiede zwischen den Kollektiven erbracht hätte, ließ sich nicht sicher beantworten. Die Ergebnisse der hier durchgeführten Messung bei einer Flussrate sprechen allerdings gegen eine relevante Änderung der bronchialen bzw. alveolären NO-Freisetzung bei IPF und anderen ILDPs. Eine vielversprechende Methode scheint die beschriebene NO-Sammlung zu mehreren Flussraten zu sein.

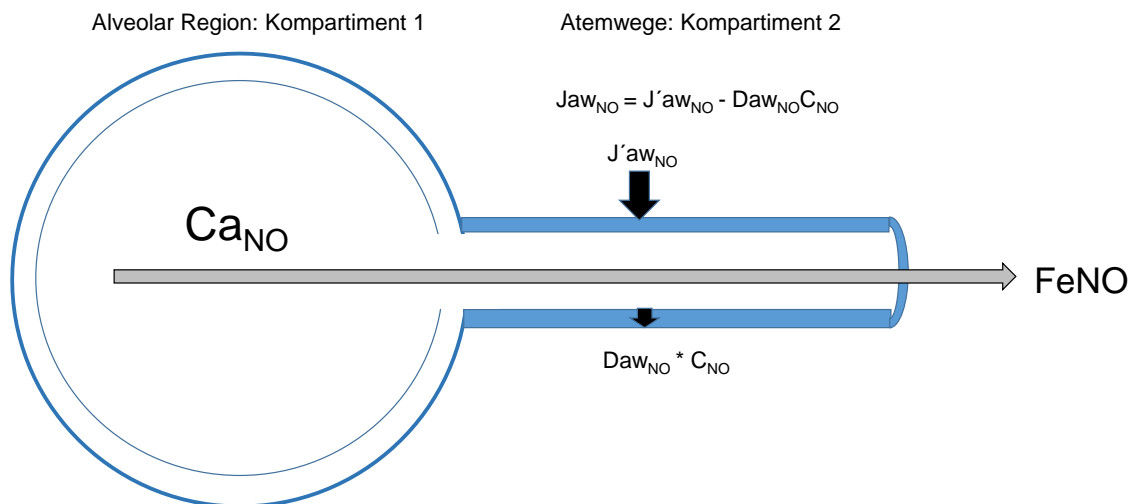


Abbildung 27: Das Zwei-Kompartiment-Modell wird vereinfacht benutzt, um die NO-dynamischen Prozesse in den Kompartimenten der Alveolen und der leitenden Bronchien zu beschreiben. Dabei ist das FeNO die Summe aus alveolärem und bronchiolärem NO, die abhängig sind von drei flussunabhängigen Variablen: Dem maximalen Fluss durch die Bronchialwand (J'_{awNO}), der Diffusionskapazität von NO in den Atemwegen (D_{awNO}) und der steady-state alveolären Konzentration (C_{aNO}). J_{awNO} ist der totale Fluss des NOs zwischen Gewebe und Gasphase in den Atemwegen. Abbildung modifiziert nach (Silkoff et al. 2006), (Gelb et al. 2012), (Tsoukias, N., M. und George, S., C. 1998).

Bei der Interpretation von FeNO-Messungen sollten immer die individuell beeinflussenden Faktoren betrachtet werden. In der vorliegenden Arbeit konnte ein Zusammenhang zwischen Rauchverhalten und FeNO-Erniedrigung beobachtet werden (Abbildung 12). Diese Abhängigkeit wurde bereits von einigen Autoren festgestellt (Kharitonov et al. 1995a), (Olin et al. 2006).

Weitere Beeinflussungen konnten bei den ILDs nicht festgestellt werden, lassen sich aber anhand zahlreicher Literaturnachweise vermuten und werden zum Teil kontrovers diskutiert. Hierzu zählen die unterschiedliche NO-Konzentrationen, bezogen auf das Geschlecht (Olivieri et al. 2006) (Olin zeigte keinen Zusammenhang: Olin et al. 2006) in Bezug auf das Alter (Franklin et al. 1999), (Franklin et al. 1999), (Olin et al. 2006) und die Körpergröße (Olin et al. 2006).

Bei Kindern konnte einheitlich festgestellt werden, dass der FeNO-Wert vom Alter beziehungsweise von der Größe der respiratorischen Oberfläche abhängt (Pedroletti et al. 2003). Bei Erwachsenen wurde eine positive Korrelation zwischen der Höhe des FeNO-Werts (Olin et al. 2006) beziehungsweise des FeNO und der Ca_{NO} (Gelb et al. 2011) zum Alter beobachtet. Widersprüchliche Ergebnisse zeigen sich bezüglich der geschlechtlichen Beeinflussung. Olivieri et al. weisen höhere FeNO-Werte bei Männern auf (Olivieri et al. 2006), während Olin et al. keinen Unterschied feststellen können (Olin et al. 2006). Die meisten Studien zeigen eine Beeinflussung der Körpergröße auf die FeNO-Werte (Olin et al. 2006).

Weitere exogene Beeinflussungsmöglichkeiten stellen Virusinfektionen (Kharitonov et al. 1995b), (Sanders et al. 2004) und die Aufnahme von nitrathaltigen Nahrungsmitteln (Zetterquist et al. 1999) dar, die den FeNO-Wert erhöhen sollen.

Inwieweit die Steroid-Einnahme die FeNO-Werte beeinflusst, wird in der Literatur unterschiedlich diskutiert und scheint von der zugrundeliegenden Erkrankung mit ihren Pathomechanismen abzuhängen. In dieser Arbeit wurde jedoch keine signifikante Veränderung durch eine Steroid-Einnahme über alle Kollektive hinweg beobachtet (Abbildung 12).

Während Steroide in Nagetierzellen die iNOS direkt erniedrigen, geschieht dies bei menschlichen Alveolarepithelzellen auf unbekanntem indirektem Weg (Donnelly und Barnes 2002). Mehrere Studien konnten bei Asthmapatienten eine Ansprache auf Steroide beobachten (Baraldi et al. 2003b), (Baraldi et al.), (Lehtimäki et al. 2001). Lehtimäki et al. haben nachgewiesen, dass der Effekt der Steroidbehandlung bei Asthmapatienten nur die bronchiolär erhöhte NO-Freisetzung erniedrigt und damit die Lokalisation in den leitenden

Atemwegen unterstreicht (Lehtimäki et al. 2001). Ebenso zeigen Alveolitis-Patienten (IPF und EAA) anscheinend eine Steroidansprache im Ca_{NO} (Lehtimäki et al. 2001).

Bei COPD-Patienten konnte kein Unterschied zwischen der iNOS-Expression bei Steroideinnahme beobachtet werden, sodass man von einer steroidresistenten iNOS-Inflammation bei COPD-Patienten ausgeht (Brindicci et al. 2010). In einer anderen Studie wurden eine Abnahme von \dot{V}_{awNO} und eine Symptomverbesserung auf Steroidgabe beobachtet (Lehtimäki et al. 2010). In der vorliegenden Arbeit zeigen Steroid negative COPD-Patienten leicht höhere FeNO-Werte als mit Steroid Behandelte (Abbildung 15), sodass diese Ergebnisse mit denen von Lehtimäki et al. übereinstimmen.

Trotz der Summe dieser methodischen Unsicherheiten kam zum Vorschein, dass die FeNO-Methode über eine hohe Reproduzierbarkeit verfügt und eine geringe Tages-Variabilität bei gesunden und asthmatischen Kindern und Erwachsenen hat (Kharitonov et al. 2003). Auch in der aktuellen Arbeit konnte eine gute Wiederholbarkeit der FeNO-Ergebnisse aufgezeigt werden (Abbildung 13), wobei zu berücksichtigen ist, dass der interindividuelle Unterschied innerhalb einer Erkrankung groß sein kann. Zudem wird zur Interpretation der FeNO-Werte von Asthmapatienten die klinische Handhabung mit sogenannten Cut-off Werten empfohlen (Dweik et al. 2011). FeNO-Werte von gesunden Nichtrauchern weisen eine rechtsschiefe Verteilung auf und überschneiden sich dadurch häufig mit anderen FeNO-Kollektiven, wie zum Beispiel mit Asthmapatienten (Dweik et al. 2011) (Normalverteilung von 27-57 ppb, abhängig vom Geschlecht Olin et al. 2007, cut-off point von > 47 ppb für positive Steroidansprache Smith et al. 2005). Bei anderen Lungenerkrankungen bedarf es noch weiterer Studien, um verlässliche Interpretationen vornehmen zu können. Bezüglich der Entwicklung einer interstitiellen Lungenbeteiligung wurde bei systemischer Sklerose ein Ca_{NO} -Wert von 4,3 ppb ermittelt (Tiev et al. 2009).

Insgesamt wurde die bereits bekannte NO-Erniedrigung bei Rauchern bestätigt. Weitere Beeinflussungsfaktoren auf die NO-Messung stellen Medikamente, wie zum Beispiel Antibiotika, Steroide und PPI (siehe unten), dar. Eine sichere Interpretation der FeNO-Werte ist bei der Vielzahl an Beeinflussungsmöglichkeiten und den neuen Messmethoden (Zwei-Kompartiment Modell) schwierig.

5.1.2 Einordnung der FeNO-Werte in die Literatur

In dieser Arbeit wurden die FeNO-Werte an 20 gesunden Probanden/innen bestimmt. Mit einem Median von 13 ppb (IQB 8-18,25) entspricht die Verteilung den bisherigen Studienbeobachtungen, bei denen FeNO-Werte von Gesunden in einem Bereich zwischen 4 bis 20 ppb lagen (Olin et al. 2006), (Olivieri et al. 2006), (Balbi et al. 2007).

5.1.2.1 NO im IPF-Kollektiv

In der vorliegenden Arbeit konnten keine signifikanten gruppenspezifischen FeNO-Unterschiede festgestellt werden (Abbildung 8). Andererseits gibt es in der Literatur Hinweise auf veränderte NOS-Expressionen, sodass NO als ein volatiler Biomarker infrage kommt.

Studien konnten zu diesem Aspekt zeigen, dass in IPF-Patienten die eNOS herunter- und die iNOS hochreguliert sind (Saleh et al. 1997), (Choi et al. 2009). Im frühen bis mittleren Fibrosierungsprozess befindliche IPF-Patienten haben immunhistochemisch einen höheren Nachweis von iNOS in alveolären Epithelzellen und inflammatorischen Zellen als Patienten mit einer *end-stage* Fibrose (Saleh et al. 1997). Anhand dieser Ergebnisse wird vermutet, dass der kleine Anteil des konstitutiv produzierten NOs (im Wesentlichen über die eNOS) wichtig für die Aufrechterhaltung der Lungenhomöostase ist (Saleh et al. 1997). Detaillierter konnte gezeigt werden, dass in den *fibroblast foci* die Myofibroblasten eine geringe iNOS- und eine hohe eNOS-Expression aufzeigen, während die umgebenden Epithelzellen eine erhöhte iNOS-Expression aufweisen (Choi et al. 2009).

Der protektive Effekt von NO auf die Lungenarchitektur konnte in Studien nachgewiesen werden. So wurde zum Beispiel gezeigt, dass mit inhaliertem NO die Sterbeinzidenz von Neonaten mit Bronchopulmonaler Dysplasie (BPD) erniedrigt werden kann (20 ppm inhalatives NO für 48 bis 96 Stunden) (Ballard et al. 2006). Außerdem wiesen beatmete Primaten, die NO inhalierten (5 ppm), weniger Myofibroblasten und weniger Elastinablagerungen in den Alveolen als Kontrolltiere auf (McCurnin et al. 2005). Weiter führt die eNOS-Überexpression in genetisch veränderten Mäusen zu geringeren beatmungsassoziierten Schäden mit ebenfalls geringerer Fibroseentwicklung (Takenaka et al. 2006). In der Studie von Vyas-Read et al. wurde gezeigt, dass endogenes NO die Typ II Pneumozyten vor der epithelial-mechenchymalen Umwandlung zu Myofibroblasten schützt und damit wichtig für die Wahrung des epithelialen Phänotyps zu sein scheint (Vyas-Read et al. 2007). Zudem stellten sie fest, dass TGF- β 1 die eNOS-Aktivität und Expression in Typ

II Pneumozyten erniedrigt, jedoch nicht die der iNOS und über diese Wirkung möglicherweise die Myofibroblasten-Ansammlungen und die Interstitielle Fibrose initiiert werden (Vyas-Read et al. 2007). Dazu passend, konnte in einer in vitro Studie erkannt werden, dass NO die Synthese von TGF- β 1 in humanen Alveolarepithelzellen hochreguliert (Bellocq et al. 1999), während TGF- β 1 in Fibroblasten von Rattenlungen die iNOS-Expression erniedrigt (Zhang und Phan 1999). Dementsprechend scheint das Zusammenspiel von TGF- β 1 mit den unterschiedlichen NOS-Isoenzymen in Typ II Pneumozyten und Lungenfibroblasten eine wichtige Rolle zu spielen.

Im oberen Respirationstrakt wird NO in höheren Konzentrationen (> 100 ppb) als in den tieferen Atemwegen gebildet (Silkoff et al. 2006), (Kharitonov et al. 1996), (Baraldi et al. 1999), (Thomas et al. 2000). Erklärt wird die erhöhte Konzentration als Abwehrmechanismus (Lundberg et al. 1995) und als wichtiger Mediator der mukoziliären Funktion (Runer et al. 1998).

Bei IPF-Patienten kommt es im Bereich der Alveolen zur erhöhten iNOS-Expression und folglich zur vermehrten Bildung von NO (Saleh et al. 1997). Dies könnte ein Teil der fibrosierenden Pathogenese sein und zu einer kompensatorischen Herunterregulierung der eNOS führen (Saleh et al. 1997). Das NO bildet mit Superoxidionen Peroxynitrit, das als starkes Oxidans fungiert und für oxidativen Zellschaden steht (Saleh et al. 1997). Dies führt konsekutiv zu einer NO-Erniedrigung (Saleh et al. 1997). Damit scheinen die iNOS-Expression und erhöhte NO-Werte durch den aktiven Fibrosierungsprozess mit entzündlicher Komponente hervorgerufen zu werden.

Insgesamt sind die NOS abhängigen Regulationsveränderungen komplex und noch nicht abschließend für die IPF erforscht. Eine Schwierigkeit kann in der unterschiedlichen Beobachtungsperspektive begründet liegen. Die oben erwähnten theoretischen Grundlagen beruhen auf Expressionsmustern auf Zellebene (NOS-Isoenzyme in Fibroblast/Typ II Pneumozyt), während die FeNO-Messung rein quantitativ im ppb Bereich erfolgt. Weitere Studien sind nötig, um genau diese Zusammenhänge zu klären.

Es folgt die Einordnung der gemessenen FeNO-Werte in die Literatur. Einige Studien konnten eine Unterscheidung zwischen Kollektiven anhand des NOs darstellen. So gelang es Paredi et al., erhöhte FeNO-Werte bei IPF-Patienten (MW mit SD: $11,2 \pm 1$ ppb) im Vergleich zu gesunden Nichtrauchern ($6,9 \pm 0,5$ ppb) aufzuweisen (Flussrate: 5 l/min = 83,3 ml/s) (Paredi et al. 1999). Die FeNO-Werte für IPF-Patienten stimmen mit den hier

festgestellten Werten von 13,5 ppb überein, die allerdings nur marginal über denen der Kontrollen lagen (Abbildung 8).

Im Gegensatz hierzu zeigten die IPF-Patienten von Guilleminault et al. einen Median von 22 ppb (IQB: 17-30 ppb, Flussrate: 50 ml/s) und liegen damit wesentlich höher als die hier untersuchten IPF-Patienten (Guilleminault et al. 2013). Dies ist möglicherweise auf einen Geräteunterschied (Belgien Hypair FeNO, Medisoft) zurückzuführen, denn in der Studie von Guilleminault wurden generell höhere FeNO-Werte gemessen (IPF: 22 ppb, chronische EAA: 51 ppb, medikamenteninduzierte Fibrosen: 19 ppb, CTD-ILD: 25 ppb).

In Bezug auf das Zwei-Kompartiment Modell (Abbildung 27) wurden auch Studien mit mehreren Flussraten durchgeführt. Zum Beispiel hat Schildge NO-Werte zu mehreren Flussraten an 83 ILDs und 17 Kontrollpatienten bestimmt und diese mit klinischen Parametern korreliert (Schildge 2011). Die dabei untersuchten IPF-Patienten (n: 14) zeigten bei einer Flussrate von 50 ml/s FeNO-Mittelwerte von 27,6 ppb und unterschieden sich nicht signifikant von den restlichen Kollektiven (Schildge 2011). Die Mittelwerte für Ca_{NO} lagen bei 4,37 ppb und für J'_{awNO} bei 1463 pl/sec. (Schildge 2011). In der Kontrollgruppe von Schildge (Patienten, bei denen eine Computertomografie eine interstitielle Lungenerkrankung nicht ausschließen konnte, Spiroergometrie, Bronchoskopie, BAL und transbronchiale Lungenbiopsie jedoch keine pathologischen Befunde zeigten) wurden FeNO-Mittelwerte von 23,6 ppb, Ca_{NO} von 2,05 ppb und J'_{awNO} von 1440 pl/sec gemessen. Er schlussfolgert hiernach, dass IPF-Patienten im Vergleich zu der Kontrollgruppe höhere FeNO-, Ca_{NO} - und J'_{awNO} -Werte aufweisen.

Insgesamt unterschieden sich die FeNO-Mittelwerte und die Mittelwerte für die maximale NO-Flussrate aus der Atemwegswand (J'_{awNO}) aller untersuchten Gruppen nicht signifikant (Schildge 2011). Nur die Mittelwerte für die NO-Konzentration in der Atemwegswand (Ca_{wNO}), für die steady-state Konzentration von NO in den Alveolen (Ca_{NO}) und für die Diffusionskapazität für NO in den Atemwegen (Da_{wNO}) unterschieden die Gruppen signifikant untereinander (Schildge 2011).

Cameli et al. haben in ihrer Studie die FeNO-Werte von IIP- (22 IPF- und 8 NSIP- Patienten) und gesunden Kontrollpatienten (n: 30) bei verschiedenen Flussraten miteinander verglichen (Cameli et al. 2014). Dabei wurde auch eine Messung zu 50 ml/s durchgeführt und für die IPF-Patienten ähnlich hohe Werte (MW \pm SD: 22,3 \pm 8,4 ppb) wie von Schildge festgestellt (Cameli et al. 2014). Cameli et al. konnten signifikant höhere FeNO-Werte bei

der IIP-Gruppe (IPF und NSIP) im Vergleich zu der gesunden Kontrollgruppe zu verschiedenen Flussraten feststellen (Flussrate: 50, 100 und 150 ml/s, $p < 0,0001$) (Cameli et al. 2014).

Ähnlich wie Schildge konnte die Arbeitsgruppe von Cameli et al. auch einen signifikanten Unterschied der IIP (IPF: 11,5 ppb, NSIP: 12,6 ppb) zu der Kontrollgruppe (4,7 ppb) für Ca_{NO} , aber nicht für \dot{V}_{awNO} (IPF: 42,6 nl/min., NSIP: 40,3 nl/min., Kontrolle: 45,3 nl/min.) feststellen.

Die FeNO-Werte von Cameli et al. sind mit denen von Guilleminault vergleichbar, beide Studien wurden mit demselben FeNO-Gerät durchgeführt (Hypair FeNO, Medisoft). Es wurde bereits festgestellt, dass absolute FeNO-Messungen von technischen Unterschieden der Messgeräte abhängen, sodass regelmäßig etwas niedrigere Werte für das Chemilumineszenz-Verfahren (NIOX Mino, Aerocrine) im Vergleich zum elektrochemischen Verfahren (Hypair FeNO, Medisoft) gemessen werden (Boot et al. 2008).

In der hier vorliegenden Arbeit konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den IPF-Patienten und dem gesunden Kollektiv festgestellt werden, die Mediane waren fast identisch (13 versus 13,5 ppb). Man erkennt allerdings eine viel breitere Streuung der Gesunden (IQB: 8-18,25 ppb) als bei den IPF-Patienten (IQB: 11-15,5 ppb).

In den verfügbaren Studien zum NO-Wert von IPF-Patienten wird im Wesentlichen von einem erhöhten Ca_{NO} ausgegangen, der über die iNOS-Überexpression im alveolären Kompartiment und die verminderte Diffusionsfähigkeit erklärt wird. Cameli et al. konnten zeigen, dass das Ca_{NO} von IPF-Patienten gegenüber der gesunden Kontrollgruppe erhöht ist, während kein Unterschied zwischen den Gruppen für \dot{V}_{awNO} festzustellen war (Cameli et al. 2014). Dabei wurde zu unterschiedlichen Flussraten (50, 100 und 150 ml/s) gemessen und die erhöhten NO-Werte auf eine verminderte Diffusionskapazität durch die Fibrosierungsprozesse und auf eine erhöhte iNOS-Expression zurückgeführt (Cameli et al. 2014), (Pullamsetti et al. 2011), (Janssen et al. 2013), (Saleh et al. 1997), (Lehtimäki et al. 2001).

In der vorliegenden Arbeit wurde eine Korrelationsanalyse von FeNO-Werten und Lungenfunktionsparametern durchgeführt, um der Frage nachzugehen, inwieweit der

FeNO-Wert mit lungenfunktionellen Parametern korreliert und somit prognostisch relevant nutzbar sein könnte.

Im IPF-Kollektiv konnte keine Korrelation zwischen dem FeNO-Wert und Lungenfunktionsparametern (VC % Soll, TLC % Soll, ITGV % Soll, RV/TLV % Soll) beziehungsweise den Blutgasen (pO_2 und pCO_2) festgestellt werden (Abbildung 9). Einschränkungen in der Interpretation ergeben sich durch die Größe der Kollektive und die Abhängigkeit der Korrelation von einem Extremwert. So zeigte sich eine fraglich positive Korrelation zwischen FeNO und der DLCO % Soll und der KCO % Soll. Diese Ergebnisse stehen zudem im Widerspruch zu den Beobachtungen der wissenschaftlichen Literatur, bei denen ein inverses Verhältnis von DLCO % Soll und KCO % Soll zur Ca_{NO} festgestellt wurde (Lehtimäki et al. 2001), (Cameli et al. 2014). Demnach sei das inverse Verhältnis von DLCO % zum Ca_{NO} auf die Abnahme der Diffusionskapazität für CO und einen verminderten Fluss von NO von alveolär nach kapillär durch den Fibrosierungsprozess zurückzuführen (Lehtimäki et al. 2001).

Außerdem konnte in dieser Analyse (Abbildung 9) auch keine negative Tendenz für die TLC %, DLCO % und KCO % gezeigt werden, dies wurde in der Literatur bisher so beschrieben (Lehtimäki et al. 2001), (Cameli et al. 2014). Cameli et al. zeigten eine inverse Korrelation zwischen Ca_{NO} zur DLCO %, TLC % zur Gehstrecke und dem SpO_2 im 6 MGT (Cameli et al. 2014). Lehtimäki et al. haben ebenfalls eine inverse Korrelation zwischen Ca_{NO} und der DLCO % sowie den Lungenvolumina feststellen können (Lehtimäki et al. 2001).

In der hier vorliegenden Arbeit kann die Vermutung, dass FeNO mit einer verminderten VC % Soll einhergeht, weder für die IPF (Abbildung 9), noch für die Gesamtheit derILDs (Abbildung 10) bestätigt werden. Es findet sich in beiden Gruppen eine leicht positive Korrelation (ohne Signifikanz) vom FeNO zur VC % Soll. Dies würde auf einen protektiven Charakter des NOs hindeuten.

Bezüglich der Blutgase (pCO_2 und pO_2) konnte keine signifikante Korrelation des FeNOs für die IPF und dieILDs beobachtet werden. In der Pathophysiologie der IPF wird der Gasaustausch für Sauerstoff über die gestörte fibrosierende Lungenarchitektur negativ beeinflusst.

Als Komplikation beziehungsweise Begleiterkrankung besteht bei IPF-Patienten häufig eine pulmonale Hypertonie. Bei Lungenfibrose-Patienten ist eine verminderte körperliche Belastung unter anderem im 6 MGT (verkürzte Gehstrecke und verminderte Sauerstoffsättigung mit verlängerter Erholungszeit) und der Spiroergometrie bekannt. Diese

Veränderungen gehen mit einer Einschränkung des täglichen Lebens und einer verminderten Lebensqualität einher.

Es konnte gezeigt werden, dass bei IPF-Patienten einige epitheliale Mediatoren während körperlicher Belastung einen pulmonalen Hochdruck vermitteln, während die NO-Applikation den pulmonalen Widerstand erniedrigt, ohne den Gasaustausch zu beeinflussen (Blanco et al. 2011). Die Bedeutung des NOs wird auch in seinem therapeutischen Einsatz in der pulmonalen Hypertonie sichtbar (Kharitonov und Barnes 2006). Ein bekanntes Beispiel ist Sildenafil, welches ein Phosphodiesterase-5-Hemmer (PDE5) ist und den Abbau des NO-Effektor-Moleküls cGMP (zyklisches Guanosinmonophosphat) vermindert (Dweik 2002). Bei PH-Patienten wird von einem erniedrigten FeNO-Wert ausgegangen, der sogar als longitudinaler Biomarker zur Therapiekontrolle dienen könnte (Machado et al. 2004).

In dieser Arbeit wurde der FeNO-Wert in Zusammenhang mit der Gehstrecke im 6 MGT und der $VO_2\text{max}$ betrachtet. Dies geschah zunächst gesondert für das IPF-Kollektiv und dann für alle Patienten (Abbildung 11). Die Korrelationsgerade verlief in beiden Gruppen für die relative maximale Sauerstoffaufnahme ($VO_2\text{max}$) positiv, jedoch ohne Signifikanz. Möglicherweise gehen erniedrigte FeNO-Werte mit einer Abnahme der Fähigkeit zur Sauerstoffaufnahme einher. Dabei ist die $VO_2\text{max}$ ein sehr objektiver Parameter, jedoch gilt bei der Auswertung die geringe Fallzahl und den Ausreißer zu berücksichtigen. Die Gehstrecke der IPF-Patienten korrelierte nicht mit dem FeNO ($r = 0,06$), wobei die Gehstrecken-Messung auch mit arbeitsabhängig und fehleranfällig ist.

Die Arbeitsgruppe von Cameli et al. konnte eine belastungsabhängige Veränderung der NO-Werte beobachten. Sie zeigten eine inverse Korrelation zwischen Ca_{NO} zur Gehstrecke ($r = -0,73$, $p < 0,0001$) und dem SpO_2 im 6 MGT ($r = -0,54$, $p < 0,01$) (Cameli et al. 2014). Für die FeNO 50, 100, 150 und J'_{awNO} konnte Cameli et al. jedoch keine signifikanten Korrelationen zur Gehstrecke im 6 MGT messen (Cameli et al. 2014), dieses Ergebnis deckt sich mit den hier gemachten Beobachtungen.

In den Untersuchungen von Cameli et al. zeigten sich nach dem 6 MGT eine Erniedrigung des Ca_{NO} und eine NO-Erhöhung in den zentralen Atemwegen (J'_{awNO} und FeNO bei 50 ml/sec.) (Cameli et al. 2014). Eine körperliche Belastung könnte durch die veränderte Ventilation zu einem alveolären Auswaschen (erniedrigtes Ca_{NO}) und einem erhöhten Fluss für NO in den Atemwegen (erhöhtes FeNO und J'_{awNO}) führen (Cameli et al. 2014). Andererseits könnte die belastungsinduzierte Hypoxie bei IPF-Patienten zu einem gestörten Oxidans-Antioxidans-Gleichgewicht führen, welches die NO-Konzentration beeinflusst (Cameli et al. 2014).

Das Rauchverhalten wurde in der vorliegenden Arbeit als signifikantes Patientenmerkmal auf die FeNO-Messung identifiziert (Abb.12). Bekanntermaßen erniedrigt Zigarettenkonsum die NO-Konzentration in der Ausatemluft (Kharitonov et al. 1995a), (Olin et al. 2006). Schildge konnte den Zigarettenkonsum als flussunabhängige Einflussparameter auf die FeNO 50 ml/sec. nachweisen (Schildge 2011).

Bereits in seiner Kollektivbeschreibung wird ein signifikanter Unterschied beim Merkmal Raucherstatus in Pack-years beschrieben (33 Sarkoidosen, 14 IPF, 10 EAA, 12 CTD, 8 COP, 6 RB-ILD und 17 Kontrollpatienten, $p < 0,001$) (Schildge 2011).

In der oben erwähnten Studie von Cameli et al. ergab sich in der Kollektivbeschreibung (22 IPF, 8 NISP und 30 Kontrollen) kein signifikanter Unterschiede hinsichtlich des Patientenmerkmals Nikotinkonsum, es wurde auch kein signifikanter Unterschied bezüglich der NO-Messungen zwischen Nichtrauchern und ehemaligen Rauchern festgestellt (Cameli et al. 2014). Dies Ergebnis spiegelt nicht den herrschenden Konsens in der Literatur einer NO-Erniedrigung durch Nikotinkonsum wider. Dies könnte der relativ kleinen Kollektivgröße von Cameli et al. geschuldet sein.

Zusammenfassend konnten anhand des FeNO-Werts keine eindeutigen Korrelationen des FeNO-Werts zu lungenfunktionellen Veränderungen mit entsprechend fehlender Signifikanzen gefunden werden. Diese Ergebnisse stützen also nicht die Interpretationen früherer Untersuchungen bei IPF-Patienten und anderen ILD, denen zufolge NO ein wichtiger Marker für die Beurteilung der Erkrankungsschwere darstellt (Cameli et al. 2014), (Tiev et al. 2013), (Lehtimäki et al. 2001).

Mit der FeNO-Messung steht also eine noninvasive Untersuchungsmethode zur Verfügung, deren Nutzbarkeit zur sicheren Differenzierung verschiedener ILDs und zur Prognoseabschätzung insgesamt zweifelhaft erscheint.

5.1.2.1.1 Neue Aspekte des NOS-ADMA-DDAH-Weges

Im Pathomechanismus der IPF hat, wie oben schon einmal erwähnt, die Regulation der NOS-Isoenzyme eine möglicherweise wichtige Bedeutung. Dabei werden die NOS-Isoenzyme von Inflammationsreaktionen und den verschiedenen Zytokinen beeinflusst. So

werden bei einer Inflammationsreaktion die COX2 und iNOS zusammen exprimiert (Swierkosz et al. 1995). NO hat einen modulierenden Effekt auf die COX und damit auch auf die PGE2-Synthese (Landino et al. 1996), (Watkins et al. 1997), (Kharitonov et al. 1998). In einer Studie wurde gezeigt, dass die NO-Synthese NADPH-abhängig ist, während dies bei der PGE2-Synthese nicht der Fall ist (Nakagawa et al. 2012). In der Abbildung 28 werden die aktuell vermuteten Regulationsmechanismen des NOS-ADMA-DDAH Weges beschrieben.

Die NOS wird durch die Verfügbarkeit der Aminosäure L-Arginin und verschiedene Inhibitoren beeinflusst. Zu diesen Inhibitoren zählt das asymmetrische Dimethylarginin (ADMA), das ein kompetitiver endogener NOS-Inhibitor ist (eNOS und nNOS, weniger der iNOS) (Förstermann und Sessa 2012), (Janssen et al. 2013). Das ADMA entsteht durch die Methylierung von Argininresten in Proteinen durch die Protein-Arginin-Methyltransferase (PRMT) (Palm et al. 2007). ADMA wird über die Dimethylarginin Dimethylaminohydrolase (DDAH) metabolisiert, die in zwei verschiedenen Isoformen vorliegt (DDAH1 und 2) (Leiper et al. 1999) und somit auch die Bioverfügbarkeit von NO reguliert (Janssen et al. 2013), (Palm et al. 2007).

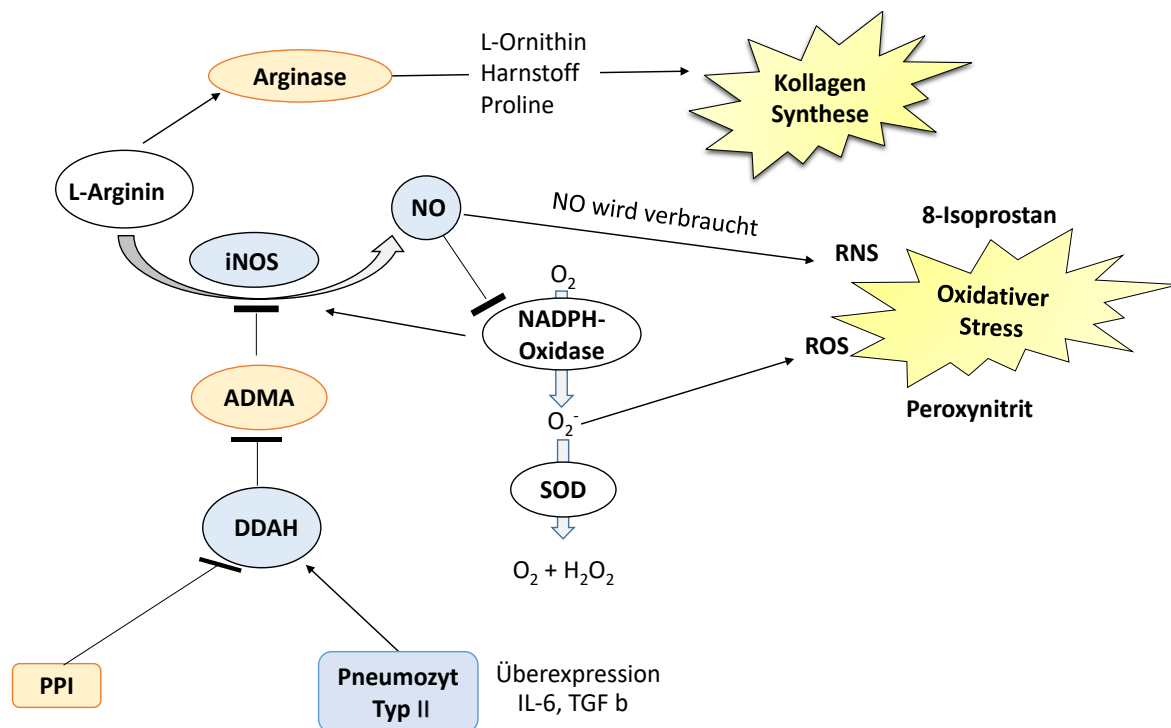


Abbildung 28: Der NOS-ADMA-DDAH Weg: Die NO-Konzentration wird über die DDAH-Expression, den NOS-Inhibitor ADMA und die Verfügbarkeit von L-Arginin reguliert. Die Inhibition der ADMA über die Überexpression von DDAH von Typ II Pneumozyten führt wahrscheinlich zu erhöhten

NO-Werten in IPF-Patienten. Die DDAH scheint eine zentrale Rolle in der Inhibition der NOS zu spielen und entscheidend an der Pathogenese der IPF mitzuwirken. Modifiziert nach (Ghebremariam et al. 2013), (Janssen et al. 2013), (Pullamsetti et al. 2011), (Förstermann und Sessa 2012), (Wells et al. 2009), (Palm et al. 2007), (Nakagawa et al. 2012).

ADMA wird mit verschiedenen klinischen Erkrankungen in Verbindung gebracht, wie zum Beispiel der Arteriosklerose (Miyazaki et al. 1999), Diabetes mellitus (Lin et al. 2002), pulmonaler Hypertension (Gorenflo et al. 2001), chronischer Niereninsuffizienz (Matsumoto et al. 2007) und Hyperhomozysteinämie (Stühlinger et al. 2003).

Wells et al. konnten im Mausmodell eine vermehrte Kollagenablagerung in der Lunge nach der Infusion von ADMA nachweisen (Wells et al. 2009). Dies geschieht wahrscheinlich über die Metabolisierung von Arginin über die Arginase (Wells et al. 2009). Damit spielt ADMA möglicherweise eine wichtige Rolle in dem Gleichgewicht zwischen Arginase und NOS (Wells et al. 2009). Über die Arginase wird Ornithin hergestellt, welches wiederum für die Herstellung von Polyaminen und L-Prolin nötig und letztlich wichtig für die Kollagensynthese ist (Wells et al. 2009). Ein erhöhtes ADMA spielt somit eine wichtige Rolle bei der Synthese der extrazellulären Matrix und dem Remodeling bei chronischen Lungenerkrankungen. In einigen Studien konnte die profibrotische Eigenschaft von ADMA auch in anderen Organsystemen gezeigt werden und weist damit auf seine systemische Wirkung hin (Matsumoto et al. 2007), (Jacobi et al. 2008), (Hasegawa et al. 2007).

Wells et al. postulieren einen vermehrten Arginase-Weg mit Kollagenablagerung und Remodeling als einen möglichen Teilaspekt in der Pathogenese des Asthmas, bei dem es zu einem NO-Mangel durch eine erhöhte Arginase-Aktivität kommen soll (wobei dies allerdings mit den üblich erhöhten NO-Werten bei Asthmatikern schwierig in Einklang zu bringen ist) (Wells et al. 2009), (Meurs et al. 2002). Sie zeigten in vivo, dass nach ADMA-Infusion NO erniedrigt und die Atemwegs-Hyperreagibilität (AHR) erhöht sind (Wells et al. 2009). Auch bei der idiopathischen pulmonalen Hypertension (iPAH) sind erniedrigte NO-Werte feststellbar, die möglicherweise durch eine vermehrte Arginaseaktivität und / oder ein vermindertes Substrat L-Arginin verursacht werden (Xu et al. 2004).

Pullamsetti et al. konnten im Bleomycin-Mausmodell und in Typ II Pneumozyten von IPF-Patienten sowohl eine vermehrte iNOS- als auch eine erhöhte DDAH-Expression nachweisen (Pullamsetti et al. 2011). Die DDAH2 wird durch die profibrotischen Zytokine TGF- β 1 und IL-6 hochreguliert (Pullamsetti et al. 2011). Weiter konnte diese Arbeitsgruppe zeigen, dass die Inhibierung von DDAH die Fibroblasten induzierte Kollagenablagerung reduzierte (ADMA-unabhängig) und eine abnormale Epithelproliferation verringerte (ADMA abhängig) und somit in den Bleomycin behandelten Mäusen die Ausbildung einer

Lungenfibrose weitestgehend verhindert werden konnte (Mäuse zeigten nahezu normale Lungenfunktionen) (Pullamsetti et al. 2011). Dies lässt vermuten, dass DDAH regulierend auf den epithelialen Zellschaden, die EMT und die fibrotische Reaktion von IPF-Patienten wirken könnte (Pullamsetti et al. 2011). Der Zusammenhang zwischen ROS und RNS bei der IPF könnte durch die sensible Reaktion der DDAH auf den oxidativen Stress erklärt werden (Palm et al. 2007). Damit stellen DDAH-Inhibitoren möglicherweise eine neue therapeutische Option für IPF-Patienten dar (Pullamsetti et al. 2011).

Interessant ist auch der Zusammenhang von 8-Isoprostan und NO, die beide Marker des oxidativen Stresses sind. In pulmonalen Arterien wurde unter anderem die Mitbeteiligung von COX und NOS bei der 8-Isoprostan-Entstehung nachgewiesen (Jourdan et al. 1997). Montuschi et al. konnten eine Korrelation von NO und 8-Isoprostan für IPF-Patienten, jedoch nicht für systemische Sklerose-Patienten zeigen (Montuschi et al. 1998). Er schließt daraus, dass bei den Erkrankungen zwei verschiedene Arten von oxidativem Stress eine Rolle spielen, zum einen die Lipid-Peroxidation von Phospholipiden der Zellmembranen für 8-Isoprostan und die verschiedenen Expressionen der NOS-Isoenzyme für NO (Montuschi et al. 1998). Dieser Unterschied könnte dementsprechend auch der Grund für die unterschiedlichen Prognosen der beiden fibrosierenden Alveoliten sein (Montuschi et al. 1998). Möglicherweise stellen die kombinierte alveoläre NO-Messung und die 8-Isoprostan-Messung bei IPF-Patienten eine genauere Methode dar, den oxidativen Stress zu beurteilen.

In der Literatur gibt es Hinweise darauf, dass die Einnahme von PPI Einfluss auf die DDAH-ADMA-NOS Achse ausübt. Zum Beispiel wurde in einem Mausmodell gezeigt, dass PPI die DDAH direkt inhibiert und damit zu einer Erhöhung von ADMA führt (Ghebremariam et al. 2013). Dies wiederum inhibiert die NOS (vorzugsweise die eNOS und nNOS) und führt zum erniedrigten NO (Ghebremariam et al. 2013). In einer in vitro Studie konnte gezeigt werden, dass aktivierte Maus-Makrophagen vermehrt PGE₂ und NO produzieren, welches mit Lansoprazol (PPI) über die Inhibition von COX und iNOS verhindert wurde (Nakagawa et al. 2012). Dementsprechend werden PPI in gewisser Weise antiinflammatorische Effekte zugeschrieben.

In der vorliegenden Arbeit wurde nur eine sehr geringe, inverse, scheinbar konzentrationsabhängige, aber nicht signifikante Korrelation zwischen der PPI-Einnahme und dem FeNO-Wert erkannt (Anhang, Abbildung 40). Zudem konnte über alle Kollektive

hinweg kein signifikanter Unterschied der FeNO-Konzentration in Abhängigkeit von der Einnahme von PPIs festgestellt werden. In der Summe lässt sich auf der Basis der hier vorgestellten Ergebnisse die Aussage von Ghebremariam et al. nicht unterstützen. Dies schließt nicht aus, dass bei seriellen intraindividuellen Messungen ein solcher Zusammenhang darstellbar sein könnte.

Im vaskulären System wurde die Vermutung aufgestellt, dass es bei PPI-Einnahme über den oben genannten Weg zu einem Abfall des NOs mit einer vermehrten endothelialen Inflammations- und Thromboseneigung kommen kann (Ghebremariam et al. 2013). So sei die PPI-Einnahme mit einem erhöhten Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse bei Patienten mit instabilen Koronarsyndrom assoziiert (Ghebremariam et al. 2013).

In einer anderen Studie von Nakagawa et al. wurde der Effekt von PPI auf eine Makrophagen-Zelllinie getestet (Nakagawa et al. 2012). Dabei wurde festgestellt, dass PPI die iNOS-, COX-, NO- und PGE2- Produktion in den Makrophagen erniedrigt (Nakagawa et al. 2012). Sie schlussfolgern daraus, dass PPIs anti-inflammatorische Effekte besitzen (Nakagawa et al. 2012). Demzufolge scheint die Dokumentation der PPI-Einnahme sinnvoll zu sein und bei der Interpretation der FeNO-Werte berücksichtigt zu werden.

Zusammenfassend kann konstatiert werden, dass der NOS-ADMA-DDAH-Weg bei der Pathogenese der IPF beteiligt ist, jedoch weitere Untersuchungen notwendig sind, um mögliche Biomarker zu diesem Signalweg klinisch zu etablieren. Nach den hier erhobenen Daten scheint FeNO kein geeigneter Parameter zu sein, um für IPF-Patienten prognostisch relevante Entscheidungen treffen zu können.

5.1.2.2 NO in den verschiedenen ILD-Gruppen

In der Gruppe der ILDs wurden die nicht-klassifizierbaren IIP, RB-ILDs, COP, EAA, Sarkoidosen und CTL-ILDs zusammengefasst. Insgesamt zeigt sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen. Die FeNO-Spannweite der ILD-Gruppe ist wesentlich breiter als die der IPF. Zurückzuführen ist dies möglicherweise auf die Heterogenität der verschiedenen ILD-Untergruppen, die sich hinsichtlich Art und Persistenz des Triggers (z.B. chronische Entzündung) unterscheiden. In der vorliegenden Arbeit wurden die verschiedenen ILD-Untergruppen zunächst zusammengefasst und dann gesondert betrachtet (siehe Anhang). Innerhalb der ILD-Subgruppen ergeben sich keine signifikanten gruppenspezifischen FeNO-Unterschiede. Im Anhang befindet sich die Tabelle 4 mit den Medianen und IQB der verschiedenen ILDs. Die Werte der Kollektive überschneiden sich

zum großen Teil. Das Sarkoidose-Kollektiv fällt mit einem etwas höheren Median (14 ppb) im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe (13 ppb) auf, alle anderen ILDs liegen darunter. Des Weiteren wird nun genauer auf die Pathologie der ILD-Untergruppen eingegangen und es werden Vergleiche zwischen den hier festgestellten FeNO-Werten und denen in der Literatur beschrieben. Zu berücksichtigen ist dabei, dass es insgesamt wenig wissenschaftliche Untersuchungen zu einzelnen ILD-Gruppen gibt.

Wie schon angedeutet, spielen der Ort der Pathologie und die damit verbundene NO-Bildung eine wichtige Rolle, dies sollte bei den einzelnen ILDs beachtet werden. Beispielsweise verursachen bei der EAA kleinere Partikel von $< 3 \mu\text{m}$, die während der Inhalation weit in distale Lungenabschnitte gelangen, eine Immunantwort mit IgG-Bildung (Calvert et al. 1999). Dahingegen sind die Partikel bei allergischem Asthma größer und sorgen in proximalen Lungenabschnitten für eine IgE-Immunantwort und eine zentraler gelegene Inflammation (Calvert et al. 1999).

Cameli et al. konnten zeigen, dass das Ca_{NO} von NSIP-Patienten (MW: 12,6 ppb) gegenüber der gesunden Kontrollgruppe (MW: 4,7 ppb) erhöht ist, während keine Unterscheidung zwischen den Gruppen für \dot{V}_{awNO} festzustellen war (Cameli et al. 2014). In der einfachen FeNO-Messung zu 50 ml/s zeigten die NSIP-Patienten ebenfalls erhöhte Werte (21 ppb versus 15,8 ppb in der Kontrollgruppe) (Cameli et al. 2014). Sehr ähnliche NO-Ergebnisse zeigte die mit untersuchte IPF-Gruppe, sodass eine signifikante Unterscheidung anhand der NO-Messwerte nicht möglich war. Dabei wurden zu unterschiedlichen Flussraten (50, 100 und 150 ml/s) gemessen und erhöhte NO-Werte auf die verminderte Diffusionskapazität durch die Fibrosierungsprozesse und auf die erhöhte iNOS-Expression zurückgeführt (Cameli et al. 2014). In dem ILD-FeNO-Kollektiv der vorliegenden Arbeit gab es keine NSIP-Patienten, sodass kein Vergleich zur Literatur vorgenommen werden kann.

In der Studie von Schildge wurden FeNO-Mittelwerte von $19,5 \pm 6,09$ ppb für das COP-Kollektiv festgestellt (Schildge 2011), diese sind damit wesentlich höher als der Median von 11 ppb in der hier vorliegenden Arbeit. Problematisch ist zudem die unterschiedliche Wahl der Ergebnisdarstellung, zum einen werden Mittelwerte angegeben, während andere Arbeitsgruppen die Darstellung von Medianen mit Interquartilsbereichen vorziehen. Die Vergleichbarkeit der Ergebnisse bleibt dadurch eingeschränkt.

Für die Entwicklung einer COP nach einer Knochenmarkstransplantation wurden ebenfalls erhöhte NO-Werte festgestellt und als ein Marker für die chronische Graft versus Host Disease (GvHD) vorgeschlagen (Kanamori et al. 2002). In einer anderen Studie wurden

Anzeichen für erhöhtes exhalierendes NO und vermehrte iNOS-Expression für eine Entwicklung einer COP nach einer Lungentransplantation gefunden (Gabbay et al. 2000). Bei DIP-Patienten wurde genauso wie bei IPF-Patienten eine erhöhte Expression von iNOS in inflammatorisch aktiven, jedoch nicht in fibrotisch aktiven Läsionen gefunden (Choi et al. 2009). In der Studie von Schildge zeigte die RB-ILD FeNO-Mittelwerte von $14,9 \pm 6,08$ ppb und einen Ca_{NO} von 2,52 ppb (Schildge 2011), auch in diesem Kollektiv sind seine Werte wesentlich höher als die Werte der vorliegenden Arbeit (6 ppb).

In der Gruppe der CTD-ILD konnten für die systemische Sklerose schon in einigen Studien erhöhte FeNO-Werte aufgezeigt werden (Tiev et al. 2009), (Paredi et al. 1999). Bei diesen Patienten bestand eine positive Korrelation zwischen erhöhtem FeNO zu einer Flussrate und vermehrter inflammatorischer Zellzahl in der BAL (Paredi et al. 1999). Paredi et al. haben bei diesen Patienten erhöhte FeNO-Werte (MW \pm SD: 9,8 ppb \pm 1 ppb) im Vergleich zu gesunden Nichtrauchern (6,9 ppb \pm 0,5 ppb) nachgewiesen (Paredi et al. 1999) (Flussrate: 5-6 l/min = 83-100 ml/s). Dieser FeNO-Wert liegt somit auch sehr nahe an den hier festgestellten CTD-ILD Werten (Median: 8 ppb). Tiev et al. haben gezeigt, dass erhöhte Ca_{NO} -Mediane (6,2 ppb versus 2 ppb) für die Detektion der Inflammation und der Schwere der Erkrankung von systemischen Sklerodermie-Patienten geeignet sind (Tiev et al. 2007). In der aktuelleren Studie aus dem Jahr 2012 konnten Tiev et al. allerdings keine signifikanten Unterschiede im FeNO-Medianen bei 50 ml/s Flussgeschwindigkeit zwischen systemischen Sklerose-Patienten (14,7 ppb, IQB: 9,3-19,6 ppb) und gesunder Kontrollgruppe feststellen (11,2 ppb, IQB: 10-12,5 ppb) (Tiev et al. 2013). Auch in der vorliegenden Arbeit war kein signifikanter Unterschied zwischen ILD und Gesunden zu erkennen. In der Studie von Tiev et al. wurden erst bei genauerer Betrachtung erhöhte Ca_{NO} -Werte (Mediane: 7,3 ppb versus 3,2 ppb) festgestellt, während sich die J'_{awNO} -Werte nicht signifikant in den Gruppen unterschieden (Tiev et al. 2013). Diese Ergebnisse stimmen mit denen von Schildge überein. Dieser weist zudem darauf hin, dass die Ca_{NO} höher sind als in den Vergleichsgruppen (Schildge 2011). Tiev et al. konnten weiterhin zeigen, dass erhöhtes Ca_{NO} (> 8,5 ppb) bei systemischen Sklerose-Patienten eine Ansprache auf eine Cyclophosphamid-Therapie wahrscheinlich macht und ein Hinweis auf den aktiven Inflamationsprozess sein kann (Tiev et al. 2014).

Guilleminault et al. wiesen höhere FeNO-Werte bei CTD-ILDs nach (Median: 25 ppb, IQB: 17-37 ppb) (Guilleminault et al. 2013). Dies ist möglicherweise wieder auf einen Geräteunterschied (Belgien Hypair FeNO, Medisoft) zurückzuführen, denn diese Studie wies generell höhere Werte auf (Mediane: IPF: 22 ppb, chronische EAA: 51 ppb,

medikamenteninduzierte Fibrosen: 19 ppb, CTD-ILD: 25 ppb, keine gesunde Kontrollgruppe).

In einer anderen Studie waren bei Asbestosepatienten die FeNO-Werte geringfügig höher (MW mit SD: 9,67 ppb \pm 3,26 ppb) als in der gesunden Kontrollgruppe (7,57 ppb \pm 1,86 ppb) (Flussrate von 250 ml/s, um das alveoläre Kompartiment näher zu untersuchen) (Chow et al. 2009).

Recht hohe Werte zeigten sich auch bei medikamenteninduzierten Fibrosen mit einem Median von 19 ppb (diese Studie wurde bei 50 ml/s gemessen) (Guilleminault et al. 2013).

Bei Sarkoidose-Patienten wurde in anderen Studien kein signifikanter Unterschied zu gesunden Nichtrauchern in der FeNO-Messung gefunden (Choi et al. 2009), (Wilsher et al. 2005), (O'Donnell et al. 1997). Wilsher et al. haben einen FeNO-Median von 6,8 ppb in Sarkoidose-Patienten versus 6,3 ppb bei der gesunden Kontrollgruppe festgestellt (Wilsher et al. 2005). In der vorliegenden Arbeit wurden wesentlich höhere Werte für Sarkoidose-Patienten gemessen (Median: 14 ppb). Dies könnte an den unterschiedlichen Flussraten liegen (50 ml/s versus 15 l/min = 250 ml/s). Schildge konnte in der FeNO-Messung bei 50 ml/s einen Mittelwert von 19,8 ppb mit einer Standardabweichung von 11,5 ppb und für die Ca_{NO} einen Mittelwert von 2,79 ppb feststellen (Schildge 2011).

Wilsher et al. konnten für die Sarkoidose auch keine Korrelation des FeNO-Werts zum HRCT-Befund oder zu lungenfunktionellen Parametern feststellen (Wilsher et al. 2005). Choi et al. haben jedoch eine negative Korrelation von Ca_{NO} zur FVC % und zur DLCO % festgestellt (Choi et al. 2009).

Die granulomatöse Erkrankung wird unter anderem durch die Interaktionen der Alveolarmakrophagen, CD4+-T-Helferzellen und Zytokinen aufrechterhalten (Nunes et al. 2005). Die Aktivität von inflammatorischen Zellen, wie Alveolarmakrophagen, könnte möglicherweise die iNOS induzieren und so zu höheren FeNO-Mengen führen (Choi et al. 2009). Choi et al. konnten immunhistochemisch eNOS- und iNOS-Expressionen in den Epitheloidzellen der Granulome nachweisen (Choi et al. 2009). Eine Erhöhung der iNOS gelang hierbei in entzündlich aktiven, nicht aber fibrotisch umgewandelten Lungenarealen von Sarkoidosepatienten (Lakari et al. 2002).

Zusammenfassend konnte in keiner der aufgeführten Studien ein wesentlicher Anstieg der FeNO-Konzentration bei Sarkoidose-Patienten festgestellt werden.

Guilleminault et al. haben erhöhte FeNO-Werte bei Patienten mit chronifizierter EAA (Median: 51 ppb, IQB: 36-74 ppb) nachweisen können und die FeNO-Messung als mögliche Screening-Methode postuliert (Flussgeschwindigkeit: 50 ml/s) (Guilleminault et al. 2013). Es konnten keine Korrelationen zwischen FeNO und lungenfunktionellen Parametern festgestellt werden (Guilleminault et al. 2013), jedoch zeigten sich signifikant höhere FeNO-Werte bei Patienten, die auch im HRCT vermehrte Fibroseanzeichen aufwiesen (Guilleminault et al. 2013). In einem japanischen Fallbericht konnten bei einem EAA-Patienten erhöhte FeNO- und Ca_{NO}-Werte bestimmt werden. Dieser Effekt ließ sich auch nach der erneuten Antigen-Exposition nachvollziehen, sodass das alveolär generierte Ca_{NO} als ein Akute-Phase-Reaktionspartner bei EAA-Patienten vorgeschlagen wurde (Shirai et al. 2010). Diese hohen Werte konnten in der vorliegenden Arbeit bei EAA-Patienten nicht beobachtet werden. Zu berücksichtigen ist hierbei, dass 3 von 5 Patienten unter einer systemischen Steroidtherapie standen (siehe Tabelle 1 b). In einer anderen Arbeit wurden FeNO-Werte (50 ml/s) von 24,7 ppb ± 8,7 ppb (MW ± SD) gemessen (Schildge 2011), die damit immer noch wesentlich höher lagen als die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit für die EAA. Schildge stellte einen Ca_{NO}-Mittelwert von 4,23 ppb fest (Schildge 2011). In der Studie von Lehtimäki et al. wurden IPF- und EAA-Patienten zu einer Alveolitis-Gruppe zusammengefasst, ihr Ca_{NO}-Mittelwert lag bei 4,1 ppb und war im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe (MW: 1,1 ppb) höher (Lehtimäki et al. 2001). Lakari et al. haben immunhistochemisch in verschiedenen Lungenfibrosebiopsien die iNOS und eNOS nachgewiesen (Lakari et al. 2002). Dabei wurde für die beiden granulomatösen Entitäten (EAA und Sarkoidose) jeweils positive iNOS-Expressionen in den Riesenzellen der Granulome und die eNOS in den Epitheloidzellen festgestellt (Lakari et al. 2002).

Wie in der vorherigen Studie wurde auch hier versucht, einen Zusammenhang zwischen Lungenfunktionsparametern und FeNO-Werten der ILD-Patienten herzustellen. Das ILD-Kollektiv zeigt eine inverse, signifikante Korrelation vom FeNO zu ITGV % und eine inverse, höchst signifikante Korrelation zwischen FeNO und RV/TLC % (Abbildung 10). Dementsprechend könnte man niedrige FeNO-Werte bei ILD mit einem erhöhten intrathorakalen Volumen und einer vermehrten relativen Überblähung interpretieren. In dieser Betrachtung gab es eine wesentlich höhere Gesamtanzahl und keine Extremwerte, sodass diese Korrelation im Vergleich zur IPF als konsistenter bewertet werden kann. Im ILD-Kollektiv kommt die Vermutung auf, dass FeNO möglicherweise eine protektive Funktion haben könnte. Ein möglicher Erklärungsansatz für reduziertes FeNO bei

überblähten ILDs stellt der Verbrauch von NO bei der Bildung von Peroxynitrit dar. Dieser Vorgang wurde bei COPD-Patienten beobachtet (Gelb et al. 2012). Oxidativer Stress generiert Superoxidanionen und in der Kombination mit NO führt dies zu dem hoch reaktiven Peroxynitrit, welches bei COPD-Patienten erhöht im EBC nachweisbar ist (Osoata et al. 2009). Diese Bildung von Peroxynitrit führt zur kompensatorischen Abnahme des NOs in der Gasphase, sodass seine Konzentration in den Atemwegen bei oxidativem Stress, der typisch bei COPD-Patienten ist, abnimmt (Gelb et al. 2012).

Zusammenfassend kann anhand des FeNO-Werts kein Unterschied innerhalb des ILD-Kollektivs aufgezeigt werden. Die Rolle der verschiedenen NO-Ursprungsorte ist dabei noch nicht abschließend geklärt und fordert unter anderem die Weiterentwicklung der NO-Messung zu verschiedenen Flussraten sowie die Etablierung von Interpretationsrichtlinien.

5.1.2.3 NO-Werte bei COPD-Patienten

Die COPD ist eine chronische inflammatorische Erkrankung der kleinen und großen Atemwege mit irreversibler Destruktion, die hauptsächlich über Zytokine und Interleukine der Neutrophilen vermittelt wird (Barnes et al. 2006).

In der Literatur werden für die COPD normal bis leicht erhöhte NO-Werte (Messung zu einer Flussrate) beschrieben (Maziak et al. 1998), (Barnes et al. 2010). Bei der Messung zu mehreren Flussraten zeigt sich, dass J'_{awNO} erniedrigt bis normal sein kann (Brindicci et al. 2005) und das Ca_{NO} normal (Lehtimäki et al. 2010) bis erhöht (Brindicci et al. 2005) sein kann. Es wird außerdem eine negative signifikante Korrelation von Ca_{NO} zur FEV1 % und FEV1/FVC % bei COPD-Patienten beschrieben, die eine Inflammation und periphere Restriktion der vornehmlich kleinen Atemwege widerspiegeln könnte (Brindicci et al. 2005). Bezüglich der Steroidansprache von COPD-Patienten liegen widersprüchliche Ergebnisse vor. In der vorliegenden Arbeit konnte keine Abhängigkeit von der Steroid-Einnahme erkannt werden, jedoch zeigen steroidnegative COPD-Patienten leicht höhere FeNO-Werte als mit Steroid behandelte (Median: 18 ppb versus 12 ppb) (Abbildung 15). Eine Beeinflussung des Ca_{NO} durch inhalative Steroide (ICS) oder Nikotin scheint nicht zu bestehen (Brindicci et al. 2005). In COPD-Patienten konnte zumindest kein Unterschied zwischen der iNOS-Expression während einer Steroideinnahme beobachtet werden, sodass man von einer steroidresistenten iNOS-Inflammation bei COPD-Patienten ausgeht (Brindicci et al. 2010). Andererseits haben Lehtimäki et al. eine Abnahme des J'_{awNO} bei ICS-Gabe beobachtet, sodass diese J'_{awNO} -Abnahme eine Steroidansprache anzeigen könnte (Lehtimäki et al.

2010). Brindicci et al. gehen von einer erhöhten nNOS-Expression und -Aktivität bei Patienten mit fortgeschrittener COPD aus (Brindicci et al. 2010). Sie nehmen eine relativ periphere Inflammation und damit den Ursprung des NOs in den sehr kleinen Atemwegen und im Parenchym an, die mit der Ca_{NO} detektiert werden könnte (Brindicci et al. 2005), (Brindicci et al. 2010).

Je höher die J'_{awNO} bei ehemals rauchenden COPD-Patienten war, desto größer war die Verbesserung nach Bronchodilatatorgabe in der FEV1/FVC (Lehtimäki et al. 2010).

Bei COPD- und Asthma-Erkrankten, die eher eine eosinophile statt einer neutrophilen Inflammationsreaktion zeigen, scheint die Ansprache auf ICS wahrscheinlicher zu sein (Meijer et al. 2002), (Leigh et al. 2006). Dies spiegelt sich in der ATS-Leitlinie 2011 zum klinischen Gebrauch von FeNO wider, es wird die FeNO-Messung empfohlen, um COPD-Patienten, die auf eine Steroid-Therapie ansprechen, ausfindig zu machen (Dweik et al. 2011), (Lehtimäki et al. 2010).

Im Folgenden werden die Pathogenese der COPD auf Zellebene genauer betrachtet und der Zusammenhang zu NO als möglicher Biomarker hergestellt. Brindicci et al. konnten zeigen, dass die iNOS-mRNA im frühen Erkrankungsstadium (Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease: GOLD 1-2) erhöht und im weiteren Verlauf (GOLD 3-4) erniedrigt ist (Brindicci et al. 2010). Die iNOS-Proteinexpression zeigte sich hingegen über alle GOLD-Stadien erhöht (Brindicci et al. 2010). In einer anderen Studie von Seimetz et al. wurde ebenfalls die Rolle der iNOS in der Pathogenese der COPD, insbesondere deren Komplikationen bei fortgeschrittenem Krankheitsverlauf untersucht (Seimetz et al. 2011). Diese Arbeitsgruppe konnte eine Abnahme des rauchinduzierten Emphysems und der pulmonalen Hypertonie durch einen iNOS-Inhibitor im Mausmodell erzielen (Seimetz et al. 2011).

Die eNOS-mRNA und -Proteinexpression ist lediglich bei der schweren COPD erniedrigt (Brindicci et al. 2010). Hier geht man von der fortschreitenden Destruktion der Alveolarzellen durch das sich bildende Emphysem aus (Brindicci et al. 2010). Die nNOS in der menschlichen Lunge wird hauptsächlich in den Kapillargefäßen der Alveolarsepten exprimiert und spielt möglicherweise eine Rolle in der Regulation der Kapillarpermeabilität als Modulator von cholinergen Nerven und als Thrombozytenhemmer (Lührs et al. 2002). Die nNOS war besonders bei den schwer fortschreitenden COPD-Patienten erhöht und korrelierte mit der Erkrankungsschwere (Brindicci et al. 2010). Diese nNOS-Überexpression konnte in Alveolarzellen durch RNS und ROS sowie inflammatorische Zytokine induziert werden (Brindicci et al. 2010). Der erhöhte nitrogene und oxidative Stress in den peripheren

Atemwegen bei COPD-Patienten führt möglicherweise zu der erhöhten nNOS-Expression in den Alveolarzellen und damit zu erhöhtem Ca_{NO} (Brindicci et al. 2010). Aus dieser Studie lässt sich möglicherweise schließen, dass am Anfang der COPD die Ca_{NO} -Erhöhung durch die iNOS und bei schwereren COPD-Erkrankungen durch die nNOS zu erklären sind. Es wurde auch gezeigt, dass die nNOS durch die RNS und damit durch die Nitration eher in ihrer Aktivität stabilisiert wird, während dies bei der eNOS nicht der Fall ist (Brindicci et al. 2010).

In der vorliegenden Arbeit zeigt die COPD-Gruppe einen FeNO-Median von 14,75 ppb (IQB: 7,12-23,50 ppb) und ist damit insgesamt geringgradig höher als in der gesunden Vergleichsgruppe (Abbildung 8). Ein Grund für relativ niedrige FeNO-Werte ist möglicherweise auf das Rauchverhalten zurückzuführen. In dem untersuchten COPD-Kollektiv waren 17 % aktive Raucher (4 aktive Raucher von 24 COPD-Patienten). In mehreren Studien konnte eine Erniedrigung des FeNO-Werts durch Zigarettenkonsum gezeigt werden (Maziak et al. 1998), (Olin et al. 2006). Auch in dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass aktive Raucher erniedrigte FeNO-Werte im Vergleich zu Nichtrauchern und ehemaligen Rauchern haben. Ein signifikanter Unterschied bezüglich FeNO fand sich zwischen aktiven und ehemaligen Rauchern (Abbildung 12). Schließt man die vier aktiven Raucher aus dem COPD-Kollektiv aus, dann erhöht sich der FeNO-Median (14,75 ppb versus 16,25 ppb). Zum einen könnte bei Rauchern die endogene NO-Produktion durch die hohe NO-Konzentration im Zigarettenrauch gehemmt werden (Rengasamy und Johns 1993), zum anderen könnte der vermehrte Anfall von NO zu einer vermehrten Peroxynitrit-Bildung und somit zum Verbrauch von NO führen (Osoata et al. 2009), (Gelb et al. 2012). Möglicherweise hat eben dieses erniedrigte NO seine Bedeutung bei der Pathogenese und der Exazerbation der COPD. So ist NO wichtig für die mukoziliäre Clearance (Jain et al. 1993) und die Phagozytose-Aktivität (Moncada und Higgs 1993). Zum Beispiel kommt es zu einer erhöhten Infektanfälligkeit bei erniedrigtem NO, diese Symptome sind typisch für COPD-Patienten und Raucher (Maziak et al. 1998).

In mehreren Studien wurde bereits gezeigt, dass mit dem erhöhten FeNO-Wert eine Erfassung von Exazerbationen von COPD-Patienten möglich sei (Maziak et al. 1998), (Laurentis et al. 2008). Bei Patienten mit starker Krankheitsaktivität übersteigt möglicherweise der Anstieg des NOs den pathologisch erniedrigten NO-Wert (Maziak et al. 1998), sodass eine Infektexazerbation mit hohen FeNO-Werten detektiert werden könnte. In der statistischen Auswertung von FeNO-Werten in Bezug zum Exazerbationsstatus konnte allerdings weder in der COPD-Gruppe (Abbildung 15) noch in der Gruppe aller

Patienten (Abbildung 14) ein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Lediglich für einen Patienten (ehemaliger Raucher) konnte im longitudinalen Verlauf bei Vorliegen einer Exazerbation ein Anstieg der FeNO-Werte von initial 16 ppb auf 151 ppb festgestellt werden (Abbildung 13). Berücksichtigt werden sollte, dass es schwierig ist, generell verlässliche und objektivierbare Kriterien für eine Exazerbation festzulegen. Inwieweit der Exazerbationsstatus im Brief und der mikrobiologische Befund im Sputum eine echte Exazerbation widerspiegelt, bleibt ungewiss. Auch sollte bedacht werden, dass bereits die Einnahme von Antibiotika und anti-obstruktiven Medikamenten (widersprüchliche Daten zur Steroideinnahme, siehe oben) einen Einfluss auf die Inflammationsreaktion ausüben kann und an sich den FeNO-Wert verändern kann. Am schlüssigsten scheint die pflegerische Dokumentation der Sputumverfärbung zu sein, die einen leicht erhöhten Median in der Gruppe der verfärbten Sputen zeigt.

Insgesamt bedarf es weiterer Forschung, um die NO-Messung für das Screening von COPD-Patienten auf eine Infekt-Exazerbation zu benutzen.

5.1.2.4 NO in Bronchialkarzinom-Patienten

Die BC-Patienten zeigten in der vorliegenden Arbeit einen Median von 11,5 ppb (IQB 8,25 ppb -14 ppb), dieser ist damit geringfügig niedriger als der in der gesunden Kontrollgruppe. In der Literatur gibt es verschiedene Ergebnisse zu NO als prognostischer Marker beziehungsweise als Therapieansatz.

In der Studie von Liu et al. wurden höhere FeNO-Werte (MW von 16,9 ppb \pm 0,9 ppb) bei Patienten mit einem primären Lungentumor gegenüber den hier gewonnenen Daten festgestellt. Die Daten von Liu et al. erwiesen sich auch gegenüber der Kontrollgruppe signifikant erhöht (MW 6,0 ppb \pm 0,5 ppb) (Liu et al. 1998). Diese Arbeitsgruppe konnte eine erhöhte Expression von iNOS in Alveolarmakrophagen verschiedener Tumorzelltypen feststellen (Liu et al. 1998). Dabei scheint der Einfluss der NO-Konzentration und der Zellart, die es herstellt, abhängig zu sein (Masri 2010). Außerdem wird berichtet, dass NO eine duale Wirkung auf die Tumorgenese haben kann: Bei hohen Konzentrationen eher eine anti-karzinogene und bei niedrigen Konzentrationen eher eine pro-karzinogene (Wink et al. 1998), (Jenkins et al. 1995).

NO hat möglicherweise Metastase fördernde Eigenschaften über seine Wirkung auf die Angiogenese (Masri 2010), (Pignatelli et al. 2001). Weiter beeinflusst es die Kanzerogenese über Tumorsuppressor-Gene (p53), die Nitration von Plasmaproteinen und das antioxidative Potenzial der Lunge (Masri 2010), (Pignatelli et al. 2001). NO kann möglicherweise

die Zell-Zell-Interaktionen von Tumorzellen erhöhen und somit eine Anoikis-Resistenz darstellen (Powan und Chanvorachote 2014). Anoikis ist die getriggerte Apoptose durch den Verlust von Zell-EZM-Kontakten (Powan und Chanvorachote 2014). Weiter könnte NO eine wichtige Rolle in der mesenchymal-epithelialen Transition (MET) von Tumorzellen spielen (Powan und Chanvorachote 2014).

Andererseits gibt es Ansätze für iNOS-Gentherapien, bei denen man von einer erhöhten Ansprechrate von Cisplatin-Chemotherapie ausgeht, wenn das iNOS-Gen *in vitro* und *in vivo* (Mausmodell) überexprimiert wird (Ye et al. 2013).

Es gibt Hinweise, dass NO zur Tumorkontrolle während der Radiotherapie beiträgt und möglicherweise auch in der Chemotherapie über einen erhöhten DNA-Schaden beteiligt ist (Sagar et al. 1995). In einer Studie wurde der Effekt von drei Chemotherapien unabhängig vom histologischen Tumorzelltyp anhand des NO-Werts vorher (MW: 9,8 ppb \pm SD: 2,1 ppb) und danach (7,7 ppb \pm 1,6 ppb) beobachtet (Kallianos et al. 2013). Es zeigte sich eine Abnahme des NO-Werts nach drei durchgeführten Chemotherapien (Kallianos et al. 2013). In der vorliegenden Arbeit konnte der Einfluss der Chemotherapie auf die NO-Werte nicht untersucht werden, da sich die Patienten in unterschiedlichen Zyklen der Chemotherapie befanden.

NO spielt außerdem eine Rolle in der strahleninduzierten Pneumonitis (Sagar et al. 1995): So konnten erhöhte FeNO-Werte bei Patienten festgestellt werden, die nach einer Bestrahlungstherapie eine Strahlen-Pneumonitis entwickelten (Inoue et al. 1997), (Inoue et al. 2001).

5.2 ELISA-Ergebnisse der Eicosanoide

5.2.1 Methodische Schwierigkeiten von 8-Isoprostan und Prostaglandin E2

Insgesamt waren die ELISA-Messungen im EBC und in der BALF durchführbar, jedoch waren die Konzentrationen der Biomarker im nativen EBC sehr gering. Insbesondere für das PGE2 lagen viele Werte unterhalb des kleinsten Standards (Detektionslimit: PGE2 15 pg/ml, 8-Isoprostan 2,7 pg/ml). Auch das Konzentrieren der EBC-Proben zeigte in einem weiteren Durchgang nicht den gewünschten Effekt (es wurden sogar geringere Probenkonzentrationen gemessen), was möglicherweise auf die chemische Instabilität des PGE2 und des 8-Isoprostans hinweist. Erst in den weiteren ELISA-Durchläufen, bei denen der Sammel-Analyse-Abstand geringer war, und bei der Untersuchung von BALFs zeigten sich konsistente Ergebnisse.

Bei der Arbeit mit Atemkondensaten gibt es einige Störfaktoren, die auch in dieser Arbeit nicht auszuschließen waren. Zum anderen gibt es immer noch ungeklärte Fragen bezüglich des anatomischen Ursprungs des EBCs.

Die Fraktion der aerosolisierten Partikel, die vom ALF abgelöst werden, den sogenannten *droplets*, scheint interindividuell verschieden zu sein und einer intraindividuellen Tages- und Proben-Variabilität zu unterliegen (Davis et al. 2012), (Balbi et al. 2007), (Jackson et al. 2007). Wie hoch die Konzentration von Biomarkern in den *droplets* ist, hängt von den molekularen Eigenschaften, wie zum Beispiel der Wasserlöslichkeit, der Flüchtigkeit und der elektrischen Ladung, sowie von den Transportmechanismen und pathophysiologischen Veränderungen ab, wobei diese Einflussfaktoren bis ins Detail noch nicht geklärt sind (Jackson et al. 2007). Demzufolge sind die relativen Anteile von Biomarkern aus verschiedenen anatomischen Trakten des Respirationstrakts noch nicht geklärt (Jackson et al. 2007), (Kubáň und Foret 2013), (Horváth et al. 2005).

Allein aus diesem Grund scheint für die Vergleichbarkeit von EBC-Markern zwischen Individuen ein Verdünnungsfaktor beziehungsweise ein innerer Standard sinnvoll zu sein (Balbi et al. 2007). Dieser Verdünnungsfaktor müsste im Serum eine bekannte Konzentration haben und in den ALF diffundieren sowie im EBC nachweisbar sein, ohne dass er in der Lunge synthetisiert wird (Horváth et al. 2005). Bis jetzt konnte jedenfalls noch nicht gezeigt werden, dass sich Daten, die mit einem Verdünnungsfaktor (zum Beispiel auf der Basis von Harnstoff) korrigiert wurden, besser reproduzieren lassen (Horváth et al. 2005), sodass der Verdünnungsfaktor häufig vernachlässigt wird (Kubáň und Foret 2013) beziehungsweise eine longitudinale Interpretation mit der relativen Änderung von EBC-

Markern vorgeschlagen wird (Quirce et al. 2010), (Balbi et al. 2007), (Davis et al. 2012). Eine andere Möglichkeit ist es, den Biomarkergehalt auf das exhalierete Atemvolumen zu beziehen (Reinhold et al. 2006). In der vorliegenden Arbeit wurde das Atemkondensat nach dem Atemvolumen gesammelt (150 Liter). Ein weiteres Problem ist, dass sich das Atemmuster nicht standardisieren lässt. Das Atemmuster beeinflusst die Entstehung der aerosolisierten Partikel, beispielsweise kann durch vertieftes Atmen (Schwarz et al. 2010) und Atemanhalten in Expiration (Holmgren et al. 2013) eine Erhöhung der *droplets* erreicht werden.

Einen gewissen Einfluss hat auch die Auswahl des EBC-Sammelgeräts (Leung et al. 2006), (Kubáň und Foret 2013), das neben verschiedenen Analysemethoden zu einer schlechten Wiederholbarkeit und Vergleichbarkeit führen kann (Rosias et al. 2008), (van Hoydonck et al. 2004). Außerdem scheinen das Oberflächenmaterial des Testtubes sowie die Sammeltemperatur einen wichtigen Einfluss auf die Effizienz der EBC-Sammlung auszuüben (Kubáň und Foret 2013), (Horváth et al. 2005).

Durch die Lagerung werden die Mediatoren möglicherweise in ihrer Konzentration beeinflusst (Horváth et al. 2005), (Kubáň und Foret 2013). So ist zum Beispiel die Stabilität von gefrorenem PGE₂ nicht bekannt, möglicherweise kann *in vitro* PGE₂ aus PGH und PGD entstehen (Kostikas et al. 2003b), (Barnes et al. 2009), (Finley et al. 1995). Während der Lagerung von lipidhaltigen Proben kann es zur Autooxidation mit Erhöhung des 8-Isoprostans kommen (Morrow et al. 1990), (Roberts und Fessel 2004). Außerdem wird beschrieben, dass sich variierende pH-Werte im EBC auf die Biomarker-Konzentrationen auswirken können (Davis et al. 2012). Auch die weitere Aufarbeitung (Lyophilisierung) kann zu Konzentrationsschwankungen führen (Horváth et al. 2005). Der Standard des kommerziellen ELISA sollte so ähnlich wie möglich zur EBC-Matrix gewählt werden (EIA-Standard benutzt) (Davis et al. 2012), (Horváth et al. 2005).

Zur Wiederholbarkeit von Biomarkern in EBCs herrschen verschiedene Meinungen (Rosias et al. 2008), (van Hoydonck et al. 2004). Die unterschiedlich hohen Eicosanoid-Spiegel in verschiedenen Studien sind unter anderem auf die unterschiedlichen Analysemethoden (Gaschromatografie, Massenspektrometrie, Radioimmunassay und Enzym Assay) zurückzuführen (Montuschi et al. 1999), (Liang et al. 2012). Die meisten Studien verwenden kommerzielle EIA (Baraldi et al. 2003a), allerdings ist es vonnöten, sensitivere Messmethoden (zum Beispiel Gaschromatografie und RIA) (Kubáň und Foret 2013), (Horváth et al. 2005) und Standards für den Umgang mit EBCs zu etablieren.

5.2.2 Spiegeln die Ergebnisse der Eicosanoid-Bestimmung im EBC die des BALFs beziehungsweise des ALFs wider?

Vergleicht man die EBC-Ergebnisse mit denen der BALF von denselben Patienten miteinander, so stellt sich eine nahezu gleichbleibende Tendenz dar (Abbildung 26, Anhang: Tabelle 5, Abbildung 41 und 42). Erwartungsgemäß wurde eine wesentlich geringere Konzentration in dem EBC im Vergleich zur BALF nachgewiesen.

Jackson et al. stellten in der ersten *in vivo* Vergleichsstudie von BALF und EBC fest, dass kommerzielle ELISA zur EBC-Messung einfach anwendbar sind und möglicherweise den klinischen Verlauf anzeigen können (Jackson et al. 2007). Sie zeigten höhere 8-Isoprostan-Werte im EBC als im BALF (EBC 8-Isoprostan-Werte von $3,85 \text{ ng/ml} \pm 1,27 \text{ ng/ml}$ und in der BALF $0,03 \text{ ng/ml} \pm 0,01 \text{ ng/ml}$) (Jackson et al. 2007). Jackson et al. sammelten das EBC über zehn Minuten, während in den meisten Studien nach Atemminutenvolumen gesammelt wird (Jackson et al. 2007). Angaben zum BALF-Volumen wurden nicht gemacht, es wurde lediglich das installierte Volumen von 240 ml kristalloider Lösung angegeben (Jackson et al. 2007). Die BALF-Recovery hat jedoch Einfluss auf die Konzentration der Eicosanoide in der BALF, sodass dieser methodische Unterschied zu den differierenden Ergebnissen führen könnte.

Diese Ergebnisse sind grundsätzlich anders als die aus der vorliegenden Arbeit, bei der geringe Konzentrationen in den EBCs und höhere Konzentrationen in den BALFs nachgewiesen wurden. In Übereinstimmung mit unseren Ergebnissen werden auch in der Literatur nur sehr geringe Konzentrationen von Biomarkern im EBC angenommen (Kharitonov und Barnes 2001), da es sich bei dem Hauptteil des Kondensats um Wasserdampf handelt (Horváth et al. 2005).

Jackson et al. konnten keine Korrelation der gleichen Biomarker zwischen dem EBC und der BALF feststellen (Jackson et al. 2007). Sie schlussfolgerten daraus, dass das EBC nicht unbedingt die Information liefert, wie es die BALF tut (Jackson et al. 2007). In dieser Arbeit wurde hingegen eine signifikante Korrelation zwischen dem EBC und der BALF für 8-Isoprostan festgestellt (Abbildung 26). Dementsprechend scheint mithilfe des EBC eine Abbildung der Konzentration der BALF möglich zu sein. Zusammenfassend scheint mit der EBC-Messung eine kurzfristige und nicht-invasive Methode zur Verfügung zu stehen, um pathophysiologische Veränderungen innerhalb der alveolar-bedeckenden Flüssigkeitsschicht aufzuzeigen und mit weiterer Erforschung sich als zusätzliche Untersuchung neben der Bronchoskopie etablieren zu können.

Inwieweit mit dem EBC Unterschiede zwischen Kollektiven aufgedeckt werden können, ist eine interessante Frage und wird im Folgenden anhand der zwei Biomarker betrachtet. Einen Überblick liefert die Tabelle 5 im Anhang.

5.3 PGE2

In den durchgeführten ELISA zu PGE2 im EBC und BALF konnten keine signifikanten Gruppenunterschiede zwischen der IPF, ILD und Gesunden festgestellt werden. Außerdem gelang es nicht, einen Zusammenhang zwischen EBC und BALF innerhalb derselben Kollektive darzustellen. Selbst in dem Patientenkollektiv, das sich sowohl einer EBC- als auch einer BALF-Sammlung unterzogen hat, konnte keine zufriedenstellende Korrelation zwischen der Höhe der PGE2-Konzentration im EBC versus BALF gefunden werden. Dies dürfte wohl am ehestem der sehr geringen Konzentration von PGE2 selbst in konzentrierten EBCs geschuldet sein. Die hier erhobenen Messwerte bezüglich PGE2 im EBC dürfen daher nur mit größter Zurückhaltung interpretiert werden.

Unklar bleibt, ob die IPF eine reduzierte oder erhöhte PGE2-Konzentration im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe in der BALF aufweist (siehe Tabelle 5). Leider gab es zu den Kontrollen keine parallel durchgeführte BALF, sodass kein direkter Vergleich auf BALF-Ebene stattfinden kann. Aber auch in der BALF konnten keine eindeutigen beziehungsweise signifikant unterschiedlichen Werte für PGE2 zwischen den verschiedenen Kollektiven festgestellt werden (Anhang, Tabelle 5).

Außerdem sind die exogenen Beeinflussungsfaktoren auf die PGE2-Konzentration noch nicht hinreichend geklärt. Die Rolle von Medikamentengaben, wie zum Beispiel von COX-Inhibitoren, Antibiotika, und Nikotinkonsum sind anhand von COPD- und Asthma-Patienten bereits beschrieben. So kann es bei exazerbierten COPD-Patienten durch nicht selektive COX-Inhibitoren zu einer PGE2-Erniedrigung kommen (Montuschi et al. 2005), während sich PGE2 unter Antibiotika-Gabe nicht signifikant verändert (Antczak et al. 2012). Es besteht der Verdacht, dass ein Nikotinkonsum zu einer Erhöhung von PGE2 bei Asthmapatienten führt (Kostikas et al. 2003b), (Baraldi et al. 2003b). Möglicherweise stimuliert Zigarettenrauch die PGE2-Synthese in Alveolar-Makrophagen (Kostikas et al. 2003b), (Hwang et al. 1999).

Ob diese Beeinflussungsfaktoren auch für Gesunde und diffus parenchymatöse Lungenerkrankungen anzunehmen sind bleibt Gegenstand der Forschung.

Es besteht die Vermutung, dass PGE2 bei IPF-Patienten herunterreguliert ist und die Ausbildung einer Lungenfibrose begünstigt (Wilborn et al. 1995), (Okunishi et al. 2011), (Günther et al. 2012). PGE2 entfaltet seine Wirkung über vier verschiedene EP-Rezeptoren: Die Wirkung über den EP2-Rezeptor ist anti-inflammatorisch und anti-fibrotisch, während die restlichen EP-Rezeptoren eher eine pro-inflammatorische und immunmodulierende Wirkung haben (Narumiya et al. 1999). Der PGE2-EP2-Signalweg läuft über die Erhöhung des zytosolischen cAMP und die Aktivierung der Proteinkinase A (PKA) ab und führt zur verringerten Expression von Matrixproteinen und zur Hemmung der Fibroblasten-Proliferation (Moore et al. 2005), (Huang et al. 2007).

Bei der IPF wird ein erniedrigter PGE2-Spiegel über eine gestörte COX2 (Maher et al. 2010), (Wilborn et al. 1995) beziehungsweise die mikrosomale-PGE-Synthetase-1 (mPGES-1) (Wei et al. 2014) angenommen. Im Verlauf der IPF-Erkrankung scheint es zu einer PGE2-Resistenz, die in Typ II Pneumozyten zu einer vermehrten Apoptose und in Fibroblasten zu einer Proliferation führt, zu kommen (Maher et al. 2010). Maher et al. konnten anhand von aus IPF-Patienten isolierten Fibroblasten und Typ II Pneumozyten zeigen, dass die verringerte Kapazität, PGE2 zu produzieren, zu einer erhöhten Sensitivität vom Typ II Pneumozyten gegenüber dem Fas-Liganden führt, die dann in Apoptose gehen, während dies in Fibroblasten zu einer Fas-Resistenz und einem verlängerten Überleben führt (Maher et al. 2010).

Im Bleomycin-Mausmodell wurde die mPGES-1, die PGH2 in PGE2 umwandelt, untersucht und ihr ein wichtiger protektiver Effekt auf die Entwicklung einer Lungenfibrose zugeschrieben (Wei et al. 2014). Die mPGES-2 wird konstitutiv und mPGES-1 hauptsächlich in der Inflammationsphase der rheumatoiden Arthritis exprimiert (Kojima et al. 2002), (Stichtenoth et al. 2001). Knock-out Mäuse ohne mPGES-1 entwickeln eine gravierendere Lungenfibrose als Wildtyp-Mäuse (Wei et al. 2014). Sie zeigten weiter, dass die Bleomycin-Behandlung der Mäuse zu einer Reduktion des EP2- und EP4-Rezeptors, aber nicht der EP1- und EP3-Rezeptoren in den Lungen führte (Wei et al. 2014). Diese Ergebnisse unterstreichen, dass die Inhibition der mPGES-1-PGE2-EP2/EP4-Signalkette eine wichtige Rolle im Bleomycin Modell der Lungenfibrose spielt (Wei et al. 2014).

In einer humanen Lungenfibroblastenzelllinie konnte gezeigt werden, dass ein Ausschalten der mPGES-1 zu einer Erhöhung von TGF- β 1 führt. Dieser Effekt konnte mit einer PGE2-Behandlung und einem selektiven EP2-Agonisten umgekehrt werden (Wei et al. 2014).

Trotz der vielen Hinweise in der Literatur konnte überwiegend aufgrund messtechnischer Probleme beziehungsweise des Konzentrationsbereiches im EBC kein signifikanter PGE2-

Spiegel-Unterschied zwischen der IPF, ILD und der gesunden Kontrollgruppe gefunden werden. Im Vergleich mit den anderen ILD-Untergruppen scheint die IPF nicht die geringsten PGE₂-Werte im EBC zu haben. Patienten mit einer EAA, Sarkoidose, COP, DIP und Pneumokoniose zeigten deutlich niedrigere PGE₂ Werte im EBC. Nur die nicht-klassifizierbaren IIPs und die CTD-ILD zeigten deutlich höhere PGE₂-Werte als die IPF und die gesunde Kontrollgruppe im EBC, sodass möglicherweise eine differenziertere Betrachtungsweise innerhalb des heterogenen ILD-Kollektivs in weiteren Studien nötig ist.

Um ein möglicherweise relevantes PEG₂-Signal auf der Basis der Krankheitsprogression, das der Entität nicht zugrunde liegt, nicht zu übersehen, wurden die PEG₂-Messwerte der BALF zudem mit dem Verlauf relevanter Parameter der Lungenfunktion und des Gasaustausches korreliert. Mit Ausnahme der KCO konnten auch bei dieser Analyse keine signifikanten Korrelationen zwischen PGE₂ und klinischem Verlauf erhoben werden. Eine Übertragung der oben genannten Erkenntnisse auf diesen Messansatz gelingt also in dieser Studie nicht.

Zukünftig sollten nicht nur die PGE₂-Konzentration in der BALF, sondern auch im EBC und die parallele Rezeptor-Konzentration untersucht werden. Zudem wäre es von Interesse, die PGE₂-Konzentration in den verschiedenen ILD-Subgruppen in größerer Fallzahl zu untersuchen.

5.4 8-Isoprostan

Freies und totales 8-Isoprostan sind Marker für die durch oxidativen Stress ausgelöste Lipid-Peroxidation. Erhöhte Konzentrationen des freien 8-Isoprostans wurden als Marker für oxidativen Stress bei Asthma (Baraldi et al. 2003a), (Baraldi et al. 2003b), (Montuschi et al. 1999), COPD (Makris et al. 2008), pulmonaler Sarkoidose (Psathakis et al. 2004), ILD (Montuschi et al. 1998) und IPF (Psathakis et al. 2006) gefunden.

Oxidativer Stress kann durch eine Vielzahl von Ursachen entstehen und ist bei der Pathogenese von mehreren Erkrankungen beteiligt. Möglicherweise kommen hier viele Einflussfaktoren zum Tragen, wie zum Beispiel der Raucherstatus und die Medikamenteneinnahme. So wirkt sich das Rauchverhalten von COPD-Patienten anscheinend stark auf den 8-Isoprostan-Wert aus (Montuschi et al. 2000), (Kostikas et al. 2003a). Dies weist auf den kontinuierlichen oxidativen Stress und die Inflammationsreaktion von Rauchern mit COPD hin (Turato et al. 1995). Es wird kontrovers diskutiert, ob Steroide

einen Einfluss auf die 8-Isoprostan-Werte im Atemkondensat nehmen (Baraldi et al. 2003a), (Montuschi et al. 1999). Einige Studien berichten, dass die Antibiotika-Einnahme den 8-Isoprostan-Wert in exazerbierten COPD-Patienten erniedrigt (Antczak et al. 2012), (Biernacki et al. 2003).

Es werden unterschiedlich hohe 8-Isoprostan-Werte für Gesunde angegeben. In einer Übersichtsarbeit von Balbi et al. wurden EBC-Werte von gesunden Kontrollgruppen zusammengetragen (Balbi et al. 2007), die für 8-Isoprostan Normwerte von 0-20 pg/ml im EBC erhoben (Montuschi et al. 2000), (Ko, F. W. S. et al. 2006), (Carpagnano et al. 2004), (Rosias et al. 2008). Damit liegen die in dieser Arbeit gemessenen 8-Isoprostan-Mediane der Gesunden für die EBCs in den oben genannten Grenzen.

Um eine bessere Vergleichbarkeit der 8-Isoprostan-Messwerte mit denen aus der Literatur zu erreichen, werden die hier erhobenen Messwerte zum Teil in Mittelwert mit Standardabweichung angegeben (nicht dargestellt).

Montuschi et al. beschreiben erhöhte 8-Isoprostan-Mittelwerte in der BALF von IPF-Patienten ($47,7 \pm 7$ pg/ml IPF versus $9,6 \pm 0,8$ pg/ml Gesund) (Montuschi et al. 1998). In der vorliegenden Arbeit ist der Mittelwert des freien 8-Isoprostans (31,07 pg/ml) in der BALF von IPF-Patienten mit den Mittelwerten von Montuschi et al. vergleichbar.

Im Atemkondensat zeigte eine andere Studie signifikant erhöhte Werte von freiem 8-Isoprostan bei IPF-Patienten im Vergleich zu den in dieser Arbeit gemessenen Werten (MW (95%CI): 74 pg/ml (38-110) versus Gesunde 33 pg/ml (28-39)) (EBC-Sammelgerät: RHES Jäger, Deutschland, gleicher EIA) (Psathakis et al. 2006). In dieser Studie war der Mittelwert des freien 8-Isoprostans für IPF-Patienten wesentlich geringer (9,18 pg/ml) und wahrscheinlich aus methodischen Unterschieden und aufgrund der geringen Gruppengröße nicht mit denen von Psathakis et al. vergleichbar. Dennoch zeigte sich auch in der hier durchgeführten Studie die Tendenz, dass das freie 8-Isoprostan im EBC bei IPF-Patienten höher war als bei Gesunden (7,85 pg/ml) und damit möglicherweise erhöhten oxidativen Stress widerspiegelt.

Auffällig ist, dass mit dem Progress der klinischen Kernparameter das freie und das totale 8-Isoprostan zumeist nur schwach invers korrelieren. Nur in der KCO korrelierte das totale 8-Isoprostan der IPF mit der Abnahme der Δ KCO % Soll ($r = - 0,52$) signifikant invers.

Auch in anderen Studien konnten keine Korrelationen zwischen 8-Isoprostan und Lungenfunktionsparametern in IPF-Patienten (Psathakis et al. 2006), Asthmakindern

(Baraldi et al. 2003b) und COPD-Patienten (Antczak et al. 2012) nachgewiesen werden. Für die Sarkoidose wurde ebenfalls keine Korrelation zu Lungenfunktionsparametern gefunden (Psathakis et al. 2004). Die fehlende Korrelation könnte über die unterschiedliche Suszeptibilität für oxidativen Stress und die damit verbundene interindividuell inflammatorische Antwort erklärt werden (Baraldi et al. 2003b). Eine andere Erklärung wäre, dass die punktuell gemessenen Biomarkerkonzentrationen aktuelle Veränderungen des ALFs darstellen, während die Lungenfunktion sich eher auf vorherige Lungenschädigungen bezieht (Psathakis et al. 2004), (Montuschi et al. 1998), (Montuschi et al. 1999).

Das totale 8-Isoprostan spiegelt möglicherweise die Gesamtheit aller oxidativen Prozesse wider, die sich innerhalb des ALFs abspielen.

In der Abbildung 19 erkennt man, dass in der BALF das totale 8-Isoprostan höher als das freie 8-Isoprostan nachweisbar ist. Das Verhältnis zueinander entspricht etwa 1:6, wobei in der genaueren Betrachtung (Anhang: Abbildung 30) die Sarkoidose den steilsten Anstieg und die IPF den flachsten Anstieg vom freien zum totalen 8-Isoprostan zeigen.

In der BALF und im EBC zeigen sich die gleichen Verhältnisse vom freien zum totalen 8-Isoprostan, also die höchsten Werte in der IPF, gefolgt von den ILDs und den Gesunden. Jedoch sind nur im freien 8-Isoprostan signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen sichtbar, die im totalen 8-Isoprostan nicht auffallen.

Es lässt sich die Tendenz erkennen, dass im EBC und in der BALF die IPF höhere Werte im freien und im totalen 8-Isoprostan aufweist als die ILDs und die Gesunden.

In der differenzierteren Betrachtung der ILD-Untergruppen für das freie und das totale 8-Isoprostan zeigte die Sarkoidose höhere Werte als die anderen ILDs und weist damit auf erhöhten oxidativen Stress hin. Bereits in verschiedenen Studien konnten erhöhte 8-Isoprostan-Mittelwerte für die Sarkoidose in der BALF ($12 \pm 0,7$ pg/ml versus $9,6 \pm 0,8$ pg/ml Gesunde) (Montuschi et al. 1998) und im EBC (aktive pulmonale Sarkoidose: MW mit IQB: 64,23 pg/ml (37-91,46) versus Gesunde 20,75 pg/ml (16,06-25,44) (Psathakis et al. 2004) festgestellt werden. Es konnte sogar die Erkrankungsaktivität von Sarkoidose-Patienten anhand des 8-Isoprostan-Werts im EBC unterschieden werden (Psathakis et al. 2004). In der vorliegenden Arbeit konnten diese Werte nicht im EBC erzielt werden, sie waren wesentlich geringer und wurden nicht in aktive und inaktive Sarkoidosen unterschieden (Mittelwert Gesunde: 7,85 pg/ml, Mittelwert Sarkoidose-Patienten: 2,51 pg/ml und methodische Unterschiede: EBC-Gerät: RHES, Jäger, Deutschland, und 80 L/min Flussrate, gleicher EIA).

Für die CTD-ILD wurden extrem hohe freie 8-Isoprostan-Werte im Vergleich zu den Gesunden in der BALF festgestellt. In der vorliegenden Arbeit zeigte der CTD-ILD-Patient sowohl in dem EBC als auch in der BALF recht hohe freie 8-Isoprostan-Werte. Auch gegenüber den IPF-Patienten waren sie höher und weisen damit möglicherweise auf hohen oxidativen Stress hin. Die hier gemessenen 8- Isoprostan-Werte in der BALF liegen damit höher als Vergleichswerte aus der Literatur (43,3 pg/ml (MW) versus den hier untersuchten 78,25 pg/ml (MW)) (Montuschi et al. 1998).

Die anderen untersuchten ILDs zeigten keine besonderen Veränderungen im Vergleich zu der IPF.

Insgesamt könnte das 8-Isoprostan tatsächlich den oxidativen Stress bei bestimmten Erkrankungen (IPF, Sarkoidose und CTD-ILD) widerspiegeln und im Zusammenhang mit der Schwere des oxidativen Stresses und der Lungenschädigung stehen (Montuschi et al. 1998). Es korrelierte in der vorliegenden Studie das freie mit dem totalen 8-Isoprostan, sodass auch nur einer der beiden bestimmt werden muss. Inwieweit 8-Isoprostan dennoch ein sicherer prognostischer Parameter ist, kann anhand der hier vorliegenden Daten nicht abschließend beurteilt werden.

6. Zusammenfassung

Die Idiopathische Lungenfibrose ist eine schwerwiegende Lungengerüsterkrankung, die unter allen ILDs die kürzeste Überlebenszeit aufweist. Die Pathogenese ist bis ins Detail noch nicht sicher geklärt, doch wird von einer gestörten Interaktion der Typ II Pneumozyten und Fibroblasten ausgegangen, die letztendlich zu einer großen Ablagerung von Kollagenfasern im Lungeninterstitium führt. Nicht-invasive Methoden und neue Biomarker werden dringend benötigt, um die Diagnosefindung zu erleichtern, somit teure, risikoreiche Eingriffe für Patienten zu reduzieren und um die Ansprache auf medikamentöse Therapien besser erfassen zu können. Vor diesem Hintergrund sind die klinische Erprobung und Bedeutung von exhalieren NO und volatilen Biomarkern im Atemkondensat von großem wissenschaftlichem Interesse.

In der vorliegenden Arbeit wurde daher untersucht, inwieweit Patienten mit IPF (n = 36), Patienten mit anderen Formen der ILD (n = 66), anderen Lungenerkrankungen (COPD n = 24, BC n = 16) sowie Gesunde (n = 54) diagnostisch verwertbare Unterschiede des exhalieren NOs (FeNO) sowie der Eicosanoide PGE₂ und 8-Isoprostan im exhalativem Atemwegskondensat (EBC) und in der bronchoalveolärer Lavage (BALF) aufweisen.

Mittels FeNO konnte in der vorliegenden Arbeit keine eindeutige Unterscheidung zwischen der IPF, ILD und Gesunden gemacht werden. Zwar zeigten einzelne untersuchte Personen stark erhöhte FeNO-Werte, bei denen in einem Fall auch eine Exazerbation detektiert wurde. Generell konnte der FeNO-Wert weder zur Differenzierung der zugrunde liegenden Erkrankung noch zur Detektion einer Exazerbation herangezogen werden. Die ebenfalls durchgeführten Korrelationsanalysen zwischen FeNO und lungenfunktionellen Parametern lieferten keine überzeugenden Ergebnisse.

Die untersuchten Arachidonsäure-Derivate waren nur schwer (PGE₂) beziehungsweise verlässlich (8-Isoprostan) im Atemkondensat, jedoch gut in der BALF nachweisbar. Gruppenspezifische Unterschiede zeigten sich nur beim freien 8-Isoprostan, das möglicherweise auf die Schwere des oxidativen Stresses hinweist.

Zusammenfassend ist bezüglich der FeNO-Messung auf der Basis der hier ermittelten Daten kein diagnostischer Nutzen bei ILDs beziehungsweise der IPF erkennbar. Gleiches gilt für das per ELISA im EBC gemessene PGE₂ und 8-Isoprostan. Die in der BALF messbaren Unterschiede hinsichtlich 8-Isoprostan dürften im Sinne eines noninvasiven Ansatzes klinisch eher unbedeutend sein.

7. Summary

The idiopathic pulmonary fibrosis is a very serious parenchymal lung disease, with the shortest survival time of all interstitial lung diseases. The pathogenesis has not been understood in detail, but it is assumed that a disturbed interaction of type II pneumocytes and fibroblast finally leads to a massive deposition of collagen fibers in the lung interstitium. Non-invasive methods and new biomarkers are urgently required to facilitate diagnosis finding, thus reducing the complex and high-risk interventions for patients and facilitating the monitoring of medical treatment. In light of the above, the clinical testing and the significance of exhaled NO and volatile biomarkers in EBC is of great scientific interest.

In this study we investigated, if patients with IPF (n=36), other ILDs (n=66) and other lung diseases (COPD n=24, BD n= 16) as well as healthy subjects (n = 54) have diagnostically usable differences of exhaled NO (FeNO) as well the eicosanoids PGE2 and 8-isoprostane in exhaled breath condensate (EBC) and bronchoalveolar lavage (BALF).

There was no significant difference in the FeNO measurements of IPF, ILD and healthy subjects, although, some patients showed highly elevated FeNO, in one case an exacerbation was detected. Generally, it was neither possible to differentiate between the causing disease nor detect exacerbation on basis of FeNO values. Also the correlation analysis between FeNO values and lung function parameters did not show convincing results.

The investigation of arachidonic acid derivate in breath condensate was difficult (PGE2) or unreliable (8-isoprostane), but worked well in BALF. Group-specific differences were observed only in free 8-isoprostane, which could indicate the severity of oxidative stress.

In conclusion, the FeNO-measurement give no diagnostic benefit for ILDs or IPFs on basis of these results. The same is valid for the measured PGE2 and 8-isoprostane in EBC by ELISA. The differences measured in BALF regarding 8-isoprostane appear insignificant for the clinical use as a non-invasive tool.

8. Abkürzungsverzeichnis

AHR	Atemwegs-Hyperreagibilität
AIP	Akut Interstitielle Pneumonie = <i>Acute Interstitial Pneumonia</i>
ALF	Alveoläre Flüssigkeitsschicht = <i>Alveolar Lining Fluid</i>
ATS	<i>American Thoracic Society</i>
ARDS	<i>Acute Respiratory Distress Syndrome</i>
BAL	Bronchoalveoläre Lavage
BALF	Bronchoalveoläre Spülflüssigkeit
BGA	Blutgasanalyse
BM-MSC	<i>Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells</i>
BNP	<i>Brain Natriuretic Peptide</i>
BPD	Bronchopulmonale Dysplasie
BTPS	Bedingung bei Körpertemperatur: 37° C, Sättigungsdampfdruck von 6,25 kPa und tatsächlichen Luftdrücken
Ca _{NO}	alveoläre NO-Konzentration
Ca _{wNO}	NO-Konzentration in der Atemwegswand
cGMP	zyklisches Guanosinmonophosphat
cNOS	konstitutive NO-Synthetase
CO	Kohlenstoffmonoxid
COP	Kryptogen Organisierende Pneumonie = <i>Cryptogenic Organizing Pneumonia</i>
COPD	Chronisch Obstruktive Lungenerkrankung = <i>Chronic Obstructive Pulmonary Disease</i>
CTD	Rheumatoide Erkrankungen = <i>Connective Tissue Disease</i>

CTGF	<i>Connective Tissue Growth Factor</i>
DAD	Diffus Alveolärer Schaden
Daw _{NO}	Diffusionskapazität der Atemwege
DLCO	Diffusionskapazität für CO
DPLD	Diffus parenchymatöse Lungenerkrankungen = <i>Diffuse Parenchymal Lung Disease</i>
EBC	Atemkondensat = <i>Exhaled breath condensate</i>
EIA	Enzymatisches Immunadsorbtionsverfahren
ELISA	<i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>
EP	Prostaglandin-Rezeptor
ER	Endoplasmatisches Retikulum
ERS	<i>European Respiratory Society</i>
EurIPFreg	Europäisches IPF Register
EZM	Extrazelluläre Matrix
Fas	Apoptoserezeptor
FeNO	Fraktioniertes exhalierendes Stickstoffmonoxid
FGFR	<i>Fibroblast Growth Factor Receptor</i>
FP7	<i>Seventh Framework Program for Research and Technological Development</i>
F IIa	Thrombin
F VII	Faktor VII der Gerinnungskaskade
F X	Faktor X der Gerinnungskaskade
GOLD	<i>Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease</i> , Stadieneinteilung der COPD

HPLC	Hochdruckflüssigkeitschromatografie
HRCT	Hochauflösende Computertomografie
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
iPAH	Idiopathische Pulmonale Hypertension
ICD	<i>International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems</i>
ICS	Inhalative Kortikosteroide = <i>Inhaled Corticosteroids</i>
IIP	Idiopathisch Interstitielle Pneumonie = <i>Idiopathic Interstitial Pneumonia</i>
ILD	Interstitielle Lungenerkrankung = <i>Interstitial Lung Disease</i>
iNOS	Induzierbare NO-Synthetase
IPF	Idiopathische Lungenfibrose = <i>Idiopathic Pulmonary Fibrosis</i>
IQB	Interquartilsbereich, Bereich zwischen der 25. und 75. Perzentile
J'aw _{NO}	Maximale Flussrate in den Atemwegen
KCO	Krogh-Faktor: DLCO/VA = Korrigierter Diffusionskoeffizient für CO (korrigiert das alveoläre Volumen)
KOH	Kaliumhydroxid
JRS	<i>Japanese Respiratory Society</i>
LIP	Lymphoide Interstitielle Pneumonie = <i>Lymphoid Interstitial Pneumonia</i>
MEFT _{NO}	<i>Multiple Exhalation Flow Technique for NO</i>
MET	<i>Mesenchymal-Epitheliale Transition</i>
ml	Milliliter
MMP	Matrixmetalloproteinase
mPAP	Mittlerer pulmonalarterieller Druck = <i>Mean Pulmonary Artery Pressure</i>

mPGES-1	Mikrosomale-PGE-Synthetase-1
MS	Massenspektrometrie
μl	Mikroliter
nm	Nanometer
NSAID	Nicht-steroidale Entzündungshemmer = <i>Non-steroidal anti-inflammatory drugs</i>
NSIP	Nicht-spezifische Interstitielle Pneumonie = <i>Nonspecific Interstitial Pneumonia</i>
OSAS	Obstruktives Schlafapnoe Syndrom
PAI	Plasminogenaktivator Inhibitor
PAR1	<i>Protease-Activated Receptor</i>
PDGF	<i>Platelet Derived Growth Factor</i>
PDGFR	<i>Platelet Derived Growth Factor Receptor</i>
PGE2	Prostaglandin E 2
PH	Pulmonale Hypertension
PID	Patienten identifizierende Daten
pg	Pikogramm = 10 ⁻¹²
PKA	Proteinkinase A
ppb	parts per billion = Nanoliter / Liter
PPI	Protonenpumpen-Inhibitoren
RB-ILD	<i>Respiratory Bronchiolitis-associated Interstitial Lung Disease</i>
RIA	Radioimmunassay
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>

SaO ₂	Sauerstoffsättigung
SB	<i>Single Breath</i>
SP-C	Surfactant Protein C
SPE	Festphasenextraktion = <i>Solid Phase Extraction</i>
TBB	Transbronchiale Biopsie
TGF	<i>Transforming Growth Factor</i>
TIMP	<i>Tissue Inhibitor of MMP</i>
TLC	Totale Lungenkapazität
TNF α	Tumornekrosefaktor α
TR	Telomerase
TERT	Telomerase Reservetranskriptase
UGMLC	<i>Universities of Gießen and Marburg Lung Center</i>
UIP	<i>Usual Interstitial Pneumonia</i>
UKGM	Universitätsklinikum Gießen und Marburg
UPW	<i>Ultra Pure Water</i>
VATS	Video-assistierte Thorakoskopie
VEGFR	<i>Vascular Endothelial Growth Factor Receptor</i>
VC	Vitalkapazität
6 MGT	Sechs-Minuten-Gehtest
8-Iso	8-Isoprostan

9. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Interstitielle Lungenerkrankungen	2
Abbildung 2: Pathogenese der IPF	8
Abbildung 3: Entstehung des Atemkondensats.	22
Abbildung 4: Oxidativer und nitrogener Stress	26
Abbildung 5: Arachidonsäure-Wege	28
Abbildung 6: EBC-Sammelgerät	47
Abbildung 7: ELISA	48
Abbildung 8: FeNO-Werte in den verschiedenen Kollektiven	51
Abbildung 9: Korrelation mit linearer Regressionsgerade von Lungenfunktions- parametern mit FeNO-Wert für das IPF-Kollektiv	53
Abbildung 10: Korrelation mit linearer Regressionsgerade von Lungenfunktions- parametern mit FeNO-Wert für das ILD-Kollektiv	54
Abbildung 11: Korrelation der Gehstrecke im Sechs-Minuten-Gehtest (6 MGT) und der maximalen Sauerstoffaufnahme (VO_2max) in der Spiro- ergometrie zum FeNO-Wert	55
Abbildung 12: Beeinflussende Faktoren auf den FeNO-Wert bei allen Patienten	56
Abbildung 13: Intraindividueller FeNO-Verlauf	57
Abbildung 14: Darstellung der FeNO-Werte aller Patienten, stratifiziert nach klinischen Parametern	58
Abbildung 15: Darstellung der FeNO-Werte von COPD-Patienten, stratifiziert nach klinischen Parametern	59
Abbildung 16: Freies 8-Isoprostan im EBC	60
Abbildung 17: PGE2 im EBC	61
Abbildung 18: Darstellung des freien und des totalen 8-Isoprostans aus der BALF der gleichen Patienten	62
Abbildung 19: Zusammenhang zwischen freiem und totalem 8-Isoprostan	63
Abbildung 20: PGE2 in der BALF	64
Abbildung 21: Berechnete jährliche Veränderung der forcierten Vitalkapazität (FVC) in % Soll	65
Abbildung 22: Berechnete jährliche Veränderung der Diffusionskapazität für CO (DLCO) in % Soll	66

Abbildung 23: Berechnete jährliche Veränderung der um das Alveolarvolumen korrigierten Diffusionskapazität für CO (KCO) in % Soll.	67
Abbildung 24: Berechnete jährliche Veränderung der Gehstrecke in Metern / Jahr.	68
Abbildung 25: Berechnete jährliche Veränderung der maximalen Sauerstoffaufnahme in der Spiroergometrie	70
Abbildung 26: Korrelationsanalyse der BALF- und EBC-Ergebnisse	71
Abbildung 27: Das Zwei-Kompartiment-Modell	73
Abbildung 28: Der NOS-ADMA-DDAH Weg	83
Abbildung 29: Darstellung des PGE ₂ , des freien und totalen 8-Isoprostans aus der BALF der gleichen Patienten	144
Abbildung 30: Zusammenhang zwischen freiem und totalem 8-Isoprostan.....	144
Abbildung 31: Berechnete jährliche Veränderung der forcierten Vitalkapazität (FVC) in % Soll, getrennt für IPF und ILD.....	145
Abbildung 32: Berechnete jährliche Veränderung der Vitalkapazität (VC) in % Soll.	146
Abbildung 33: Berechnete jährliche Veränderung der Diffusionskapazität für CO (DLCO) in % Soll, getrennt für IPF und ILD	147
Abbildung 34: Berechnete jährliche Veränderung der um das Alveolarvolumen korrigierten Diffusionskapazität für CO (KCO) in % Soll, getrennt für IPF und ILD	147
Abbildung 35: Berechnete jährliche Veränderung der Gehstrecke in Metern / Jahr, getrennt für IPF und ILD.	148
Abbildung 36: Berechnete jährliche Veränderung der subjektiven Dyspnoe anhand der Borg-Skala Angaben im 6 Minuten-Gehtest / Jahr.	149
Abbildung 37: Berechnete jährliche Veränderung der maximalen Sauerstoffaufnahme in der Spiroergometrie, getrennt für IPF und ILD.....	150
Abbildung 38: VO ₂ max in zeitlicher Nähe zur Bronchoskopie (+/- 6 Monate), getrennt für IPF und ILD.	1500
Abbildung 39: CRP zum Zeitpunkt der Bronchoskopie.	151
Abbildung 40: Beeinflussung der FeNO-Werte durch PPI-Einnahme.....	151
Abbildung 41: Unterschied EBC- und BALF Konzentrationen.....	152
Abbildung 42: Intraindividuelle Differenz des EBCs und der BALF.	152

10. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 a:	Hauptpatienten-Kollektiv FeNO: Vergleich von klinischen und funktionellen Parametern	39
Tabelle 1 b:	ILD-Patientenkollektiv FeNO.....	40
Tabelle 2 a:	Hauptpatienten-Kollektiv ELISA von BALF und EBC derselben Patienten zum gleichen Zeitpunkt	41
Tabelle 2 b:	ILD-Patientenkollektiv ELISA von BALF und EBC derselben Patienten zum gleichen Zeitpunkt.....	42
Tabelle 3 a:	Hauptpatienten-Kollektiv des BALF-ELISA	43
Tabelle 3 b:	ILD-Patientenkollektiv des BALF-ELISA.....	44
Tabelle 4:	FeNO-Werte der einzelnen ILD-Untergruppen.....	143
Tabelle 5:	Vergleich von PGE2 und 8-Isoprostan im EBC und in der BALF.....	143

11. Literaturverzeichnis

- Adamali, H. I.; Maher, T. M. (2012): Current and novel drug therapies for idiopathic pulmonary fibrosis. In: *Drug Des Devel Ther* 6, S. 261–272. DOI: 10.2147/DDDT.S29928.
- Aerocrine (2006): Benutzerhandbuch Nioxmino. Monitoring von Atemwegsentzündungen. 3. Aufl. Solna, Schweden, S. 1–21.
- Albera, C.; Ferrero, C.; Rindone, E.; Zanotto, S.; Rizza, E. (2013): Where do we stand with IPF treatment? In: *Respir. Res.* 14 Suppl 1, S. 1–3. DOI: 10.1186/1465-9921-14-S1-S7.
- Alder, J. K.; Chen, J. J.; Lancaster, L.; Danoff, S.; Su, S. C.; Cogan, J. D. et al. (2008): Short telomeres are a risk factor for idiopathic pulmonary fibrosis. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 105 (35), S. 13051–13056. DOI: 10.1073/pnas.0804280105.
- Alderton, W. K.; Cooper, C. E.; Knowles, R. G. (2001): Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. In: *Biochem. J.* 357 (3), S. 593–615. DOI: 10.1042/0264-6021:3570593.
- American Thoracic Society (2000): Idiopathic Pulmonary Fibrosis: Diagnosis and Treatment. International Consensus Statement. In: *Am J Respir Crit Care Med* 161, S. 646–664. DOI: 10.1164/ajrccm.161.2.ats3-00.
- American Thoracic Society (2002): ATS Statement: Guidelines for the Six-Minute Walk Test. In: *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 166 (1), S. 111–117. DOI: 10.1164/ajrccm.166.1.at1102.
- American Thoracic Society; European Respiratory Society (2002): American Thoracic Society / European Respiratory Society International Multidisciplinary Consensus Classification of the Idiopathic Interstitial Pneumonias. In: *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 165 (2), S. 277–304. DOI: 10.1164/ajrccm.165.2.ats01.

- American Thoracic Society; European Respiratory Society (2005): ATS/ERS Recommendations for Standardized Procedures for the Online and Offline Measurement of Exhaled Lower Respiratory Nitric Oxide and Nasal Nitric Oxide. In: *Am J Respir Crit Care Med* 171 (8), S. 912–930. DOI: 10.1164/rccm.200406-710ST.
- Ando, M.; Miyazaki, E.; Ito, T.; Hiroshige, S.; Nureki, S.; Ueno, T. et al. (2010): Significance of serum vascular endothelial growth factor level in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. In: *Lung* 188 (3), S. 247–252. DOI: 10.1007/s00408-009-9223-x.
- Antczak, A.; Ciebiada, M.; Pietras, T.; Piotrowski, W. J.; Kurmanowska, Z.; Górski, P. (2012): Exhaled eicosanoids and biomarkers of oxidative stress in exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. In: *Archives of Medical Science* 2, S. 277–285. DOI: 10.5114/aoms.2012.28555.
- Arai, T.; Inoue, Y.; Sasaki, Y.; Tachibana, K.; Nakao, K.; Sugimoto, C. et al. (2014): Predictors of the clinical effects of pirfenidone on idiopathic pulmonary fibrosis. In: *Respir Investig* 52 (2), S. 136–143. DOI: 10.1016/j.resinv.2013.09.002.
- Armanios, M. Y.; Chen, J. J.-L.; Cogan, J. D.; Alder, J. K.; Ingersoll, R. G.; Markin, C. et al. (2007): Telomerase mutations in families with idiopathic pulmonary fibrosis. In: *N. Engl. J. Med.* 356 (13), S. 1317–1326. DOI: 10.1056/NEJMoa066157.
- Askin, F. B. (1990): Back to the Future: The Hamman-Rich Syndrome and Acute Interstitial Pneumonia. In: *Mayo Clinic Proceedings* 65 (12), S. 1624–1626. DOI: 10.1016/S0025-6196(12)62197-1.
- Balbi, B.; Pignatti, P.; Corradi, M.; Baiardi, P.; Bianchi, L.; Brunetti, G. et al. (2007): Bronchoalveolar lavage, sputum and exhaled clinically relevant inflammatory markers: values in healthy adults. In: *Eur. Respir. J.* 30 (4), S. 769–781. DOI: 10.1183/09031936.00112306.
- Ballard, R. A.; Truog, W. E.; Cnaan, A.; Martin, R. J.; Ballard, P. L.; Merrill, J. D. et al. (2006): Inhaled nitric oxide in preterm infants undergoing mechanical ventilation. In: *N. Engl. J. Med.* 355 (4), S. 343–353. DOI: 10.1056/NEJMoa061088.
- Baraldi, E.; Azzolin, N. M.; Cracco, A.; Zacchello, F. (1999): Reference values of exhaled nitric oxide for healthy children 6-15 years old. In: *Pediatric Pulmonology* 27 (1), S. 54–58. DOI: 10.1002/(SICI)1099-0496(199901)27:1<54::AID-PPUL10>3.0.CO;2-V.
- Baraldi, E.; Azzolin, N.M.; Zanconato, S.; Dario, C.; Zacchello, F.: Corticosteroids decrease exhaled nitric oxide in children with acute asthma. In: *J Pediatr* 1997 (131), S. 381–385, zuletzt geprüft am 31.01.2014.
- Baraldi, E.; Carraro, S.; Alinovi, R.; Pesci, A.; Ghio, L.; Bordini, A. et al. (2003a): Cysteinyl leukotrienes and 8-isoprostane in exhaled breath condensate of children with asthma exacerbations. In: *Thorax* 58 (6), S. 505–509. DOI: 10.1136/thorax.58.6.505.
- Baraldi, E.; Ghio, L.; Piovan, V., Carraro, S.; Ciabattini, G.; Barnes, P.; Montuschi, P. (2003b): Increased Exhaled 8-Isoprostane in Childhood Asthma. In: *Chest* 124 (1), S. 25–31. DOI: 10.1378/chest.124.1.25.
- Barnes, P. J.; Chowdhury, B.; Kharitonov, S. A.; Magnussen, H.; Page, C. P.; Postma, D.; Saetta, M. (2006): Pulmonary biomarkers in chronic obstructive pulmonary disease. In: *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 174 (1), S. 6–14. DOI: 10.1164/rccm.200510-1659PP.
- Barnes, P. J.; Drazen, J. M.; Rennard, S. I. (2009): Asthma and COPD. Basic Mechanisms and Clinical Management. 2. Aufl. Amsterdam, Boston: Elsevier/Academic Press. Online

verfügbar unter <http://books.google.de/books?id=HY9PiQL3kQMC>, zuletzt geprüft am 02.09.2015.

Barnes, P. J.; Dweik, R. A.; Gelb, A. F.; Gibson, P. G.; George, S. C.; Grasemann, H. Pavord, I.D. et al. (2010): Exhaled nitric oxide in pulmonary diseases: a comprehensive review. In: *Chest* 138 (3), S. 682–692. DOI: 10.1378/chest.09-2090.

Barrios, R.; Selman, M.; Franco, R.; Chapela, R.; López, J. S.; Fortoul, T. I. (1987): Subpopulations of T cells in lung biopsies from patients with pigeon breeder's disease. In: *Lung* 165 (1), S. 181–187. DOI: 10.1007/BF02714434.

Basu, S. (1998): Metabolism of 8-iso-prostaglandin F_{2α}. In: *FEBS Letters* 428 (1-2), S. 32–36. DOI: 10.1016/S0014-5793(98)00481-5.

Baughman, R. P.; Teirstein, A. S.; Judson, M. A.; Rossman, M. D.; Yeager, H.; Bresnitz, E. A. et al. (2001): Clinical characteristics of patients in a case control study of sarcoidosis. In: *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 164, S. 1885–1889. DOI: 10.1164/ajrccm.164.10.2104046.

Beck-Ripp, J.; Griese, M.; Arenz, S.; Koring, C.; Pasqualoni, B.; Bufler, P. (2002): Changes of exhaled nitric oxide during steroid treatment of childhood asthma. In: *European Respiratory Journal* 19 (6), S. 1015–1019. DOI: 10.1183/09031936.02.01582001.

Bellocq, A.; Azoulay, E.; Marullo, S.; Flahault, A.; Fouqueray, B.; Philippe, C. et al. (1999): Reactive oxygen and nitrogen intermediates increase transforming growth factor-beta1 release from human epithelial alveolar cells through two different mechanisms. In: *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 21 (1), S. 128–136. DOI: 10.1165/ajrcmb.21.1.3379.

Belvisi, M. G.; David S., C.; Yacoub, M.; Barnes, P. J. (1992): Nitric oxide is the endogenous neurotransmitter of bronchodilator nerves in humans. In: *European Journal of Pharmacology* 210 (2), S. 221–222. DOI: 10.1016/0014-2999(92)90676-U.

Biernacki, W. A.; Kharitonov, S. A.; Barnes, P. J. (2003): Increased leukotriene B₄ and 8-isoprostane in exhaled breath condensate of patients with exacerbations of COPD. In: *Thorax* 58 (4), S. 294–298. DOI: 10.1136/thorax.58.4.294.

Bitterman, P. B.; Rennard, S. I.; Keogh, B. A.; Wewers, M. D.; Adelberg, S.; Crystal, R. G. (1986): Familial idiopathic pulmonary fibrosis. Evidence of lung inflammation in unaffected family members. In: *N. Engl. J. Med.* 314 (21), S. 1343–1347. DOI: 10.1056/NEJM198605223142103.

Blanco, I.; Ribas, J.; Xaubet, A.; Gómez, F. P.; Roca, J.; Rodriguez-Roisin, R.; Barberà, J. A. (2011): Effects of inhaled nitric oxide at rest and during exercise in idiopathic pulmonary fibrosis. In: *J. Appl. Physiol.* 110 (3), S. 638–645. DOI: 10.1152/jappphysiol.01104.2010.

Boot, J. D.; Ridder, L. de; de Kam, M L; Calderon, C.; Mascelli, M. A.; Diamant, Z. (2008): Comparison of exhaled nitric oxide measurements between NIOX MINO electrochemical and Ecomedics chemiluminescence analyzer. In: *Respir Med* 102 (11), S. 1667–1671. DOI: 10.1016/j.rmed.2008.06.021.

Borg, G.A.V. (1982): Psychophysical bases of perceived exertion. In: *Medicine & Science in Sports & Exercise* 14 (5), S. 377–381. DOI: 10.1249/00005768-198205000-00012.

Bourke, S. J.; Dalphin, J. C.; Boyd, G.; McSharry, C.; Baldwin, C. I.; Calvert, J. E. (2001): Hypersensitivity pneumonitis: current concepts. In: *European Respiratory Journal* 18 (32), S. 81–92. Online verfügbar unter http://erj.ersjournals.com/content/18/32_suppl/81s.long, zuletzt geprüft am 11.07.2014.

- Bridges, J. P.; Xu, Y.; Na, C.-L.; Wong, H. R.; Weaver, T. E. (2006): Adaptation and increased susceptibility to infection associated with constitutive expression of misfolded SP-C. In: *J. Cell Biol.* 172 (3), S. 395–407. DOI: 10.1083/jcb.200508016.
- Brindicci, C.; Ito, K.; Resta, O.; Pride, N. B.; Barnes, P. J.; Kharitonov, S. A. (2005): Exhaled nitric oxide from lung periphery is increased in COPD. In: *Eur. Respir. J.* 26 (1), S. 52–59. DOI: 10.1183/09031936.04.00125304.
- Brindicci, C.; Kharitonov, S. A.; Ito, M.; Elliott, M. W.; Hogg, J. C.; Barnes, P. J.; Ito, K. (2010): Nitric oxide synthase isoenzyme expression and activity in peripheral lung tissue of patients with chronic obstructive pulmonary disease. In: *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 181 (1), S. 21–30. DOI: 10.1164/rccm.200904-0493OC.
- Buhl, R.; Berdel, D.; Criée, C.-P.; Gillissen, A.; Kardos, P.; Kroegel, C. et al. (2006): Guidelines for Diagnosis and Treatment of Asthma Patients. In: *Pneumologie* 60 (03), S. 139–183. DOI: 10.1055/s-2005-919153.
- Calvert, J. E.; Baldwin, C. I.; Allen, A.; Todd, A.; Bourke, S. J. (1999): Pigeon fanciers' lung: a complex disease? In: *Clin Exp Allergy* 29 (2), S. 166–175. DOI: 10.1046/j.1365-2222.1999.00457.x.
- Cameli, P.; Bargagli, E.; Refini, R. M.; Pieroni, M. G.; Bennett, D.; Rottoli, P. (2014): Exhaled nitric oxide in interstitial lung diseases. In: *Respir Physiol Neurobiol* 197, S. 46–52. DOI: 10.1016/j.resp.2014.03.011.
- Camelo, A.; Dunmore, R.; Sleeman, M. A.; Clarke, D. L. (2014): The epithelium in idiopathic pulmonary fibrosis: breaking the barrier. In: *Front Pharmacol* 4, S. 173. DOI: 10.3389/fphar.2013.00173.
- Carpagnano, G. E.; Kharitonov, S. A.; Foschino-Barbaro, M. P.; Resta, O.; Gramiccioni, E.; Barnes, P. J. (2004): Supplementary oxygen in healthy subjects and those with COPD increases oxidative stress and airway inflammation. In: *Thorax* 59 (12), S. 1016–1019. DOI: 10.1136/thx.2003.020768.
- Carrington, C. B.; Gaensler, E. A.; Coutu, R. E.; FitzGerald, M. X.; Gupta, R. G. (1978): Natural history and treated course of usual and desquamative interstitial pneumonia. In: *N. Engl. J. Med.* 298 (15), S. 801–809. DOI: 10.1056/NEJM197804132981501.
- Cayman Chemical Company (2011): 8-Isoprostan EIA Kit, S. 7. Online verfügbar unter <https://www.caymanchem.com/pdfs/516351.pdf>, zuletzt geprüft am 14.12.2015.
- Chambers, R. C. (2008): Procoagulant signalling mechanisms in lung inflammation and fibrosis: novel opportunities for pharmacological intervention? In: *Br. J. Pharmacol.* 153 Suppl 1, S. 367–378. DOI: 10.1038/sj.bjp.0707603.
- Chapman, H. A. (2011): Epithelial-mesenchymal interactions in pulmonary fibrosis. In: *Annu. Rev. Physiol.* 73, S. 413–435. DOI: 10.1146/annurev-physiol-012110-142225.
- Cherniak, R. M.; Banks, D. E.; Bell, D. Y.; Davis, G. S.; Hughes, J. M.; King, T. E. (1990): Bronchoalveolar lavage constituents in healthy individuals, idiopathic pulmonary fibrosis, and selected comparison groups. The BAL Cooperative Group Steering Committee. In: *Am. Rev. Respir. Dis.* 141, S. 169–202. DOI: 10.1164/ajrccm/141.5_Pt_2.S169.
- Chetta, A.; Marangio, E.; Olivieri, D. (2004): Pulmonary function testing in interstitial lung diseases. In: *Respiration* 71 (3), S. 209–213. DOI: 10.1159/000077416.
- Choi, J.; Hoffman, L. A.; Sethi, J. M.; Zullo, T. G.; Gibson, K. F. (2009): Multiple flow rates measurement of exhaled nitric oxide in patients with sarcoidosis: a pilot feasibility study.

In: *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis* 26 (2), S. 98–109. Online verfügbar unter <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2889917/>, zuletzt geprüft am 29.09.2014.

Chow, S.; Campbell, C.; Sandrini, A.; Thomas, P. S.; Johnson, A. R.; Yates, D. H. (2009): Exhaled breath condensate biomarkers in asbestos-related lung disorders. In: *Respiratory Medicine* 103 (8), S. 1091–1097. DOI: 10.1016/j.rmed.2009.04.009.

Churchill, L.; Chilton, F. H.; Resau, J. H.; Bascom, R.; Hubbard, W. C.; Proud, D. (1989): Cyclooxygenase metabolism of endogenous arachidonic acid by cultured human tracheal epithelial cells. In: *Am. Rev. Respir. Dis.* 140 (2), S. 449–459. DOI: 10.1164/ajrccm/140.2.449.

Churg, A. (1996): The uptake of mineral particles by pulmonary epithelial cells. In: *Am J Respir Crit Care Med* 1996 (154), S. 1124–1140. DOI: 10.1164/ajrccm.154.4.8887617.

Collard, H. R.; Moore, B. B.; Flaherty, K. R.; Brown, K. K.; Kaner, R. J.; King, T. E. et al. (2007): Acute Exacerbations of Idiopathic Pulmonary Fibrosis. In: *Am J Respir Crit Care Med* 176 (7), S. 636–643. DOI: 10.1164/rccm.200703-463PP.

Conner, G. E.; Salathe, M.; Forteza, R. (2002): Lactoperoxidase and hydrogen peroxide metabolism in the airway. In: *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 166, S. 57–61. DOI: 10.1164/rccm.2206018.

Cordier, J. F.; Loire, R.; Brune, J. (1989): Idiopathic bronchiolitis obliterans organizing pneumonia. Definition of characteristic clinical profiles in a series of 16 patients. In: *Chest* 96 (5), S. 999–1004. DOI: 10.1378/chest.96.5.999.

Corte, T. J.; Wort, S. J.; Gatzoulis, M. A.; Engel, R.; Giannakoulas, G.; Macdonald, P. M.; Wells, A. U. (2010): Elevated brain natriuretic peptide predicts mortality in interstitial lung disease. In: *Eur. Respir. J.* 36 (4), S. 819–825. DOI: 10.1183/09031936.00173509.

Costabel, U.; Guzman, J. (2001): Bronchoalveolar lavage in interstitial lung disease. In: *Current Opinion in Pulmonary Medicine* 7 (5), S. 255–261. DOI: 10.1097/00063198-200109000-00002.

Cottin, V. (2014): Current approaches to the diagnosis and treatment of idiopathic pulmonary fibrosis in Europe: the AIR survey. In: *Eur Respir Rev* 23 (132), S. 225–230. DOI: 10.1183/09059180.00001914.

Cottin, V.; Donsbeck, A.-V.; Revel, D.; Loire, R.; and Cordier J.-F. (1998): Nonspecific Interstitial Pneumonia. Individualization of a Clinicopathologic Entity in a Serie of 12 Patients. In: *Am J Respir Crit Care Med* 158, S. 1286–1293. DOI: 10.1164/ajrccm.158.4.9802119.

Cottin, V.; Maher, T. (2015): Long-term clinical and real-world experience with pirfenidone in the treatment of idiopathic pulmonary fibrosis. In: *European respiratory review : an official journal of the European Respiratory Society* 24 (135), S. 58–64. DOI: 10.1183/09059180.00011514.

Coultas, D. B.; Zumwalz, R. E.; Black, W. C.; Sobonya, R. E.; Zumwalt, R. E. (1994): The Epidemiology of Interstitial Lung Diseases. In: *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 150 (4), S. 967–972. DOI: 10.1164/ajrccm.150.4.7921471.

Craig, P. J.; Wells, A. U.; Doffman, S.; Rassel, D.; Colby, T. V.; Hansell, D. M. et al. (2004): Desquamative interstitial pneumonia, respiratory bronchiolitis and their relationship to smoking. In: *Histopathology* 45 (3), S. 275–282. DOI: 10.1111/j.1365-2559.2004.01921.x.

Craig, V. J.; Polverino, F.; Laucho-Contreras, M. E.; Shi, Y.; Liu, Y.; Osorio, J. C. et al. (2014): Mononuclear phagocytes and airway epithelial cells: novel sources of matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. In: *PLoS ONE* 9 (5), S. 1–10. DOI: 10.1371/journal.pone.0097485.

Cullinan, S. B.; Diehl, J. A. (2006): Coordination of ER and oxidative stress signaling: the PERK/Nrf2 signaling pathway. In: *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 38 (3), S. 317–332. DOI: 10.1016/j.biocel.2005.09.018.

Cushley, M. J.; Davison, A. G.; Bois, R., M.; Egan, J.; Flower, C., D.; Gibson, G., J. et al. (1999): The diagnosis, assessment and treatment of diffuse parenchymal lung disease in adults. Hg. v. Thorax. Online verfügbar unter <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1765921/pdf/v054p000S1.pdf>, zuletzt aktualisiert am 09.03.1999, zuletzt geprüft am 14.12.2015.

Daniels, C. E.; Lasky, J. A.; Limper, A. H.; Mieras, K.; Gabor, E.; Schroeder, D. R. (2010): Imatinib treatment for idiopathic pulmonary fibrosis: Randomized placebo-controlled trial results. In: *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 181 (6), S. 604–610. DOI: 10.1164/rccm.200906-0964OC.

Daniil, Z. D.; Gilchrist, F. C.; Nicholson, A. G.; Hansell, D. M.; Harris, J.; Colby T., V.; du Bois, R. M. (1999): A Histologic Pattern of Nonspecific Interstitial Pneumonia Is Associated with a Better Prognosis Than Usual Interstitial Pneumonia in Patients with Cryptogenic Fibrosing Alveolitis. In: *Am J Respir Crit Care Med* 160, S. 899–905. DOI: 10.1164/ajrccm.160.3.9903021.

Davis, M. D.; Montpetit, A.; Hunt, J. (2012): Exhaled breath condensate: an overview. In: *Immunol Allergy Clin North Am* 32 (3), S. 363–375. DOI: 10.1016/j.iac.2012.06.014.

Davison, A. G.; Heard, B. E.; McAllister, W. A. C.; Turner-Warwick, M. E. H. (1983): Cryptogenetic Organizing Pneumonitis. In: *Quarterly Journal of Medicine* (207), S. 382–394. Online verfügbar unter <http://qjmed.oxfordjournals.org/content/52/3/382.full.pdf#page=1&view=FitH>, zuletzt geprüft am 07.07.2014.

Demedts, M.; Behr, J.; Buhl, R.; Costabel, U.; Dekhuijzen, R.; Jansen, H. M. et al. (2005): High-dose acetylcysteine in idiopathic pulmonary fibrosis. In: *N. Engl. J. Med.* 353 (21), S. 2229–2242. DOI: 10.1056/NEJMoa042976.

Djukanovic, R.; Sterk, P. J.; Fahy, J. V.; Hargreave, F. E. (2002): Standardised methodology of sputum induction and processing. In: *European Respiratory Journal* 20 (Supplement 37), S. 1–2. DOI: 10.1183/09031936.02.00000102.

Donnelly, L. E.; Barnes, P. J. (2002): Expression and regulation of inducible nitric oxide synthase from human primary airway epithelial cells. In: *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 26 (1), S. 144–151. DOI: 10.1165/ajrcmb.26.1.4477.

Douglas, W. W.; Ryu, J. H.; Schroeder, D. R. (2000): Idiopathic Pulmonary Fibrosis Impact of Oxygen and Colchicine, Prednisone, or No Therapy on Survival. In: *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* (161), S. 1172–1178. DOI: 10.1164/ajrccm.161.4.9907002.

Dweik, R. A. (2002): Pulmonary hypertension and the search for the selective pulmonary vasodilator. In: *The Lancet* 360 (9337), S. 886–887. DOI: 10.1016/S0140-6736(02)11067-1.

Dweik, R. A.; Boggs, P. B.; Erzurum, S. C.; Irvin, C. G.; Leigh, M. W.; Lundberg, J. O. et al. (2011): An official ATS clinical practice guideline: interpretation of exhaled nitric oxide levels (FENO) for clinical applications. In: *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 184 (5), S. 602–615. DOI: 10.1164/rccm.9120-11ST.

Dworski, R. (2000): Oxidant stress in asthma. In: *Thorax* 55 (2), S. 51–53. DOI: 10.1136/thorax.55.suppl_2.S51.

Effros, R. M.; Casaburi, R.; Porszasz, J.; Morales, E. M.; Rehan, V. (2012): Exhaled breath condensates: analyzing the expiratory plume. In: *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 185 (8), S. 803–804. DOI: 10.1164/rccm.201109-1702ED.

Effros, R. M.; Dunning, M. B.; Biller, J.; Shaker, R. (2004): The promise and perils of exhaled breath condensates. In: *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 287 (6), S. L1073–80. DOI: 10.1152/ajplung.00069.2004.

Effros, R. M.; Feng, N. H.; Mason, G.; Sietsema, K.; Silverman, P.; Hukkanen, J. (1990): Solute concentrations of the pulmonary epithelial lining fluid of anesthetized rats. In: *Journal of Applied Physiology* 68, S. 275–281. Online verfügbar unter <http://jap.physiology.org/content/68/1/275.full-text.pdf+html>.

Effros, R. M.; Hoagland, K. W.; Bosbous, M.; Castillo, D.; Foss, B.; Dunning, M. et al. (2002): Dilution of respiratory solutes in exhaled condensates. In: *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 165 (5), S. 663–669. DOI: 10.1164/ajrccm.165.5.2101018.

Epler, G. R.; Colby, Thomas V.; McCloud, T. C.; Carrington, C. B.; Gaensler, E. A. (1985): Bronchiolitis obliterans organizing pneumonia. In: *N. Engl. J. Med.* 312 (3), S. 152–158. DOI: 10.1056/NEJM198501173120304.

eurIPFreg (2008): European IPF Registry and Biobank. Structure of the Registry and Biobank. Online verfügbar unter http://www.pulmonary-fibrosis.net/index.php?option=com_content&view=article&id=22&Itemid=29, zuletzt aktualisiert am 2008, zuletzt geprüft am 03.09.2015.

eurIPFreg (2013): Patientenaufklärung und Einwilligung. Patienteninformation und Einwilligungserklärung zum Forschungsvorhaben "Europäisches IPF Register" (eurIPFreg). 1.6. Aufl., zuletzt geprüft am 20.05.2014.

eurolPFreg (2013): Biomaterial sampling within the eurIPFreg. Online verfügbar unter https://knp.interactive-systems.de/cgi-bin/WebObjects/ST31-productive-DataCapture.woa/1/wo/pYAmVIJ26c2l8W9iZ66d9w_0IPF/0.19.0, zuletzt aktualisiert am 2013, zuletzt geprüft am 29.01.2014.

Europäische Kommission-CORDIS: EURIPFNET Report Summary. CORDIS- Community Research and Development Information Service. Online verfügbar unter http://cordis.europa.eu/result/rcn/54331_de.html, zuletzt geprüft am 03.09.2015.

Fang, X.; Luo, B.; Yi, X.; Zeng, Y.; Liu, F.; Li, H. et al. (2012): Usual interstitial pneumonia coexisted with nonspecific interstitial pneumonia, What's the diagnosis? In: *Diagn Pathol* 7 (167), S. 1–6. DOI: 10.1186/1746-1596-7-167.

Fink, J. N.; Sosman, A.J.; Barboriak, J.J.; Schlueter, D. P.; Holmes, R. A. (1968): Pigeon breeders' disease. A clinical study of hypersensitivity pneumonitis. In: *Ann Intern Med* 68 (6), S. 1205–1219. DOI: 10.7326/0003-4819-68-6-1205.

Finley, P. R.; Bogert, C. L.; Alberts, D. S.; Einspahr, J.; Earnest, D. L.; Blackwell, G.; Girodias, K. (1995): Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention. Measurement of Prostaglandin E2 in rectal mucosa in human subjects: a method study. In: *Cancer*

Epidemiol Biomarkers Prev 4, S. 239–244. Online verfügbar unter Einspahr J, Earnest DL, Blackwell G, Girodias K., zuletzt geprüft am 21.07.2014.

Fischer, A.; Du Bois, R. (2012): Interstitial lung disease in connective tissue disorders. In: *The Lancet* 380 (9842), S. 689–698. DOI: 10.1016/S0140-6736(12)61079-4.

Flaherty, K. R.; Andrei, A. C.; Murray, S.; Fraley, C.; Colby, T. V.; Travis, W. D. et al. (2006): Idiopathic pulmonary fibrosis: prognostic value of changes in physiology and six-minute-walk test. In: *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 174 (7), S. 803–809. DOI: 10.1164/rccm.200604-488OC.

Förstermann, U.; Sessa, W. C. (2012): Nitric oxide synthases: regulation and function. In: *Eur. Heart J.* 33 (7), S. 829–837. DOI: 10.1093/eurheartj/ehr304.

Franklin, P. J.; Taplin, R.; Stick, S. M. (1999): A community study of exhaled nitric oxide in healthy children. In: *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 159 (1), S. 69–73. DOI: 10.1164/ajrccm.159.1.9804134.

Franklin, P.J; Turner, S.W; Le Soufe, P. N.; Stick, S.M: Exhaled nitric oxide and asthma: complex interactions between atopy, airway responsiveness, and symptoms in a community population of children. In: *Thorax* 2003 (58), S. 1048–1052, zuletzt geprüft am 30.01.2014.

Fronius, M.; Clauss, W. G.; Althaus, M. (2012): Why Do We have to Move Fluid to be Able to Breathe? In: *Front. Physio.* 3, S. 1–9. DOI: 10.3389/fphys.2012.00146.

Furuhashi, K.; Suda, T.; Nakamura, Y.; Inui, N.; Hashimoto, D.; Miwa, S. et al. (2010): Increased expression of YKL-40, a chitinase-like protein, in serum and lung of patients with idiopathic pulmonary fibrosis. In: *Respir Med* 104 (8), S. 1204–1210. DOI: 10.1016/j.rmed.2010.02.026.

Gabbay, E.; Walters, E. H.; Orsida, B.; Whitford, H.; Ward, C.; Kotsimbos, T. C. et al. (2000): Post-lung transplant bronchiolitis obliterans syndrome (BOS) is characterized by increased exhaled nitric oxide levels and epithelial inducible nitric oxide synthase. In: *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 162 (6), S. 2182–2187. DOI: 10.1164/ajrccm.162.6.9911072.

Gauldie, J.; Sime, P. J.; Xing, Z.; Marr, B.; Tremblay, G. M. (1999): Transforming Growth Factor- β Gene Transfer to the Lung Induces Myofibroblast Presence and Pulmonary Fibrosis. In: C. L. Berry, J. Prat, Alexis Desmoulière und Beatriz Tuchweber (Hg.): *Tissue Repair and Fibrosis*, Bd. 93. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg (Current Topics in Pathology), S. 35–45, zuletzt geprüft am 02.09.2015.

Geddes, D. M. (1991): BOOP and COP. In: *Thorax* (46), S. 545–547. DOI: 10.1136/thx.46.8.545.

Geiser, T. (2003): Idiopathic pulmonary fibrosis -a disorder of alveolar wound repair? In: *Swiss Med Wkly* 133, S. 405–411. Online verfügbar unter <http://www.smw.ch/docs/pdf200x/2003/29/smw-09986.pdf>, zuletzt geprüft am 11.08.2014.

Gelb, A. F.; Barnes, P. J.; George, S. C.; Ricciardolo, F. L. M.; DiMaria, G.; Zamel, N. (2012): Review of exhaled nitric oxide in chronic obstructive pulmonary disease. In: *J Breath Res* 6 (4), S. 1–7. DOI: 10.1088/1752-7155/6/4/047101.

Gelb, A. F.; George, S. C.; Camacho, F.; Fraser, C.; Flynn T., C.; Shakkottai, S. (2011): Increased nitric oxide concentrations in the small airway of older normal subjects. In: *Chest* 139 (2), S. 368–375. DOI: 10.1378/chest.10-1157.

- Gessner, C.; Kuhn, H.; Seyfarth, H.-J; Pankau, H.; Winkler, J.; Schauer, J.; Wirtz, H. (2001): Factors influencing breath condensate volume. In: *Pneumologie* 55 (9), S. 414–419. DOI: 10.1055/s-2001-16947.
- Ghebremariam, Y. T.; LePendu, P.; Lee, J. C.; Erlanson, D. A.; Slaviero, A.; Shah, N. H. et al. (2013): Unexpected effect of proton pump inhibitors: elevation of the cardiovascular risk factor asymmetric dimethylarginine. In: *Circulation* 128 (8), S. 845–853. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.113.003602.
- Gillissen, A.; Nowak, D. (1998): Characterization of N-acetylcysteine and ambroxol in anti-oxidant therapy. In: *Respiratory Medicine* 92 (4), S. 609–623. DOI: 10.1016/S0954-6111(98)90506-6.
- Goeckenjan, G.; Sitter, H.; Thomas, M.; Branscheid, D.; Flentje, M.; Griesinger, F. et al. (2011): Prävention, Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Lungenkarzinoms. In: *Pneumologie* 65 (08), S. 51–75. DOI: 10.1055/s-0030-1256562.
- Gorenflo, M.; Zheng, C.; Werle, E.; Fiehn, W.; Ulmer, H. E. (2001): Plasma Levels of Asymmetrical Dimethyl-L-Arginine in Patients with Congenital Heart Disease and Pulmonary Hypertension. In: *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 37 (4), S. 489–492. DOI: 10.1097/00005344-200104000-00016.
- Greene, K. E.; King, T. E.; Kuroki, Y.; Bucher-Bartelson, B.; Hunninghake, G. W.; Newman, L. S. et al. (2002): Serum surfactant proteins-A and -D as biomarkers in idiopathic pulmonary fibrosis. In: *European Respiratory Journal* 19 (3), S. 439–446. DOI: 10.1183/09031936.02.00081102.
- Gribbin, J.; Hubbard, R. B.; Le Jeune, I.; Smith, C. J. P.; West, J.; Tata, L. J. (2006): Incidence and mortality of idiopathic pulmonary fibrosis and sarcoidosis in the UK. In: *Thorax* 61 (11), S. 980–985. DOI: 10.1136/thx.2006.062836.
- Gross, T. J.; Hunninghake, G. W. (2001): Idiopathic Pulmonary Fibrosis. In: *N Engl J Med* 345 (7), S. 517–525. DOI: 10.1056/NEJMra003200.
- Guilleminault, L.; Saint-Hilaire, A.; Favelle, O.; Caille, A.; Boissinot, E.; Henriot, A.C et al. (2013): Can exhaled nitric oxide differentiate causes of pulmonary fibrosis? In: *Respiratory Medicine* 107 (11), S. 1789–1796. DOI: 10.1016/j.rmed.2013.07.007.
- Günther, A. (2011): The European IPF Network: towards better care for a dreadful disease. In: *Eur. Respir. J.* 37 (4), S. 747–748. DOI: 10.1183/09031936.00012111.
- Günther, A.; Eickelberg, O.; Preissner, K. T.; Chambers, R.; Laurent, G.; Wells, A. et al. (2008): International registry for idiopathic pulmonary fibrosis. In: *Thorax* 63 (9), S. 841. Online verfügbar unter <http://thorax.bmj.com/content/63/9/841.1.full.pdf+html>, zuletzt geprüft am 25.09.2015.
- Günther, A.; Korfei, M.; Mahavadi, P.; von der Beck, D.; Ruppert, C.; Markart, P. (2012): Unravelling the progressive pathophysiology of idiopathic pulmonary fibrosis. In: *Eur Respir Rev* 21 (124), S. 152–160. DOI: 10.1183/09059180.00001012.
- Günther, A.; Müller, J. (2008): The data protection concept of the European IPF Network. Natural Course, Pathomechanisms and Novel Treatment Options in Idiopathic Pulmonary Fibrosis. eurIPFnet. Online verfügbar unter http://euripf.med.uni-giessen.de/downloads/en/data_safety_concept.pdf, zuletzt geprüft am 03.09.2015.
- Gustafsson, L. E.; Leone, A. M.; Persson, M. G.; Wiklund, N. P.; Moncada, S. (1991): Endogenous Nitric Oxide is Present in the Exhaled Air of Rabbits, Guinea Pigs and

- Humans. In: *Biochemical and Biophysical Research Communications* 1991 (181), S. 852–857. DOI: 10.1016/0006-291X(91)91268-H.
- Hancock, A.; Armstrong, L.; Gama, R.; Millar, A. (1998): Production of interleukin 13 by alveolar macrophages from normal and fibrotic lung. In: *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 18 (1), S. 60–65. DOI: 10.1165/ajrcmb.18.1.2627.
- Hansel, T. T.; Kharitonov, S. A.; Donnelly, L. E.; Erin, E. M.; Currie, M. G.; Moore, W. M. et al. (2003): A selective inhibitor of inducible nitric oxide synthase inhibits exhaled breath nitric oxide in healthy volunteers and asthmatics. In: *FASEB J.* 17 (10), S. 1298–1300. DOI: 10.1096/fj.02-0633fje.
- Hanson, D.; Winterbauer, R. H.; Kirtland, S. H.; Wu, R. (1995): Changes in Pulmonary Function Test Results After 1 Year of Therapy as Predictors of Survival in Patients With Idiopathic Pulmonary Fibrosis. In: *Chest* 108 (2), S. 305. DOI: 10.1378/chest.108.2.305.
- Hanumegowda, C.; Farkas, L.; Kolb, M. (2012): Angiogenesis in pulmonary fibrosis: too much or not enough? In: *Chest* 142 (1), S. 200–207. DOI: 10.1378/chest.11-1962.
- Harrell, G. T.; Fisher, S. (1939): Blood chemical changes in Boeck's Sarcoid with particular referenceto protein, calciumand phosphatase values. In: *J. Clin. Invest.* 18 (6), S. 687–693. DOI: 10.1172/JCI101084.
- Hasegawa, K.; Wakino, S.; Tatematsu, S.; Yoshioka, K.; Homma, K.; Sugano, N. et al. (2007): Role of asymmetric dimethylarginine in vascular injury in transgenic mice overexpressing dimethylarginine dimethylaminohydrolase 2. In: *Circ. Res.* 101 (2), S. 2–10. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.107.156901.
- Haslam, P. L.; Baughman, R. P. (1999): Report of ERS Task Force: guidelines for measurement of acellular components and standardization of BAL. In: *Eur Respir J* 14 (2), S. 245–248. DOI: 10.1034/j.1399-3003.1999.14b01.x.
- Hershcovici, T.; Jha, L. K.; Johnson, T.; Gerson, L.; Stave, C.; Malo, J. et al. (2011): Systematic review: the relationship between interstitial lung diseases and gastro-oesophageal reflux disease. In: *Aliment. Pharmacol. Ther.* 34 (11-12), S. 1295–1305. DOI: 10.1111/j.1365-2036.2011.04870.x.
- Heyneman, L. E.; Ward, S.; Lynch, D. A.; Remy-Jardin, M.; Johkoh, T.; Müller, N. L. (1999): Respiratory bronchiolitis, respiratory bronchiolitis-associated interstitial lung disease, and desquamative interstitial pneumonia: different entities or part of the spectrum of the same disease process? In: *Am J Respir* 173, S. 1617–1622. DOI: 10.2214/ajr.173.6.10584810.
- Hilberg, F.; Roth, G. J.; Krssak, M.; Kautschitsch, S.; Sommergruber, W.; Tontsch-Grunt, U. et al. (2008): BIBF 1120: triple angiokinase inhibitor with sustained receptor blockade and good antitumor efficacy. In: *Cancer Res.* 68 (12), S. 4774–4782. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-6307.
- Hodges, R. J.; Jenkins, R. G.; Wheeler-Jones, C. P.D.; Copeman, D. M.; Bottoms, S. E.; Bellingan, G. J. et al. (2004): Severity of Lung Injury in Cyclooxygenase-2-Deficient Mice Is Dependent on Reduced Prostaglandin E2 Production. In: *The American Journal of Pathology* 165 (5), S. 1663–1676. DOI: 10.1016/S0002-9440(10)63423-2.
- Hodgson, U.; Laitinen, T.; Tukiainen, P. (2002): Nationwide prevalence of sporadic and familial idiopathic pulmonary fibrosis: evidence of founder effect among multiplex families in Finland. In: *Thorax* 2002 (57), S. 338–342. DOI: 10.1136/thorax.57.4.338.

- Holmgren, H.; Gerth, E.; Ljungström, E.; Larsson, P.; Almstrand, A.; Bake, B.; Olin, A. (2013): Effects of breath holding at low and high lung volumes on amount of exhaled particles. In: *Respir Physiol Neurobiol* 185 (2), S. 228–234. DOI: 10.1016/j.resp.2012.10.010.
- Holz, O.; Richter, K.; Jorres, R. A.; Speckin, P.; Mucke, M.; Magnussen, H. (1998): Changes in sputum composition between two inductions performed on consecutive days. In: *Thorax* 53 (2), S. 83–86. DOI: 10.1136/thx.53.2.83.
- Horváth, I.; Hunt, J.; Barnes, P. J. (2005): Exhaled breath condensate: methodological recommendations and unresolved questions. In: *European Respiratory Journal* 26 (3), S. 523–548. DOI: 10.1183/09031936.05.00029705.
- Huang, S.; Wettlaufer, S. H.; Hogaboam, C.; Aronoff, D. M.; Peters-Golden, M. (2007): Prostaglandin E(2) inhibits collagen expression and proliferation in patient-derived normal lung fibroblasts via E prostanoid 2 receptor and cAMP signaling. In: *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 292 (2), S. 405–413. DOI: 10.1152/ajplung.00232.2006.
- Huang, S. K.; Scruggs, A. M.; Donaghy, J.; Horowitz, J. C.; Zaslona, Z.; Przybranowski, S. et al. (2013): Histone modifications are responsible for decreased Fas expression and apoptosis resistance in fibrotic lung fibroblasts. In: *Cell Death Dis* 4, S. 621. DOI: 10.1038/cddis.2013.146.
- Hunninghake, G. W.; Costabel, U.; Ando, M.; Baughman, R.; Cordier, J. F.; Du Bois, R. et al. (1999): ATS/ERS/WASOG statement on sarcoidosis. American Thoracic Society/European Respiratory Society/World Association of Sarcoidosis and other Granulomatous Disorders. In: *Sarcoidosis, vasculitis, and diffuse lung diseases : official journal of WASOG / World Association of Sarcoidosis and Other Granulomatous Disorders* 16 (2), S. 149–173, zuletzt geprüft am 10.07.2014.
- Hwang, D.; Chanmugam, P.; Boudreau, M.; Sohn, K. H.; Stone, K.; Pryor, W. A. (1999): Activation and inactivation of cyclo-oxygenase in rat alveolar macrophages by aqueous cigarette tar extracts. In: *Free Radical Biology and Medicine* 27, S. 673–682. DOI: 10.1016/S0891-5849(99)00120-3.
- Iannuzzi, M. C.; Fontana, J. R. (2011): Sarcoidosis: clinical presentation, immunopathogenesis, and therapeutics. In: *JAMA* 305 (4), S. 391–399. DOI: 10.1001/jama.2011.10.
- Inoue, A.; Kunitoh, H.; Sekine, I.; Sumi, M.; Tokuyue, K.; Saijo, N. (2001): Radiation pneumonitis in lung cancer patients: a retrospective study of risk factors and the long-term prognosis. In: *International Journal of Radiation Oncology*Biophysics*Physics* 49 (3), S. 649–655. DOI: 10.1016/S0360-3016(00)00783-5.
- Inoue, H.; Sakurai, S.; Yamauchi, K. (1997): Respiratory diseases and nitric oxide. In: *J. Jpn. Soc. Intern. Med* 86 (9), S. 1795–1799. DOI: 10.2169/naika.86.1795.
- InterMune Deutschland GmbH (15.03.2012): Gemeinsamer Bundesausschuss (G-BA) bestätigt abschließend Zusatznutzen von Esbriet® (Pirfenidon). Positives Signal für Patienten mit leichter bis mittelschwerer idiopathischer Lungenfibrose. Berlin. M. Leyck Dieken, InterMune Deutschland GmbH. Online verfügbar unter http://www.intermune.de/pdf/Pressemitteilung_Gemeinsamer%20Bundesausschuss%20%28G-BA%29%20bestaetigt%20abschliessend%20Zusatznutzen%20von%20ESBRIET%20%28Pirfenidon%29_150312.pdf, zuletzt geprüft am 24.09.2014.

International Society for Heart & Lung Transplantation (2014): Adult Lung Transplantation Statistics. ISHLT-International Society for Heart & Lung Transplantation. Online verfügbar unter <http://www.isHLT.org/registries/slides.asp?slides=heartLungRegistry>, zuletzt geprüft am 28.08.2014.

Ishikawa, N.; Hattori, N.; Yokoyama, A.; Kohno, N. (2012): Utility of KL-6/MUC1 in the clinical management of interstitial lung diseases. In: *Respir Invest* 50 (1), S. 3–13. DOI: 10.1016/j.resinv.2012.02.001.

Iwai, K.; Mori, T.; Yamada, N.; Yamaguchi, M.; Hosoda, Y. (1994): Idiopathic Pulmonary Fibrosis Epidemiologic Approaches to Occupational Exposure. In: *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* (150), S. 670-5. DOI: 10.1164/ajrccm.150.3.8087336.

Jackson, A. S.; Sandrini, A.; Campbell, C.; Chow, S.; Thomas, P. S.; Yates, D. H. (2007): Comparison of biomarkers in exhaled breath condensate and bronchoalveolar lavage. In: *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 175 (3), S. 222–227. DOI: 10.1164/rccm.200601-107OC.

Jacobi, J.; Maas, R.; Cordasic, N.; Koch, K.; Schmieder, R. E.; Böger, R. H.; Hilgers, K. F. (2008): Role of asymmetric dimethylarginine for angiotensin II-induced target organ damage in mice. In: *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 294 (2), S. 1058–1066. DOI: 10.1152/ajpheart.01103.2007.

Jain, B.; Rubinstein, I.; Robbins, R. A.; Leise, K. L.; Sisson, J. H. (1993): Modulation of airway epithelial cell ciliary beat frequency by nitric oxide. In: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 191 (1), S. 83–88. DOI: 10.1006/bbrc.1993.1187.

Janicka, M.; Kot-Wasik, A.; Kot, J.; Namieśnik, J. (2010): Isoprostanes-biomarkers of lipid peroxidation: their utility in evaluating oxidative stress and analysis. In: *Int J Mol Sci* 11 (11), S. 4631–4659. DOI: 10.3390/ijms11114631.

Janssen, L. J. (2001): Isoprostanes: an overview and putative roles in pulmonary pathophysiology. In: *American Journal of Physiology* 280, S. 1067–1082. Online verfügbar unter <http://ajplung.physiology.org/content/280/6/L1067.full-text.pdf+html>, zuletzt geprüft am 18.07.2014.

Janssen, W.; Pullamsetti, S. S.; Cooke, J.; Weissmann, N.; Guenther, A.; Schermuly, R. T. (2013): The role of dimethylarginine dimethylaminohydrolase (DDAH) in pulmonary fibrosis. In: *J. Pathol.* 229 (2), S. 242–249. DOI: 10.1002/path.4127.

Jenkins, D. C.; Charles, I. G.; Thomsen, L. L.; Moss, D. W.; Holmes, L. S.; Baylis, S. A. et al. (1995): Roles of nitric oxide in tumor growth. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences* 92 (10), S. 4392–4396. DOI: 10.1073/pnas.92.10.4392.

Johkoh, T.; Müller, N. L.; Cartier, Y.; Kavanagh, P. V.; Hartman, T. E.; Akira, M. et al. (1999a): Idiopathic Interstitial Pneumonias: Diagnostic Accuracy of thin-Section CT in 129 Patients. In: *Radiology* 211, S. 555–560. DOI: 10.1148/radiology.211.2.r99ma01555.

Johkoh, T.; Müller, N. L.; Taniguchi, H.; Kondoh, Y.; Akira, M.; Ichikado, K. et al. (1999b): Acute interstitial pneumonia: thin-section CT findings in 36 patients. In: *Radiology* 211 (3), S. 859–863. DOI: 10.1148/radiology.211.3.r99jn04859.

Johnson, G., R.; Morawska, L. (2009): The mechanism of breath aerosol formation. In: *J Aerosol Med Pulm Drug Deliv* 22 (3), S. 229–237. DOI: 10.1089/jamp.2008.0720.

Jourdan, K. B.; Mitchell, J. A.; Evans, T. W. (1997): Release of isoprostanes by human pulmonary artery in organ culture: a cyclo-oxygenase and nitric oxide dependent pathway. In: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 233 (3), S. 668–672. DOI: 10.1006/bbrc.1997.6523.

- Kadota, J.; Mizunoe, S.; Mito, K.; Mukae, H.; Yoshioka, S.; Kawakami, K. et al. (2005): High plasma concentrations of osteopontin in patients with interstitial pneumonia. In: *Respiratory Medicine* 99 (1), S. 111–117. DOI: 10.1016/j.rmed.2004.04.018.
- Kallianos, A.; Tsimpoukis, S.; Zarogoulidis, P.; Darwiche, K.; Charpidou, A.; Tsioulis, I. et al. (2013): Measurement of exhaled alveolar nitrogen oxide in patients with lung cancer: a friend from the past still precious today. In: *Oncology Targets Ther* 6, S. 609–613. DOI: 10.2147/OTT.S44087.
- Kanamori, H.; Fujisawa, S.; Tsuburai, T.; Yamaji, S.; Tomita, N.; Fujimaki, K. et al. (2002): Increased exhaled nitric oxide in bronchiolitis obliterans organizing pneumonia after allogeneic bone marrow transplantation. In: *Transplantation* 74 (9), S. 1356–1358. DOI: 10.1097/01.TP.0000027946.18349.CA.
- Kang, K. H.; Morrow, J. D.; Roberts, L. J.; Newman, J. H.; Banerjee, M. (1993): Airway and vascular effects of 8-epi-prostaglandin F2 alpha in isolated perfused rat lung. In: *Journal of Applied Physiology* 74, S. 460–465. Online verfügbar unter <http://jap.physiology.org/content/jap/74/1/460.full.pdf>, zuletzt geprüft am 17.07.2014.
- Katzenstein, A. L.; Myers, J. L. (1998): Idiopathic pulmonary fibrosis: clinical relevance of pathologic classification. In: *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 157 (4), S. 1301–1315. DOI: 10.1164/ajrccm.157.4.9707039.
- Katzenstein, A.-L.; Fiorelli, R., F. (1994): Nonspecific Interstitial Pneumonia/Fibrosis. Histologic Features and Clinical Significance. In: *The American Journal of Surgical Pathology* 18 (2), S. 136–147. DOI: 10.1097/00000478-199402000-00003.
- Katzenstein, A.-L. A.; Myers, J. L.; Mazur, M. T. (1986): Acute Interstitial Pneumonia. A Clinicopathologic, Ultrastructural, and Cell Kinetic Study. In: *The American Journal of Surgical Pathology* 10 (4), S. 256–267. DOI: 10.1097/00000478-198604000-00004.
- Kawahara, K.; Hohjoh, H.; Inazumi, T.; Tsuchiya, S.; Sugimoto, Y. (2014): Prostaglandin E2-induced inflammation: Relevance of prostaglandin E receptors. In: *Biochim. Biophys. Acta* 1851 (4), S. 414–421. DOI: 10.1016/j.bbali.2014.07.008.
- Kawikova, I.; Barnes, P. J.; Takahashi, T.; Tadjkarimi, S.; Yacoub, M. H.; Belvisi, M. G. (1996): 8-Epi-PGF2 alpha, a novel noncyclooxygenase-derived prostaglandin, constricts airways in vitro. In: *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 153 (2), S. 590–596. DOI: 10.1164/ajrccm.153.2.8564103.
- Kharitonov, S. A. (2004): Exhaled markers of inflammatory lung diseases: ready for routine monitoring? In: *Swiss Med Wkly* 13-14 (134), S. 175–192. Online verfügbar unter http://www-fr.redi-bw.de/links/?rl_site=ubgie&sid=Entrez:PubMed&id=pmid:15106031, zuletzt geprüft am 04.08.2014.
- Kharitonov, S. A.; Barnes, P. J. (2001): Exhaled markers of pulmonary disease. In: *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 163 (7), S. 1693–1722. DOI: 10.1164/ajrccm.163.7.2009041.
- Kharitonov, S. A.; Barnes, P. J. (2006): Exhaled biomarkers. In: *Chest* 130 (5), S. 1541–1546. DOI: 10.1378/chest.130.5.1541.
- Kharitonov, S. A.; Chung, K. F.; Evans, D.; O'Connor, B. J.; Barnes, P. J. (1996): Increased exhaled nitric oxide in asthma is mainly derived from the lower respiratory tract. In: *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 153 (6 Pt 1), S. 1773–1780. DOI: 10.1164/ajrccm.153.6.8665033.

- Kharitonov, S. A.; Gonio, F.; Kelly, C.; Meah, S.; Barnes, P. J. (2003): Reproducibility of exhaled nitric oxide measurements in healthy and asthmatic adults and children. In: *European Respiratory Journal* 21 (3), S. 433–438. DOI: 10.1183/09031936.03.00066903a.
- Kharitonov, S. A.; Robbins, R. A.; Yates, D.; Keatings, V.; Barnes, P. J. (1995a): Acute and chronic effects of cigarette smoking on exhaled nitric oxide. In: *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 152 (2), S. 609–612. DOI: 10.1164/ajrccm.152.2.7543345.
- Kharitonov, S. A.; Sapienza, M. A.; Barnes, P. J.; Chung, K. F. (1998): Prostaglandins E2 and F2alpha reduce exhaled nitric oxide in normal and asthmatic subjects irrespective of airway caliber changes. In: *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 158, S. 1374–1378. DOI: 10.1164/ajrccm.158.5.9707076.
- Kharitonov, S. A.; Yates, D.; Barnes, P. J. (1995b): Increased nitric oxide in exhaled air of normal human subjects with upper respiratory tract infections. In: *European Respiratory Journal* 8 (2), S. 295–297. DOI: 10.1183/09031936.95.08020295.
- Kharitonov, S.A; Yates, D. H.; Springall, D.R; Buttery, L.; Polak, J.; Robbins, R.A; Barnes, P.J: Exhaled Nitric Oxide Is Increased in Asthma. In: *Chest* 1995 (107), S. 156–157.
Online verfügbar unter
<http://journal.publications.chestnet.org/article.aspx?articleid=1068534>, zuletzt geprüft am 30.01.2014.
- Kim, D. S.; Collard, H. R.; King, T. E. (2006): Classification and natural history of the idiopathic interstitial pneumonias. In: *Proc Am Thorac Soc* 3 (4), S. 285–292. DOI: 10.1513/pats.200601-005TK.
- Kinder, B. W.; Brown, K. K.; McCormack, F. X.; Ix, J. H.; Kervitsky, A.; Schwarz, M. I.; King, T. E. (2009): Serum surfactant protein-A is a strong predictor of early mortality in idiopathic pulmonary fibrosis. In: *Chest* 135 (6), S. 1557–1563. DOI: 10.1378/chest.08-2209.
- King, T. E. (1992): Cryptogenic Organizing Pneumonitis. The North American Experience. In: *Chest* 102 (1), S. 8–13. DOI: 10.1378/chest.102.1_Supplement.8S.
- King, T. E.; Brown, K. K.; Raghu, G.; du Bois, R. M; Lynch, D. A.; Martinez, F. et al. (2011): BUILD-3: a randomized, controlled trial of bosentan in idiopathic pulmonary fibrosis. In: *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 184 (1), S. 92–99. DOI: 10.1164/rccm.201011-1874OC.
- King, T. E.; Tooze, J. A.; Schwarz, M. I.; Brown, K. R.; Cherniack, R. M. (2001): Predicting Survival in Idiopathic Pulmonary Fibrosis. Scoring System and Survival Model. In: *Am J Respir Crit Care Med* 2001 (164), S. 1171–1181. DOI: 10.1164/ajrccm.164.7.2003140.
- Ko, F. W. S.; Lau, C. Y. K.; Leung, T. F.; Wong, G. W.; Lam, C. W. K.; Hui, D. S. C. (2006): Exhaled breath condensate levels of 8-isoprostane, growth related oncogene alpha and monocyte chemoattractant protein-1 in patients with chronic obstructive pulmonary disease. In: *Respir Med* 100 (4), S. 630–638. DOI: 10.1016/j.rmed.2005.08.009.
- Kohno, N.; Awaya, Y.; Oyama, T.; Yamakido, M.; Akiyama, M.; Inoue, Y. et al. (1993): KL-6, a mucin-like glycoprotein, in bronchoalveolar lavage fluid from patients with interstitial lung disease. In: *Am Rev Respir Dis* 148 (3), S. 637–642. DOI: 10.1164/ajrccm/148.3.637.
- Kojima, F.; Naraba, H.; Sasaki, Y.; Okamoto, R.; Koshino, T.; Kawai, S. (2002): Coexpression of microsomal prostaglandin E synthase with cyclooxygenase-2 in human

rheumatoid synovial cells. In: *J Rheumatol.* 9 (29), S. 1836–1842. Online verfügbar unter <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12233875>, zuletzt geprüft am 14.10.2014.

Kokkarinen, J. I.; Tukiainen, H. O.; Terho, E. O. (1993): Recovery of pulmonary function in farmer's lung. A five-year follow-up study. In: *Am. Rev. Respir. Dis.* 147 (4), S. 793–796. DOI: 10.1164/ajrccm/147.4.793.

Königshoff, M.; Wilhelm, A.; Jahn, A.; Sedding, D.; Amarie, O. V.; Eul, B. et al. (2007): The angiotensin II receptor 2 is expressed and mediates angiotensin II signaling in lung fibrosis. In: *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 37 (6), S. 640–650. DOI: 10.1165/rcmb.2006-0379TR.

Korfei, M.; Ruppert, C.; Mahavadi, P.; Henneke, I.; Markart, P.; Koch, M. et al. (2008): Epithelial endoplasmic reticulum stress and apoptosis in sporadic idiopathic pulmonary fibrosis. In: *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 178 (8), S. 838–846. DOI: 10.1164/rccm.200802-313OC.

Korfei, M.; von der Beck, D.; Henneke, I.; Markart, P.; Ruppert, C.; Mahavadi, P. et al. (2013): Comparative proteome analysis of lung tissue from patients with idiopathic pulmonary fibrosis (IPF), non-specific interstitial pneumonia (NSIP) and organ donors. In: *J Proteomics* 85, S. 109–128. DOI: 10.1016/j.jprot.2013.04.033.

Kostikas, K.; Papatheodorou, G.; Psathakis, K.; Panagou, P.; Loukides, S. (2003a): Oxidative Stress in Expired Breath Condensate of Patients With COPD. In: *Chest* 124 (4), S. 1373–1380. DOI: 10.1378/chest.124.4.1373.

Kostikas, K.; Papatheodorou, G.; Psathakis, K.; Panagou, P.; Loukides, S. (2003b): Prostaglandin E2 in the expired breath condensate of patients with asthma. In: *European Respiratory Journal* 22, S. 743–747. DOI: 10.1183/09031936.03.00000603.

Kubáň, P.; Foret, F. (2013): Exhaled breath condensate: determination of non-volatile compounds and their potential for clinical diagnosis and monitoring. A review. In: *Anal. Chim. Acta* 805, S. 1–18. DOI: 10.1016/j.aca.2013.07.049.

Kuwano, K.; Nakashima, N.; Inoshima, I.; Hagimoto, N.; Fujita, M.; Yoshimi, M. et al. (2003): Oxidative stress in lung epithelial cells from patients with idiopathic interstitial pneumonias. In: *European Respiratory Journal* 21 (2), S. 232–240. DOI: 10.1183/09031936.03.00063203.

Lakari, E.; Soini, Y.; Säily, M.; Koistinen, P.; Pääkkö, P.; Kinnula, V. L. (2002): Inducible nitric oxide synthase, but not xanthine oxidase, is highly expressed in interstitial pneumonias and granulomatous diseases of human lung. In: *Am. J. Clin. Pathol.* 117 (1), S. 132–142. DOI: 10.1309/3VNP-TWFQ-HT9A-1QH8.

Landino, L. M.; Crews, B. C.; Timmons, M. D.; Morrow, J. D.; Marnett, L. J. (1996): Peroxynitrite, the coupling product of nitric oxide and superoxide, activates prostaglandin biosynthesis. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences* 93 (26), S. 15069–15074. DOI: 10.1073/pnas.93.26.15069.

Laurentiis, G. de; Maniscalco, M.; Cianciulli, F.; Stanziola, A.; Marsico, S.; Lundberg, J. O. et al. (2008): Exhaled nitric oxide monitoring in COPD using a portable analyzer. In: *Pulm Pharmacol Ther* 21 (4), S. 689–693. DOI: 10.1016/j.pupt.2008.04.006.

Lauretis, A.; Veeraraghavan, S.; Renzoni, E. (2011): Review series: Aspects of interstitial lung disease: connective tissue disease-associated interstitial lung disease: how does it differ from IPF? How should the clinical approach differ? In: *Chron Respir Dis* 8 (1), S. 53–82. DOI: 10.1177/1479972310393758.

- Lee, K. S.; Kullnig, P.; Hartman, T. E.; Muller, N. L. (1994): Cryptogenic organizing pneumonia: CT findings in 43 patients. In: *AJR Am J Roentgenol* 162 (3), S. 543–546. DOI: 10.2214/ajr.162.3.8109493.
- Lehtimäki, L.; Kankaanranta, H.; Saarelainen, S.; Annala, I.; Aine, T.; Nieminen, R.; Moilanen, E. (2010): Bronchial nitric oxide is related to symptom relief during fluticasone treatment in COPD. In: *Eur. Respir. J.* 35 (1), S. 72–78. DOI: 10.1183/09031936.00177508.
- Lehtimäki, L.; Kankaanranta, H.; Saarelainen, S.; Hahtola, P.; Järvenpää, R.; Koivula, T. et al. (2001): Extended exhaled NO measurement differentiates between alveolar and bronchial inflammation. In: *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 163 (7), S. 1557–1561. DOI: 10.1164/ajrccm.163.7.2010171.
- Lehtimäki, L.; Turjanmaa, V.; Kankaanranta, H.; Saarelainen, S.; Hahtola, P.; Moilanen, E. (2000): Increased bronchial nitric oxide production in patients with asthma measured with a novel method of different exhalation flow rates. In: *Ann Med* 32 (6), S. 417–423. DOI: 10.3109/07853890008995949.
- Leigh, R.; Pizzichini, M M M; Morris, M. M.; Maltais, F.; Hargreave, F. E.; Pizzichini, E. (2006): Stable COPD: predicting benefit from high-dose inhaled corticosteroid treatment. In: *Eur. Respir. J.* 27 (5), S. 964–971. DOI: 10.1183/09031936.06.00072105.
- Leiper, J.; Sana Maria, J.; Chubb, A.; MacAllister, R. J.; Charles, I. G.; Whitley, G. J.; Vallance, P. (1999): Identification of two human dimethylarginine dimethylaminohydrolases with distinct tissue distributions and homology with microbial arginine deiminases. In: *Biochem. J.* 343 (1), S. 209–214. DOI: 10.1042/0264-6021:3430209.
- Leung, T. F.; Chung, Y. L.; Yung, E.; Liu, E. K H; Lam, C. W K; Wong, G. W K (2006): Clinical and technical factors affecting pH and other biomarkers in exhaled breath condensate. In: *Pediatr. Pulmonol.* 41 (1), S. 87–94. DOI: 10.1002/ppul.20296.
- Liang, Y.; Yeligar, S. M.; Brown, L. A. (2012): Exhaled Breath Condensate: A Promising Source for Biomarkers of Lung Disease. In: *The Scientific World Journal* 2012 (11), S. 1–7. DOI: 10.1100/2012/217518.
- Lieberman, J. (1975): Elevation of serum angiotension-converting-enzyme (ACE) level in sarcoidosis. In: *The American Journal of Medicine* 59 (3), S. 365–372. DOI: 10.1016/0002-9343(75)90395-2.
- Liebow, A. A.; Steer, A.; Billingsley, J. G. (1965): Desquamative Interstitial Pneumonia. In: *American Journal of Medicine* 39, S. 369–404. DOI: 10.7326/0003-4819-74-3-322.
- Lin, K. Y.; Ito, A.; Asagami, T.; Tsao, P. S.; Adimoolam, S.; Kimoto, M. et al. (2002): Impaired Nitric Oxide Synthase Pathway in Diabetes Mellitus: Role of Asymmetric Dimethylarginine and Dimethylarginine Dimethylaminohydrolase. In: *Circulation* 106 (8), S. 987–992. DOI: 10.1161/01.CIR.0000027109.14149.67.
- Liu, C-Y; Wang, C-H; Chen, T-C; Lin, H-C; Yu, C-T; Kuo, H-P (1998): Increased level of exhaled nitric oxide and up-regulation of inducible nitric oxide synthase in patients with primary lung cancer. In: *Br J Cancer* 78 (4), S. 534–541. DOI: 10.1038/bjc.1998.528.
- Lührs, H.; Papadopoulos, T.; Schmidt, H.H.H.W; Menzel, T. (2002): Type I nitric oxide synthase in the human lung is predominantly expressed in capillary endothelial cells. In: *Respiration Physiology* 129 (3), S. 367–374. DOI: 10.1016/S0034-5687(01)00323-1.
- Lüllmann-Rauch, R. (2003): *Tschenlehrbuch Histologie*. 2. Aufl. Stuttgart: Thieme.

- Lundberg, J.O.N.; Farkas-Szallasi, T.; Weitzberg, E.; Rinder, J.; Lidholm, J.; Ånggård, A. et al. (1995): High nitric oxide production in human paranasal sinuses. In: *Nat Med* 1 (4), S. 370–373. DOI: 10.1038/nm0495-370.
- Machado, R. F.; Londhe, N.; Medha-V.; Dweik, R. A.; Hammel, J.; Janocha, A.; Pyle, J. et al. (2004): Nitric oxide and pulmonary arterial pressures in pulmonary hypertension. In: *Free Radic. Biol. Med.* 37 (7), S. 1010–1017. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2004.06.039.
- Maher, T. M.; Evans, I. C.; Bottoms, S. E.; Mercer, P. F.; Thorley, A. J.; NICHOLSON, A. G. et al. (2010): Diminished prostaglandin E2 contributes to the apoptosis paradox in idiopathic pulmonary fibrosis. In: *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 182 (1), S. 73–82. DOI: 10.1164/rccm.200905-0674OC.
- Makris, D.; Paraskakis, E.I.; Korakas, P.; Karagiannakis, E.; Sourvinos, G.; Siafakas, N. M.; Tzanakis, N. (2008): Exhaled breath condensate 8-isoprostane, clinical parameters, radiological indices and airway inflammation in COPD. In: *Respiration* 75 (2), S. 138–144. DOI: 10.1159/000106377.
- Marchand-Adam, S.; Fabre, A.; Mailleux, A. A.; Marchal, J.; Quesnel, C.; Kataoka, H. et al. (2006): Defect of pro-hepatocyte growth factor activation by fibroblasts in idiopathic pulmonary fibrosis. In: *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 174 (1), S. 58–66. DOI: 10.1164/rccm.200507-1074OC.
- Markart, P.; Nass, R.; Ruppert, C.; Hundack, L.; Wygrecka, M.; Korfei, M. et al. (2010): Safety and tolerability of inhaled heparin in idiopathic pulmonary fibrosis. In: *J Aerosol Med Pulm Drug Deliv* 23 (3), S. 161–172. DOI: 10.1089/jamp.2009.0780.
- Marshall, R. P.; Puddicombe, A.; Cookson, W. O. C.; Laurent, G. J. (2000): Adult familial cryptogenic fibrosing alveolitis in the United Kingdom. In: *Thorax* 55, S. 143–146. DOI: 10.1136/thorax.55.2.143.
- Martinez, F. J.; de Andrade, J. A.; Anstrom, K. J.; King, T., E.; Raghu, G. (2014): Randomized trial of acetylcysteine in idiopathic pulmonary fibrosis. In: *N. Engl. J. Med.* 370 (22), S. 2093–2101. DOI: 10.1056/NEJMoa1401739.
- Martinez, T. J.; Pereira, C.A.C.; Dos Santos, M. L.; Ciconelli, R. M.; Guimaraes, S. M.; Martinez, J. A. B. (2000): Evaluation of the Short-Form 36-Item Questionnaire to Measure Health-Related Quality of Life in Patients With Idiopathic pulmonary Fibrosis. In: *Chest* 2000 (117), S. 1627–1632. DOI: 10.1378/chest.117.6.1627.
- Masri, F. (2010): Role of nitric oxide and its metabolites as potential markers in lung cancer. In: *Ann Thorac Med* 5 (3), S. 123–127. DOI: 10.4103/1817-1737.65036.
- Matsumoto, Y.; Ueda, S.; Yamagishi, S.; Matsuguma, K.; Shibata, R.; Fukami, K. et al. (2007): Dimethylarginine dimethylaminohydrolase prevents progression of renal dysfunction by inhibiting loss of peritubular capillaries and tubulointerstitial fibrosis in a rat model of chronic kidney disease. In: *J. Am. Soc. Nephrol.* 18 (5), S. 1525–1533. DOI: 10.1681/ASN.2006070696.
- Maziak, W.; Loukides, S.; Culpitt, S.; Sullivan, P.; Kharitonov, S.A.; Barnes, P.J (1998): Exhaled Nitric Oxide in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. In: *Am J Respir Crit Care Med* 1998 (157), S. 998–1002, zuletzt geprüft am 31.01.2014.
- McCurnin, D. C.; Pierce, R. A.; Chang, L. Y.; Gibson, L. L.; Osborne-Lawrence, S.; Yoder, B. A. et al. (2005): Inhaled NO improves early pulmonary function and modifies lung growth and elastin deposition in a baboon model of neonatal chronic lung disease. In: *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 288 (3), S. 450–459. DOI: 10.1152/ajplung.00347.2004.

- Meijer, R. J.; Postma, D. S.; Kauffman, H. F.; Arends, L. R.; Koeter, G. H.; Kerstjens, H. A. M. (2002): Accuracy of eosinophils and eosinophil cationic protein to predict steroid improvement in asthma. In: *Clin Exp Allergy* 32 (7), S. 1096–1103. DOI: 10.1046/j.1365-2222.2002.01412.x.
- Meurs, H.; McKay, S.; Maarsingh, H.; Hamer, M. A M; Macic, L.; Molendijk, N.; Zaagsma, J. (2002): Increased arginase activity underlies allergen-induced deficiency of cNOS-derived nitric oxide and airway hyperresponsiveness. In: *Br. J. Pharmacol.* 136 (3), S. 391–398. DOI: 10.1038/sj.bjp.0704725.
- Miyazaki, H.; Matsuoka, H.; Cooke, J. P.; Usui, M.; Ueda, S.; Okuda, S.; Imaizumi, T. (1999): Endogenous Nitric Oxide Synthase Inhibitor. A Novel Marker of Atherosclerosis. In: *Circulation* 99 (9), S. 1141–1146. DOI: 10.1161/01.CIR.99.9.1141.
- Moeller, A.; Gilpin, S. E.; Ask, K.; Cox, G.; Cook, D.; Gauldie, J. et al. (2009): Circulating fibrocytes are an indicator of poor prognosis in idiopathic pulmonary fibrosis. In: *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 179 (7), S. 588–594. DOI: 10.1164/rccm.200810-1534OC.
- Moncada, S. (1999): Nitric oxide: discovery and impact on clinical medicine. In: *Journal of the Royal Society of Medicine* 92 (4), S. 164–169. Online verfügbar unter <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1297136/pdf/jrsocmed00010-0012.pdf>, zuletzt geprüft am 31.07.2014.
- Moncada, S.; Higgs, A. (1993): The L-arginine-nitric oxide pathway. In: *N. Engl. J. Med.* 329 (27), S. 2002–2012. DOI: 10.1056/NEJM199312303292706.
- Moncada, S.; Palmer, R. M. J.; Higgs, E. A. (1991): Nitric Oxide: Physiology, Pathophysiology, and Pharmacology. In: *Pharmacological Reviews* 1991 (43), S. 109–134, zuletzt geprüft am 30.01.2014.
- Montuschi, P. (2005): Exhaled breath condensate analysis in patients with COPD. In: *Clin. Chim. Acta* 356 (1-2), S. 22–34. DOI: 10.1016/j.cccn.2005.01.012.
- Montuschi, P.; Barnes, P. J.; Roberts, L. J. (2004): Isoprostanes: markers and mediators of oxidative stress. In: *FASEB J.* 18 (15), S. 1791–1800. DOI: 10.1096/fj.04-2330rev.
- Montuschi, P.; Ciabattoni, G.; Paredi, P.; Pantelidis, P.; Du Bois, R M; Kharitonov, S. A.; Barnes, P. J. (1998): 8-Isoprostane as a biomarker of oxidative stress in interstitial lung diseases. In: *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 158 (5 Pt 1), S. 1524–1527. DOI: 10.1164/ajrccm.158.5.9803102.
- Montuschi, P.; Collins, J. V.; Ciabattoni, G.; Lazzeri, N.; Corradi, M.; Kharitonov, S. A.; Barnes, P. J. (2000): Exhaled 8-isoprostane as an in vivo biomarker of lung oxidative stress in patients with COPD and healthy smokers. In: *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 162 (3 Pt 1), S. 1175–1177. DOI: 10.1164/ajrccm.162.3.2001063.
- Montuschi, P.; Corradi, M.; Ciabattoni, G.; Nightingale, J.; Kharitonov, S. A.; Barnes, P. J. (1999): Increased 8-isoprostane, a marker of oxidative stress, in exhaled condensate of asthma patients. In: *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 160 (1), S. 216–220. DOI: 10.1164/ajrccm.160.1.9809140.
- Montuschi, P.; Kharitonov, S. A.; Ciabattoni, G.; Barnes, P. J. (2003): Exhaled leukotrienes and prostaglandins in COPD. In: *Thorax* 58 (7), S. 585–588. DOI: 10.1136/thorax.58.7.585.
- Montuschi, P.; Macagno, F.; Parente, P.; Valente, S.; Lauriola, L.; Ciappi, G. et al. (2005): Effects of cyclo-oxygenase inhibition on exhaled eicosanoids in patients with COPD. In: *Thorax* 60 (10), S. 827–833. DOI: 10.1136/thx.2004.035592.

- Moore, B. B.; Ballinger, M. N.; White, E. S.; Green, M. E.; Herrygers, A. B.; Wilke, C. A. et al. (2005): Bleomycin-Induced E Prostanoid Receptor Changes Alter Fibroblast Responses to Prostaglandin E₂. In: *The Journal of Immunology* 174 (9), S. 5644–5649. DOI: 10.4049/jimmunol.174.9.5644.
- Morrow, J. D.; Awad, J. A.; Boss, H. J.; Blair, I. A.; Roberts, L. J. (1992): Non-cyclooxygenase-derived prostanoids (F₂-isoprostanes) are formed in situ on phospholipids. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences* 89 (22), S. 10721–10725. DOI: 10.1073/pnas.89.22.10721.
- Morrow, J. D.; Hill, K. E.; Burk, R. F.; Nammour, T. M.; Badr, K. F.; Roberts, L. J. (1990): A series of prostaglandin F₂-like compounds are produced in vivo in humans by a non-cyclooxygenase, free radical-catalyzed mechanism. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences* 87 (23), S. 9383–9387. DOI: 10.1073/pnas.87.23.9383.
- Müller, N. L.; Guerry-Force, M. L.; Staples, C. A.; Wright, J. L.; Wiggs, B.; Coppi, C. et al. (1987): Differential diagnosis of bronchiolitis obliterans with organizing pneumonia and usual interstitial pneumonia: clinical, functional, and radiologic findings. In: *Radiology* 162 (1). DOI: 10.1148/radiology.162.1.3786754.
- Mura, M.; Porretta, M. A.; Bargagli, E.; Sergiacomi, G.; Zompatori, M.; Sverzellati, N. et al. (2012): Predicting survival in newly diagnosed idiopathic pulmonary fibrosis: a 3-year prospective study. In: *Eur. Respir. J.* 40 (1), S. 101–109. DOI: 10.1183/09031936.00106011.
- Murray, L. A.; Zhang, H.; Oak, S. R.; Coelho, A. L.; Herath, A.; Flaherty, K. R. et al. (2014): Targeting interleukin-13 with tralokinumab attenuates lung fibrosis and epithelial damage in a humanized SCID idiopathic pulmonary fibrosis model. In: *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 50 (5), S. 985–994. DOI: 10.1165/rcmb.2013-0342OC.
- Mushiroda, T.; Wattanapokayakit, S.; Takahashi, A.; Nukiwa, T.; Kudoh, S.; Ogura, T. et al. (2008): A genome-wide association study identifies an association of a common variant in TERT with susceptibility to idiopathic pulmonary fibrosis. In: *J. Med. Genet.* 45 (10), S. 654–656. DOI: 10.1136/jmg.2008.057356.
- Myers, J. L.; Veal, C. F.; Shin, M. S.; Katzenstein, A. L. (1987): Respiratory Bronchiolitis Causing Interstitial Lung Disease. A Clinicopathologic Study of Six Cases. In: *American Review of Respiratory Disease* 135, S. 880–884. Online verfügbar unter <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Myers+Katzenstein+Veal>, zuletzt geprüft am 08.07.2014.
- Nakagawa, S.; Arai, Y.; Kishida, T.; Hiraoka, N.; Tsuchida, S.; Inoue, H. et al. (2012): Lansoprazole inhibits nitric oxide and prostaglandin E₂ production in murine macrophage RAW 264.7 cells. In: *Inflammation* 35 (3), S. 1062–1068. DOI: 10.1007/s10753-011-9412-7.
- Nalysnyk, L.; Cid-Ruzafa, J.; Rotella, P.; Esser, D. (2012): Incidence and prevalence of idiopathic pulmonary fibrosis: review of the literature. In: *Eur Respir Rev* 21 (126), S. 355–361. DOI: 10.1183/09059180.00002512.
- Narumiya, S.; Sugimoto, Y.; Ushikubi, F. (1999): Prostanoid receptors: structures, properties, and functions. In: *Physiol Rev.* 79 (4), S. 1193–1226. Online verfügbar unter <http://physrev.physiology.org/content/79/4/1193.full-text.pdf+html>, zuletzt geprüft am 14.10.2014.

- Nava, S.; Rubini, F. (1999): Lung and chest wall mechanics in ventilated patients with end stage idiopathic pulmonary fibrosis. In: *Thorax* 1999 (54), S. 390–395. DOI: 10.1136/thx.54.5.390.
- Niewoehner, D. E.; Kleinerman, J.; Rice, D. B. (1974): Pathologic changes in the peripheral airways of young cigarette smokers. In: *N. Engl. J. Med.* 291 (15), S. 755–758. DOI: 10.1056/NEJM197410102911503.
- Nkyimbeng, T.; Ruppert, C.; Shiomi, T.; Dahal, B.; Lang, G.; Seeger, W. et al. (2013): Pivotal role of matrix metalloproteinase 13 in extracellular matrix turnover in idiopathic pulmonary fibrosis. In: *PLoS ONE* 8 (9), S. 1–14. DOI: 10.1371/journal.pone.0073279.
- Noble, P. W.; Albera, C.; Bradford, W. Z.; Costabel, U.; Glassberg, M. K.; Kardatzke, D. et al. (2011): Pirfenidone in patients with idiopathic pulmonary fibrosis (CAPACITY): two randomised trials. In: *The Lancet* 377 (9779), S. 1760–1769. DOI: 10.1016/S0140-6736(11)60405-4.
- Nogee, L. M.; Dunbar, A. E.; Wert, S. E.; Askin, F.; Hamvas, A.; Whitsett, J. A. (2001): A mutation in the surfactant protein C gene associated with familial interstitial lung disease. In: *N. Engl. J. Med.* 344 (8), S. 573–579. DOI: 10.1056/NEJM20010223440805.
- Noth, I.; Anstrom, K., J.; Calvert, S., B.; Andrade, J.; Flaherty, K., R.; Glazer, C. et al. (2012): A placebo-controlled randomized trial of warfarin in idiopathic pulmonary fibrosis. In: *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 186 (1), S. 88–95. DOI: 10.1164/rccm.201202-0314OC.
- Nunes, H.; Soler, P.; Valeyre, D. (2005): Pulmonary sarcoidosis. In: *Allergy* 60 (5), S. 565–582. DOI: 10.1111/j.1398-9995.2005.00778.x.
- O'Donnell, D. M.; Moynihan, J.; Finlay, G. A.; Keatings, V. M.; O'Connor, C. M.; McLoughlin, P.; FitzGerald, M. X. (1997): Exhaled nitric oxide and bronchoalveolar lavage nitrite/nitrate in active pulmonary sarcoidosis. In: *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 156 (6), S. 1892–1896. DOI: 10.1164/ajrccm.156.6.9705013.
- Ohshimo, S.; Yokoyama, A.; Hattori, N.; Ishikawa, N.; Hirasawa, Y.; Kohno, N. (2005): KL-6, a human MUC1 mucin, promotes proliferation and survival of lung fibroblasts. In: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 338 (4), S. 1845–1852. DOI: 10.1016/j.bbrc.2005.10.144.
- Okunishi, K.; Sisson, T. H.; Huang, S. K.; Hogaboam, C. M.; Simon, R. H.; Peters-Golden, M. (2011): Plasmin overcomes resistance to prostaglandin E2 in fibrotic lung fibroblasts by reorganizing protein kinase A signaling. In: *J. Biol. Chem.* 286 (37), S. 32231–32243. DOI: 10.1074/jbc.M111.235606.
- Olin, A. C.; Rosengren, A.; Thelle, D. S.; Lissner, L.; Bake, B.; Torén, K. (2006): Height, age, and atopy are associated with fraction of exhaled nitric oxide in a large adult general population sample. In: *Chest* 130 (5), S. 1319–1325. DOI: 10.1378/chest.130.5.1319.
- Olin, A.-C.; Bake, B.; Torén, K. (2007): Fraction of exhaled nitric oxide at 50 mL/s: reference values for adult lifelong never-smokers. In: *Chest* 131 (6), S. 1852–1856. DOI: 10.1378/chest.06-2928.
- Olivieri, M.; Talamini, G.; Corradi, M.; Perbellini, L.; Mutti, A.; Tantucci, C.; Malerba, M. (2006): Reference values for exhaled nitric oxide (reveno) study. In: *Respir. Res.* 7, S. 94. DOI: 10.1186/1465-9921-7-94.
- Olson, J.; Colby, Thomas V.; Elliott, C. G. (1990): Hamman-Rich Syndrome Revisited. In: *Mayo Clin. Proc.* 65, S. 1538–1548. DOI: 10.1016/S0025-6196(12)62187-9.

- Osoata, G. O.; Hanazawa, T.; Brindicci, C.; Ito, M.; Barnes, P. J.; Kharitonov, S.; Ito, K. (2009): Peroxynitrite elevation in exhaled breath condensate of COPD and its inhibition by fudosteine. In: *Chest* 135 (6), S. 1513–1520. DOI: 10.1378/chest.08-2105.
- Ozaki, T.; Rennard, S. I.; Crystal, R. G. (1987): Cyclo-oxygenase metabolites are compartmentalized in the human lower respiratory tract. In: *Journal of Applied Physiology* 62, S. 219–222. Online verfügbar unter <http://jap.physiology.org/content/jap/62/1/219.full.pdf>, zuletzt geprüft am 02.09.2015.
- Palm, F.; Onozato, M. L.; Luo, Z.; Wilcox, C. S. (2007): Dimethylarginine dimethylaminohydrolase (DDAH): expression, regulation, and function in the cardiovascular and renal systems. In: *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 293 (6), S. 3227–3245. DOI: 10.1152/ajpheart.00998.2007.
- Pardo, A.; Gibson, K.; Cisneros, J.; Richards, T. J.; Yang, Y.; Becerril, C. et al. (2005): Up-regulation and profibrotic role of osteopontin in human idiopathic pulmonary fibrosis. In: *PLoS Med.* 2 (9), S. 891–903. DOI: 10.1371/journal.pmed.0020251.
- Paredi, P.; Kharitonov, S. A.; Loukides, S.; Pantelidis, P.; du Bois, R. M.; Barnes, P. J. (1999): Exhaled Nitric Oxide Is Increased in Active Fibrosing Alveolitis*. In: *Chest* 115 (5), S. 1352–1356. DOI: 10.1378/chest.115.5.1352.
- Patrono, C.; FitzGerald, G. A. (1997): Isoprostanes: Potential Markers of Oxidant Stress in Atherothrombotic Disease. In: *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 17 (11), S. 2309–2315. DOI: 10.1161/01.ATV.17.11.2309.
- Pedroletti, C.; Högman, M.; Meriläinen, P.; Nordvall, L. S.; Hedlin, G.; Alving, K. (2003): Nitric oxide airway diffusing capacity and mucosal concentration in asthmatic schoolchildren. In: *Pediatr. Res.* 54 (4), S. 496–501. DOI: 10.1203/01.PDR.0000081761.33822.36.
- Pérez-Padilla, R.; Gaxiola, M.; Salas, J.; Mejía, M.; Ramos, C.; Selman, M. (1996): Bronchiolitis in Chronic Pigeon Breeder's Disease. In: *Chest* 110 (2), S. 371. DOI: 10.1378/chest.110.2.371.
- Phillips, R. J.; Burdick, M. D.; Hong, K.; Lutz, M. A.; Murray, L. A.; Xue, Y. Y. et al. (2004): Circulating fibrocytes traffic to the lungs in response to CXCL12 and mediate fibrosis. In: *J. Clin. Invest.* 114 (3), S. 438–446. DOI: 10.1172/JCI20997.
- Pignatelli, B.; Li, C. Q.; Boffetta, P.; Chen, Q.; Ahrens, W.; Nyberg, F. et al. (2001): Nitrated and oxidized plasma proteins in smokers and lung cancer patients. In: *Cancer Res* 61 (2), S. 778–784. Online verfügbar unter <http://cancerres.aacrjournals.org/content/61/2/778.full.pdf+html>, zuletzt geprüft am 02.10.2014.
- Plessen, C.; Grinde, O.; Gulsvik, A. (2003): Incidence and prevalence of cryptogenic fibrosing alveolitis in a Norwegian community. In: *Respir Med* 2003 (97), S. 428–435. DOI: 10.1053/rmed.2002.1466.
- Powan, P.; Chanvorachote, P. (2014): Nitric oxide mediates cell aggregation and mesenchymal to epithelial transition in anoikis-resistant lung cancer cells. In: *Mol. Cell. Biochem.* 393 (1-2), S. 237–245. DOI: 10.1007/s11010-014-2066-7.
- Prasad, S.; Hogaboam, C. M.; Jarai, G. (2014): Deficient repair response of IPF fibroblasts in a co-culture model of epithelial injury and repair. In: *Fibrogenesis Tissue Repair* 7, S. 7. DOI: 10.1186/1755-1536-7-7.

Prasse, A.; Pechkovsky, D. V.; Toews, G. B.; Jungraithmayr, W.; Kollert, F.; Goldmann, T. et al. (2006): A vicious circle of alveolar macrophages and fibroblasts perpetuates pulmonary fibrosis via CCL18. In: *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 173 (7), S. 781–792. DOI: 10.1164/rccm.200509-1518OC.

Praticò, D.; Lawson, J. A.; Rokach J.; FitzGerald, G. A. (2001): The isoprostanes in biology and medicine. In: *Trends in Endocrinology and Metabolism* 12 (6), S. 243–247. DOI: 10.1016/S1043-2760(01)00411-8.

Psathakis, K.; Mermigkis, D.; Papatheodorou, G.; Loukides, S.; Panagou, P.; Polychronopoulos, V. et al. (2006): Exhaled markers of oxidative stress in idiopathic pulmonary fibrosis. In: *Eur. J. Clin. Invest.* 36 (5), S. 362–367. DOI: 10.1111/j.1365-2362.2006.01636.x.

Psathakis, K.; Papatheodorou, G.; Plataki, M.; Panagou, P.; Loukides, S.; Siafakas, N. M.; Bouros, D. (2004): 8-Isoprostane, a Marker of Oxidative Stress, Is Increased in the Expired Breath Condensate of Patients With Pulmonary Sarcoidosis. In: *Chest* 125 (3), S. 1005–1011. DOI: 10.1378/chest.125.3.1005.

Pullamsetti, S. S.; Savai, R.; Dumitrascu, R.; Dahal, B. K.; Wilhelm, J.; Konigshoff, M. et al. (2011): The role of dimethylarginine dimethylaminohydrolase in idiopathic pulmonary fibrosis. In: *Sci Transl Med* 3 (87), S. 1–12. DOI: 10.1126/scitranslmed.3001725.

Quirce, S.; Lemièrre, C.; Blay, F. de; del Pozo, V.; Gerth Van Wijk, R.; Maestrelli, P. et al. (2010): Noninvasive methods for assessment of airway inflammation in occupational settings. In: *Allergy* 65 (4), S. 445–458. DOI: 10.1111/j.1398-9995.2009.02274.x.

Raghu, G.; Anstrom, K. J.; King, T. E.; Lasky, J. A.; Martinez, F. J. (2012a): Prednisone, azathioprine, and N-acetylcysteine for pulmonary fibrosis. In: *The New England journal of medicine* 366 (21), S. 1968–1977. DOI: 10.1056/NEJMoa1113354.

Raghu, G.; Anstrom, K. J.; King, T. E.; Lasky, J. A.; Martinez, F. J. (2012b): Prednisone, azathioprine, and N-acetylcysteine for pulmonary fibrosis. In: *N. Engl. J. Med.* 366 (21), S. 1968–1977. DOI: 10.1056/NEJMoa1113354.

Raghu, G.; Brown, K. K.; Costabel, U.; Cottin, V.; du Bois, R. M.; Lasky, J. A. et al. (2008): Treatment of idiopathic pulmonary fibrosis with etanercept: an exploratory, placebo-controlled trial. In: *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 178 (9), S. 948–955. DOI: 10.1164/rccm.200709-1446OC.

Raghu, G.; Collard, H. R.; Egan, J. J.; Martinez, F. J.; Behr, J.; Brown, K. K. et al. (2011): An Official ATS/ERS/JRS/ALAT Statement: Idiopathic Pulmonary Fibrosis: Evidence-based Guidelines for Diagnosis and Management. In: *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 183 (6), S. 788–824. DOI: 10.1164/rccm.2009-040GL.

Raghu, G.; Weycker, D.; Edelsberg, J.; Williamson, Z. Bradford; Oster, G. (2006): Incidence and Prevalence of Idiopathic Pulmonary Fibrosis. In: *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 174 (7), S. 810–816. DOI: 10.1164/rccm.200602-163OC.

Raulf-Heimsoth, M. (2010): Einsatz von nicht-invasiven Methoden - Chance für Diagnostik und Prävention. Positionspapier der EAACI Task Force Group gibt Empfehlungen zum Einsatz. In: *IPA-Journal*. Online verfügbar unter http://www.ipa.ruhr-uni-bochum.de/pdf/IPA-Journal_10_02_NIM.pdf, zuletzt geprüft am 24.07.2014.

Ravaglia, C.; Tomassetti, S.; Gurioli, C.; Piciucchi, S.; Dubini, A.; Casoni, G. L. et al. (2014): Features and outcome of familial idiopathic pulmonary fibrosis. In: *Sarcoidosis*,

vasculitis, and diffuse lung diseases : official journal of WASOG / World Association of Sarcoidosis and Other Granulomatous Disorders 131 (1), S. 28–36. Online verfügbar unter <http://www.mattioli1885.com/onlinejournals/index.php/sarcoidosis/article/view/3419>, zuletzt geprüft am 11.08.2014.

Reinhold, P.; Jaeger, J.; Schroeder, C. (2006): Evaluation of methodological and biological influences on the collection and composition of exhaled breath condensate. In: *Biomarkers* 11 (2), S. 118–142. DOI: 10.1080/13547500600572764.

Rengasamy, A.; Johns, R. A. (1993): Regulation of nitric oxide synthase by nitric oxide. In: *Mol Pharmacol.* 44, S. 124–128. Online verfügbar unter <http://molpharm.aspetjournals.org/content/44/1/124.long>, zuletzt geprüft am 22.08.2014.

Reynolds, H. Y. (2000): Use of Bronchoalveolar Lavage in Humans--Past Necessity and Future Imperative. In: *Lung* 178 (5), S. 271–293. DOI: 10.1007/s004080000032.

Richeldi, L.; Cottin, V.; Flaherty, K. R.; Kolb, M.; Inoue, Y.; Raghu, G. et al. (2014a): Design of the INPULSIS™ trials: two phase 3 trials of nintedanib in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. In: *Respir Med* 108 (7), S. 1023–1030. DOI: 10.1016/j.rmed.2014.04.011.

Richeldi, L.; du Bois, R. M.; Raghu, G.; Azuma, A.; Brown, K. K.; Costabel, U. et al. (2014b): Efficacy and safety of nintedanib in idiopathic pulmonary fibrosis. In: *N. Engl. J. Med.* 370 (22), S. 2071–2082. DOI: 10.1056/NEJMoa1402584.

Robert Koch-Institut (2008): Oxidativer Stress und Möglichkeiten seiner Messung aus umweltmedizinischer Sicht. In: *Bundesgesundheitsbl.* 51 (12), S. 1464–1482. DOI: 10.1007/s00103-008-0720-5.

Roberts, L. J.; Fessel, J. P. (2004): The biochemistry of the isoprostane, neuroprostaglandin, and isofuran pathways of lipid peroxidation. In: *Chem. Phys. Lipids* 128 (1-2), S. 173–186. DOI: 10.1016/j.chemphyslip.2003.09.016.

Roberts, L. J.; Morrow, J. D. (1996): The isoprostanes. Current knowledge and directions for future research. In: *Biochemical Pharmacology* 51 (1), S. 1–9. DOI: 10.1016/0006-2952(95)02072-1.

Roberts, L. J.; Morrow, J. D. (2000): Measurement of F2-isoprostanes as an index of oxidative stress in vivo. In: *Free Radical Biology and Medicine* 28 (4), S. 505–513. DOI: 10.1016/S0891-5849(99)00264-6.

Roche (16.10.2014): FDA erteilt Zulassung für Esbriet® (Pirfenidon) zur Behandlung von idiopathischer Lungenfibrose (IPF) in den USA. Basel. F. Hoffmann, La Roche Ltd, 4070 Basel, Schweiz. Online verfügbar unter <file:///F:/Dr.-Arbeit/Citavi%20Volltexte/FDA%20Zulassung%20Pirfenidon%20in%20USA.pdf>, zuletzt geprüft am 08.02.2015.

Rojas, M.; Xu, J.; Woods, C. R.; Mora, A. L.; Spears, W.; Roman, J.; Brigham, K. L. (2005): Bone marrow-derived mesenchymal stem cells in repair of the injured lung. In: *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 33 (2), S. 145–152. DOI: 10.1165/rcmb.2004-0330OC.

Rosas, I. O.; Richards, T. J.; Konishi, K.; Zhang, Y.; Gibson, K.; Lokshin, A. E. et al. (2008): MMP1 and MMP7 as potential peripheral blood biomarkers in idiopathic pulmonary fibrosis. In: *PLoS Med.* 5 (4), S. 1–11. DOI: 10.1371/journal.pmed.0050093.

Rosias, P. P.; Robroeks, C. M.; Kester, A.; den Hartog, G J; Wodzig, W. K.; Rijkers, G. T. et al. (2008): Biomarker reproducibility in exhaled breath condensate collected with

different condensers. In: *Eur. Respir. J.* 31 (5), S. 934–942. DOI: 10.1183/09031936.00073207.

Runer, T.; Cervian, E. R.S.; Lindberg, S.; Uddman, R. (1998): Nitric oxide is a regulator of mucociliary activity in the upper respiratory tract. In: *Otolaryngology - Head and Neck Surgery* 119 (3), S. 278–287. DOI: 10.1016/S0194-5998(98)70063-4.

Rybicki, B. A.; Major, M.; Popovich, J.; Maliank, M. J.; Iannuzzi, M. C. (1997): Racial Differences in Sarcoidosis Incidence: A 5-Year Study in a Health Maintenance Organization. In: *American Journal of Epidemiology* 145 (3), S. 234–241. DOI: 10.1093/oxfordjournals.aje.a009096.

Ryerson, C. J.; Urbania, T. H.; Richeldi, L.; Mooney, J. J.; Lee, J. S.; Jones, K. D. et al. (2013): Prevalence and prognosis of unclassifiable interstitial lung disease. In: *Eur. Respir. J.* 42 (3), S. 750–757. DOI: 10.1183/09031936.00131912.

Sagar, S. M.; Singh, G.; Hodson, D. I.; Whitton, A. ,C. (1995): Nitric oxide and anti-cancer therapy. In: *Cancer Treatment Reviews* 21 (2), S. 159–181. DOI: 10.1016/0305-7372(95)90025-X.

Saleh, D.; Barnes, P. J.; Giaid, A. (1997): Increased production of the potent oxidant peroxynitrite in the lungs of patients with idiopathic pulmonary fibrosis. In: *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 155 (5), S. 1763–1769. DOI: 10.1164/ajrccm.155.5.9154889.

Sanders, S. P.; Proud, D.; Permutt, S.; Siekierski, E. S.; Yachechko, R.; Liu, M. C. (2004): Role of nasal nitric oxide in the resolution of experimental rhinovirus infection. In: *J. Allergy Clin. Immunol.* 113 (4), S. 697–702. DOI: 10.1016/j.jaci.2004.01.755.

Scadding, J. G. (1961): Prognosis of intrathoracic sarcoidosis in England. A review of 136 cases after five years' observation. In: *British Medical Journal* 2, S. 1165–1172. Online verfügbar unter <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1970202/pdf/brmedj03022-0031.pdf>, zuletzt geprüft am 10.07.2014.

Schildge, J. (2011): Stickstoffmonoxyd in der Atemluft von Patienten mit interstitiellen Lungenkrankheiten. In: *Pneumologie* 65 (3), S. 143–148. DOI: 10.1055/s-0030-1255958.

Schutt, A. C.; Bullington, W. M.; Judson, M. A. (2010): Pharmacotherapy for pulmonary sarcoidosis: a Delphi consensus study. In: *Respir Med* 104 (5), S. 717–723. DOI: 10.1016/j.rmed.2009.12.009.

Schwartz, D. A.; van Fossen, D. S.; Davis, S. D.; Helmers, R. A.; Dayton, C. S.; Burmeister, L. F.; Hunninghake, G. W. (1994): Determinants of progression in idiopathic pulmonary fibrosis. In: *Am J Respir Crit Care Med* 1994 (149), S. 444–449. DOI: 10.1164/ajrccm.149.2.8306043.

Schwarz, K.; Biller, H.; Windt, H.; Koch, W.; Hohlfeld, J. M. (2010): Characterization of exhaled particles from the healthy human lung--a systematic analysis in relation to pulmonary function variables. In: *J Aerosol Med Pulm Drug Deliv* 23 (6), S. 371–379. DOI: 10.1089/jamp.2009.0809.

Schweisfurth, H.; Kieslich, C.; Satake, N.; Loddenkemper, R.; Schönfeld, N.; Mäder, I. et al. (2003): Wie werden interstitielle Lungenerkrankungen in Deutschland diagnostiziert? Ergebnisse des wissenschaftlichen Registers zur Forschung von interstitiellen Lungenerkrankungen ("Lungenregister") der WATL. In: *Pneumologie* 57 (7), S. 373–382. DOI: 10.1055/s-2003-40557.

- Schwentker, A.; Vodovotz, Y.; Weller, R.; Billiar, T. R. (2002): Nitric oxide and wound repair: role of cytokines? In: *Nitric Oxide* 7 (1), S. 1–10. DOI: 10.1016/S1089-8603(02)00002-2.
- Scott, J.; Johnston, I.; Britton, J. (1990): What causes cryptogenic fibrosing alveolitis. A case-control study. In: *BrMedJ* 1990;301:1015-7 (301), S. 1015–1017. Online verfügbar unter <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1664043/pdf/bmj00204-0017.pdf>, zuletzt geprüft am 29.08.2015.
- Scotton, C. J.; Krupiczkoj, M. A.; Königshoff, M.; Mercer, P. F.; Lee, Y. C. G.; Kaminski, N. et al. (2009): Increased local expression of coagulation factor X contributes to the fibrotic response in human and murine lung injury. In: *J. Clin. Invest.* 119 (9), S. 2550–2563. DOI: 10.1172/JCI33288.
- Seimetz, M.; Parajuli, N.; Pichl, A.; Veit, F.; Kwapiszewska, G.; Weisel, F. C. et al. (2011): Inducible NOS inhibition reverses tobacco-smoke-induced emphysema and pulmonary hypertension in mice. In: *Cell* 147 (2), S. 293–305. DOI: 10.1016/j.cell.2011.08.035.
- Selman, M.; King T. E., Pardo A. (2001): Idiopathic Pulmonary Fibrosis: Prevailing and Evolving Hypotheses about Its Pathogenesis and Implications for Therapy. In: *Ann Intern Med* 134 (2), S. 136–151. DOI: 10.7326/0003-4819-134-2-200101160-00015.
- Selman, M.; Pardo, A. (2002): Idiopathic pulmonary fibrosis: an epithelial/fibroblastic cross-talk disorder. In: *Respir Res* 3 (1), S. 3. DOI: 10.1186/rr175.
- Selman, M.; Pardo, A. (2006): Role of epithelial cells in idiopathic pulmonary fibrosis: from innocent targets to serial killers. In: *Proc Am Thorac Soc* 3 (4), S. 364–372. DOI: 10.1513/pats.200601-003TK.
- Shirai, T.; Ikeda, M.; Morita, S.; Asada, K.; Suda, T.; Chida, K. (2010): Elevated alveolar nitric oxide concentration after environmental challenge in hypersensitivity pneumonitis. In: *Respirology* 15 (4), S. 721–722. DOI: 10.1111/j.1440-1843.2010.01726.x.
- Silkoff, P. E.; Erzurum, S. C.; Lundberg, J. O.; George, S. C.; Marczin, N.; Hunt, J. F. et al. (2006): ATS Workshop Proceedings: Exhaled Nitric Oxide and Nitric Oxide Oxidative Metabolism in Exhaled Breath Condensate. In: *Proceedings of the American Thoracic Society* 3 (2), S. 131–145. DOI: 10.1513/pats.200406-710ST.
- Silkoff, P. E.; Sylvester, J. T.; Zamel, N.; Permutt, S. (2000): Airway Nitric Oxide Diffusion in Asthma. In: *Am J Respir Crit Care Med* 161 (4), S. 1218–1228. DOI: 10.1164/ajrccm.161.4.9903111.
- Smith, A. D.; Cowan, J. O.; Brassett, K. P.; Filsell, S.; McLachlan, C.; Monti-Sheehan, G. et al. (2005): Exhaled nitric oxide: a predictor of steroid response. In: *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 172 (4), S. 453–459. DOI: 10.1164/rccm.200411-1498OC.
- Smith, A. D.; Cowan, J. O.; Filsell, S.; McLachlan, C.; Monti-Sheehan, G.; Jackson, P.; Taylor, D. R. (2004): Diagnosing asthma: comparisons between exhaled nitric oxide measurements and conventional tests. In: *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 169 (4), S. 473–478. DOI: 10.1164/rccm.200310-1376OC.
- Solomon, J. J.; Fischer, A. (2013): Connective Tissue Disease-Associated Interstitial Lung Disease: A Focused Review. In: *J Intensive Care Med*, S. 1–9. DOI: 10.1177/0885066613516579.
- Stichtenoth, D. O.; Thoren, S.; Bian, H.; Peters-Golden, M.; Jakobsson, P.-J.; Crofford, L. J. (2001): Microsomal Prostaglandin E Synthase Is Regulated by Proinflammatory

- Cytokines and Glucocorticoids in Primary Rheumatoid Synovial Cells. In: *The Journal of Immunology* 167 (1), S. 469–474. DOI: 10.4049/jimmunol.167.1.469.
- Stühlinger, M. C.; Oka, R. K.; Graf, E.; Schmörlzer, I.; Upson, B. M.; Kapoor, O. et al. (2003): Endothelial dysfunction induced by hyperhomocyst(e)inemia: role of asymmetric dimethylarginine. In: *Circulation* 108 (8), S. 933–938. DOI: 10.1161/01.CIR.0000085067.55901.89.
- Swierkosz, T. A.; Mitchell, J. A.; Warner, T. D.; Botting, R. M.; Vane, J. R. (1995): Co-induction of nitric oxide synthase and cyclo-oxygenase: interactions between nitric oxide and prostanoids. In: *British Journal of Pharmacology* 114 (7), S. 1335–1342. DOI: 10.1111/j.1476-5381.1995.tb13353.x.
- Takenaka, K.; Nishimura, Y.; Nishiuma, T.; Sakashita, A.; Yamashita, T.; Kobayashi, K. et al. (2006): Ventilator-induced lung injury is reduced in transgenic mice that overexpress endothelial nitric oxide synthase. In: *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 290 (6), S. 1078–1086. DOI: 10.1152/ajplung.00239.2005.
- Tanjore, H.; Blackwell, T. S.; Lawson, WE. (2012): Emerging evidence for endoplasmic reticulum stress in the pathogenesis of idiopathic pulmonary fibrosis. In: *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 302, S. 721–729. DOI: 10.1152/ajplung.00410.2011.
- Tesfaigzi, Y.; Kluger, M.; Kozak, W. (2001): Clinical and cellular effects of cytochrome P-450 modulators. In: *Respiration Physiology* 128 (1), S. 79–87. DOI: 10.1016/S0034-5687(01)00267-5.
- Thomas, S. R.; Kharitonov, S. A.; Scott, S. F.; Hodson, M. E.; Barnes, P. J. (2000): Nasal and Exhaled Nitric Oxide Is Reduced in Adult Patients With Cystic Fibrosis and Does Not Correlate With Cystic Fibrosis Genotype*. In: *Chest* 117 (4), S. 1085–1089. DOI: 10.1378/chest.117.4.1085.
- Tiev, K. P.; Cabane, J.; Aubourg, F.; Kettaneh, A.; Ziani, M.; Mouthon, L. et al. (2007): Severity of scleroderma lung disease is related to alveolar concentration of nitric oxide. In: *Eur. Respir. J.* 30 (1), S. 26–30. DOI: 10.1183/09031936.00129806.
- Tiev, K. P.; Coste, J.; Ziani, M.; Aubourg, F.; Cabane, J.; Dinh-Xuan, A. (2009): Diagnostic value of exhaled nitric oxide to detect interstitial lung disease in systemic sclerosis. In: *Sarcoidosis, vasculitis, and diffuse lung diseases : official journal of WASOG / World Association of Sarcoidosis and Other Granulomatous Disorders*, 26 (1), S. 32–38. Online verfügbar unter <http://www.mattioli1885.com/onlinejournals/index.php/sarcoidosis/article/view/2609/2003>, zuletzt geprüft am 11.09.2014.
- Tiev, K. P.; Hua-Huy, T.; Rivière, S.; Le-Dong, N.-N.; Febvre, M.; Cabane, J.; Dinh-Xuan, A. T. (2013): High alveolar concentration of nitric oxide is associated with alveolitis in scleroderma. In: *Nitric Oxide* 28, S. 65–70. DOI: 10.1016/j.niox.2012.10.005.
- Tiev, K. P.; Rivière, S.; Hua-Huy, T.; Cabane, J.; D.-X., Anh T. (2014): Exhaled NO predicts cyclophosphamide response in scleroderma-related lung disease. In: *Nitric Oxide* 40, S. 17–21. DOI: 10.1016/j.niox.2014.04.011.
- Tötsch, M.; Guzman, J.; Theegarten, D.; Schmid, K. W.; Costabel, U. (2007): Bronchoalveoläre Lavage. In: *Pathologie* 28 (5), S. 346–353. DOI: 10.1007/s00292-007-0926-6.
- Travers, J.; Marsh, S.; Aldington, S.; Williams, M.; Shirtcliffe, P.; Pritchard, A. et al. (2007): Reference ranges for exhaled nitric oxide derived from a random community survey of

adults. In: *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 176 (3), S. 238–242. DOI: 10.1164/rccm.200609-1346OC.

Travis, W. D.; Costabel, U.; Hansell, D. M.; King, T. E.; Lynch, D. A.; Nicholson, A. G. et al. (2013): An Official American Thoracic Society/European Respiratory Society Statement: Update of the International Multidisciplinary Classification of the Idiopathic Interstitial Pneumonias. In: *Am J Respir Crit Care Med* 188 (6), S. 733–748. DOI: 10.1164/rccm.201308-1483ST.

Travis, W. D.; Matsui, K.; Moss, J.; Ferranes, V. J. (2000): Idiopathic Nonspecific Interstitial Pneumonia: Prognostic Significance of Cellular and Fibrosing Patterns. In: *The American Journal of Surgical Pathology* 24 (1), S. 19–33. DOI: 10.1097/00000478-200001000-00003.

Tsoukias, N., M.; George, S., C. (1998): A two-compartment model of pulmonary nitric oxide exchange dynamics. In: *J Appl Physiol* 85, S. 653–666. Online verfügbar unter <http://jap.physiology.org/content/jap/85/2/653.full.pdf>, zuletzt geprüft am 06.09.2015.

Tukiainen, P.; Taskinen, E.; Holsti, P. Korhola O. Valle M. (1983): Prognosis of cryptogenic fibrosing alveolitis. In: *Thorax* 1983 (38), S. 349–355, zuletzt geprüft am 22.01.2014.

Turato, G.; Di Stefano, A.; Maestrelli, P.; Mapp, C. E.; Ruggieri, M. P.; Roggeri, A. et al. (1995): Effect of smoking cessation on airway inflammation in chronic bronchitis. In: *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 152 (4 Pt 1), S. 1262–1267. DOI: 10.1164/ajrccm.152.4.7551380.

Uhal, B. D.; Joshi, I.; Hughes, W. F.; Ramos, C.; Pardo, A.; Selman, M. (1998): Alveolar epithelial cell death adjacent to underlying myofibroblasts in advanced fibrotic human lung. In: *Am J Physiol.* 275, S. 1192–1199. Online verfügbar unter <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=uhal%2C+joshi%2C+hughes%2C+ramos>, zuletzt geprüft am 12.08.2014.

Beurden, W. J. Van; Harff, G. A.; Dekhuijzen, P. N.; van den Bosch, M. J.; Creemers, J. P.; Smeenk, F. W. (2002): An efficient and reproducible method for measuring hydrogen peroxide in exhaled breath condensate. In: *Respir Med* 96, S. 197–203. DOI: 10.1053/rmed.2001.1240.

Vaart, H. van der; Postma, D. S.; Timens, W.; Kauffman, H. F.; Hylkema, M. N.; Ten, H., Nick, H. T. (2006): Repeated sputum inductions induce a transient neutrophilic and eosinophilic response. In: *Chest* 130 (4), S. 1157–1164. DOI: 10.1378/chest.130.4.1157.

Hoydonck, P.G.A. van; Wuyts, W. A.; Vanaudenaerde, B. M.; Schouten, E. G.; Dupont, L. J.; Temme, E.H.M. (2004): Quantitative analysis of 8-isoprostane and hydrogen peroxide in exhaled breath condensate. In: *European Respiratory Journal* 23 (2), S. 189–192. DOI: 10.1183/09031936.03.00049403.

Vignola, A. M.; Rennard, S. I.; Hargreave, F. E.; Fahy, J. V.; Bonsignore, M. R.; Djukanovic, R.; Sterk, P. J. (2002): Future directions. In: *European Respiratory Journal* 20 (37), S. 51–55. DOI: 10.1183/09031936.02.00005102.

Vij, R.; Noth, I. (2012): Peripheral blood biomarkers in idiopathic pulmonary fibrosis. In: *Transl Res* 159 (4), S. 218–227. DOI: 10.1016/j.trsl.2012.01.012.

Vij, R.; Streck, M. E. (2013): Diagnosis and treatment of connective tissue disease-associated interstitial lung disease. In: *Chest* 143 (3), S. 814–824. DOI: 10.1378/chest.12-0741.

Vogelmeier, C.; Buhl, R.; Crie, C. P.; Gillissen, A.; Kardos, P.; Köhler, D. et al. (2007): Leitlinie der Deutschen Atemwegsliga und der Deutschen Gesellschaft für Pneumologie

und Beatmungsmedizin zur Diagnostik und Therapie von Patienten mit chronisch obstruktiver Bronchitis und Lungenemphysem (COPD). In: *Pneumologie* 61, S. 1–41. DOI: 10.1055/s-2007-959200.

Vyas-Read, S.; Shaul, P. W.; Yuhanna, I. S.; Willis, B. C. (2007): Nitric oxide attenuates epithelial-mesenchymal transition in alveolar epithelial cells. In: *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 293 (1), S. 212–221. DOI: 10.1152/ajplung.00475.2006.

Waghray, M.; Cui, Z.; Horowitz, J. C.; Subramanian, I. M.; Martinez, F. J.; Toews, G. B.; Thannickal, V. J. (2005): Hydrogen peroxide is a diffusible paracrine signal for the induction of epithelial cell death by activated myofibroblasts. In: *FASEB J.* 19 (7), S. 854–856. DOI: 10.1096/fj.04-2882fje.

Wang, Y.; Kuan, P. J.; Xing, C.; Cronkhite, J. T.; Torres, F.; Rosenblatt, R. L. et al. (2009): Genetic defects in surfactant protein A2 are associated with pulmonary fibrosis and lung cancer. In: *Am. J. Hum. Genet.* 84 (1), S. 52–59. DOI: 10.1016/j.ajhg.2008.11.010.

Wang, Z.; Ciabattini, G.; Créminon, C.; Lawson, J.; FitzGerald, G. A.; Patrono, C.; Maclouf, J. (1995): Immunological characterization of urinary 8-epi-prostaglandin F2 alpha excretion in man. In: *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics* 275 (1), S. 94–100. Online verfügbar unter <http://jpet.aspetjournals.org/content/275/1/94.abstract>, zuletzt geprüft am 21.07.2014.

Warner, R. L.; Paine, R.; Christensen, P. J.; Marletta, M. A.; Richards, M. K.; Wilcoxon, S. E.; Ward, P. A. (1995): Lung sources and cytokine requirements for in vivo expression of inducible nitric oxide synthase. In: *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 12 (6), S. 649–661. DOI: 10.1165/ajrcmb.12.6.7539274.

Watkins, D. N.; Garlepp, M. J.; Thompson, P. J. (1997): Regulation of the inducible cyclooxygenase pathway in human cultured airway epithelial (A549) cells by nitric oxide. In: *British Journal of Pharmacology* 121 (7), S. 1482–1488. DOI: 10.1038/sj.bjp.0701283.

Wei, B.; Cai, L.; Sun, D.; Wang, Y.; Wang, C.; Chai, X. et al. (2014): Microsomal prostaglandin E synthase-1 deficiency exacerbates pulmonary fibrosis induced by bleomycin in mice. In: *Molecules* 19 (4), S. 4967–4985. DOI: 10.3390/molecules19044967.

Wells, S. M.; Buford, M. C.; Migliaccio, C. T.; Holian, A. (2009): Elevated asymmetric dimethylarginine alters lung function and induces collagen deposition in mice. In: *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 40 (2), S. 179–188. DOI: 10.1165/rcmb.2008-0148OC.

Wilborn, J.; Crofford, L. J.; Burdick, M. D.; Kunkel, S. L.; Strieter, R. M.; Peters-Golden, M. (1995): Cultured lung fibroblasts isolated from patients with idiopathic pulmonary fibrosis have a diminished capacity to synthesize prostaglandin E2 and to express cyclooxygenase-2. In: *J. Clin. Invest.* 95 (4), S. 1861–1868. DOI: 10.1172/JCI117866.

Willis, B. C.; Liebler, J. M.; Luby-Phelps, K.; Nicholson, A. G.; Crandall, E. D.; du Bois, R. M.; Borok, Z. (2005): Induction of Epithelial-Mesenchymal Transition in Alveolar Epithelial Cells by Transforming Growth Factor- β 1. In: *The American Journal of Pathology* 166 (5), S. 1321–1332. DOI: 10.1016/S0002-9440(10)62351-6.

Wilsher, M. L.; Fergusson, W.; Milne, D.; Wells, A. U. (2005): Exhaled nitric oxide in sarcoidosis. In: *Thorax* 60 (11), S. 967–970. DOI: 10.1136/thx.2004.033852.

Wilson, M. (2005): *Microbial Inhabitants of Humans: Their Ecology and Role in Health and Disease*. Cambridge, UK: Cambridge University Press, zuletzt geprüft am 02.09.2015.

Wilson, M. S.; Wynn, T. A. (2009): Pulmonary fibrosis: pathogenesis, etiology and regulation. In: *Mucosal Immunol* 2 (2), S. 103–121. DOI: 10.1038/mi.2008.85.

- Wink, D. A.; Vodovotz, Y.; Laval, J.; Laval, F.; Dewhirst, M. W.; Mitchell, J. B. (1998): The multifaceted roles of nitric oxide in cancer. In: *Carcinogenesis* 19 (5), S. 711–721. DOI: 10.1093/carcin/19.5.711.
- Winterbauer, R. H.; Lammert, J.; Selland, M.; Wu, R.; Corley, D.; Springmeyer, S. C. (1993): Bronchoalveolar lavage cell populations in the diagnosis of sarcoidosis. In: *Chest* 104 (2), S. 352–361. DOI: 10.1378/chest.104.2.352.
- Wygrecka, M.; Didiasova, M.; Berscheid, S.; Piskulak, K.; Taborski, B.; Zakrzewicz, D. et al. (2013): Protease-activated receptors (PAR)-1 and -3 drive epithelial-mesenchymal transition of alveolar epithelial cells - potential role in lung fibrosis. In: *Thromb. Haemost.* 110 (2), S. 295–307. DOI: 10.1160/TH12-11-0854.
- Wygrecka, M.; Kwapiszewska, G.; Jablonska, E.; Gerlach, S. von; Henneke, I.; Zakrzewicz, D. et al. (2011): Role of protease-activated receptor-2 in idiopathic pulmonary fibrosis. In: *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 183 (12), S. 1703–1714. DOI: 10.1164/rccm.201009-1479OC.
- Wynn, T. A. (2011): Integrating mechanisms of pulmonary fibrosis. In: *J. Exp. Med.* 208 (7), S. 1339–1350. DOI: 10.1084/jem.20110551.
- Xu, W.; Kaneko, F.; Zheng, S.; Comhair, S.; Janocha, A. J.; Goggans, T. et al. (2004): Increased arginase II and decreased NO synthesis in endothelial cells of patients with pulmonary arterial hypertension. In: *FASEB J.* 18 (14), S. 1746–1748. DOI: 10.1096/fj.04-2317fje.
- Xu, X.; Dai, H.; Wang, C. (2014): Epithelium dependent profibrotic milieu in the pathogenesis of idiopathic pulmonary fibrosis: current status and future directions. In: *Clin Respir J.* DOI: 10.1111/crj.12190.
- Yang, J.; Velikoff, M.; Canalis, E.; Horowitz, J. C.; Kim, K. K. (2014): Activated alveolar epithelial cells initiate fibrosis through autocrine and paracrine secretion of connective tissue growth factor. In: *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 306 (8), S. L786-96. DOI: 10.1152/ajplung.00243.2013.
- Ye, S.; Yang, W.; Wang, Y.; Ou, W.; Ma, Q.; Yu, C. et al. (2013): Cationic liposome-mediated nitric oxide synthase gene therapy enhances the antitumor effects of cisplatin in lung cancer. In: *Int. J. Mol. Med.* 31 (1), S. 33–42. DOI: 10.3892/ijmm.2012.1171.
- Zasłona, Z.; Okunishi, K.; Bourdonnay, E.; Domingo-Gonzalez, R.; Moore, B. B.; Lukacs, N. W. et al. (2014): Prostaglandin E₂ suppresses allergic sensitization and lung inflammation by targeting the E prostanoid 2 receptor on T cells. In: *J. Allergy Clin. Immunol.* 133 (2), S. 379–387. DOI: 10.1016/j.jaci.2013.07.037.
- Zetterquist, W.; Pedroletti, C.; Lundberg, J.O.N.; Alving, K. (1999): Salivary contribution to exhaled nitric oxide. In: *Eur Respir J* 13 (2), S. 327–333. DOI: 10.1034/j.1399-3003.1999.13b18.x.
- Zhang, H. Y.; Phan, S. H. (1999): Inhibition of myofibroblast apoptosis by transforming growth factor beta(1). In: *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 21 (6), S. 658–665. DOI: 10.1165/ajrcmb.21.6.3720.
- Zhang, Y.; Kaminski, N. (2012): Biomarkers in idiopathic pulmonary fibrosis. In: *Curr Opin Pulm Med* 18 (5), S. 441–446. DOI: 10.1097/MCP.0b013e328356d03c.

12. Anhang

Tabelle 4: FeNO-Werte der einzelnen ILD-Untergruppen: Mediane und Interquartilsbereiche. Eigene Abbildung.

	Median	IQB
Gesamt ILDs	10	7-14
Nichtklassifizierbare IIP	9,25	9-9,5
RB-ILD	6	5-7
COP	11	6,5-13,75
EAA	10	6,5-16,5
Sarkoidose	14	13-19
CTD-ILD	8	6-21

Tabelle 5: Vergleich von PGE2 und 8-Isoprostan im EBC und im BALF. Mediane. Blau hinterlegt sind die unterschiedlich untersuchten ILD-Gruppen. Eigene Abbildung.

PGE2 pg/ml	Gesund	IPF	ILD	EAA	Sarkoidose	COP	Nichtklass. IIP	CTD-ILD	DIP	Pneumokoniose
EBC konz.	9,9	7,03	6,61	5,66	6,82	2,5	10,3	20,35	6,58	6,63
BALF		36,96	34,27	34,91	36,87	44,84	32,83	29,45		31,93
8-Iso pg/ml	Gesund	IPF	ILD	EAA	Sarkoidose	COP	Nichtklass. IIP	CTD-ILD	DIP	Pneumokoniose
EBC konz.	6,05	8,3	4,11	3,58	2,51	4,11	5,38	25,8	2,54	2,21
BALF		36,78	28,63	26,02	32,36	30,44	29,71	78,25		24,93

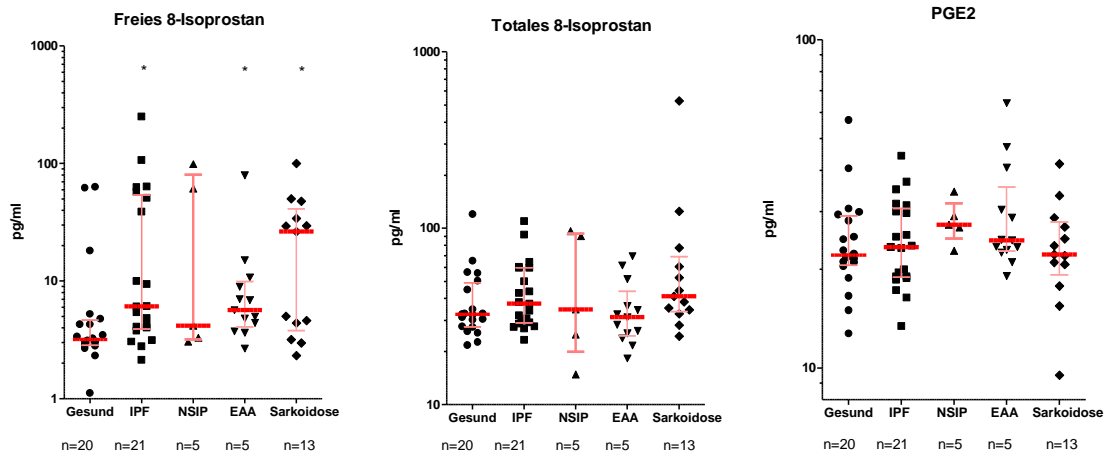


Abbildung 29: Darstellung des PGE2, des freien und totalen 8-Isoprostans aus der BALF der gleichen Patienten. Darstellung als Median mit Interquartilsbereich, * $p < 0,05$ zur gesunden Kontrolle (Kruskal-Wallis Test und Mann-Whitney Test). Eigene Abbildung.

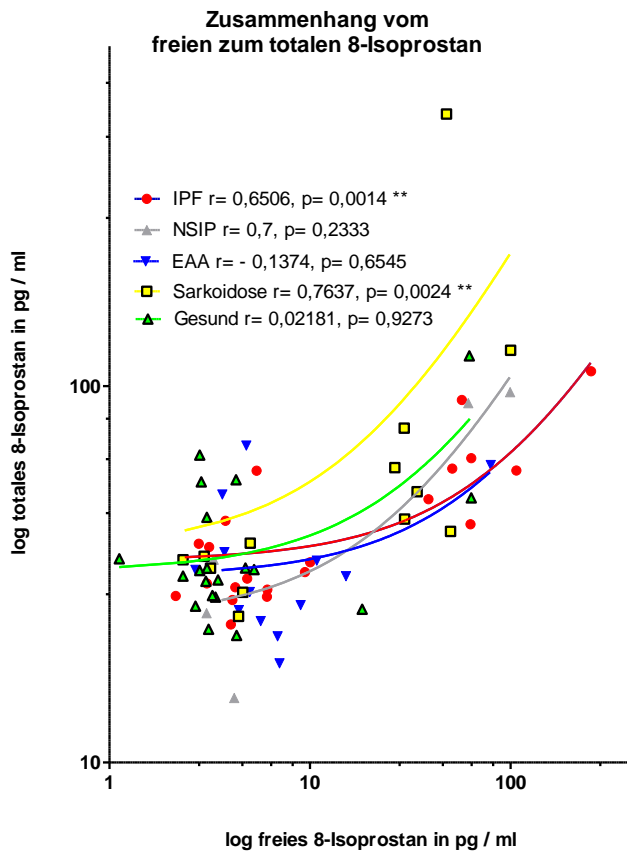


Abbildung 30: Zusammenhang von freiem zu totalem 8-Isoprostan. Korrelation mit linearer Regressionsgrade vom freiem zum totalen 8-Isoprostan. Die ILD-Untergruppen wurden detailliert aufgeführt. r = Korrelationskoeffizient nach Spearman, ** $p < 0,01$. Eigene Abbildung.

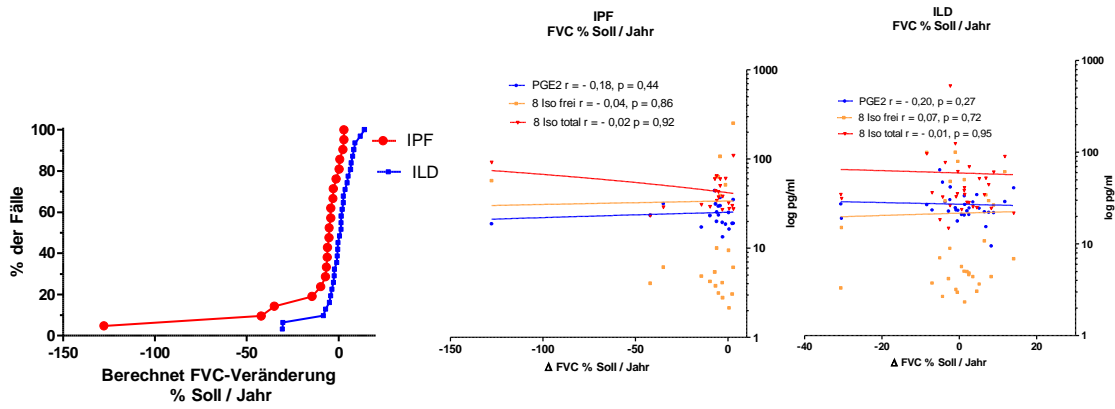


Abbildung 31: Berechnete jährliche Veränderung der forcierten Vitalkapazität (FVC) in % Soll, getrennt für IPF und ILD. In der linken Spalte erkennt man das Summenhäufigkeitsdiagramm, das die Veränderung der FVC anhand der Häufigkeit aller Fälle zeigt. r = Korrelationskoeffizient nach Spearman. Eigene Abbildung.

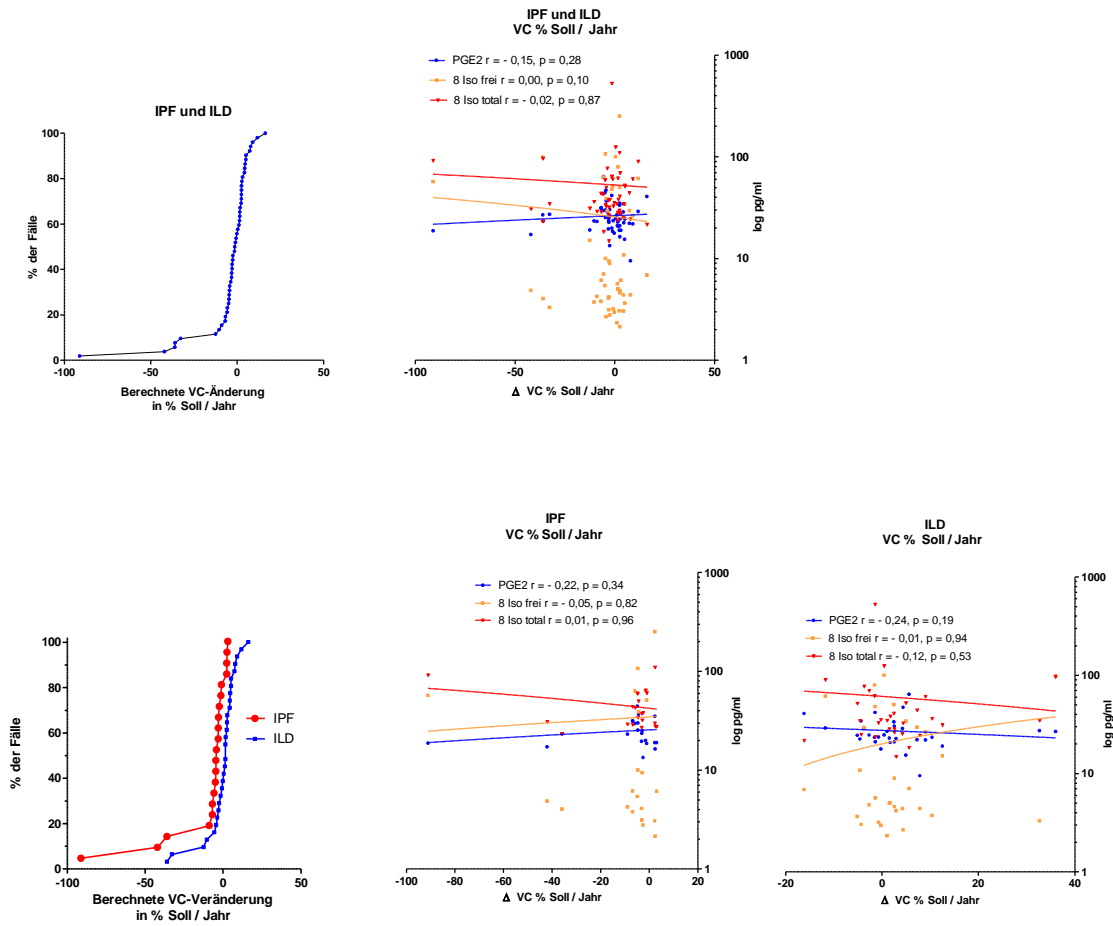


Abbildung 32: Berechnete jährliche Veränderung der Vitalkapazität (VC) in % Soll. Oben für IPF und ILD zusammen und unten getrennte Darstellung. In der linken Spalte erkennt man das Summationsdiagramm, das die Veränderung der VC anhand der Häufigkeit aller Fälle zeigt. r = Korrelationskoeffizient nach Spearman. Eigene Abbildung.

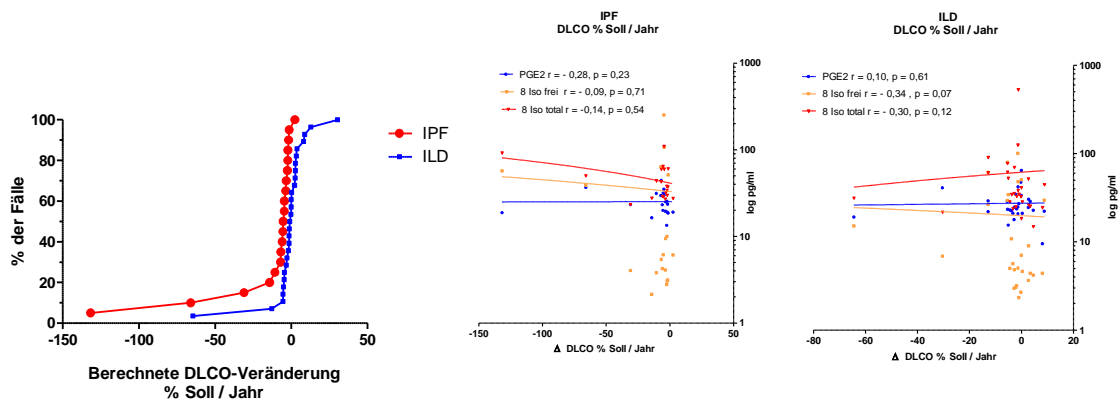


Abbildung 33: Berechnete jährliche Veränderung der Diffusionskapazität für CO (DLCO) in % Soll, getrennt für IPF und ILD. In der linken Spalte erkennt man das Summationsdiagramm, das die Veränderung der DLCO anhand der Häufigkeit aller Fälle zeigt. r = Korrelationskoeffizient nach Spearman. Eigene Abbildung.

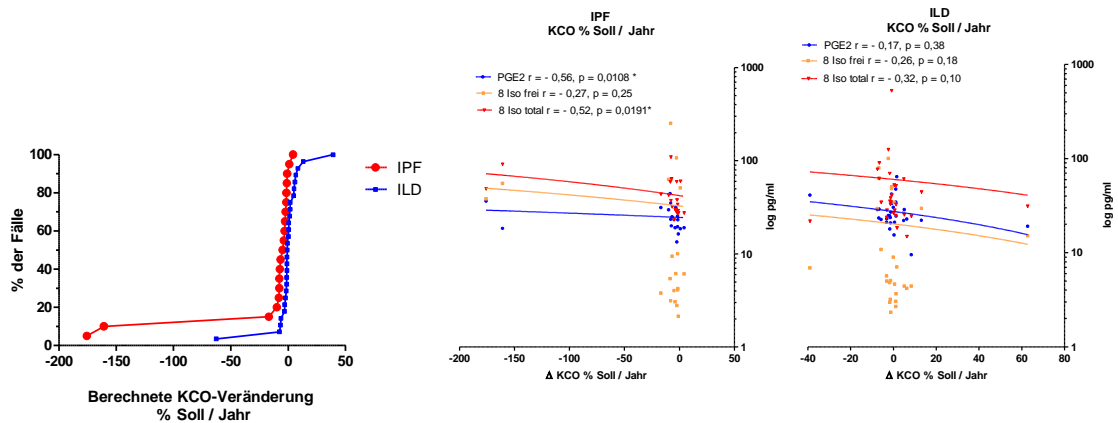


Abbildung 34: Berechnete jährliche Veränderung der um das Alveolarvolumen korrigierten Diffusionskapazität für CO (KCO) in % Soll, getrennt für IPF und ILD. In der linken Spalte erkennt man das Summationsdiagramm, das die Veränderung der KCO anhand der Häufigkeit aller Fälle zeigt. r = Korrelationskoeffizient nach Spearman. Eigene Abbildung.

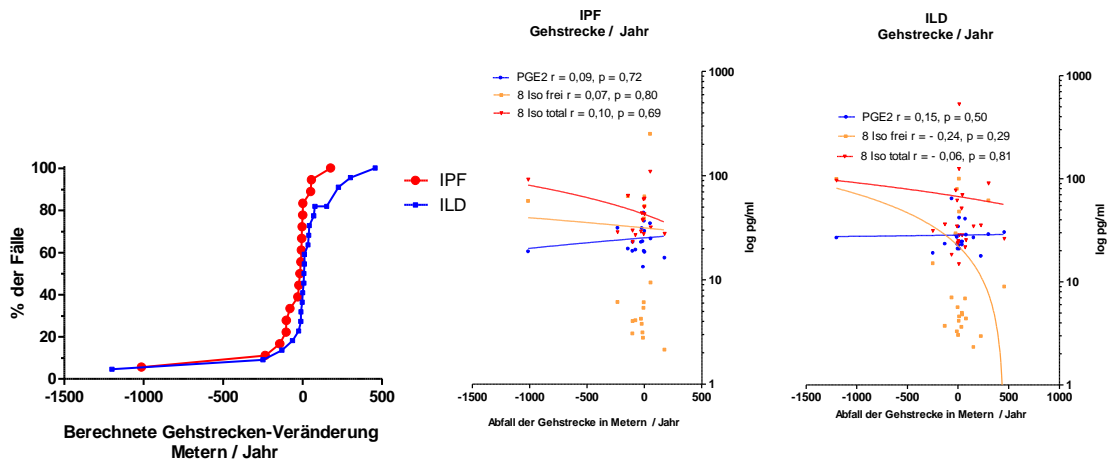


Abbildung 35: Berechnete jährliche Veränderung der Gehstrecke in Metern / Jahr, getrennt für IPF und ILD. In der linken Spalte erkennt man das Summationsdiagramm, das die Veränderung der Gehstrecke anhand der Häufigkeit aller Fälle zeigt. r = Korrelationskoeffizient nach Spearman. Eigene Abbildung.

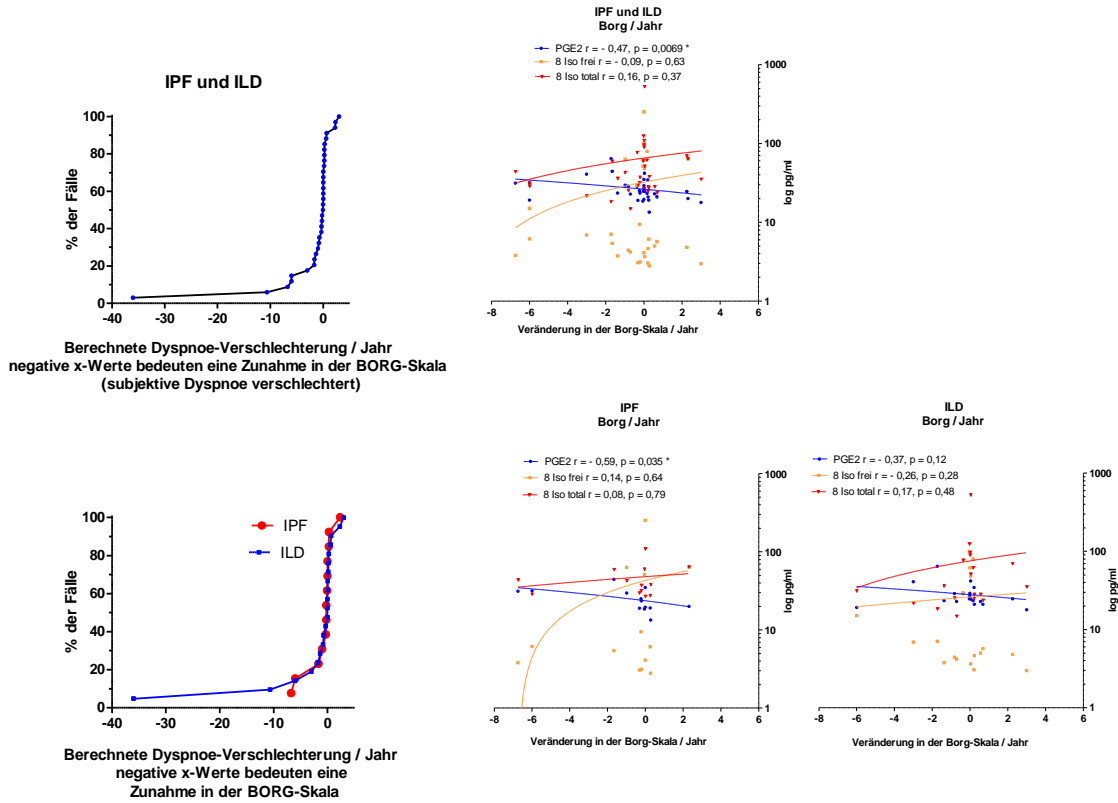


Abbildung 36: Berechnete jährliche Veränderung der subjektiven Dyspnoe anhand der Borg-Skala Angaben im 6 Minuten-Gehtest / Jahr. Eine negative x- Achse bedeutet eine Zunahme der Borg-Skala über die Zeit und damit eine Verschlimmerung der Dyspnoe. Oben für IPF und ILD zusammen und unten für beide Gruppen getrennt. In der linken Spalte erkennt man das

Summationsdiagramm, das die Veränderung der Borg-Skala Angaben anhand der Häufigkeit aller Fälle zeigt. r = Korrelationskoeffizient nach Spearman. Eigene Abbildung.

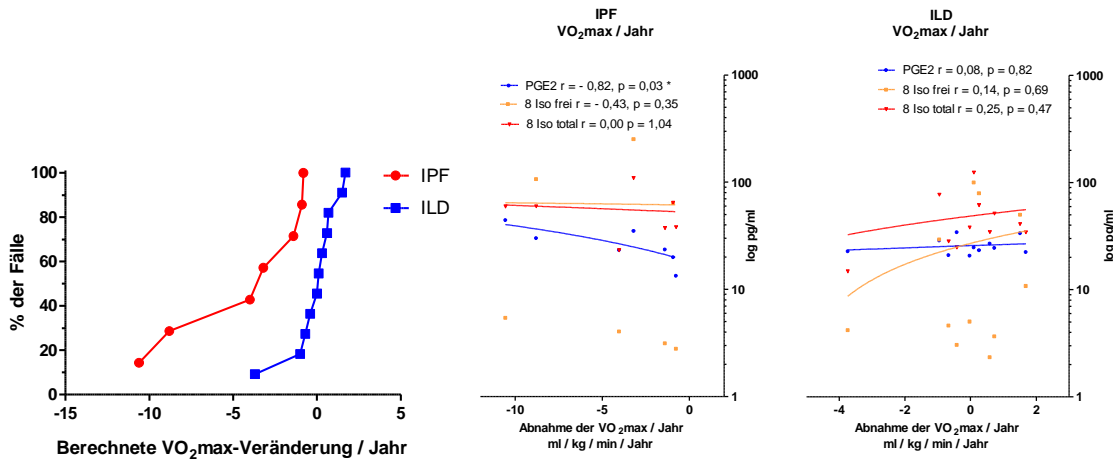


Abbildung 37: Berechnete jährliche Veränderung der maximalen Sauerstoffaufnahme in der Spiroergometrie, getrennt für IPF und ILD. In der linken Spalte erkennt man das Summationsdiagramm, das die Veränderung der VO₂max anhand der Häufigkeit aller Fälle zeigt. r = Korrelationskoeffizient nach Spearman. Eigene Abbildung.

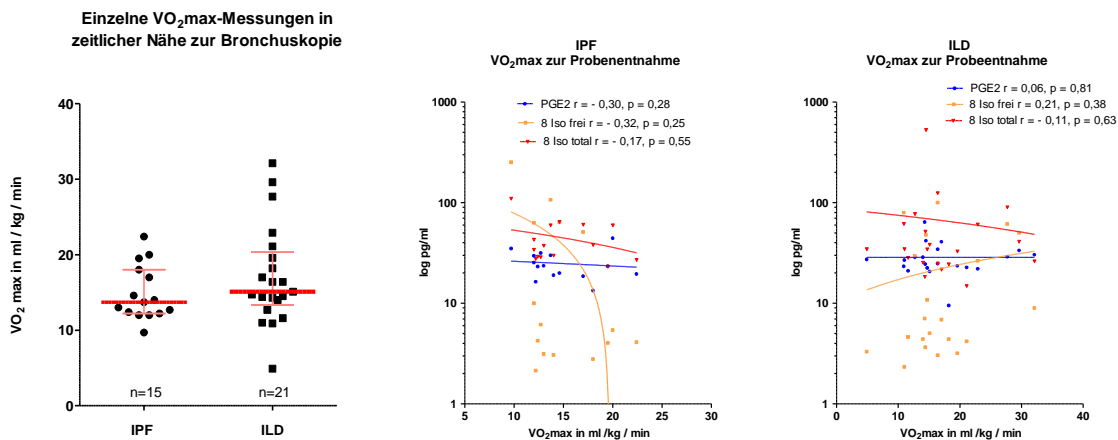


Abbildung 38: VO₂max in zeitlicher Nähe zur Bronchoskopie (+/- 6 Monate), getrennt für IPF und ILD. Median mit IQB, Mann-Whitney Test. Daneben die Korrelationsanalyse mit linearer Regressionsanalyse von VO₂max und den ELISA-Ergebnissen. r = Korrelationskoeffizient nach Spearman. Eigene Abbildung.

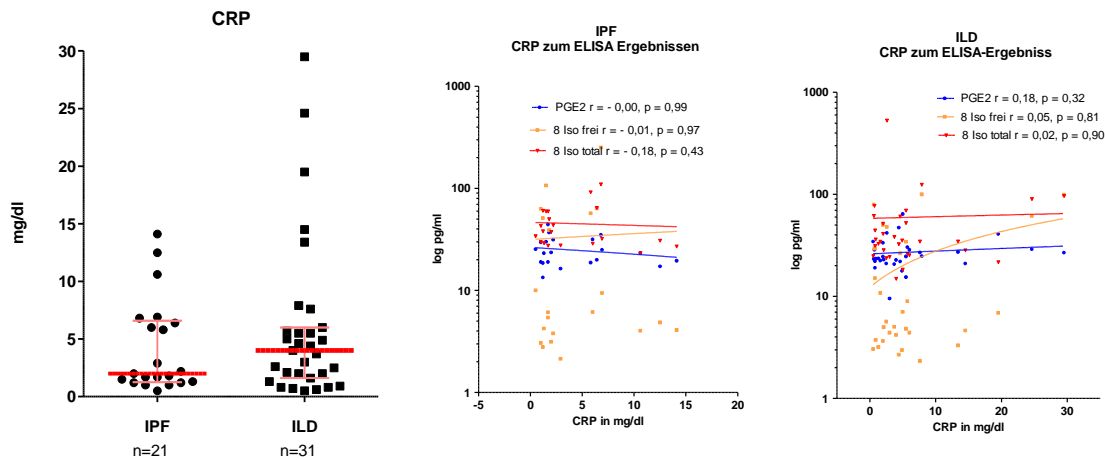


Abbildung 39: CRP zum Zeitpunkt der Bronchoskopie. Median mit IQB, Mann-Whitney Test. Daneben der Bezug vom CRP zum ELISA-Ergebnis in der linearen Regressionsanalyse. Eigene Abbildung.

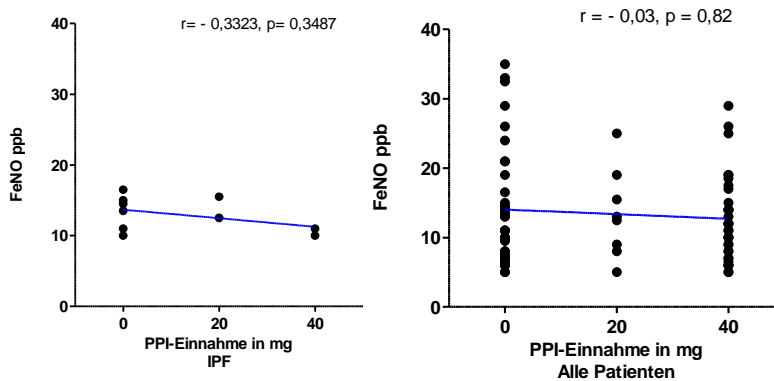


Abbildung 40: Beeinflussung der FeNO-Werte durch PPI-Einnahme. Die Patienten mit einer täglichen PPI-Einnahme von 40 mg hatten geringere FeNO-Werte als diejenigen mit nur 20 mg Einnahme pro Tag, jedoch konnte keine signifikante Korrelation gefunden werden. Bei den IPF-Patienten scheint dieser Zusammenhang ausgeprägter zu sein ($r = -0,33$) als bei allen Patienten ($r = -0,03$). r = Korrelationskoeffizient nach Spearman. Eigene Abbildung.

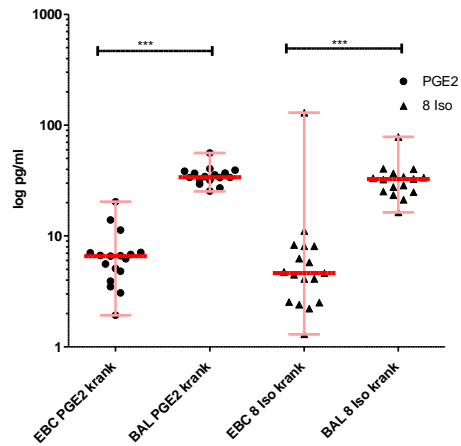


Abbildung 41: Unterschied EBC- und BALF Konzentrationen. Die Konzentrationen von PGE2 und 8-Isoprostan waren in der BALF signifikant höher als im EBC. Eigene Abbildung.

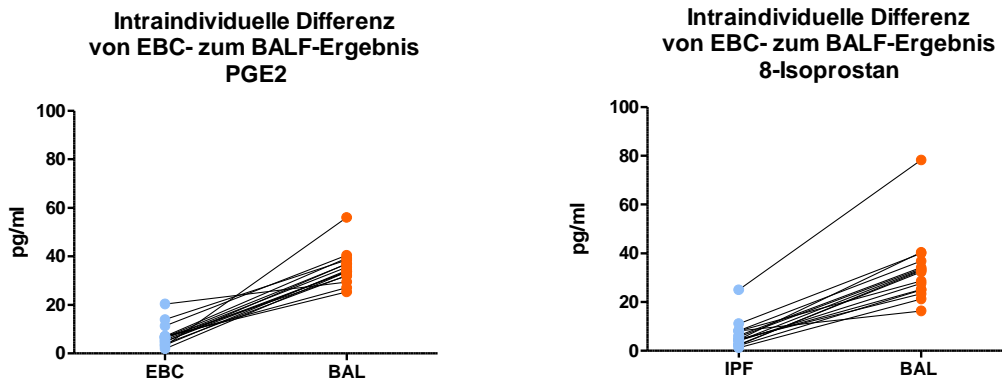


Abbildung 42: Intraindividuelle Differenz des EBCs und der BALF. Der Konzentrationsunterschied im intraindividuellen Vergleich war sehr homogen. Eigene Abbildung.

13. Erklärung zur Dissertation

„Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nichtveröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten sowie ethische, datenschutzrechtliche und tierschutzrechtliche Grundsätze befolgt. Ich versichere, dass Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, oder habe diese nachstehend spezifiziert. Die vorgelegte Arbeit wurde weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt und indirekt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren. Mit der Überprüfung meiner Arbeit durch eine Plagiatserkennungssoftware bzw. ein internetbasiertes Softwareprogramm erkläre ich mich einverstanden.“

Ort, Datum

Unterschrift

14. Danksagung

Mein Dank gilt Herrn Prof. Dr. A. Günther, der mir die Möglichkeit gab, die Arbeit unter seiner Leitung zu verfassen. Er hat mich stets gefordert und gefördert. Seine Expertise und seine offene Art und Weise waren immer bewundernswert und haben zu meiner fachlichen und persönlichen Entwicklung beigetragen. Ich durfte selbstständig arbeiten und vielschichtige Einblicke in die Lungenfachklinik Waldhof Elgershausen, in die Fibrose-Ambulanz Gießen und in das Labor der Arbeitsgruppe Lungenfibrose nehmen.

Herrn C. Ruppert danke ich für seine Hilfe im Labor, den jederzeit guten Ideen und seinen kritischen Anregungen.

Frau S. Händel danke für ihre labortechnische Einweisung und Unterstützung.

Den Mitarbeitern der Lungenfachklinik Waldhof Elgershausen danke ich für ihre Hilfe und die hervorragende Zusammenarbeit.

Dem Team der Lungenfibrose Ambulanz in Gießen, insbesondere S. Heinemann und D. Carbolat, danke ich für die treue Unterstützung.

Den Sekretärinnen J. Wagner, C. Scheld, S. Jones, B. Schreiber und O. Maurer danke ich für die vielen aufmunternden und motivierenden Worte und ihr organisatorisches Talent.

Danken möchte ich meinen Eltern Gabriele und Achim, sowie meinem Geschwistern Melissa, Madeleine und Matthias für Ihre stetige Motivation und Unterstützung.

Außerdem danke ich all meinen Freundinnen, insbesondere Rebecca für die kreativen und abwechslungsreichen Pausen.

Daniel danke ich für die tiefe Verbundenheit und seinen unerschütterlichen Frohsinn.