

**EXPANSION VON  $\alpha\text{E}\alpha_7^+$  CD4<sup>+</sup>-T-  
LYMPHOZYTEN IN DER  
BRONCHOALVEOLÄREN LAVAGE ALS  
MARKER FÜR PULMONALE FIBROSEN  
BEZIEHUNG ZU INTERSTITIELLEN  
LUNGENKRANKHEITEN UND DIAGNOSTISCHE  
RELEVANZ**

Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades  
doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät  
der Friedrich-Schiller-Universität Jena

von Christian Schumann  
geboren am 25.02.1972 in Berlin

Gutachter: Prof. Dr. Dr. C. Kroegel (Jena)

Gutachter: Prof. Dr. R.W. Kinne (Jena)

Gutachter: Prof. Dr. C. Kortsik (Mainz)

Tag der öffentlichen Verteidigung: 11.05.2004

---

## Inhaltsverzeichnis

<b><u>1</u></b>	<b><u>Einleitung</u></b>	<b>6</b>
<b><u>1.1</u></b>	<b><u>Geschichte der bronchoalveolären Lavage</u></b>	<b>7</b>
<b><u>1.2</u></b>	<b><u>Fibrosierende Lungenerkrankungen</u></b>	<b>7</b>
<u>1.2.1</u>	<u>Idiopathische pulmonale Fibrose (IPF)</u>	7
<u>1.2.2</u>	<u>Sarkoidose</u>	10
<u>1.2.3</u>	<u>Exogen allergische Alveolitis (EAA)</u>	11
<u>1.2.4</u>	<u>Pneumokoniose</u>	13
<u>1.2.5</u>	<u>Arzneimittel-induzierte Lungenfibrose</u>	14
<u>1.2.6</u>	<u>Lungenfibrosen bei systemischen Bindegewebserkrankungen</u>	15
<b><u>1.3</u></b>	<b><u>Das Integrin <math>\alpha_7\beta_1</math></u></b>	<b>16</b>
<u>1.3.1</u>	<u>Erstbeschreibung</u>	16
<u>1.3.2</u>	<u>Herkunft und Struktur</u>	16
<u>1.3.3</u>	<u>Funktion des <math>\alpha_7\beta_1</math>-Antigens</u>	17
<u>1.3.4</u>	<u>Rolle von <math>\alpha_7\beta_1</math> in der Fibrogenese</u>	17
<b><u>2</u></b>	<b><u>Ziele der Arbeit</u></b>	<b>18</b>
<b><u>3</u></b>	<b><u>Material und Methoden</u></b>	<b>19</b>
<b><u>3.1</u></b>	<b><u>Auswahl der Patienten</u></b>	<b>19</b>
<u>3.1.1</u>	<u>Diagnostische Kriterien der Lungenfibrose</u>	19
<b><u>3.2</u></b>	<b><u>Durchführung der BAL</u></b>	<b>23</b>
<b><u>3.3</u></b>	<b><u>Aufarbeitung der BALF im pneumologischen Forschungslabor</u></b>	<b>24</b>
<b><u>3.4</u></b>	<b><u>Phänotypische Analyse der BAL-Lymphozyten</u></b>	<b>25</b>
<b><u>3.5</u></b>	<b><u>Statistische Methoden</u></b>	<b>26</b>
<b><u>4</u></b>	<b><u>Ergebnisse</u></b>	<b>27</b>
<b><u>4.1</u></b>	<b><u>Allgemeine Charakteristika der untersuchten Patienten</u></b>	<b>27</b>
<u>4.1.1</u>	<u>Ätiologie der pulmonalen Fibrosen</u>	27
<u>4.1.2</u>	<u>Altersverteilung</u>	28
<u>4.1.3</u>	<u>Nikotinabusus</u>	28
<u>4.1.4</u>	<u>Lungenfunktion</u>	29
<b><u>4.2</u></b>	<b><u>Gesamtzellzahl in der BAL</u></b>	<b>30</b>

<a href="#">4.2.1</a>	<a href="#">Gesamtzellzahl bei verschiedenen pulmonalen Fibrosen</a>	32
<b><a href="#">4.3</a></b>	<b><a href="#">Differentialzytologie der BAL</a></b>	<b>33</b>
<a href="#">4.3.1</a>	<a href="#">Lymphozyten</a>	33
<a href="#">4.3.2</a>	<a href="#">Makrophagen</a>	36
<a href="#">4.3.3</a>	<a href="#">Granulozyten</a>	40
<b><a href="#">4.4</a></b>	<b><a href="#">Spezielle T-Zellaktivierungsmarker in der BAL</a></b>	<b>43</b>
<a href="#">4.4.1</a>	<a href="#">CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten</a>	43
<a href="#">4.4.2</a>	<a href="#">HLA-DR<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten</a>	45
<a href="#">4.4.3</a>	<a href="#">CD45RO<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten</a>	47
<b><a href="#">4.5</a></b>	<b><a href="#">CD103<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten (CD103<sup>+</sup>) in der BAL</a></b>	<b>49</b>
<a href="#">4.5.1</a>	<a href="#">CD103<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten bei verschiedenen pulmonalen Fibrosen</a>	50
<a href="#">4.5.2</a>	<a href="#">CD103<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten bei pulmonaler Fibrose und Rauchern</a>	51
<a href="#">4.5.3</a>	<a href="#">CD103<sup>+</sup> Expression bei pulmonaler Fibrose unter Immunsuppression</a>	52
<b><a href="#">5</a></b>	<b><a href="#">Diskussion</a></b>	<b>54</b>
<b><a href="#">5.1</a></b>	<b><a href="#">Limitationen der Untersuchung</a></b>	<b>54</b>
<b><a href="#">5.2</a></b>	<b><a href="#">Allgemeine Charakteristika</a></b>	<b>54</b>
<a href="#">5.2.1</a>	<a href="#">Patientenalter- und Geschlechtsverteilung</a>	54
<a href="#">5.2.2</a>	<a href="#">Nikotinabusus</a>	54
<a href="#">5.2.3</a>	<a href="#">Lungenfunktion</a>	55
<b><a href="#">5.3</a></b>	<b><a href="#">Gesamtzellzahl in der BAL</a></b>	<b>56</b>
<b><a href="#">5.4</a></b>	<b><a href="#">Differentialzytologie</a></b>	<b>57</b>
<a href="#">5.4.1</a>	<a href="#">Lymphozyten</a>	57
<a href="#">5.4.2</a>	<a href="#">Makrophagen</a>	58
<a href="#">5.4.3</a>	<a href="#">Granulozyten</a>	59
<b><a href="#">5.5</a></b>	<b><a href="#">Spezielle T-Zellaktivierungsmarker</a></b>	<b>60</b>
<a href="#">5.5.1</a>	<a href="#">CD25<sup>+</sup> und HLA-DR<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten in der BAL</a>	60
<a href="#">5.5.2</a>	<a href="#">CD45RO<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten</a>	61
<b><a href="#">5.6</a></b>	<b><a href="#">CD103<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten (CD103<sup>+</sup>) in der BAL</a></b>	<b>62</b>
<a href="#">5.6.1</a>	<a href="#">CD103<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten (CD103<sup>+</sup>) bei verschiedenen pulmonalen Fibrosen</a>	62
<a href="#">5.6.2</a>	<a href="#">CD103<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten (CD103<sup>+</sup>) bei pulmonaler Fibrose und Rauchern</a>	63

<a href="#"><u>5.6.3</u></a>	<a href="#"><u>□<sup>E</sup>□<sub>7</sub> Expression unter Immunsuppression</u></a>	63
<a href="#"><u>5.6.4</u></a>	<a href="#"><u>□<sup>E</sup>□<sub>7</sub> Expression und Krankheitsaktivität</u></a>	63
<a href="#"><u>5.7</u></a>	<a href="#"><u>Klinische Anwendung</u></a>	64
<a href="#"><u>5.8</u></a>	<a href="#"><u>Weiterführende Untersuchungen</u></a>	64
<a href="#"><u>6</u></a>	<a href="#"><u>Zusammenfassung</u></a>	65
<a href="#"><u>7</u></a>	<a href="#"><u>Literaturverzeichnis</u></a>	67
<a href="#"><u>8</u></a>	<a href="#"><u>Abkürzungsverzeichnis</u></a>	72
<a href="#"><u>9</u></a>	<a href="#"><u>Abbildungsverzeichnis</u></a>	73
<a href="#"><u>10</u></a>	<a href="#"><u>Tabellenverzeichnis</u></a>	75
<a href="#"><u>11</u></a>	<a href="#"><u>Danksagung</u></a>	79
<a href="#"><u>12</u></a>	<a href="#"><u>Lebenslauf</u></a>	80
<a href="#"><u>13</u></a>	<a href="#"><u>Ehrenwörtliche Erklärung</u></a>	81

## 1 Einleitung

Pulmonale Fibrosen kommen bei interstitiellen Lungenerkrankungen vor. Dazu gehören die idiopathische Lungenfibrose, Sarkoidose, exogen allergische Alveolitis und die Pneumokoniose. Auch im Rahmen von Systemerkrankungen (Kollagenosen und Vaskulitiden) sind pulmonale Fibrosen häufig. Ebenso treten diese als Komplikationen einer Strahlentherapie (radiogene Fibrose) oder Pharmakotherapie (Amiodaron und Methotrexat) auf. Damit bilden die pulmonalen Fibrosen ätiologisch ein umfangreiches Krankheitsbild.

Die Lungenfibrose ist durch eine Zunahme des interstitiellen Bindegewebes und so mit einer Verlängerung der Diffusionsstrecke für den Gasaustausch und einer verringerten Elastizität des Lungengerüsts verbunden. Klinisch und lungenfunktionell sind alle pulmonalen Fibrosen durch eine progrediente Dyspnoe, einer Reduktion der statischen Lungenvolumina, der Diffusionskapazität und durch die Entwicklung einer pulmonalen Hypertonie gekennzeichnet. Die Erkrankungen schreiten im allgemeinen fort und führen über einen weitgehenden fibrotischen Lungenparenchymbau zur nicht mehr behandelbaren respiratorischen Globalinsuffizienz.

Für die Diagnostik interstitieller Lungenerkrankungen ist eine ausführliche Anamnese und die sorgfältig geführte körperliche Untersuchung sowie die Lungenfunktion grundlegend. Zu den bildgebenden Verfahren zählen die konventionelle Röntgen-Thoraxübersichtsaufnahme und die hochauflösende Computertomographie des Thorax. In der weiteren Differentialdiagnostik fällt den invasiven Methoden, wie der Bronchoskopie, dabei vor allem der transbronchialen Biopsie (TBB) und der bronchoalveolären Lavage (BAL), besonderes Gewicht zu. Aber auch die Analyse bestimmter Oberflächenparameter auf Lymphozyten in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit (BALF) gewinnt zunehmend an Bedeutung für die Routinediagnostik interstitieller Krankheiten der Lunge. Diese neuen immunzytologischen Untersuchungsmethoden können differentialdiagnostische Hinweise auf die Genese der jeweils vorliegenden Alveolitis liefern und erlauben eine Beurteilung der Aktivität der Grunderkrankung.

Einen speziellen immunzytologischen Marker, der eine pulmonale Fibrose anzeigt, gibt es bisher jedoch nicht.

## **1.1 Geschichte der bronchoalveolären Lavage**

Die Endoskopie entwickelte sich am Ende des 19. Jahrhunderts, zu einer Zeit als Edison kleinste Glühbirnen erfand, die geeignet waren dem Bronchoskop als Lichtquelle zu dienen (Toellner, 1992). Die erste Bronchoskopie führte Gustav Kilian mit einem Gastroskop durch. Er entfernte damit am 30. März 1897 einen Knochensplitter aus dem rechten Hauptbronchus eines Schwarzwaldbauern (Nakhosteen, 1989). Zu Beginn des 20. Jahrhunderts wurde die BAL therapeutisch zur Entfernung eingedickter Sekrete bei Patienten mit Bronchiektasen benutzt. Später, mit der Einführung des Carlenstubus konnte die Lunge seitengetreunt belüftet und lavagiert werden. Ein weiterer Meilenstein in der Geschichte der BAL war 1964 der Beginn der flexiblen Bronchoskopie durch Dr. Shigeto Ikeda (Ikeda et al., 1968). Danach verbreitete sich diese Technik schnell, so dass erstmalig 1973 eine Gruppe um Cantrell Alveolarmakrophagen aus der BALF isolierte, um nach unterschiedlichen zellulären Eigenschaften zwischen Rauchern und Nichtrauchern zu suchen (Reynolds, 1987). Heute nimmt die Bronchoskopie einen zentralen Platz in der pneumologischen Diagnostik ein. Die BAL und die Gewinnung der BALF sowie die TBB sind in der Zwischenzeit standardisierte Verfahren geworden.

## **1.2 Fibrosierende Lungenerkrankungen**

Bisher wurden über 170 verschiedene Ursachen der Lungenfibrose beschrieben. Darunter sind einige sehr selten vorkommende interstitielle Erkrankungen, die aber ätiologisch eine zahlenmäßig große Gruppe bilden. Hierzu zählen alle durch anorganische Stäube hervorgerufenen Pneumokoniosen und auch die durch organische Allergene induzierten exogen-allergischen Alveolitiden. Weit häufiger treten Fälle von Sarkoidose und anderen Systemerkrankungen wie Kollagenosen und Vaskulitiden auf. Die idiopathische Lungenfibrose ist dagegen die klinisch geläufige Bezeichnung für pulmonale Fibrosen unklarer Ätiologie.

### **1.2.1 Idiopathische pulmonale Fibrose (IPF)**

Nach Ausschluß aller bekannten Ursachen verbleiben 20-30% der fibrosierenden Lungenerkrankungen bei denen eine ätiologische Zuordnung nicht möglich ist. Damit bilden die idiopathischen Lungenfibrosen eine relativ große Gruppe innerhalb der pulmonalen Fibrosen. Viele Jahre lang galt die pathologisch-

anatomische Einteilung der IPF nach Liebow als klassische Differenzierungsgrundlage (Liebow, 1975).

Kurzform	Bezeichnung
UIP	'usual interstitial pneumonia'
DIP	'desquamative interstitial pneumonia'
BIP /	'bronchiolitis interstitial pneumonia' /
BOOP	'bronchiolitis obliterans with organizing pneumonia'
LIP	'lymphocytic interstitial pneumonia'
GIP	'giant cell interstitial pneumonia'

**Tabelle 1.1: Pathologisch-anatomische Klassifikation der IPF nach Liebow.**

Eine neue Differenzierung der IPF, basierend auf der oben aufgeführten Einteilung nach Liebow, untergliedert die IPF jedoch nur noch in vier Untergruppen (Katzenstein & Myers, 1998).

Kurzform	Bezeichnung
UIP	'usual interstitial pneumonia'
DIP	'desquamative interstitial pneumonia'
AIP	'acute interstitial pneumonia'
NSIP	'non specific interstitial pneumonia'

**Tabelle 1.2: Klassifikation der IPF nach Katzenstein & Myers.**

Die übrigen Formen gelten im engeren Sinne nicht mehr als idiopathisch (LIP, GIP) bzw. gehen eher mit intraluminalen als mit interstitiellen pathologischen Veränderungen einher (BIP / BOOP). Die seltener vorkommende AIP, eine innerhalb von 6 Monaten tödlich verlaufende Form der Lungenfibrose (Hamman-Rich-Syndrom), bildet in der neuen Klassifikation eine eigene Subgruppierung. Insbesondere zeigten ultrastrukturelle histopathologische Untersuchungen bei der AIP eine von den chronischen Verlaufsformen abweichenden Art der interstitiellen Fibrose, in Form einer Typ-II Pneumozyten Zellhyperplasie (Katzenstein et al., 1986). Andere Subtypen fibrosierender Lungenkrankheiten mit uniformen interstitiellem Entzündungszellinfiltraten und ohne honigwabenartigem Gewebeumbau bei relativ guter Prognose und mit gutem Ansprechen auf eine systemische Steroidtherapie, werden als NSIP bezeichnet (Katzenstein et al., 1994).



Hauptcharakteristikum der IPF ist eine von Granulozyten-dominierte Alveolitis als Ausdruck einer chronisch-entzündlichen interstitiellen Lungenerkrankung, die progredient fortschreitend zu einem fibrotischen Umbau der Lunge führt. Auch wenn die Ätiologie bisher unbekannt ist, lassen sich formal pathogenetische, zur Fibrose führende Vorgänge, darstellen.

Am Anfang der Entzündungskaskade steht die Aktivierung von Alveolarmakrophagen. Dies wird vermutlich über Immunkomplexe durch ein bisher unbekanntes Agens bewirkt. Die aktivierten Makrophagen ziehen über die Freisetzung chemotaktischer Mediatoren (u.a. IL-8 und LTB<sub>4</sub>) weitere Entzündungszellen (z.B. neutrophile Granulozyten) an (Hunninghake et al., 1981; Carre et al., 1991; Ozaki et al., 1992). Es werden lokal proinflammatorische Zytokine freigesetzt, wodurch sich ein Netzwerk verstärkender und perpetuierender Prozesse entwickelt. Die Entzündungszellen sezernieren verstärkt Proteasen und Sauerstoffradikale, verändern damit das natürliche Gleichgewicht dieser Substanzklassen (Proteasen & Antiproteasen; Oxidantien & Antioxidantien) was eine Destruktion des Lungenparenchyms zur Folge hat (Cantin et al., 1987). Die daraufhin einsetzenden Reparaturvorgänge führen zu irreversiblen fibrotischen Veränderungen des Lungeninterstitiums. Durch Stimulation mit Wachstumsfaktoren (Fibronectin, PDGF, IGF-1) werden Fibroblasten zur Proliferation und Kollagensynthese angeregt (Martinet et al., 1987; Antoniades et al., 1990). Dabei kommt es zu einer parallelen Anlagerung der Kollagenfibrillen. In einem zweiten Schritt werden die Kollagenfasern quervernetzt. Von diesem Zeitpunkt an ist die Fibrose irreversibel. Eine Unterbrechung dieser Entzündungskaskade muß daher frühzeitig geschehen, noch bevor der fibröse Umbau des Gewebes (Remodelling) eingetreten ist.

Nur in etwa 10% der Fälle findet sich eine unauffällige BAL-Zytologie. In allen übrigen Fällen findet sich in der BAL als Ausdruck einer granulozytären Alveolitis eine erhöhte Gesamtzellzahl. Die Granulozytose beträgt im Mittel ca. 20%. Dabei sind vorwiegend die neutrophilen Zellen (im Mittel ca. 15%) vermehrt. In etwa der Hälfte aller Erkrankungen findet sich auch eine Zunahme der eosinophilen Granulozyten (auf ca. 5% aller Zellen). Durch Freisetzung zytotoxischer Proteine führen sie zur protrahierten Destruktion des Interstitiums und gelten daher als prognostisch ungünstiger Parameter. Eine Begleitlymphozytose mit normalem CD4/CD8-Quotient ist häufig.

### 1.2.2 Sarkoidose

Die Sarkoidose ist eine seltene Erkrankung, die jedoch nicht immer erkannt wird. Deshalb liegt die Morbidität vermutlich 2-3 fach höher als tatsächlich registriert (Stiefelhagen, 1998). Männer und Frauen im jungen bis mittleren Erwachsenenalter sind etwa gleichhäufig von dieser Multisystemerkrankung betroffen.

Die Pathogenese der Sarkoidose ist noch nicht eindeutig geklärt. Man vermutet, daß durch ein bislang unbekanntes Antigen eine immunologische Entzündungsreaktion ausgelöst wird, die für die Bildung der typischen nicht verkäsenden Granulome verantwortlich ist (Zissel et al., 1997). Als Antigene werden u. a. Bakterien (Yersinien, Chlamydien, Mykobakterien), Viren und Blütenpollen diskutiert. Das vermeintliche inhalative Antigen aktiviert Alveolarmakrophagen, die daraufhin TNF- $\alpha$ , IL-1- $\alpha$  und IL-6 sezernieren (Newman et al., 1997; Müller-Quernheim et al., 1992). Diese Zytokine sind T-Zell Aktivatoren. Die meisten alveolären T-Zellen sind Helferzellen (CD4<sup>+</sup>), die dann aktiviert weitere Zytokine (IL-2, GM-CSF und M-CSF) freisetzen. Durch diese zytotoxischen Proteine werden zahlreiche Monozyten aus dem peripheren Blut angelockt. In der Lunge differenzieren sie sich zu Gewebsmakrophagen und produzieren Fibrin, Fibronectin, TGF- $\beta$ , IL-12, IL-15, IFN- $\gamma$  und TNF- $\alpha$  (ATS/ERS/WASOG, 1999). Dabei wandeln die Makrophagen sich in Epitheloidzellen um und fusionieren teilweise zu vielkernigen Riesenzellen, einem Charakteristikum der granulomatösen Entzündung.

In über 95% der Fälle findet man einen positiven Thoraxbefund im Röntgenbild. Nach röntgenologischen Kriterien teilt man die pulmonale Sarkoidose in verschiedene Stadien ein.

Stadium	Charakteristika
Stadium 0	Normalbefund bei isolierter extrapulmonaler Manifestation
Stadium I	Symmetrische Hiluslymphknotenvergrößerung
Stadium II	Hiluslymphknotenvergrößerung und Lungenparenchyembefall
Stadium III	Lungenparenchyembefall ohne Hiluslymphknotenvergrößerung
Stadium IV	Lungenfibrose mit irreversibler Lungenfunktionsminderung

**Tabelle 1.3: Radiologische Stadieneinteilung der Sarkoidose.**

Durch eine hämatogene Streuung kommt es häufig zu extrapulmonalen Manifestationen, darunter zeigen bis zu 30% der Patienten eine Mitbeteiligung des

Herzens mit Befall des Reizleitungssystems und auftretenden Rhythmusstörungen. In 25% der extrapulmonalen Manifestationen ist die Haut befallen, was sich entweder als Erythema nodosum oder als Lupus pernio zeigt. In weiteren 25% tritt ein Augenbefall als Iridozyklitis, Uveitis, Kalkablagerungen in Binde- und Hornhaut oder Tränendrüsenbefall auf (Newman et al., 1997).

Für die Behandlung der Sarkoidose kommen überwiegend Kortikoide zum Einsatz. Die akute Sarkoidose (Löfgren-Syndrom) stellt wegen der zu 90% vorkommenden spontanen Remissionen keine Indikation zur Kortikosteroidtherapie dar. Auch bei der chronischen Form wird der Einsatz von Kortikosteroiden kritisch beurteilt, da die Sarkoidose insgesamt eine günstige Prognose hat und die Steroide zahlreiche Nebenwirkungen aufweisen. Es ist durchaus gerechtfertigt über einen Zeitraum von 6 Monaten den Verlauf der Erkrankung zu beobachten. Bei Progredienz der Erkrankung bzw. Zunahme der Symptomatik sollte jedoch eine Behandlung eingeleitet werden, da mit Beginn der Kortikoidtherapie ein Übergang in eine Lungenfibrose aufgehalten werden kann.

Die Beurteilung der Aktivität der pulmonalen Sarkoidose ist eine Domäne der BAL. Typisch für die Sarkoidose ist eine lymphozytäre Alveolitis mit  $41 \pm 21\%$  Lymphozytenanteil in der Differentialzytologie und ein CD4/CD8-Quotient über 5 sowie erhöhte T-Zellaktivitätsparameter. Hier gelten CD25<sup>+</sup>-T-Zellen über 6% und HLA-DR<sup>+</sup>-T-Zellen über 5% der Gesamtlmphozyten als deutliche Hinweise auf eine gesteigerte Entzündungsaktivität der Sarkoidose und rechtfertigen bei passender klinischer Manifestation den Einsatz von Steroiden.

Obwohl viele diagnostisch und für den Verlauf wertvolle Untersuchungsmethoden wie die Bestimmungen von ACE, s-IL-2R und <sup>67</sup>Ga-Szintigraphie zur Verfügung stehen, zeigten die Ergebnisse der 10. Internationalen Sarkoidose Konferenz im Jahre 1986, daß es keine verlässlichen Parameter gibt, die eine Progredienz der Erkrankung mit Entwicklung einer Fibrose (Stadium IV) anzeigen können (Stiefelhagen, 1998; Lörcher & Schmidt, 1996).

### **1.2.3 Exogen allergische Alveolitis (EAA)**

Zahlreiche inhalative Antigene können nach vorangegangener Sensibilisierung zur Hypersensitivitätspneumonitis führen. In unseren Breiten treten am häufigsten die Vogelhalterlunge und die Farmerlunge auf. In einem Mausmodell läßt sich nach wiederholter inhalativer Provokation mit einem Pilzantigen die Entwicklung einer EAA nachvollziehen. Die pathologischen Veränderungen in der Lunge der Mäuse,

waren dabei den menschlichen Veränderungen bei der EAA vergleichbar (Denis et al., 1991).

Für die Diagnostik der EAA ist die Anamnese ein wichtiger Baustein. Klinisch äußert sich die in Schüben, teilweise hochfieberhaft verlaufende Erkrankung mit Schüttelfrost und starkem Krankheitsgefühl. Oft manifestiert sich die EAA in den Wintermonaten, maskiert als ein grippaler Infekt. Die Rolle einer begleitenden oder vorausgehenden Virusinfektion bei der Sensibilisierungsreaktion gegenüber dem Allergen wird noch untersucht. Einige Studien zeigten eine mögliche Beeinflussung der immunologischen Reaktion auf die Allergenprovokation bei nachweisbarer viraler Infektion der Atemwege (Dakhama et al., 1999). Dabei charakterisieren trockener Husten, Tachypnoe, Rasselgeräusche und Tachykardie die Symptomatik. Lungenfunktionell zeigt sich eine Abnahme der Vitalkapazität, des CO-Transferfaktors und des  $P_aO_2$  unter Belastung. Charakteristisch ist die Beteiligung oberer Lungenabschnitte mit milchglasartigen Verschattungen. Bei chronischer Verlaufsform treten Honigwaben in den Vordergrund (Lörcher & Schmidt, 1996). Im Labor findet sich meist ein deutlich erhöhter Gesamt-IgE-Spiegel. Wichtiger ist jedoch der Nachweis einer Sensibilisierung gegenüber dem spezifischen Antigen, durch erhöhte spezifische IgG-Titer. In etwa 20% finden sich bei den sogenannten 'seronegativen Alveolitiden' jedoch keine Präzipitine im Blut. Die spezifisch wirkenden Allergene organischer Stäube sind kleinste Partikel unter 5  $\mu$ m Durchmesser. Im Lungenparenchym und den terminalen Bronchiolen führen sie über Typ III- (humoral) und Typ IV- (zellulär) vermittelten Überempfindlichkeitsreaktionen zur Entzündung. Das inhalierte Antigen bildet mit Präzipitinen (spezifische zirkulierende Antikörper vom IgG-Typ) Immunkomplexe, die sich im Interstitium ablagern und eine Komplementaktivierung mit nachfolgender Chemotaxis für neutrophile Granulozyten einleiten, nachweisbar an der granulozytären Alveolitis der BALF in der subakuten Phase 24 bis 48 Stunden nach Antigenexposition. Die hierbei freigesetzten Entzündungsmediatoren führen innerhalb von 4-12 Stunden zum Alveolarwandödem.

Dieser Pathomechanismus spiegelt die akute Verlaufsform der exogen allergischen Alveolitis wieder. Dagegen ist die Spätreaktion durch eine Einwanderung sensibilisierter T-Lymphozyten und nachfolgender Makrophagenaktivierung mit der Bildung kleiner Epitheloidzellgranulome gekennzeichnet. Bleibt eine Allergenkarenz aus, schreitet die interstitielle

Entzündung weiter fort, bis hin zur manifesten Lungenfibrose. Hieran sind wiederum Alveolarmakrophagen beteiligt, die Fibroblasten-Wachstumsfaktoren freisetzen und die Proliferation von Fibroblasten sowie die Synthese von Kollagenfasern induzieren (Konietzko et al., 1995; Burmester & Pezzutto, 1998). Die TBB zeigt eine interstitielle Alveolitis mit Lymphozyten- und makrophagenreicher Zellinfiltration. Teilweise lassen sich kleine Granulome als pathologisches Korrelat der Typ-IV vermittelten Zellreaktion nachweisen.

In der BAL ist neben einer bis zu 5-fach erhöhten Gesamtzellzahl (GZZ), die Trias mit Lymphozytose (bis 85%), erniedrigtem CD4/CD8-Quotienten (<1,0) und dem Nachweis von CD57-positiven NK-Zellen nicht nur typisch für die EAA, sondern auch sensitiver als das Röntgenthorax zur Erfassung der Erkrankung (Costabel, 1993).

#### **1.2.4 Pneumokoniose**

Nach chronischer inhalativer Belastung durch anorganische Stäube (Silikat, Asbest) kann es zu einer Pneumokoniose kommen. Seltenerer Pneumokoniosen sind die Bauxitlunge und die Kaolinlunge.

Die Silikose ist die häufigste Pneumokoniose. Dabei führt eine chronische Exposition gegenüber kristallinem Quarz mit einer Korngröße von 7 µm zu einer alveolären Belastung. Nach Phagozytose gelangen die staubbeladenen Zellen in das Interstitium. Hier kommt es nach Lyse der Alveolarmakrophagen zur Mediatorfreisetzung und Aktivierung von Fibroblasten. Über die Neubildung von kollagenen Fasern im Interstitium und mit Anlagerung weiterer Makrophagen und Fibroblasten bilden sich Noduli mit zwiebelschalenartig angeordneten Kollagenfasern. Die Noduli können sich entlang der Septen ausbreiten oder zu großen Fibroseschwielen konfluieren.

Radiologisch imponiert die Silikose mit einem interstitiellen Zeichnungsmuster, obwohl neben einer Belastungsdyspnoe auskultatorisch meist ein weniger eindrucksvoller Befund zu erheben ist. Die Lungenfunktion zeigt eine restriktive Ventilationsstörung, oft mit obstruktiver Komponente und eine Diffusionsstörung mit nachfolgender Hypoxämie. Auffällig ist die erhöhte Infektanfälligkeit der Patienten (10% mit Siliko-Tuberkulose) und die Ausbildung chronisch obstruktiver Lungenerkrankungen (chronisch obstruktive Bronchitis, Lungenemphysem).

Die Asbestose entwickelt sich 20 bis 40 Jahre nach chronischer Inhalation von Asbestfasern. Über den Luftstrom erreichen die Silikatfasern mit einer Länge von

20-200  $\mu\text{m}$  und einem Durchmesser von 2 bis 5  $\mu\text{m}$  die Bronchiolen und Alveolen, vorwiegend der basalen Lungenabschnitte. Die Asbestfasern führen über eine lokale T-Zell-Aktivierung zur vermehrten Interleukinfreisetzung und damit zur Aktivierung von Alveolarmakrophagen. Diese nehmen die Fasern auf und bilden Asbestkörperchen. Gleichzeitig kommt es zur Ausbildung charakteristischer Plaques auf diaphragmalen und basalen Abschnitten der parietalen Pleura, die im Verlauf verkalken. Eine unscharfe Herzkontur im Röntgenbild weist auf Beteiligung der herznahen Pleura hin ('Zottenherz'). Die Fibrose breitet sich von peribronchiolär entlang des septalen Bindegewebes diffus aus. Nach fibrotischer Schrumpfung entstehen Emphysem, Bronchioloektasien und eine Wabenlunge. Klinisch zeigt sich eine Belastungsdyspnoe mit rezidivierenden Infekten. Im Sputum kann der Nachweis von Asbestkörperchen geführt werden. Typisch sind Pleuraergüsse, dabei kann der Nachweis von Asbestfasern im Punktat gelingen. Die Untersuchung der BALF bei der Silikose zeigt neben einer deutlich erhöhten Gesamtzellzahl, eine neutrophile Granulozytose, welche durch Ausschüttung chemotaktischer Faktoren von den faserphagozytierenden Makrophagen verursacht wird. Der CD4/CD8-Quotient ist eher verringert, infolge einer relativen Zunahme von CD8<sup>+</sup>-T-Zellen. Die Asbestose ist dagegen durch eine CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozytose charakterisiert. Eine begleitende Granulozytose, vorwiegend neutrophiler Zellen, wird durch erhöhte LTB<sub>4</sub> Sekretion der Alveolarmakrophagen verursacht (Costabel, 1993).

### **1.2.5 Arzneimittel-induzierte Lungenfibrose**

Einige Medikamente können zu einer chronisch-fibrosierenden Lungenerkrankung führen. Hierzu gehören Zytostatika (Bleomycin, Methotrexat, Azathioprin, Cyclophosphamid) und Antiarrhythmika (Amiodaron). Husten, Dyspnoe und subfebrile Temperaturen kennzeichnen den Krankheitsbeginn, oft erst Monate bis Jahre nach Behandlungsbeginn mit den Medikamenten. Radiologisch ist die Arzneimittelpneumonitis durch eine diffuse, beidseits basal betonte interstitielle Zeichnungsvermehrung mit intraalveolären Infiltraten gekennzeichnet. Im Spätstadium sind auch hier honigwabenartige Muster zu finden. Wegen der großen antiarrhythmischen Wirksamkeit findet Amiodaron breite Anwendung. Jedoch kommt es in 10% der Fälle zu einer pulmonalen Reaktion mit Entwicklung einer Lungenfibrose (Fogoros et al., 1983). Histologische Untersuchungen zeigten neben einer interstitiellen Entzündungszellinfiltration mit begleitender Fibrose bei

der Amiodaron-induzierten Pneumonitis auch eine Hyperplasie der Typ II Pneumozyten (Nagata et al., 1997).

Die zellulären Veränderungen in der BALF sind in Abhängigkeit vom Medikament teilweise sehr verschieden. In der Mehrheit findet sich eine lymphozytäre Alveolitis, selten auch eine neutrophile oder eosinophile Infiltration, häufiger ist eine Mischform vorhanden. Die Lymphozytose kann sehr ausgeprägt sein (bis zu 70%) und geht dann mit einer charakteristischen CD8<sup>+</sup>-T-Zellvermehrung einher. Man findet daher ähnlich wie bei der EAA ein erniedrigtes CD4/CD8-Verhältnis (Costabel, 1993). Die Diagnosestellung der Arzneimittel-induzierten Pneumonitis ist schwierig. Untersuchungen, zur Beurteilung der diagnostischen Aussagekraft von Anamnese, Lungenfunktion und BAL zeigten, daß insbesondere die BAL als Indikator für die Diagnose der Amiodaron-induzierten Pneumonitis nicht geeignet erscheint. Vielmehr sind aufgrund des Fehlens spezifischer, fibroseanzeigender Marker zahlreiche mikrobiologische Zusatzuntersuchungen notwendig. Die Arzneimittel-induzierte Pneumonitis ist eine Ausschlußdiagnose und erfordert umfangreiche differentialdiagnostische Überlegungen (Ohar et al., 1992).

#### **1.2.6 Lungenfibrosen bei systemischen Bindegewebserkrankungen**

Die pulmonale Manifestation einer Kollagenose kann morphologisch und funktionell sehr unterschiedlich sein. Pathologisch-anatomisch imponiert ein typisch fokales Verteilungsmuster, wie bei der UIP, also ein Nebeneinander von Alveolitis, Fibrose und normalen alveolären Strukturen (Borges & Witt, 1998). Charakteristische pleuropulmonale Manifestationen sind Pleuritis mit Pleuraerguß (v.a. systemischer Lupus erythematodes und Sjögren-Syndrom) und die Alveolitis mit Fibrose (v.a. systemische Sklerodermie, systemischer Lupus erythematodes und Sharp-Syndrom).

In der BALF überwiegt eine lymphozytäre Alveolitis, die mit einer Vermehrung von eosinophilen und neutrophilen Granulozyten einhergeht und somit parallel zur IPF eine ungünstigere Prognose anzeigen kann (Costabel, 1993). Untersuchungen zum vorliegenden zellulären Entzündungsmuster bei der systemischen Sklerodermie zeigten, daß die lymphozytäre Alveolitis insgesamt eine bessere Prognose als die granulozytäre Form hat (Borges & Witt, 1998).

### 1.3 Das Integrin $\alpha^E\beta_7$

Integrine sind Adhäsionsmoleküle und werden auf der Zelloberfläche respiratorischer Epithelien und Lymphozyten exprimiert. Dabei dienen sie der Orientierung und Funktion von immunkompetenten Zellen im Gewebe (Frenette & Wagner, 1996). Auf der sechsten internationalen Nomenklatur-Konferenz der 'cluster of differentiation' (CD) wurde  $\alpha^E\beta_7$  der Name CD103 zugeteilt. Bis heute ist über die genaue Funktion dieses heterodimeren Moleküls allerdings nur wenig bekannt.

#### 1.3.1 Erstbeschreibung

Die Erstbeschreibung geht auf die Entdeckung eines neuen Antigens humaner Schleimhautlymphozyten zurück. Dieses Oberflächenmolekül ließ sich mit Hilfe von monoklonalen Antikörpern gegen das 'human mucosal lymphocyte antigen-1' (HML-1) auf Zellen aller Klassen humaner intestinaler intraepithelialer Lymphozyten (iIEL) nachweisen. Dagegen fanden sich nur wenige HML-1 positive Zellen anderer lymphoider Kompartimente (Cerf-Bensussan et al., 1987).

#### 1.3.2 Herkunft und Struktur

Die weitere Differenzierung der HML-1 positiven Zellen zeigte, dass bis zu 95% aller intraepithelialen Lymphozyten (IEL), 40% aller Lamina propria Lymphozyten (LPL) und nur 2% aller peripheren Blutlymphozyten (PBL) dieses Antigen besitzen. Die HML-1 positiven PBL ließen sich als aktivierte Lymphozyten (CD45RO<sup>+</sup>-Zellen oder 'memory'-Zellen) charakterisieren. Der Nachweis, dass aktivierte Lymphozyten HML-1 exprimieren, konnte auch in vitro geführt werden. Hierbei wurde nach Stimulation der PBL (jeweils mit einem Mitogen, Tuberkulin und Tetanustoxin) auf der Zelloberfläche HML-1 und CD25 nachgewiesen (Schieferdecker et al., 1990). Auch die Stimulation der PBL mit TGF- $\beta_1$ , einem von Epithelzellen sezerniertes Zytokin, konnte eine vermehrte Expression von HML-1 belegen (Parker et al., 1992). Untersuchungen zur Struktur von HML-1 zeigten eine biochemische Verwandtschaft der  $\alpha$ -Kette des dimeren Moleküls zu VLA $\alpha$ -4. Dieses zur Gruppe der 'very late' Antigene gehörende Integrin wird zwar auf HML-1 positiven Zellen exprimiert, aber durch den monoklonalen Antikörper selbst nicht erfasst (Cerf-Bensussan et al., 1992). Erst weitere Analysen des HML-1 bindenden Antigens mittels Immunpräzipitation deckten die Struktur des Proteins, bestehend aus einer 175 kDa  $\alpha$ -Kette ( $\alpha^E$ ) und einer 110 kDa  $\beta$ -Kette ( $\beta_7$ ) auf und



ermöglichten somit die Zuordnung des HML-1 Moleküls zur Familie der Integrine (Shaw et al., 1994). Charakteristisch für die Integrine ist eine erhöhte Expression bei Lymphozytenaktivierung. Es werden dann bestimmte Oberflächenantigene exprimiert, die die Herkunft der Zellen aus dem jeweiligen Gewebe anzeigen (Parker et al., 1992). In der respiratorischen Schleimhaut der Atemwege bilden Lymphozyten in organisierter Form (Tonsillengewebe) oder diffus im Gewebe verteilt, als intraepitheliale Lymphozyten (IEL) so eine wichtige Rolle in der zellulären Abwehr. Neben den IEL im Bronchialepithel zeigen auch einige alveolarständige Lymphozyten sowie T-Zellen in der BALF  $\alpha^E\beta_7$  auf ihrer Zelloberfläche (Erle et al., 1994). Insgesamt läßt dieses gewebsspezifische Expressionsverhalten  $\alpha^E\beta_7$  als ein 'homing'-Rezeptor für Lymphozyten vermuten.

### 1.3.3 Funktion des $\alpha^E\beta_7$ -Antigens

Vermutlich beeinflusst  $\alpha^E\beta_7$  die Migration von T-Lymphozyten und ist damit für das 'homing' im Epithel verantwortlich. Hinweise darauf ergaben Experimente mit einem monoklonalen Antikörper, der die Adhäsion von IEL auf Epithelzellen blockiert (Cepek et al., 1993). Als korrespondierender Ligand von  $\alpha^E\beta_7$  fungiert E-Cadherin, der auf der basolateralen Oberfläche der Epithelien lokalisiert ist (Cepek et al., 1994). Weitere In-vitro-Versuche zeigten zudem eine Hochregulation der  $\alpha^E\beta_7$ -Expression auf Lymphozyten nach Inkubation mit TGF- $\beta_1$ , so daß  $\alpha^E\beta_7$  als ein Aktivitätsmarker gelten kann (Cepek et al., 1993).

### 1.3.4 Rolle von $\alpha^E\beta_7$ in der Fibrogenese

Bisherige Kenntnisse in der Entwicklung pulmonaler Fibrosen lassen jedoch auch eine weitere Funktion des  $\alpha^E\beta_7$ -Antigens vermuten. So werden initial aktivierte T-Lymphozyten und IEL in der respiratorischen Schleimhaut für die Inflammation als verantwortlich angesehen. Nach deren Adhäsion auf Epithelzellen und Aktivierung mit Produktion zahlreicher Zytokine, wie TGF- $\beta_1$ , wird die Fibrogenese eingeleitet. Die Funktion von  $\alpha^E\beta_7$  sowohl für das 'homing' der T-Lymphozyten und deren Adhäsion als auch für die weitere Aktivierung der Zellen wird diskutiert, ist aber bisher nicht eindeutig definiert. Auch ist unklar, ob den  $\alpha^E\beta_7$ -T-Zellen noch andere Funktionen zukommen und ob das Auftreten dieser Lymphozyten als Hinweis für eine fibrogene Entzündung gewertet werden kann.

## 2 Ziele der Arbeit

In der Diagnostik pulmonaler Fibrosen ist die BAL fest etabliert. Neben qualitativen Aussagen zur Charakterisierung der vorliegenden Alveolitis können quantitative Ergebnisse für die Aktivitätsbeurteilung herangezogen werden. Für einige Erkrankungen (Sarkoidose, EAA) liefert die BAL diagnoseweisende Befunde. Zur spezifischen Diagnostik und Aktivitätsbeurteilung der pulmonalen Fibrose existiert derzeit jedoch kein Marker.

Nach Fibroblastenaktivierung erfolgt die Synthese kollagener Fasern. Daran beteiligt ist vorrangig TGF- $\alpha_1$ , ein epithelialer Wachstumsfaktor, der auch die Expression von  $\alpha_1$  hochreguliert. In Anlehnung an diese Kenntnisse und die Ergebnisse zweier Arbeitsgruppen (Rihs et al., 1996; Lohmeyer et al., 1999), die eine erhöhte  $\alpha_1$ -Expression im Zusammenhang mit fibrosierenden Lungenerkrankungen zeigten, bestand das primäre Ziel dieser Arbeit darin, das Expressionsverhalten von  $\alpha_1$  auf CD4<sup>+</sup>-T-Zellen aus der BAL bei pulmonalen Fibrosen zu analysieren. Weiter soll Bezug auf die Krankheitaktivität, das Rauchverhalten, den Einfluß von Immunsuppression sowie auf die Beziehung zu speziellen T-Zellaktivierungsparametern (CD25<sup>+</sup> und HLA-DR<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten) genommen werden.

Abschließend soll auf dieser Basis eine Aussage zur diagnostischen Relevanz des Markers  $\alpha_1$  formuliert werden.

### **3 Material und Methoden**

Im Zeitraum von Juni 1997 bis Januar 1999 sind 169 bronchoalveoläre Lavagen in der pneumologischen Abteilung der Klinik für Innere Medizin der Jenaer Universitätsklinik durchgeführt worden. Das Patientengut bestand zu etwa 80% (n=135) aus dem stationären Anteil und zu 20% (n=34) aus dem ambulanten Versorgungsbereich der Universitätsklinik Jena. Bei allen Patienten ist im Rahmen der klinischen Diagnostik eine Lungenfunktion mit kapillärer Blutgasanalyse und Bestimmung der Diffusionskapazität durchgeführt worden. Bei jedem Patienten mit dem Verdacht auf eine interstitielle Lungenerkrankung wurde eine HRCT ('high resolution computer tomography') des Thorax und eine Röntgen-Thoraxaufnahme angefertigt. Zur histologischen Diagnosesicherung wurde fast ausschließlich Material mittels transbronchialer Biopsie entnommen. Nur in wenigen Fällen (n=2) war eine thoraxchirurgische Intervention nötig, um Lungengewebe für die histologische Aufarbeitung mittels offener Lungenbiopsie (OLB) zu gewinnen.

#### **3.1 Auswahl der Patienten**

Nach Studium der Krankenakten aller Patienten, bei denen im oben genannten Zeitraum eine BAL durchgeführt wurde, sind nur die mit eindeutiger diagnostischer Aussage zum Vorliegen einer Lungenfibrose in die Auswertung eingeschlossen worden. Die relevanten Daten aller notwendigen Untersuchungsbefunde für die Zuordnung der Patienten zur Gruppe der Lungenfibrose sind im folgenden Abschnitt zusammengefaßt. Dabei konnten die Patienten, die nach den folgenden diagnostischen Kriterien eine Lungenfibrose hatten, in die Gruppe Fibrose eingeteilt werden. Entsprechend wurden die Patienten, die nach diesen Kriterien keine Fibrose aufwiesen, in die Gruppe Nichtfibrose (Kontrollgruppe) eingeordnet.

##### **3.1.1 Diagnostische Kriterien der Lungenfibrose**

Zur Klärung der pulmonalen Veränderungen vereinen sich Anamnese, körperlicher Untersuchungsbefund, Lungenfunktion, bildgebende Verfahren, Routinelabor, die Analyse der BALF und bioptische Methoden wie die TBB und die OLB zu einem diagnostischen Kreis. Abgesehen von der histologischen Beurteilung der TBB hat jede einzelne der diagnostischen Methoden nur eine begrenzte Aussagefähigkeit. Zusammengeschlossen ergänzen sie sich jedoch und lassen dann meist eine Diagnose zu. Liegt zum Beispiel anhand der Röntgenaufnahme der Verdacht einer Sarkoidose vor, so eignet sich die Differentialzytologie der BALF am besten zur

Komplementierung. Auf diesem Wege erhält man eine sichere Arbeitsdiagnose und kann unmittelbar eine adäquate Therapie einleiten (Costabel et al., 1987).

### **Anamnese**

Die gründlich geführte Anamnese ist in der Diagnostik pulmonaler Fibrosen ein wichtiger Bestandteil. Bereits aufgrund der vom Patienten geschilderten Zusammenhänge von Symptomen und Einflußfaktoren sind Rückschlüsse auf die Ätiologie der Erkrankung möglich.

Ein ausführliches Studium der Patientenakten half mir wichtige Hinweise auf das Vorliegen einer fibrosierenden Lungenerkrankung zu finden. Dabei war die Umwelt- und Berufsanamnese für die EAA (Farmerlunge, Taubenzüchterlunge, Befeuchterlunge) oder Pneumokoniose (Silikose, Asbestose) essentiell. Insbesondere dann, wenn der Patient privat oder beruflich potentiellen Allergenen gegenüber exponiert gewesen ist, waren Symptome wie rezidivierendes Fieber und Gewichtsverlust für eine EAA hinweisend. Auch die Raucheranamnese half mir bei der Differentialdiagnose der Lungenfibrose. So war die Diagnose Sarkoidose oder EAA bei Nichtrauchern wahrscheinlicher, im Gegensatz bei Rauchern die IPF häufiger (Papisir et al., 1995 und Costabel et al., 1987). Berichtet der Patient über Lichtempfindlichkeit, Visusverlust und Schmerzen im Auge, dann ergab sich für mich der Verdacht auf das Vorliegen einer Uveitis anterior und damit ein Hinweis auf die Sarkoidose.

Bei der Medikamentenanamnese achtete ich auf Arzneimittel, die häufig im Zusammenhang mit einer Lungenfibrose beschrieben worden sind (Amiodaron, Methotrexat). Arthritiden und Hämoptysen deuteten auf eine Kollagenose oder Vaskulitis hin. Der Verdacht auf eine solche Systemerkrankung bestand, wenn parallel dazu Veränderungen an Schleimhäuten, Lymphknoten, Milz, Tränendrüsen, Speicheldrüsen, ZNS, Nieren, Haut, Gelenken, Muskulatur, Perikard, Myokard und Pleura beobachtet wurden.

### **Körperlicher Untersuchungsbefund**

Dyspnoe und Husten sind in der Pneumologie die am häufigsten vorkommenden Symptome. Neben der Art und der Qualität war bei der Durchsicht der Patientenakten vor allem die zeitliche Entwicklung der Beschwerden diagnostisch wertvoll.

Für die Lungenfibrose geltenden typischen Befunde sind initial ein trockener Reizhusten, anfangs noch Belastungsdyspnoe, später im Verlauf eine sich verstärkende Ruhedyspnoe mit Tachypnoe, Zyanose und Gewichtsverlust im Rahmen der pulmonalen Kachexie. Auskultatorisch fanden sich charakteristische Phänomene wie die Sklerophonie. Zeichen der Rechtsherzinsuffizienz (Unterschenkelödeme, obere Einflußstauung, Lebervenenstauung) deuteten auf eine pulmonale Hypertonie bei weit fortgeschrittener Lungenfibrose hin. Ebenso sind Trommelschlegelfinger und Uhrglasnägel häufig. Schwere Krankheitsbilder mit Erythema nodosum und Polyarthralgien deuteten auf die akute Verlaufsform der Sarkoidose (Löfgren-Syndrom) hin. Fanden sich in den Unterlagen Hinweise auf eine ausgeprägte grippale Infektsymptomatik, so kann auch eine EAA in der akuten Krankheitsphase (6-8 Stunden nach Antigeninhalation), vorliegen. Bei der Inspektion der Haut war ein Schmetterlingserythem für den systemischen Lupus erythematodes typisch, genauso wie subkutane Knoten, besonders am Handgelenk und an den Streckseiten der Unterarme, für eine rheumatoide Arthritis sprachen. Sehr eindrucksvoll bei der körperlichen Untersuchung stellten feste und straffe Haut am ganzen Körper mit perioraler Fältelung und kleiner gewordener Mundöffnung als Hinweise auf die Sklerodermie dar. Beschrieb der Patient dazu noch Dysphagie und ein Raynaud-Phänomen, dann bestand der Verdacht auf eine systemische Sklerose, z.B. CREST-Syndrom.

### **Lungenfunktion**

Die Lungenfunktion ist eine der wichtigsten diagnostischen Methoden in der Pneumologie. Die genaue Betrachtung der Form der Fluß-Volumenkurve (rascher Anstieg während der Expiration bei kleiner Vitalkapazität) sowie der Nachweis einer Verminderung der statischen Lungenvolumina (Vitalkapazität und totale Lungenskapazität) stellten die Diagnose einer restriktiven Ventilationsstörung. Eine Einschränkung der Diffusionskapazität für Kohlenmonoxid kam auch ohne wesentliche Verminderung der statischen Lungenvolumina vor. So war bereits eine Störung des Gasaustausches ohne Restriktion erkennbar. Die Bestimmung der Diffusionskapazität galt daher als ein sensitiver Marker für den Nachweis einer beginnenden Lungenfibrose.

## **Bildgebende Verfahren**

Bei allen Patienten mit dem Verdacht auf eine interstielle Lungenerkrankung wurde neben einer Röntgen-Thoraxübersichtsaufnahme eine HRCT des Thorax angefertigt. Anhand der Auswertungen dieser Untersuchungen konnte ich typische radiologische Befundmuster der Lungenfibrose zuordnen, vereinzelt waren weiterführende differentialdiagnostische Aussagen möglich.

Fielen bei der konventionellen Darstellung aufsteigende retikuläre und retikulonoduläre Verdichtungen überwiegend basaler Lungenabschnitte auf, so sprachen diese wie in der HRCT imponierende bilaterale retikuläre und überwiegend subpleurale Veränderungen mit Ausbildung von Honigwaben für eine IPF. Die Sarkoidose war in der Röntgenübersichtsaufnahme an vergrößerten bihilären und mediastinalen Lymphknoten zu erkennen (Stadium I). Ein miliares noduläres und retikuläres Muster sprach für eine Lungenparenchymbeteiligung (Stadium II) und ein Honigwabenmuster (Stadium III) für eine "ausgebrannte Fibrose", dem Endstadium aller pulmonalen Fibrosen. Die Pneumokoniosen zeichneten sich in Abhängigkeit des inhalierter Staubes durch eine Vielfalt radiologischer Befunde aus. Bei der Silikose waren Verkalkungen der vergrößerten hilären Lymphknoten ('Eierschalensilikose'), multiple nodöse scharf begrenzte homogene Rundschatten in den Mittel- und Oberfeldern ('Schneegestöber') aber auch knotige Schwielen und Verschwartungen anzutreffen. Bei der Asbestose standen die pleuralen Veränderungen im Vordergrund. Dabei fielen Pleuraplaques bevorzugt an der diaphragmalen parietalen Pleura auf. Zeigten sich Pleura- und Perikardergüsse in den Aufnahmen, so konnte ich diese im Zusammenhang mit den anderen klinischen Befunden als Polyserositis im Rahmen einer Kollagenose einordnen.

## **Routinelabor**

Im allgemeinen ist das Routinelabor wenig spezifisch oder hilfreich in der Differentialdiagnostik interstitieller Lungenerkrankungen.

Diagnostisch hilfreich waren erhöhte Vitamin D-, Serumkalzium- oder ACE-Spiegel für das Vorliegen einer Sarkoidose. Eine auffällige Rheumaserologie mit Rheumafaktoren und erhöhte Titer von antinukleären Antikörpern gaben wichtige Hinweise auf eine Kollagenose. Ein wichtiger Baustein für die Diagnostik der EAA,

war der Befund des immunologischen Labors. Dabei war ein erhöhter Gesamt IgE-Spiegel sowie der Nachweis spezifischer IgG-Antikörper (Präzipitine) wichtig.

### **Die Histologische Beurteilung der TBB**

Nach mehrfacher Zangenbiopsie unter Durchleuchtung wurden die TBB im pathologischen Institut der Universitätsklinik Jena hinsichtlich der diagnostisch relevanten Fragestellung begutachtet. Insgesamt konnten so in Zusammenhang mit den anderen diagnostischen Methoden häufig eine Aussage zum Vorliegen einer Lungenfibrose getroffen werden. Die histopathologische Zuordnung richtet sich nach den unter 1.2.1 aufgeführten Einteilungen von Liebow bzw. Katzenstein & Meyers.

Für die Sarkoidose im Stadium I lassen sich bereits 80% der Fälle multiple nichtverkäsende epitheloidzellige Granulome und damit eine eindeutige histologische Zuordnung nachweisen (Lörcher & Schmidt, 1996). Bei der EAA ist die diagnostische Ausbeute mit 30-40% wesentlich geringer, vor allem fehlen eindeutige histopathologische Kriterien für den Nachweis dieser interstitiellen Lungenparenchymerkrankung. Wesentlich schlechter lassen sich der Verdacht einer Kollagenose sowie Vaskulitiden wie der Morbus Wegener nachweisen, da die gewonnene Gewebemenge mittels TBB in der Regel zu gering ist. Dennoch sind mit insgesamt 60% positivem Nachweis die Ergebnisse der TBB gut (Costabel et al., 1987).

### **3.2 Durchführung der BAL**

Nach Prämedikation wurde die BAL in transnasaler bzw. in transoraler Technik durchgeführt. Stets erfolgte die BAL vor weiteren diagnostischen Maßnahmen wie der Bürstenzytologie oder der TBB, um Kontaminationen der BALF mit Blut zu vermeiden. Bei der BAL wurde das Fiberbronchoskop jeweils in dem betroffenen Segment (meist Mittellappen oder Lingula) bis zur 'wedge'-Position vorgeschoben. Dann erfolgte die Instillation von mehrmals 20 ml angewärmter steriler physiologischer Kochsalzflüssigkeit. Nach jeder Instillation wird das Kochsalz wieder aspiriert. Insgesamt beträgt das 'Recovery' etwa 50% des Instillationsvolumen. Bekannt ist, daß bei obstruktiven Lungenerkrankungen mit Lungenemphysem sowie bei älteren Patienten und Rauchern die Rückgewinnung der instillierten Flüssigkeitsmenge geringer ausfällt (Costabel, 1993).

### **3.3 Aufarbeitung der BALF im pneumologischen Forschungslabor**

Die gewonnene BALF wurde auf Eis zusammen mit einem Begleitschreiben zu Angaben der klinischen Fragestellung und des endobronchialen Befundes schnellstmöglich ins Labor gebracht. Die weitere Probenaufarbeitung richtete sich nach einem festgesetzten Protokoll. Alle Ergebnisse im Labor wurden in einem BAL-Befundbogen dokumentiert.

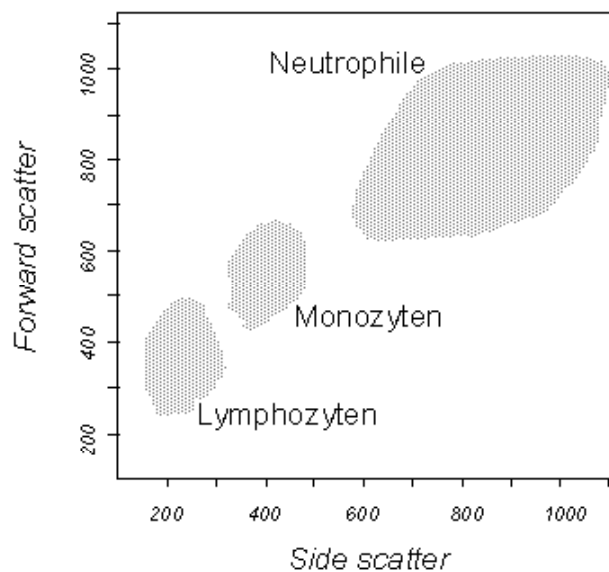
Zunächst erfolgte die makroskopische Begutachtung der BALF. Schleim, Flocken oder Blut können diagnostische Hinweise sein. Nach Filtrierung der BALF durch eine 4-lagige Mullgaze (Rauscher Mullkompressen, Ref. S 101012 B2, 10x10 cm Pattensen, Germany), um grobe Schleimbeimengungen zurückzuhalten, wurde die Volumenbestimmung in einem 50 ml Röhrchen (Falcon) durchgeführt. Danach wurde das Material mit 300 x g 10 Minuten lang zentrifugiert. Nach vorsichtigem Abnehmen des Überstandes wurde das Zellpellet mit 1-2 ml Waschpuffer, PBS-FCS 2%, ('phosphate-buffered saline' und 'fetal calf serum') resuspendiert. Zur Bestimmung der Zellzahl wurden nach Blaufärbung (Kimura) wenige Mikroliter der resuspendierten Zellen in der Neubauer-Zählkammer ausgezählt. Dabei konnte die Vitalität der Zellen geprüft werden, denn tote Zellen zeigten eine Blaufärbung. Im nächsten Schritt wurde ein Zytospin zur Bestimmung der Differentialzytologie (Shandon Zytozentrifuge) vorbereitet. Dazu wurden nach May-Grünwald-Giemsa-Färbung 50.000 bis 100.000 Zellen, 20 Minuten bei 800 U/min auf einen Objektträger zentrifugiert und anschließend unter dem Mikroskop ausdifferenziert. Zur Inkubation der Zellen mit monoklonalen Antikörpern wurde die Zellkonzentration auf  $1-5 \times 10^6$  Zellen /ml eingestellt. Davon wurden Aliquots zu 100  $\mu$ l (also  $1-5 \times 10^5$  Zellen) für jede Probe verwendet. Zur Vorbereitung auf die Messung am Durchflußzytometer wurden 10  $\mu$ l einer Antikörpermischung zu den 100  $\mu$ l der Zellsuspension gegeben und im Dunkeln 15 Minuten bei Raumtemperatur oder 30 Minuten auf Eis inkubiert.

Die eingesetzten monoklonalen Antikörper (Mausantikörper IgG1 und IgG2a) gegen humane Antigene waren jeweils für CD3 mit Cy5 (Cyanine 5), CD4 mit APC (Allophycocyanin), CD25 mit FITC (Fluorescein Isothiocyanate) und für CD103 mit PE (Phycoerythrin) konjugiert. Nach Waschen und Zentrifugation wurde der Überstand dekantiert und das Zellpellet in 300  $\mu$ l PBS-FCS (2%) erneut resuspendiert. Danach erfolgte die Messung am Durchflußzytometer.



### 3.4 Phänotypische Analyse der BAL-Lymphozyten

Die Proben wurden noch am Untersuchungstag mit einem 4-Farbandurchflußzytometer (FACS-Calibur, Becton-Dickinson) gemessen. Bei diesem FACS ('fluorescence-activated cell sorter') wird das zu untersuchende Material nacheinander aus den Röhrchen der Probentrommel angesaugt. Dabei wird durch ein ca. 100 µm großes Orificium ein so feiner laminarer Probenfluß erzeugt, dass einzelne Zellen an einem Laserstrahl (15 mW, 488 nm) vorbeigeleitet werden. Auf diese Weise werden die mit monoklonalen Antikörpern konjugierten Farbstoffe (Cy5, APC, PE und FITC) angeregt. Die spezielle Anordnung von dichroischen Filtern und optischen Detektoren ('photomultiplier tube' – PMT) erlauben die Differenzierung des von den Fluorochromen emittierten Lichtes in verschiedene Wellenlängen.



**Abbildung 3.1: Scatterdiagramm zur Differenzierung der Lymphozyten.** In diesem Punktediagramm sind die ausgezählten Zellen dargestellt, ohne Dimensionen. Es wurden jeweils 10.000 Zellen gezählt. Das Scatterdiagramm zeigt das unterschiedliche Streulichtverhalten der verschiedenen Zellpopulationen.

Zunächst werden die Zellen nach ihrem Streulichtverhalten getrennt. Im 'forward scatter' (FSC) und im 'side scatter' (SSC) können die Zellen anhand ihrer Größe, Granularität und Oberflächeneigenschaften getrennt werden. So werden größere und granuläre Zellen wie die Neutrophilen von Monozyten und kleineren agranulären Lymphozyten differenziert. Nach Selektion der Lymphozyten ('gating')

wurden diese, analog zum Scatterdiagramm, nach dem Fluoreszenzverhalten der gebundenen monoklonalen Antikörpern unterteilt. Die so erhaltenen Werte, angegeben in %, gelten als ein quantitatives Maß für die Expression eines bestimmten Markers auf der Zelloberfläche der Lymphozyten.

### **3.5 Statistische Methoden**

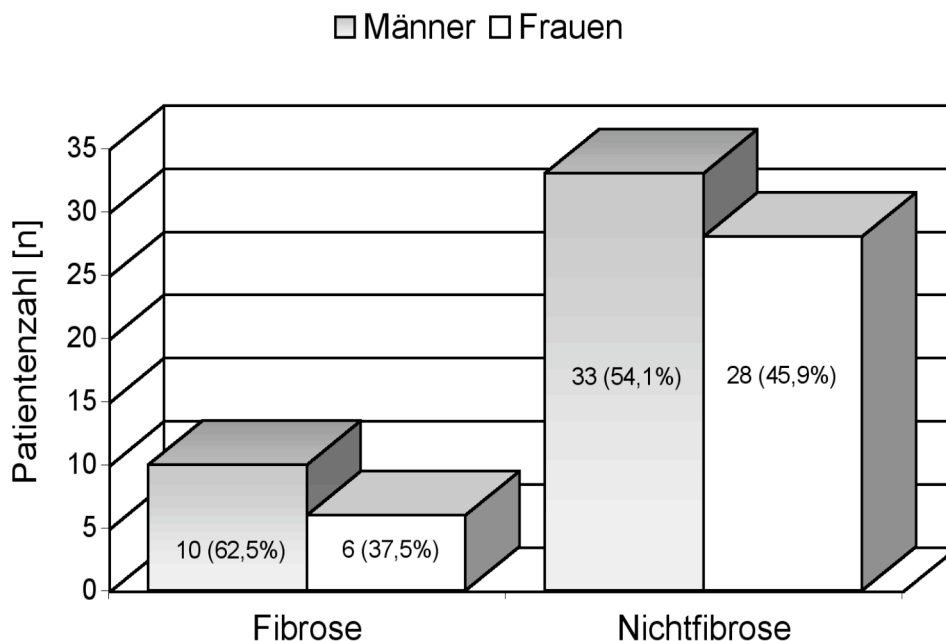
Nach den oben genannten klinischen Kriterien wurden entsprechend der Merkmalsausprägung (Fibrose versus Nichtfibrose) die Patienten in zwei Kategorien, bzw. für den Vergleich zwischen den einzelnen Diagnosen in weitere Unterkategorien eingeteilt. Bei nicht-parametrischer Verteilung und kleinem Stichprobenumfang fand als verteilungsfreier Stichprobentest der U-Test nach Mann & Whitney Anwendung (Bortz & Lienert, 1998). Ebenso wurden zur graphischen Darstellung der Ergebnisse 'Boxplots' gewählt, um die Lageparameter wiederzugeben.

Die statistischen Berechnungen und graphischen Darstellungen wurden computergestützt mit 'SPSS for Windows; Student Version, Software-Release 7.5' durchgeführt.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Allgemeine Charakteristika der untersuchten Patienten

Über den Beobachtungszeitraum von Juni 1997 bis Mitte Januar 1999 wurden 169 BAL's durchgeführt und im Labor ausgewertet. Davon konnten 77 Fälle mit eindeutiger diagnostischer Aussage zum Vorliegen einer pulmonalen Fibrose in die Arbeit eingeschlossen werden. Klinisch zeigten sich, auf der Basis der unter 3.1.1 aufgeführten Kriterien bei 16 Patienten (20,8%) eine pulmonale Fibrose. Die restlichen 61 Patienten (79,2%) wurden in die Gruppe Nichtfibrose eingeteilt. Unter den 77 eingeschlossenen Fällen sind 43 Männer und 34 Frauen. Die geschlechtsspezifische Verteilung ist innerhalb der Gruppe Nichtfibrose homogener (45,9% Frauen und 54,1% Männer) als in der Gruppe Fibrose (37,5% Frauen und 62,5% Männer).



**Abbildung 4.1:** Absolute und relative Geschlechtsverteilung der Patienten mit und ohne pulmonale Fibrose. In Klammern sind die relativen Häufigkeiten in der Gruppe angegeben.

#### 4.1.1 Ätiologie der pulmonalen Fibrosen

In der Gruppe 'Nichtfibrose' ist die Diagnose chronische Bronchitis, gefolgt von der Diagnose Bronchialkarzinom am häufigsten zu finden. Für die pulmonalen Fibrosen sind die Unterschiede in der Ätiologie in Tabelle 4.1 zusammengefaßt.

Ätiologie	n	%
Exogen allergische Alveolitis	3	18,75
Pneumokoniose	3	18,75
Kollagenose	4	25
Sarkoidose	2	12,5
Idiopathisch pulmonale Fibrose	2	12,5
Arzneimittel induzierte Pneumonitis	2	12,5

**Tabelle 4.1: Absolute (n) und relative Häufigkeit (%) der Ätiologie der untersuchten Patienten mit pulmonaler Fibrose.**

Bei der EAA zeigte sich in einem Fall eine Vogelzüchterlunge. In den beiden anderen Fällen eine Farmerlunge. Unter den drei Patienten mit einer Pneumokoniose hatte einer eine Metallarbeiterlunge, die beiden anderen eine Silikose. Die Patienten mit einer Kollagenose zeigten in drei Fällen eine Sklerodermie, darunter ein Patient ein CREST-Syndrom. In einem Fall war eine rheumatoide Arthritis Ursache der pulmonalen Fibrose. Unter den zwei Fällen mit pulmonaler Sarkoidose fand sich einmal das röntgenologische Stadium II und zum anderen das Stadium III. Eine Amiodaron induzierte pulmonale Fibrose trat zweimal auf.

#### 4.1.2 Altersverteilung

In beiden Gruppen ('Fibrose' und 'Nichtfibrose') liegt eine homogene Altersverteilung vor.

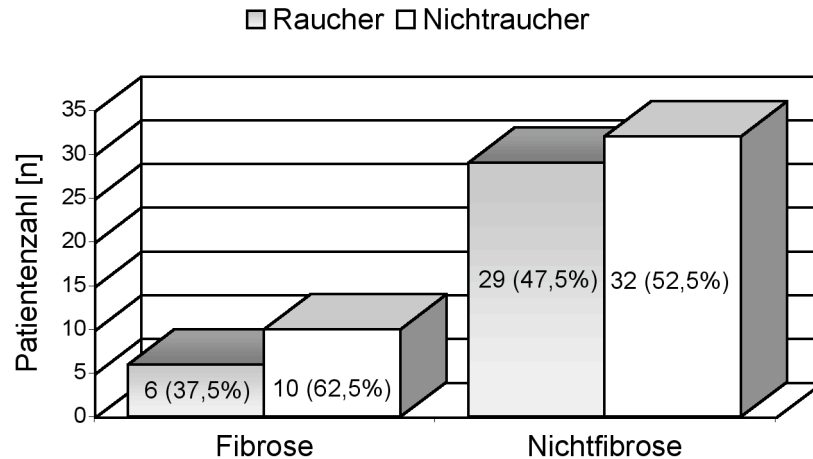
	n	Mittelwert	Median	SD	Range
Fibrose	16	59,31	59,50	12,30	26-80
Nichtfibrose	61	54,15	56,00	15,13	19-78

**Tabelle 4.2: Lageparameter der Altersverteilung für die Gruppen Fibrose und Nichtfibrose.** Die Zahlen für das Alter sind in Jahren angegeben.

Es ist statistisch kein Unterschied zwischen beiden Gruppen zu erkennen.

#### 4.1.3 Nikotinabusus

In der Abbildung 4.2 ist der Nikotinabusus der Patienten dargestellt. In beiden Gruppen zusammen rauchen insgesamt 44,5% (n=35) aller Patienten. Deutlich weniger Patienten rauchen in der Fibrosegruppe 37,5% (n=6). Dagegen rauchen 47,5% (n=29) der Patienten ohne pulmonale Fibrose.



**Abbildung 4.2: Absolute und relative Häufigkeiten des Nikotinabusus.** Vergleich zwischen pulmonaler Fibrose und Nichtfibrose. In Klammern stehen die relativen Angaben für die jeweilige Gruppe.

Der Vergleich zwischen den relativen Häufigkeiten des Nikotinabusus beider Gruppen zeigt, dass unter den Patienten mit pulmonaler Fibrose 10% weniger Raucher sind (37,5% versus 47,5%). Dieser Unterschied ist nicht signifikant.

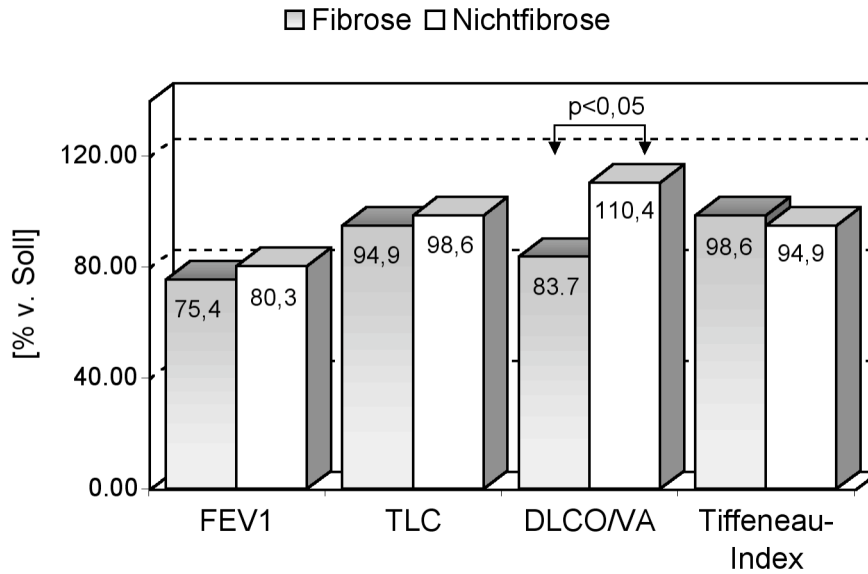
#### 4.1.4 Lungenfunktion

Eine Übersicht wichtiger Lungenfunktionsparameter ist der folgenden Tabelle dargestellt.

	FEV <sub>1</sub>		TLC		Tiffeneau-Index		D <sub>LCO</sub> /VA	
Fibrose	80 ± 6	75	96 ± 7	95	98 ± 3	99	90 ± 6	<u>84</u>
Nichtfibrose	74 ± 3	80	95 ± 2	99	94 ± 3	95	106 ± 4	<u>110</u>

**Tabelle 4.3: Lungenfunktionsparameter der Gruppen Fibrose (n=16) und Nichtfibrose (n=61).** Die Werte für die Lungenvolumina und Indizes sind jeweils nach den Sollwertformeln der ERS (in % vom Soll) angegeben (Quanjer et al., 1993), als MW ± SEM bzw. als *Median*. Signifikante Unterschiede sind unterstrichen (p<0,05).

Die Abbildung 4.3 zeigt, dass für die statischen und dynamischen Lungenvolumina (TLC, FEV<sub>1</sub>, Tiffeneau-Index) nur geringe Unterschiede zwischen den Gruppen 'Fibrose' und 'Nichtfibrose' bestehen.



**Abbildung 4.3: Lungenfunktion bei Fibrose und Nichtfibrose.** Gegenübergestellt ist jeweils der Median aus den Gruppen für die einzelnen Lungenfunktionsparameter.

Ein signifikanter Unterschied mit  $p < 0,05$  zwischen Fibrose und Nichtfibrose findet sich für die Diffusionskapazität ( $DL_{CO}/VA$ ).

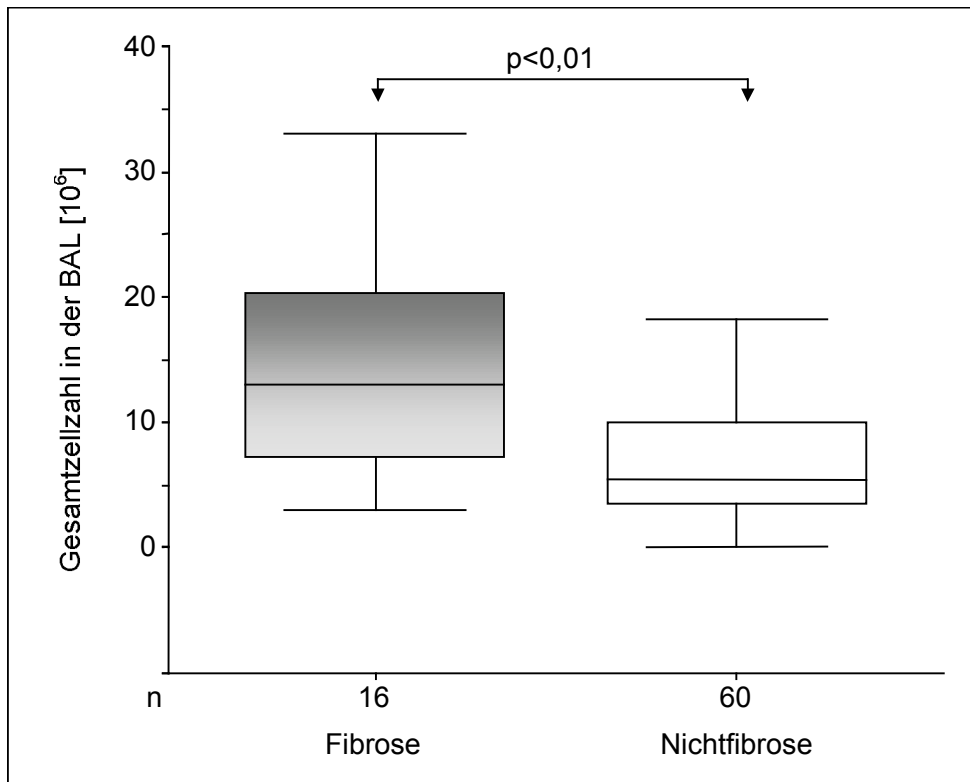
#### 4.2 Gesamtzellzahl in der BAL

In Tabelle 4.4 ist die GZZ in der BAL numerisch und in Abbildung 4.4 graphisch dargestellt.

	n	Mittelwert $\pm$ SD	Median
Fibrose	16	16,4 $\pm$ 13,4	<u>13,1</u>
Nichtfibrose	60	9,6 $\pm$ 12,9	<u>5,5</u>

**Tabelle 4.4: Gesamtzellzahl in der BAL bei Fibrose und Nichtfibrose.** Die GZZ bezieht sich auf die jeweilige Rückgewinnung (recovery) der BAL. Signifikante Unterschiede ( $p < 0,01$ ) sind unterstrichen. Die Werte sind in  $10^6$ -Zellen angegeben.

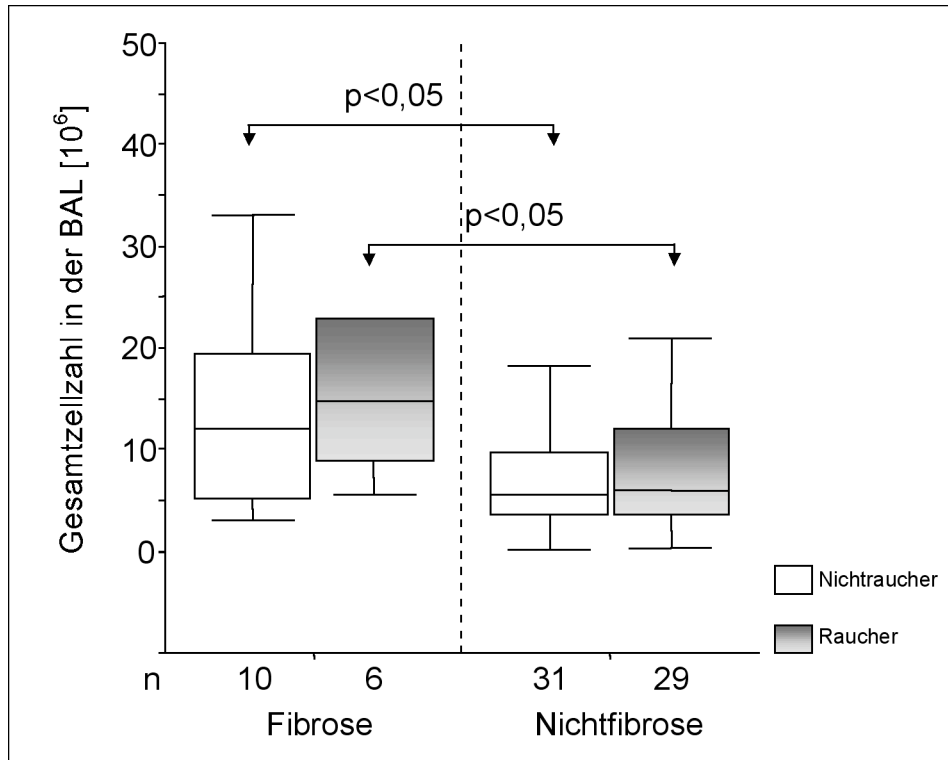
Die GZZ ist bei 'Fibrose' signifikant höher ( $p < 0,01$ ) als bei 'Nichtfibrose'.



**Abbildung 4.4:** Die Gesamtzellzahl beider Gruppen, dargestellt in Boxplots. Es sind die absoluten Zellzahlen angegeben.

Untersucht man den Einfluss des Rauchens auf die GZZ, findet man bei Betrachtung aller 77 Patienten keinen signifikanten Unterschied. In der Abbildung 4.5 ist die GZZ nach den Rauchgewohnheiten der Patienten für beide Gruppen getrennt dargestellt. Der Anteil rauchender Patienten ist jeweils erhöht. Innerhalb der Gruppe Fibrose bzw. Nichtfibrose ließ sich kein statistisch signifikanter Einfluss des Rauchens auf die GZZ nachweisen.

Entfernt man alle Raucher aus den Gruppen Fibrose und Nichtfibrose, um den Einfluß den Rauchens auf die GZZ auszuschalten, ist ein signifikanter Unterschied erkennbar ( $p=0,028$ ).



**Abbildung 4.5:** Gesamtzahl in der BAL von Patienten mit und ohne pulmonale Fibrose, in Abhängigkeit von den Rauchgewohnheiten.

Umgekehrt, nach Entfernung aller Nichtraucher aus beiden Gruppen, ergibt sich ebenfalls eine Signifikanz zugunsten der Patienten mit Fibrose ( $p=0,038$ ).

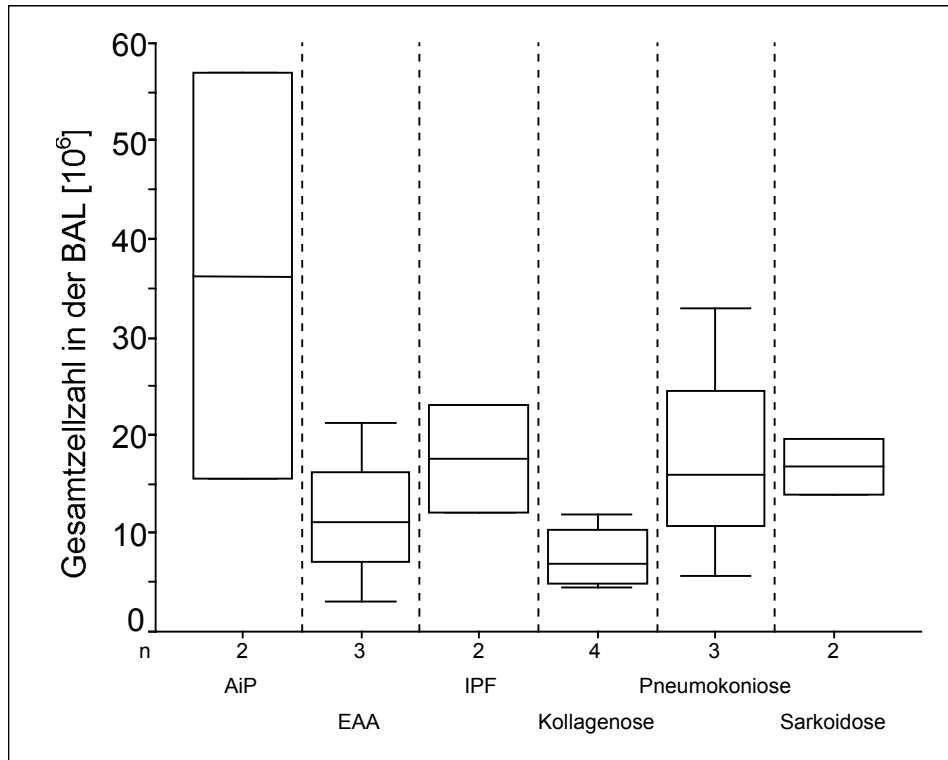
#### 4.2.1 Gesamtzellzahl bei verschiedenen pulmonalen Fibrosen

Innerhalb der Fibrosegruppe lassen sich in Abhängigkeit von der Ätiologie der Grunderkrankung keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Gesamtzellzahl zeigen.

	n	Mittelwert $\pm$ SD	Median
AIP	2	36,3 $\pm$ 29,4	36,3
EAA	3	11,9 $\pm$ 9,1	11,2
IPF	2	17,6 $\pm$ 7,6	17,6
Kollagenose	4	7,6 $\pm$ 3,5	7,0
Pneumokoniose	3	18,2 $\pm$ 13,8	16,0
Sarkoidose	2	16,8 $\pm$ 3,9	16,8

**Tabelle 4.5:** Gesamtzellzahl bei verschiedenen pulmonalen Fibrosen. Es sind die absoluten Zellzahlen, in 10<sup>6</sup> angegeben.





**Abbildung 4.6:** Gesamtzellzahl bei verschiedenen pulmonalen Fibrose. Die GZZ ist jeweils als absolute Zellzahl angegeben.

### 4.3 Differentialzytologie der BAL

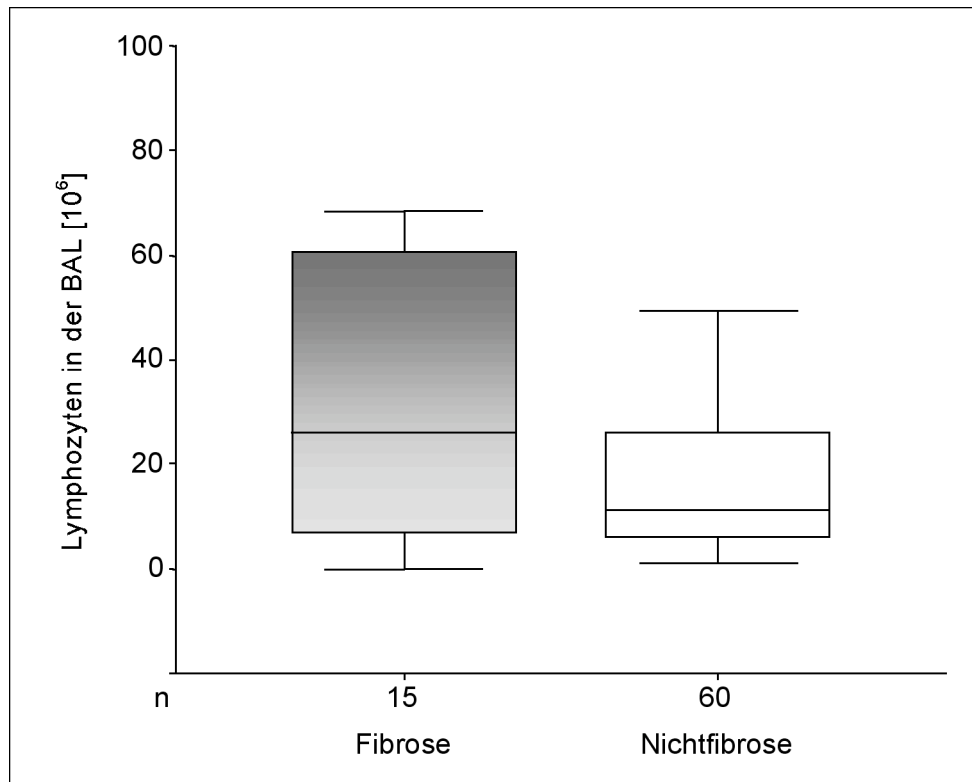
#### 4.3.1 Lymphozyten

In der Tabelle 4.6 sind die Lagemaße der Lymphozytenanteile in der Differentialzytologie der BAL für die Gruppen 'Fibrose' und 'Nichtfibrose' dargestellt.

	n	Mittelwert ± SD	Median
Fibrose	15	30,9 ± 26,3	25,8
Nichtfibrose	60	17,4 ± 16,6	11,0

**Tabelle 4.6:** Lymphozyten in der BAL der untersuchten Patienten mit (n=15) und ohne (n=60) pulmonale Fibrose. Die Werte für die Lymphozytenanteile in der Differentialzytologie sind jeweils in % angegeben.

In Abbildung 4.7 sind die Lymphozyten in der Differentialzytologie dargestellt.



**Abbildung 4.7:** Lymphozyten in der BAL der untersuchten Patienten mit (n=15) und ohne (n=60) pulmonaler Fibrose.

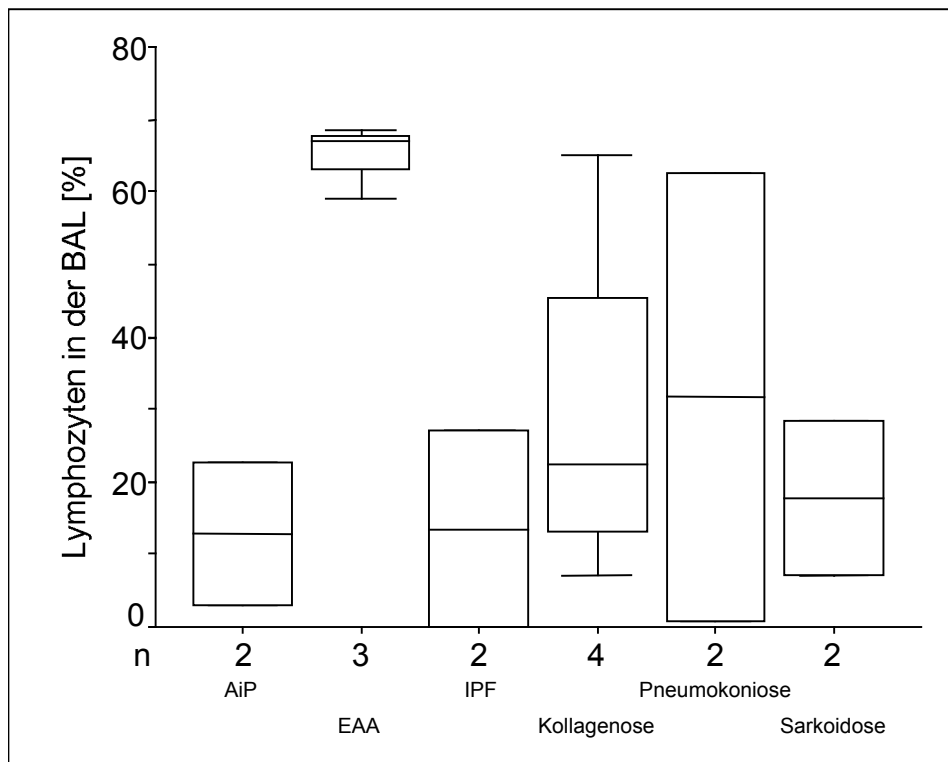
Die höheren Anteile an Lymphozyten in der Differentialzytologie der BAL bei den Patienten mit pulmonaler Fibrose zeigten auf dem 95%-Niveau keinen signifikanten Unterschied zu den Patienten ohne Fibrose.

### Lymphozyten bei pulmonaler Fibrose unterschiedlicher Ätiologie

Innerhalb der pulmonalen Fibrosen zeigen sich sehr hohe Lymphozytenanteile bei der EAA, dabei sind jedoch keine signifikanten Unterschiede nachweisbar.

	n	Mittelwert ± SD	Median
AIP	2	12,84 ± 13,92	12,84
EAA	3	64,87 ± 5,14	67,00
IPF	2	13,50 ± 19,09	13,50
Kollagenose	4	29,20 ± 25,10	22,40
Pneumokoniose	2	31,65 ± 43,49	31,65
Sarkoidose	2	17,75 ± 15,20	17,75

**Tabelle 4.7:** Lymphozyten bei pulmonaler Fibrose unterschiedlicher Ätiologie. Die Werte sind jeweils in % angegeben.



**Abbildung 4.8:** Lymphozyten bei pulmonaler Fibrose unterschiedlicher Ätiologie.

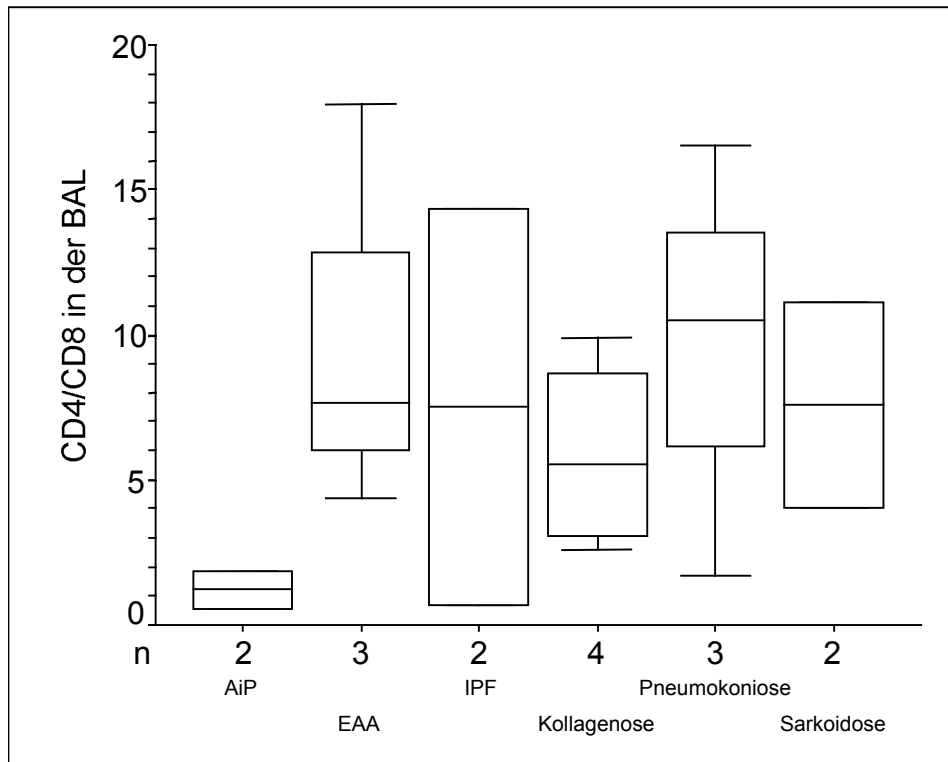
### Das CD4/CD8-Verhältnis bei pulmonaler Fibrose unterschiedlicher Ätiologie

In der folgenden Tabelle und Abbildung sind Lageparameter des CD4/CD8-Quotienten nach der Ätiologie in der Fibrosegruppe gegenübergestellt.

	n	Mittelwert ± SD	Median
AiP	2	1,2 ± 0,9	1,2
EAA	3	10,0 ± 7,1	7,7
IPF	2	7,5 ± 9,7	7,5
Kollagenose	4	5,9 ± 3,4	5,5
Pneumokoniose	3	9,6 ± 7,5	10,5
Sarkoidose	2	7,6 ± 5,1	7,6

**Tabelle 4.8:** Das CD4/CD8-Verhältnis der T-Lymphozyten in der BAL der pulmonalen Fibrosen unterschiedlicher Ätiologie.

In der Abbildung 4.9 sind die CD4/CD8-Quotienten einander gegenübergestellt. Es finden sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den pulmonalen Fibrosen unterschiedlicher Ätiologie.



**Abbildung 4.9:** CD4/CD8-Verhältnis der T-Zellen in der BAL in den einzelnen Ätiologien der pulmonalen Fibrose.

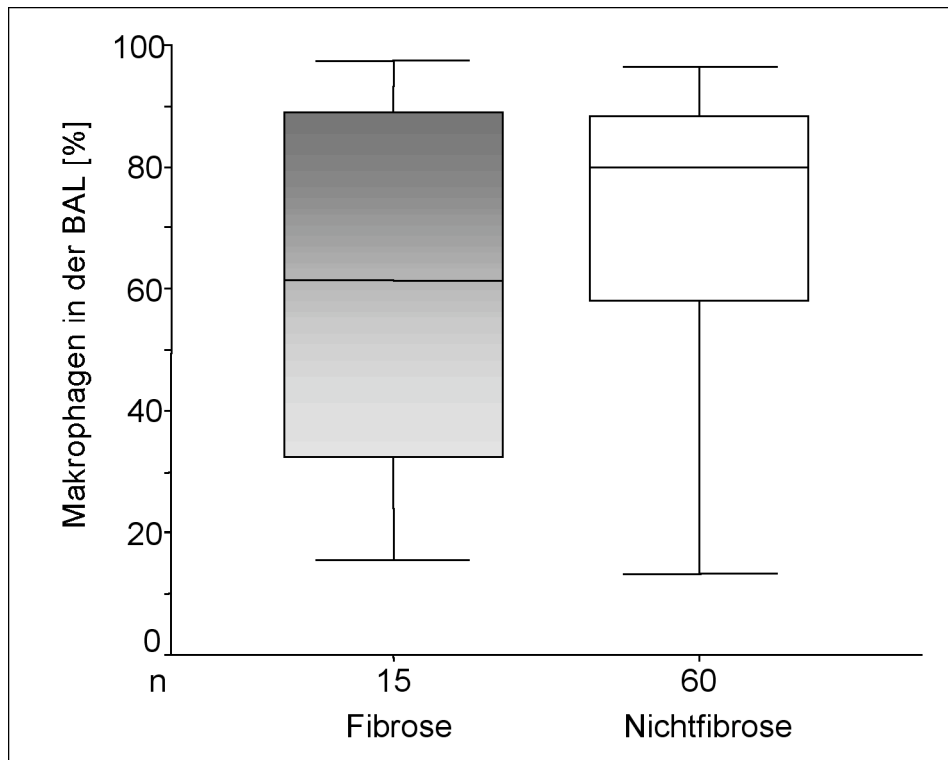
### 4.3.2 Makrophagen

In der Tabelle 4.9 sind die Lagemaße der Makrophagenanteile in der Differentialzytologie der BAL für die Gruppen 'Fibrose' und 'Nichtfibrose' dargestellt.

	n	Mittelwert ± SD	Median
Fibrose	15	59,1 ± 30,1	61,5
Nichtfibrose	60	68,9 ± 26,4	79,8

**Tabelle 4.9:** Makrophagen in der BAL der untersuchten Patienten mit (n=15) und ohne (n=60) pulmonale Fibrose. Die Werte für die Makrophagenanteile in der Differentialzytologie sind jeweils in % angegeben.

Die Makrophagen in der Differentialzytologie der BAL sind für die Patienten ohne Fibrose im Vergleich zur pulmonalen Fibrose erhöht, aber dieser Unterschied ist nicht signifikant.



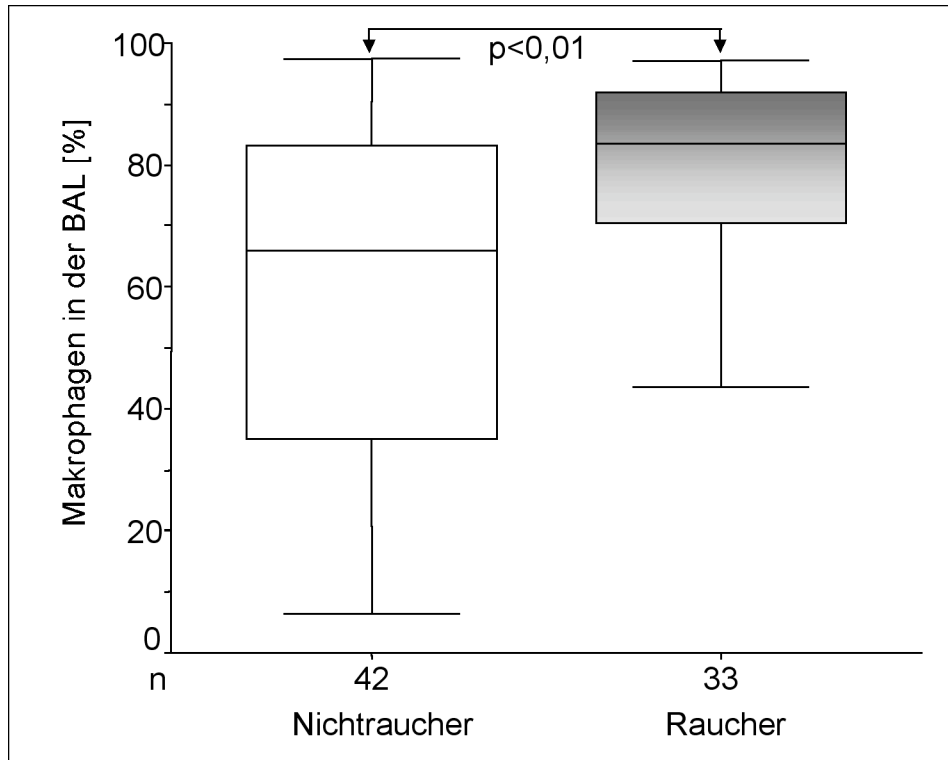
**Abbildung 4.10:** Makrophagen in der BAL der untersuchten Patienten mit (n=15) und ohne (n=60) pulmonale Fibrose.

### Einfluß des Rauchens auf die Zahl der Makrophagen

In Tabelle 4.10 und Abbildung 4.11 sind die Lagemaße für die Makrophagenanteile in der Differentialzytologie in der Abhängigkeit vom Rauchenverhalten gegenübergestellt.

	n	Mittelwert ± SD	Median
Raucher	33	78,1 ± 20,2	83,5
Nichtraucher	42	58,1 ± 29,0	66,0

**Tabelle 4.10:** Makrophagen in der Differentialzytologie, dargestellt nach den Rauchgewohnheiten aller Patienten. Die Werte für die Makrophagenanteile in der Differentialzytologie sind jeweils in % angegeben.



**Abbildung 4.11:** Makrophagen in Abhängigkeit vom Rauchverhalten bei allen Patienten (n=75).

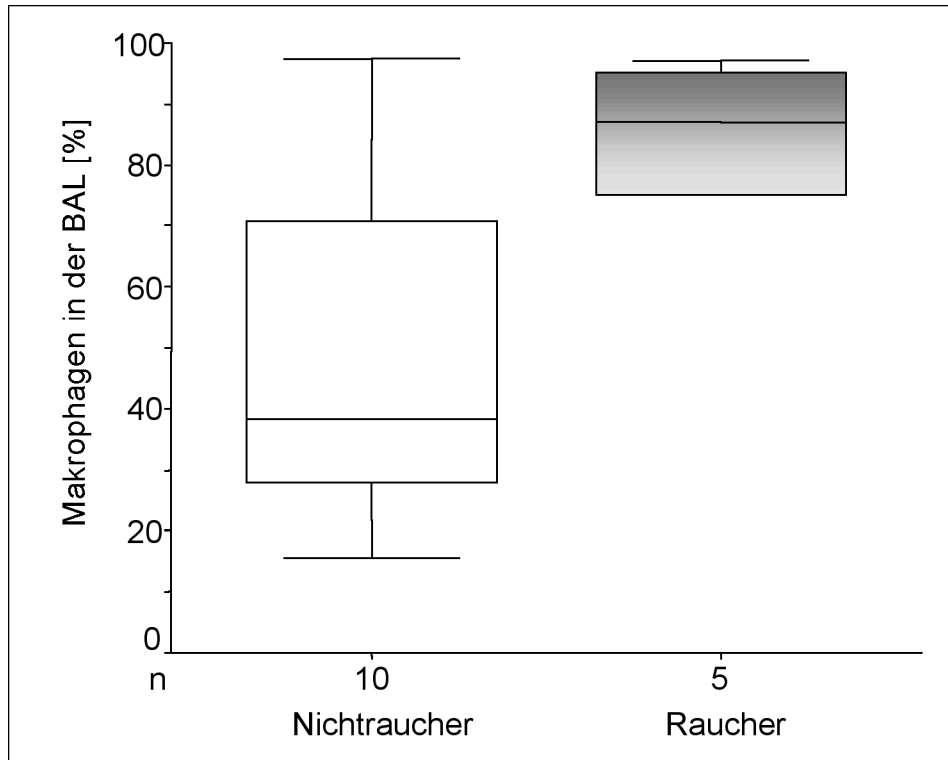
Der prozentuale Anteil an Makrophagen in der Differentialzytologie ist bei Rauchern deutlich größer und statistisch hochsignifikant ( $p < 0,01$ ) gegenüber Nichtrauchern.

#### **Einfluß des Rauchens auf die Zahl der Makrophagen bei pulmonaler Fibrose**

In der folgenden Tabelle und Abbildung sind die Lagemaße für die Makrophagenanteile in der Differentialzytologie aller pulmonalen Fibrosen nur in der Abhängigkeit vom Rauchen gegenübergestellt.

	n	Mittelwert $\pm$ SD	Median
Raucher	5	78,2 $\pm$ 24,6	87,0
Nichtraucher	10	49,5 $\pm$ 28,9	38,3

**Tabelle 4.11:** Zahl der Makrophagen in der Differentialzytologie der BAL von Patienten mit pulmonaler Fibrose nach Rauchgewohnheiten. Die Werte für die Makrophagenanteile in der Differentialzytologie sind jeweils in % angegeben.



**Abbildung 4.12:** Makrophagen in der Differentialzytologie in Abhängigkeit vom Rauchen bei pulmonaler Fibrose (n=15).

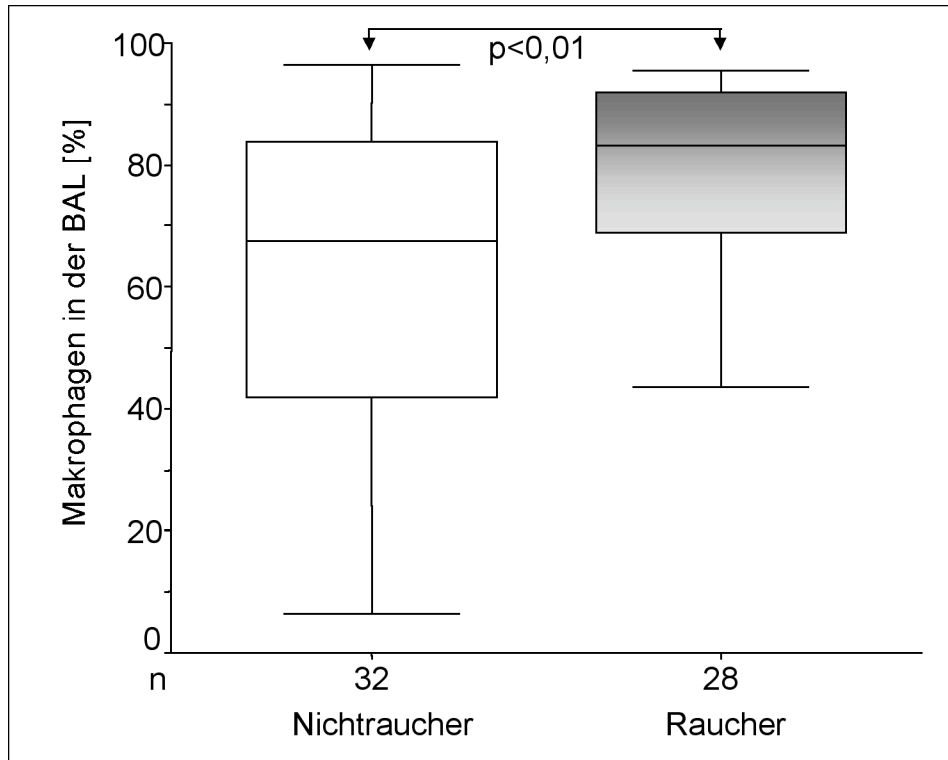
Innerhalb der Gruppe 'Fibrose' ist kein signifikanter Einfluß des Rauchens auf die Zahl der Makrophagen in der Differentialzytologie der BAL erkennbar.

#### **Einfluß des Rauchens auf die Zahl der Makrophagen bei Nichtfibrose**

In der folgenden Tabelle und Abbildung sind die Lagemaße für die Makrophagen in der Differentialzytologie der BAL für die Gruppe Nichtfibrose in Abhängigkeit vom Rauchen dargestellt.

	n	Mittelwert ± SD	Median
Raucher	28	78,0 ± 19,8	83,3
Nichtraucher	32	60,8 ± 29,0	67,5

**Tabelle 4.12:** Makrophagen in der Differentialzytologie der BAL bei Nichtfibrose nach Rauchgewohnheiten. Die Werte für die Makrophagenanteile in der Differentialzytologie sind jeweils in % angegeben.



**Abbildung 4.13:** Makrophagen in der Differentialzytologie der BAL bei Nichtfibrose nach Rauchgewohnheiten.

Der Einfluß des Rauchens auf die Makrophagen in der Differentialzytologie wird bei der Gruppe 'Nichtfibrose' deutlich und ist signifikant ( $p < 0,01$ ).

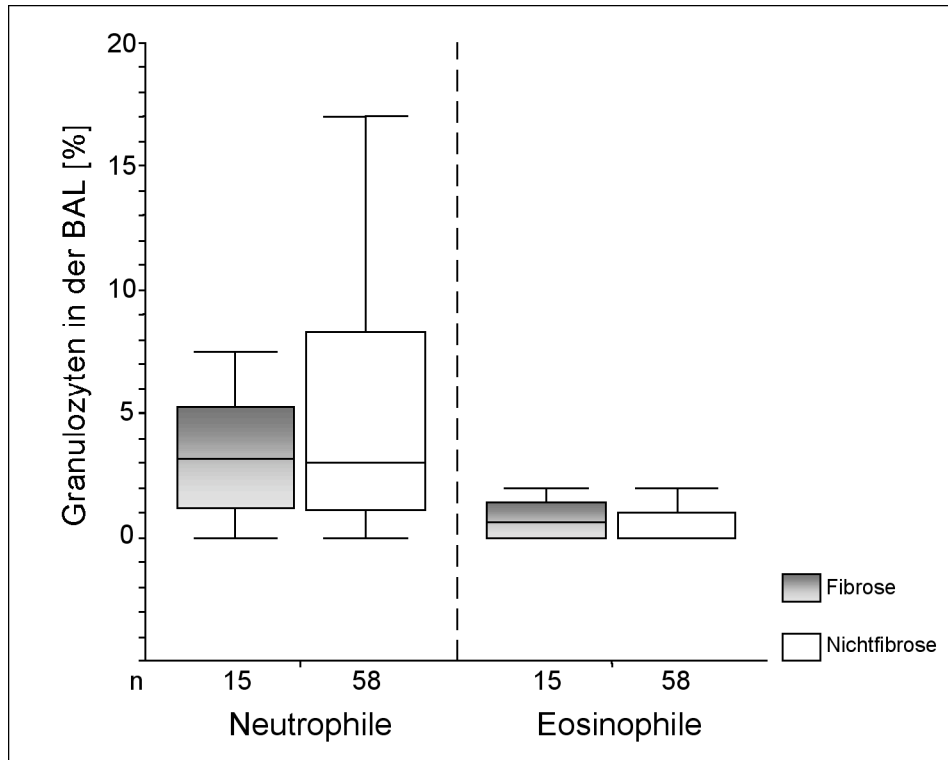
#### 4.3.3 Granulozyten

In der folgenden Tabelle und Abbildung sind die Lageparameter für die eosinophilen und neutrophilen Granulozyten in der Differentialzytologie der BAL bei pulmonaler Fibrose und Nichtfibrose dargestellt.

	Neutrophile		Eosinophile	
	Mittelwert $\pm$ SD	Median	Mittelwert $\pm$ SD	Median
Fibrose	6,5 $\pm$ 10,5	3,2	0,9 $\pm$ 1,1	0,6
Nichtfibrose	10,4 $\pm$ 18,5	3,0	2,4 $\pm$ 5,4	0,01

**Tabelle 4.13:** Granulozytensubpopulationen in der BAL. Gegenübergestellt sind jeweils pulmonale Fibrose und Nichtfibrose. Die Werte für die Granulozytenanteile in der Differentialzytologie sind jeweils in % angegeben.





**Abbildung 4.14:** Granulozytensubpopulationen in der BAL bei pulmonaler Fibrose und Patienten ohne Fibrose.

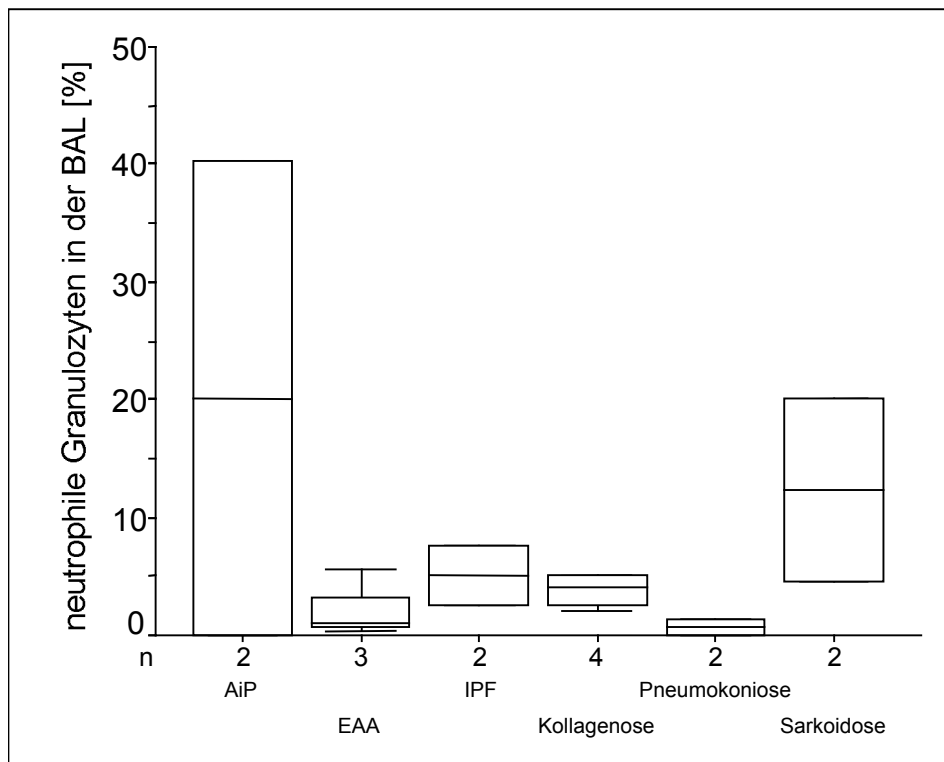
Die Granulozytensubpopulationen zeigen in der Differentialzytologie der BAL keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen 'Fibrose' und 'Nichtfibrose'.

### Neutrophile Granulozyten bei pulmonaler Fibrose unterschiedlicher Ätiologie

Bei der pulmonalen Fibrose zeigen die neutrophilen Granulozyten hinsichtlich der Ätiologie keine signifikanten Unterschiede.

	n	Mittelwert ± SD	Median
AIP	2	20,10 ± 28,43	20,10
EAA	3	2,23 ± 2,82	1,00
IPF	2	5,00 ± 3,54	5,00
Kollagenose	4	3,80 ± 1,47	4,10
Pneumokoniose	2	0,70 ± 0,99	0,70
Sarkoidose	2	12,25 ± 10,96	12,25

**Tabelle 4.14:** Neutrophile Granulozyten bei pulmonaler Fibrose unterschiedlicher Ätiologie. Die Werte für die Neutrophilenanteile in der Differentialzytologie sind jeweils in % angegeben.



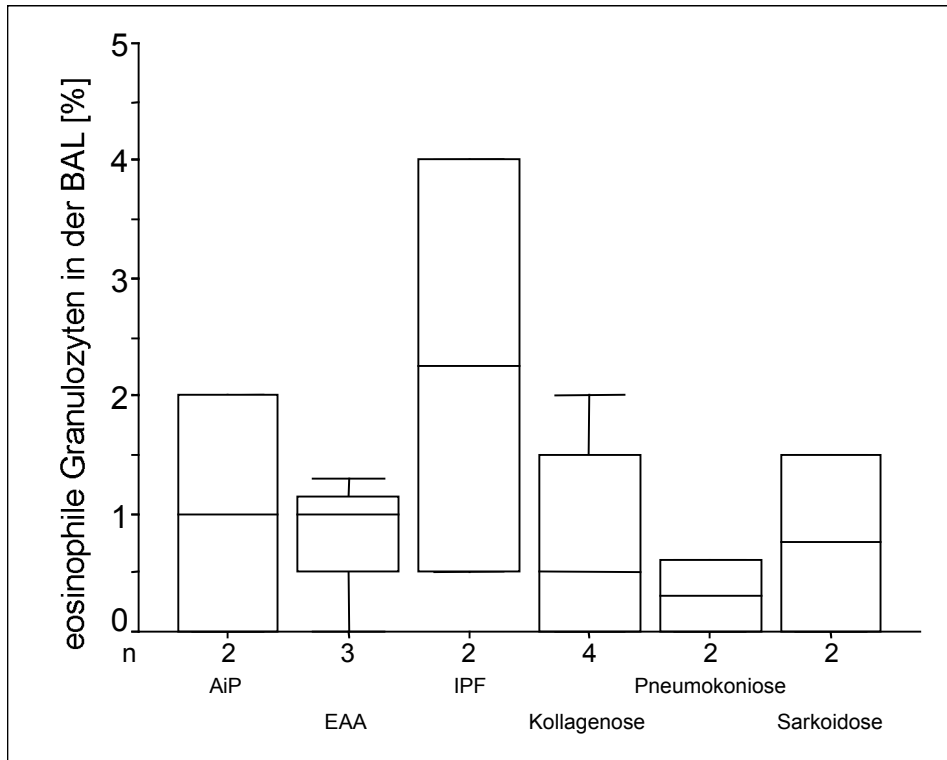
**Abbildung 4.15: Neutrophile Granulozyten bei pulmonaler Fibrose unterschiedlicher Ätiologie.**

### Eosinophile Granulozyten bei pulmonaler Fibrose unterschiedlicher Ätiologie

Für die eosinophilen Granulozyten lassen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Ätiologien der pulmonalen Fibrose feststellen.

	n	Mittelwert ± SD	Median
AIP	2	1,00 ± 1,41	1,00
EAA	3	0,77 ± 0,68	1,00
IPF	2	2,25 ± 2,48	2,25
Kollagenose	4	0,75 ± 0,96	0,50
Pneumokoniose	2	0,30 ± 0,42	0,30
Sarkoidose	2	0,75 ± 1,06	0,75

**Tabelle 4.15: Eosinophile Granulozyten bei pulmonaler Fibrose unterschiedlicher Ätiologie.** Die Werte für die Eosinophilenanteile in der Differentialzytologie sind jeweils in % angegeben.



**Abbildung 4.16:** Eosinophile Granulozyten bei pulmonaler Fibrose unterschiedlicher Ätiologie.

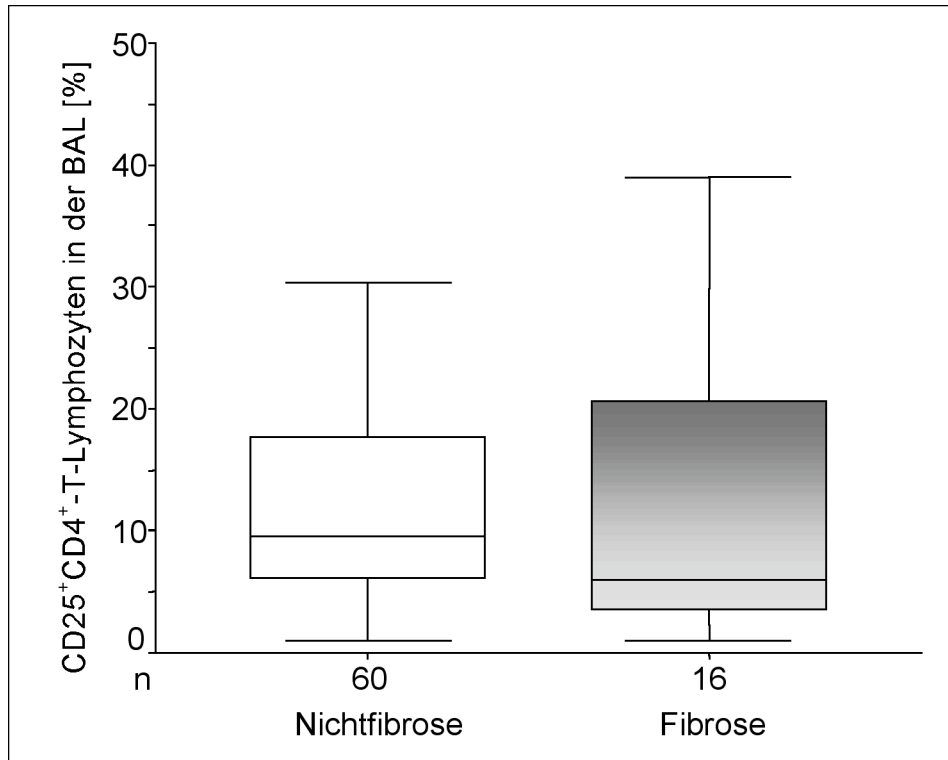
#### 4.4 Spezielle T-Zellaktivierungsmarker in der BAL

##### 4.4.1 CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten

In der folgenden Tabelle und Abbildung sind die CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten bei pulmonaler Fibrose der 'Nichtfibrose' gegenübergestellt.

	n	Mittelwert ± SD	Median
Fibrose	16	12,5 ± 13,4	6,1
Nichtfibrose	60	13,5 ± 11,4	9,7

**Tabelle 4.16:** CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten in der BAL bei pulmonaler Fibrose und Patienten ohne Fibrose. Die Werte für die Zellen sind jeweils in % angegeben.



**Abbildung 4.17:** CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten in der BAL bei pulmonaler Fibrose und Patienten ohne Fibrose.

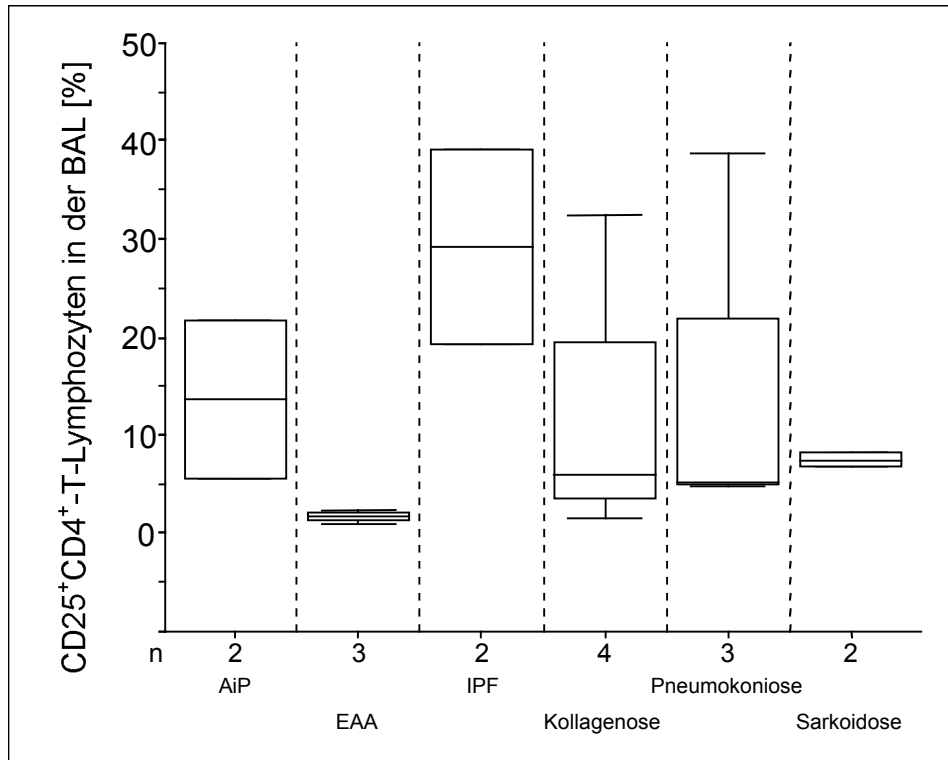
Zwischen den Gruppen Fibrose und Nichtfibrose gibt es keinen signifikanten Unterschied an CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten in der BAL.

**Verteilung der CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten bei pulmonaler Fibrose unterschiedlicher Ätiologie**

Aus der folgenden tabellarischen und der graphischen Darstellung wird die inhomogene Verteilung von CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten innerhalb der 'Fibrose' deutlich. Es finden sich keine signifikanten Unterschiede.

	n	Mittelwert ± SD	Median
AIP	2	13,7 ± 11,5	13,7
EAA	3	1,7 ± 0,7	1,8
IPF	2	29,2 ± 13,9	29,2
Kollagenose	4	11,5 ± 14,1	6,0
Pneumokoniose	3	6,1 ± 19,5	5,1
Sarkoidose	2	7,5 ± 1,1	7,5

**Tabelle 4.17:** CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten bei pulmonaler Fibrose unterschiedlicher Ätiologie. Die Werte für die Zellen sind jeweils in % angegeben.



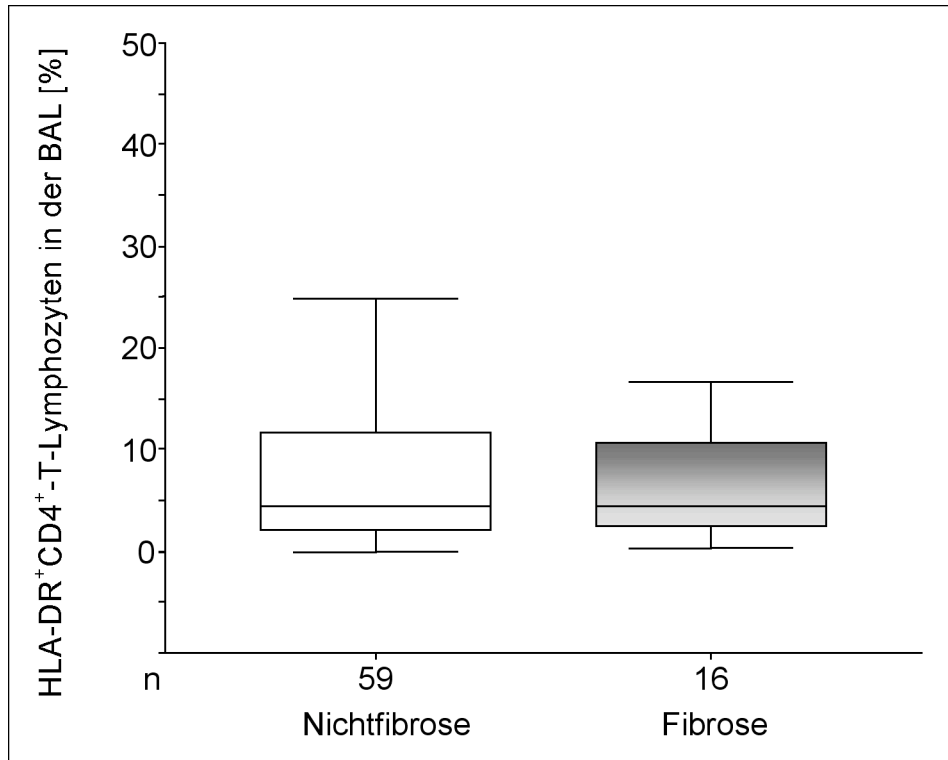
**Abbildung 4.18:** CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten bei pulmonaler Fibrose unterschiedlicher Ätiologie.

#### 4.4.2 HLA-DR<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten

In der folgenden Tabelle und Abbildung sind die HLA-DR<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten in der BAL beider Gruppen dargestellt.

	n	Mittelwert ± SD	Median
Fibrose	16	8,0 ± 9,5	4,4
Nichtfibrose	59	9,5 ± 12,1	4,4

**Tabelle 4.18:** HLA-DR<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten bei Patienten mit und ohne pulmonaler Fibrose. Die Werte für die Zellen sind jeweils in % angegeben.



**Abbildung 4.19:** HLA-DR<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten bei Patienten mit (n=16) und ohne (n=59) pulmonaler Fibrose. Die Werte für die Zellen sind jeweils in % angegeben.

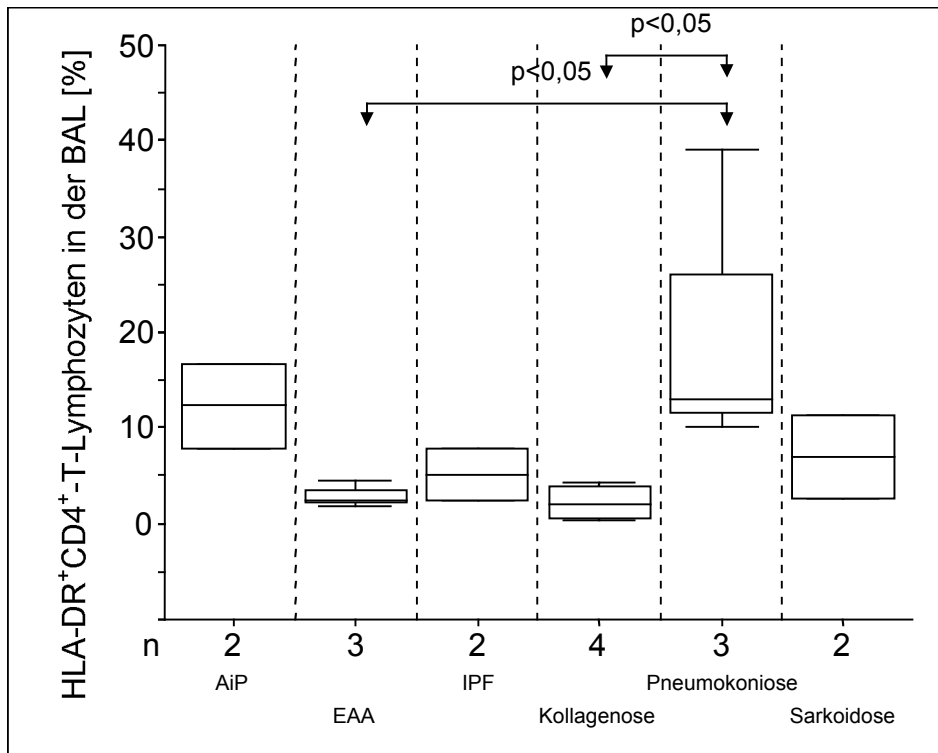
Die Expression des Aktivierungsmarkers HLA-DR unterscheidet sich nicht auf CD4-positiven T-Zellen in den Gruppen 'Fibrose' und 'Nichtfibrose'.

### HLA-DR<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten bei pulmonaler Fibrose unterschiedlicher Ätiologie

In der Fibrosegruppe zeigen sich vorwiegend bei der Pneumokoniose erhöhte Anteile von HLA-DR<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten gegenüber den anderen pulmonalen Fibrosen und dem Gruppenmittel.

	N	Mittelwert ± SD	Median
AIP	2	12,3 ± 6,3	12,3
EAA	3	2,9 ± 1,4	2,5
IPF	2	5,1 ± 3,8	5,1
Kollagenose	4	2,2 ± 2,0	2,0
Pneumokoniose	3	20,6 ± 16,0	12,9
Sarkoidose	2	7,0 ± 6,2	7,0

**Tabelle 4.19:** HLA-DR<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten bei pulmonaler Fibrose unterschiedlicher Ätiologie. Die Werte für die Zellen sind jeweils in % angegeben.



**Abbildung 4.20:** HLA-DR<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten bei pulmonaler Fibrose unterschiedlicher Ätiologie.

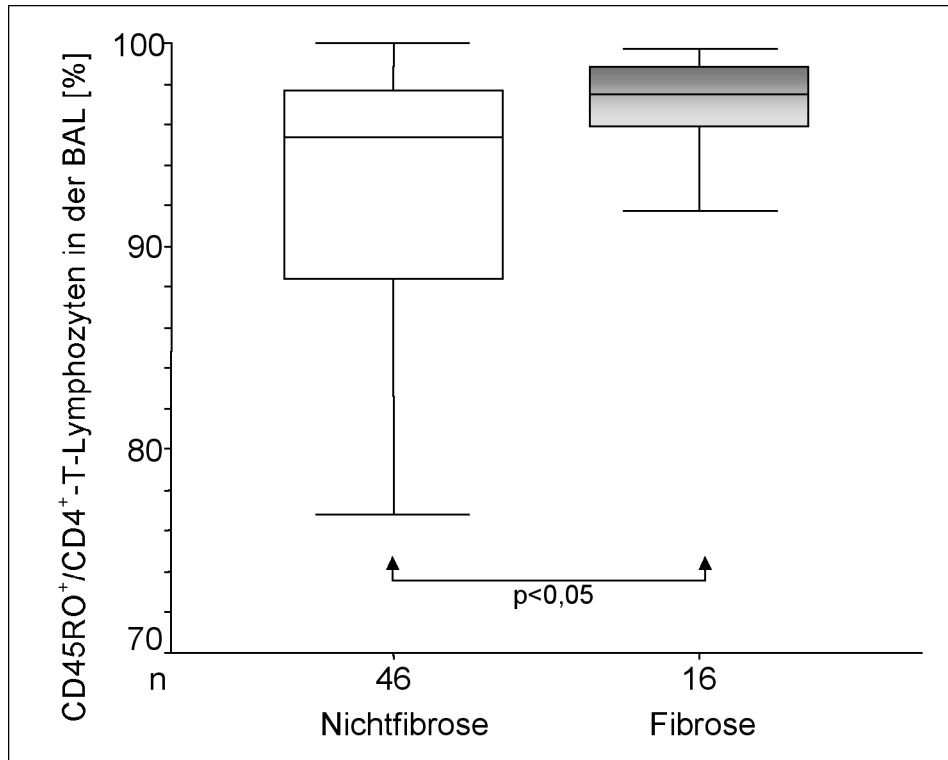
Dabei zeigt sich die erhöhte Expression von HLA-DR<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten bei Patienten mit Pneumokoniose gegenüber den mit EAA und mit Kollagenose als signifikant ( $p < 0,05$ ).

#### 4.4.3 CD45RO<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten

In der folgenden Tabelle und Abbildung sind die CD45RO<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten in der BAL bei 'Fibrose' der 'Nichtfibrose' gegenübergestellt.

	n	Mittelwert ± SD	Median
Fibrose	16	97,1 ± 2,2	97,5
Nichtfibrose	46	89,2 ± 17,2	95,3

**Tabelle 4.20:** CD45RO<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten. Die Werte für die Zellen sind jeweils in % angegeben.



**Abbildung 4.21: CD45RO<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten in der BAL.**

In der Fibrosegruppe sind mehr CD45RO<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten, gegenüber der Gruppe ohne Fibrose zu finden. Dieser Unterschied erweist sich als statistisch signifikant ( $p < 0,05$ ).

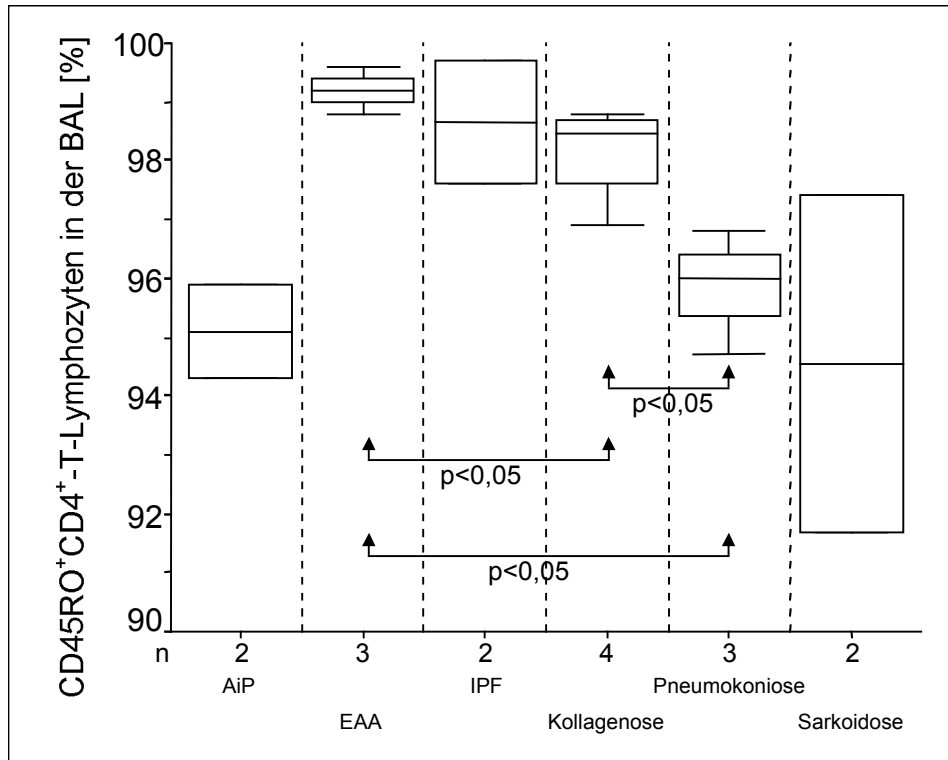
### **CD45RO<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten bei pulmonaler Fibrose unterschiedlicher Ätiologie**

In der folgenden Tabelle und Abbildung sind die CD45RO<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten (memory-Zellen) bei den pulmonalen Fibrosen dargestellt.

	n	Mittelwert ± SD	Median
AIP	2	95,1 ± 1,1	95,1
EAA	3	99,2 ± 0,4	99,2
IPF	2	98,7 ± 1,5	98,7
Kollagenose	4	98,2 ± 0,9	98,5
Pneumokoniose	3	95,8 ± 1,1	96,0
Sarkoidose	2	94,6 ± 4,0	94,6

**Tabelle 4.21: CD45RO<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten bei pulmonaler Fibrose unterschiedlicher Ätiologie.** Die Werte für die Zellen sind jeweils in % angegeben.





**Abbildung 4.22:** CD45RO<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten bei pulmonaler Fibrose unterschiedlicher Ätiologie.

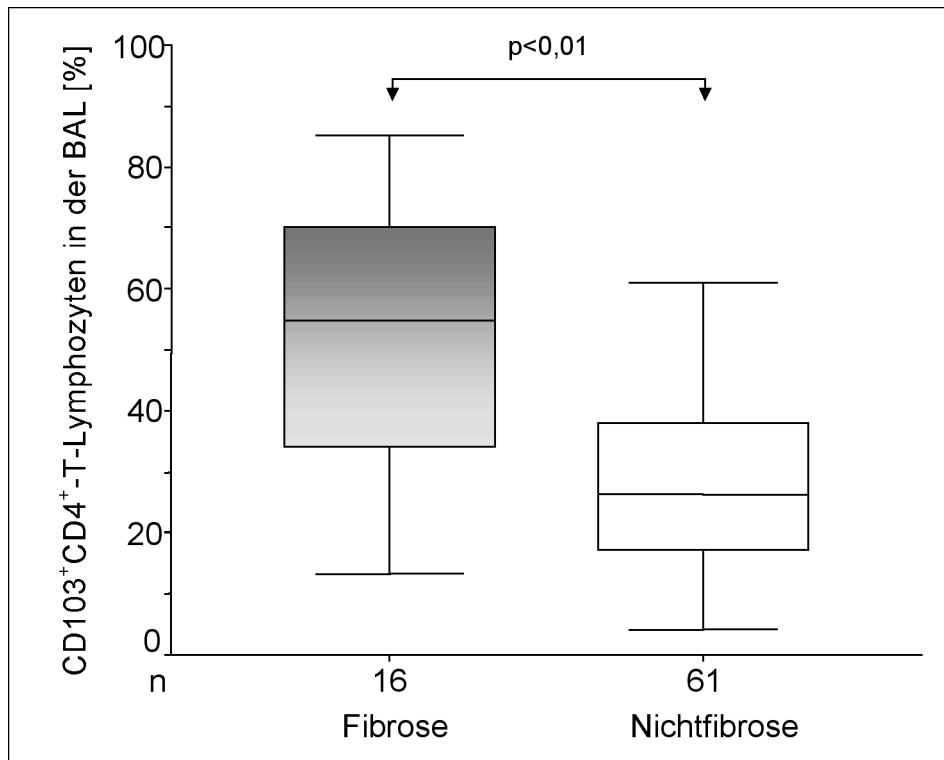
Bei der pulmonalen Fibrose sind CD45RO<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten bei der EAA, IPF und der Kollagenose erhöht. Dabei finden sich signifikante Unterschiede für die EAA gegenüber der Pneumokoniose und der Kollagenose ebenso für die Kollagenose gegenüber der Pneumokoniose.

#### 4.5 CD103<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten (CD103<sup>+</sup>) in der BAL

Die CD4-positiven T-Zellen zeigen hinsichtlich der Expression des Oberflächenmarkers CD103<sup>+</sup> in den Gruppen Fibrose und Nichtfibrose ein sehr differentes Verhalten.

	n	Mittelwert ± SD	Median
Fibrose	16	51,0 ± 22,5	54,9
Nichtfibrose	61	28,7 ± 15,1	26,4

**Tabelle 4.22:** CD103<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten. Die Werte sind jeweils in % angegeben.



**Abbildung 4.23:** CD103<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten in der BAL.

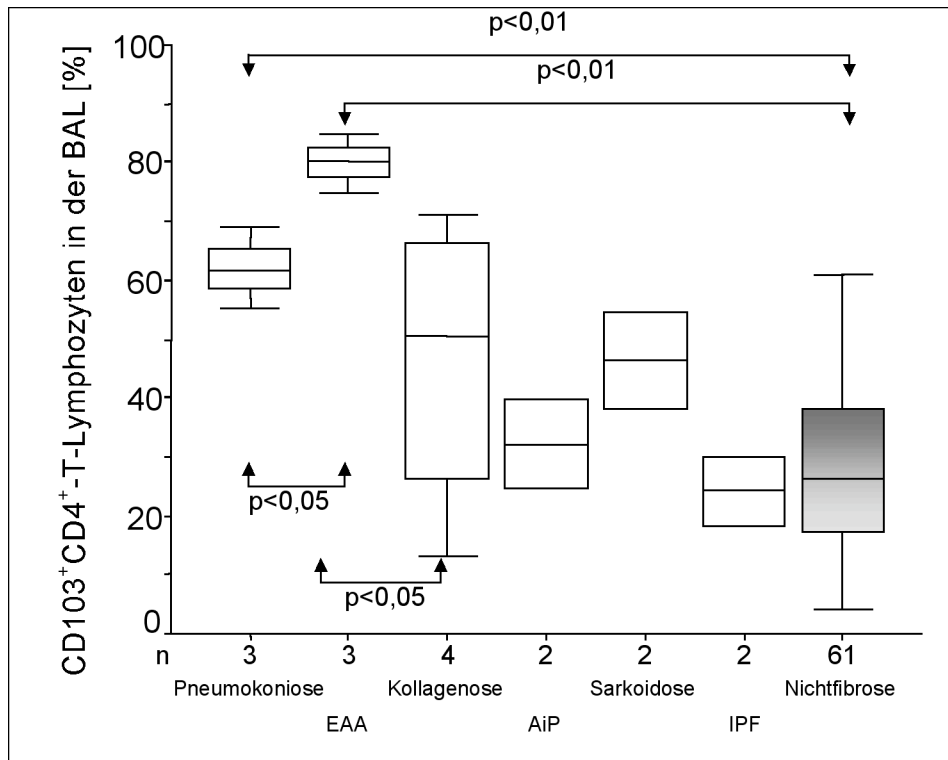
Bei der pulmonalen Fibrose sind die CD103<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten in der BAL hochsignifikant vermehrt im Vergleich zur 'Nichtfibrose' ( $p < 0,01$ ).

#### 4.5.1 CD103<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten bei verschiedenen pulmonalen Fibrosen

In der folgenden tabellarischen und graphischen Darstellung ist die Verteilung von CD103<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten innerhalb der Fibrosegruppe getrennt nach der Ätiologie und im Vergleich zu Patienten ohne Fibrose dargestellt.

	n	Mittelwert ± SD	Median
AIP	2	32,1 ± 10,7	32,1
EAA	3	80,0 ± 5,1	80,1
IPF	2	24,2 ± 8,3	24,2
Kollagenose	4	46,3 ± 25,7	50,5
Pneumokoniose	3	62,0 ± 6,8	61,7
Sarkoidose	2	46,3 ± 11,5	46,3

**Tabelle 4.23:** Verteilung von CD103<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten bei verschiedenen pulmonalen Fibrosen. Die Werte für die Zellen sind jeweils in % angegeben.

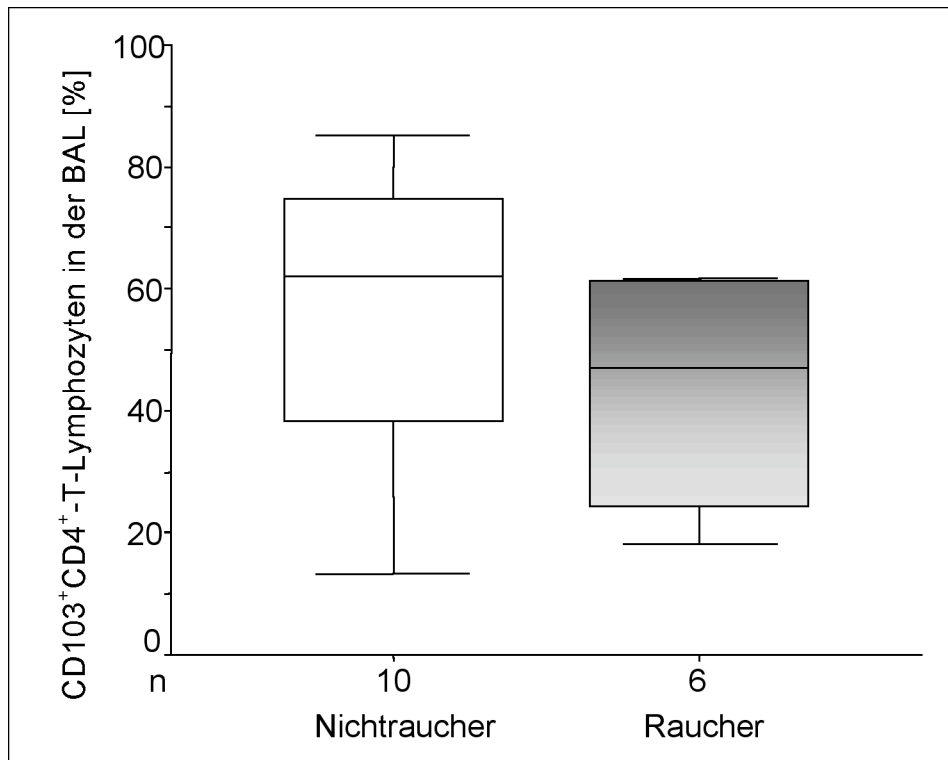


**Abbildung 4.24: Verteilung von CD103<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten bei verschiedenen pulmonalen Fibrosen.**

Die CD103<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten sind innerhalb der pulmonalen Fibrose für die EAA und die Pneumokoniose gegenüber der 'Nichtfibrose' hochsignifikant erhöht ( $p < 0,01$ ). Die Abbildung 4.24 zeigt außerdem, dass  $\square^E \square_7$  für die EAA gegenüber der Pneumokoniose und der Kollagenose signifikant erhöht ist ( $p < 0,05$ ).

#### 4.5.2 CD103<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten bei pulmonaler Fibrose und Rauchern

Unter den Patienten mit einer pulmonalen Fibrose waren 6 aktive Raucher, die restlichen 10 Patienten rauchten nicht.

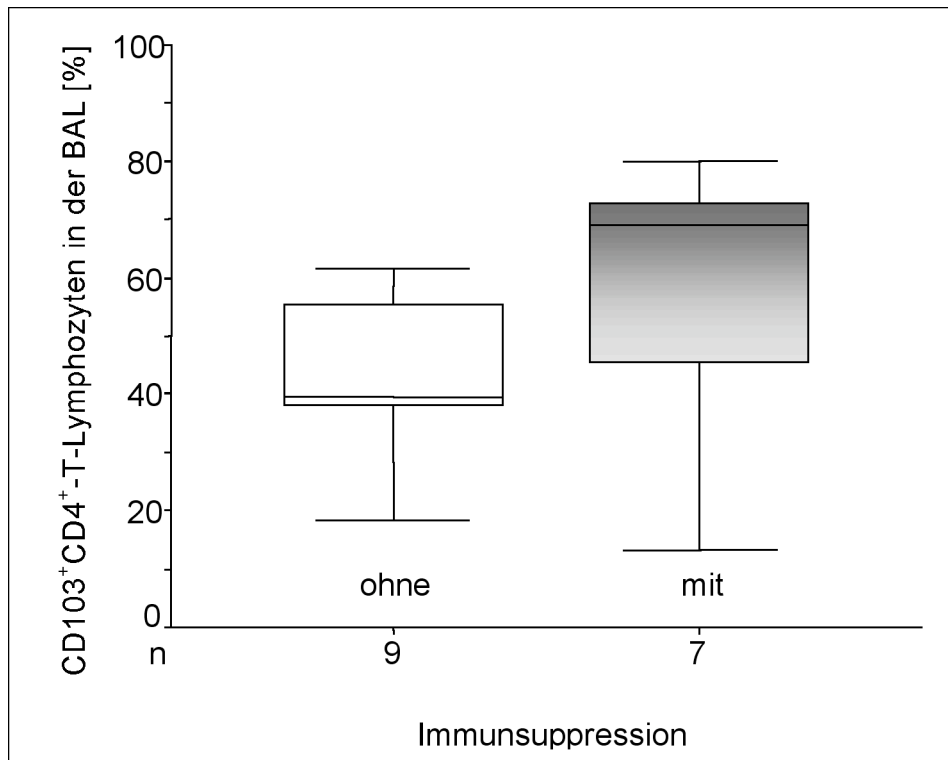


**Abbildung 4.25:** Verteilung von CD103<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten bei Rauchern mit pulmonaler Fibrose.

Der Median von CD103<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten ist bei den Nichtrauchern mit 62,1% deutlich höher als bei den Rauchern mit 47,0%, jedoch zeigte dieser Unterschied keine Signifikanz.

#### 4.5.3 $\square^E \square_7$ Expression bei pulmonaler Fibrose unter Immunsuppression

In der folgenden Abbildung sind die CD103<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten in Abhängigkeit von einer immunsuppressiven Therapie bei der pulmonalen Fibrose dargestellt.



**Abbildung 4.26:** Verteilung von CD103<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten bei pulmonaler Fibrose bei Patienten mit bzw. ohne Immunsuppression.

Bei den Patienten mit Immunsuppression sind die CD103<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten (68,9%) im Median deutlich höher als ohne Immunsuppression (39,6%). Dieser Unterschied ist jedoch statistisch nicht signifikant.

## **5 Diskussion**

Von Juni 1997 bis Januar 1999 wurden bei 169 aller durchgeführten bronchoalveolären Lavagen die immunzytologische Untersuchung von  $\square^E\square_7$  auf  $CD4^+$  T-Lymphozyten durchgeführt. In die Auswertung wurden davon 77 Patienten eingeschlossen, bei denen eine eindeutige Aussage zum Vorliegen einer pulmonalen Fibrose anhand der unter 3.1.1 beschriebenen Kriterien gestellt werden konnte. Die relativ geringe Fallzahl (n=16) der Patienten mit gesicherter pulmonaler Fibrose verdeutlicht gerade bei Vorliegen einer ebenso großen Gruppe von Patienten mit dem Verdacht auf eine Lungenfibrose, auf die Schwierigkeiten bei der diagnostischen Einteilung dieser Entitäten.

### **5.1 Limitationen der Untersuchung**

In Abhängigkeit von der ätiologischen Zuordnung pulmonaler Fibrosen zeigt sich in der BAL ein differentes zelluläres Entzündungsmuster. Daher ist für die Untersuchung des Expressionsverhaltens von  $\square^E\square_7$  auf  $CD4^+$ -T-Lymphozyten und deren Rolle als Marker für pulmonale Fibrosen eine weitere Unterteilung der pulmonalen Fibrosen in die einzelnen Entitäten erforderlich. Die geringe Fallzahl (n=16) für die Gruppe 'Fibrose' läßt jedoch bei weiterer Aufteilung nach der Ätiologie keine zuverlässige statistische Analyse zu. Dementsprechend sind Vergleiche mit anderen Arbeitsgruppen kritisch zu werten, insbesondere wenn diese höhere Fallzahlen aufweisen.

### **5.2 Allgemeine Charakteristika**

#### **5.2.1 Patientenalter- und Geschlechtsverteilung**

Sowohl die geschlechtsspezifische Verteilung als auch die Altersstruktur ist in beiden Gruppen 'Fibrose' und 'Nichtfibrose' weitgehend homogen und mit den Daten aus der Literatur vergleichbar. Dabei ist die etwas linksschiefe Altersverteilung in der Fibrosegruppe durch einige jüngere Patienten mit EAA und Sarkoidose hervorgerufen.

#### **5.2.2 Nikotinabusus**

Die Ergebnisse zeigen, dass in der Gruppe mit pulmonaler Fibrose 10% weniger Raucher sind (vgl. Abbildung 4.3). Diese Beobachtung läßt sich einerseits durch die pulmonale Beschwerdesymptomatik der Patienten mit progredienter Dyspnoe bei manifester Lungenfibrose erklären. Auf der anderen Seite ließen sich eine

große Gruppe Raucher ohne pulmonale Fibrose identifizieren. Diese litten in der Mehrzahl an einer chronisch obstruktiven Lungenerkrankung, verbunden mit langjährigem Nikotinabusus (COPD).

### 5.2.3 Lungenfunktion

Die statischen und dynamischen Lungenvolumina (TLC, FEV<sub>1</sub>, Tiffeneau-Index) zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen Fibrose und Nichtfibrose. Die meisten Patienten in der Gruppe Fibrose hatten zum Zeitpunkt der BAL keine ausgeprägte Verminderung der statischen Lungenvolumina (kein Unterschied in der TLC beider Gruppen, vgl. Tabelle 5.1), da es sich in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle um Erstdiagnosen handelte. Zu diesem frühen Zeitpunkt der klinischen Manifestation einer pulmonalen Fibrose können sich vielmehr Hinweise auf eine beginnende restriktive Ventilationsstörung aus der Kurvenmorphologie des Fluß-Volumendiagramms bzw. durch die Bestimmung der Diffusionskapazität ergeben.

Gegenüber der 'Nichtfibrose' ist die Diffusionskapazität (D<sub>LCO</sub>/VA) bei 'Fibrose' signifikant vermindert (p<0,05). Coxson et al. (vgl. Tabelle 5.1) fand für die Diffusionskapazität (D<sub>LCO</sub>/VA) keine Unterschiede. In seiner Arbeit war nur der nicht volumenkorrigierte Diffusionsmeßwert (D<sub>LCO</sub>) bei den Patienten mit IPF signifikant kleiner (p<0,01) im Vergleich zur Kontrollgruppe. Demgegenüber ist aus den Daten der vorliegenden Arbeit für die D<sub>LCO</sub> kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen festzustellen. Vermutlich lagen bei den Patienten von Coxson et al. Ventilationsinhomogenitäten vor, die bei Bestimmung der D<sub>LCO</sub> nicht berücksichtigt werden und somit falsch negativ sein können. Es gilt zu beachten, daß die Diffusionskapazität, bestimmt durch die D<sub>LCO</sub>/VA ein unempfindlicherer Parameter gegenüber Belüftungsstörungen ist und somit vorzuziehen ist.

In der folgenden Tabelle sind zum Vergleich die Ergebnisse gegenübergestellt.

	n	FEV <sub>1</sub>	TLC	Tiffeneau	D <sub>LCO</sub> /VA	
Fibrose	16	80 ± 6	96 ± 7	98 ± 3	90 ± 6 *	Eigene
Nichtfibrose	61	74 ± 3	95 ± 2	94 ± 3	106 ± 4	Daten
IPF	15	82 ± 5	73 ± 4	84 ± 2	84 ± 5	Coxon et al.,
Nichtfibrose	15	92 ± 5	115 ± 4	72 ± 2	83 ± 6	1997

**Tabelle 5.1: Lungenfunktionsparameter bei pulmonaler Fibrose und 'Nichtfibrose' im Vergleich zur Literatur.** Die Daten sind als % des Sollwertes in Mittelwert ± SEM angegeben. Mit \* markierte Werte zeigen signifikante Unterschiede (p<0,05). von der Gruppe Nichtfibrose.

### 5.3 Gesamtzellzahl in der BAL

Die absolute Gesamtzellzahl ist in der Gruppe Fibrose gegenüber der Gruppe Nichtfibrose deutlich erhöht und statistisch hochsignifikant ( $p < 0,01$ ).

Die folgende Tabelle 5.2 vergleicht diese Ergebnisse mit denen zweier anderer Arbeiten.

	n	Mittelwert $\pm$ SD	
Fibrose gesamt	16	16,4 $\pm$ 13,4 *	
IPF	2	17,6 $\pm$ 7,6	
EAA	3	11,9 $\pm$ 9,1	Eigene Daten
Sarkoidose	2	16,8 $\pm$ 3,9	
Nichtfibrose	60	9,6 $\pm$ 12,9	
<hr/>			
IPF	6	40,7 $\pm$ 17,8	
EAA	5	20,1 $\pm$ 2,9 *	Rihs et al., 1996
Sarkoidose	10	31,4 $\pm$ 8,4 *	
Nichtfibrose	4	5,8 $\pm$ 0,8	
<hr/>			
IPF	6	19 $\pm$ 12	Striz et al., 1995
Nichtfibrose	8	4 $\pm$ 3	

**Tabelle 5.2: Gesamtzellzahl bei Fibrose und Nichtfibrose dieser Arbeit im Vergleich zur Literatur.** Mit \* markierte Werte zeigen signifikante Unterschiede ( $p < 0,05$ ) von der zugehörigen Gruppe Nichtfibrose. Die GZZ ist jeweils in  $10^6$  angegeben.

Rihs et al. fanden für die untersuchten pulmonalen Fibrosen (IPF, EAA und Sarkoidose), auch im Vergleich zu Striz et al., deutlich höhere Zellzahlen in der BALF. In Übereinstimmung mit den Daten dieser Arbeit war die GZZ unter den pulmonalen Fibrosen bei IPF und Sarkoidose relativ höher. Dabei waren die Patienten in der Arbeit von Rihs et al. mindestens 3 Monate vor der BAL ohne Kortikosteroide. Im Gegensatz dazu hatten 5 Patienten (31,3%) der vorliegenden Studie, zum Zeitpunkt der Lavage eine immunsuppressive Therapie. Die Differenzen der in Tabelle 5.2 zusammengestellten Daten für die GZZ der einzelnen Arbeitsgruppen könnten hiermit im Zusammenhang stehen.



## 5.4 Differentialzytologie

### 5.4.1 Lymphozyten

In der Tabelle unten sind die Lymphozyten aus der Differentialzytologie dieser Arbeit denen anderer Studien zum Vergleich gegenübergestellt.

	n	Mittelwert ± SD	
Fibrose	15	30,9 ± 26,3	
IPF	2	14 ± 14	
EAA	3	65 ± 3	
Sarkoidose	2	18 ± 11	
Nichtfibrose	60	17,4 ± 16,6	
<hr/>			
IPF	6	12,2 ± 3,5	
EAA	5	35,5 ± 6,3	Rihs et al., 1996
Sarkoidose	10	29,5 ± 4,7	
Nichtfibrose	4	7,9 ± 2,5	
<hr/>			
IPF	6	13 ± 15	Striz et al., 1995
Nichtfibrose	8	11 ± 8	
<hr/>			
IPF	5	23 ± 17	
Sarkoidose <sup>§</sup>	11 / 5	19 ± 13 / 16 ± 16	Pfeifer & Müller-Quernheim, 1994
Nichtfibrose	4	7 ± 6	
<hr/>			
EAA <sup>£</sup>	4 / 4	66 ± 20 / 74 ± 13	
Sarkoidose	11	54 ± 22	Costabel & Matthys, 1984
Nichtfibrose	10	8 ± 3	

**Tabelle 5.3: Lymphozyten in der Differentialzytologie der BAL bei pulmonalen Fibrose im Vergleich zu anderen Ergebnissen.** <sup>£</sup> Für die EAA wurde zwischen Patienten mit / ohne Allergenexposition (in den letzten 24 Stunden) differenziert. <sup>§</sup> Für die Sarkoidose wurden jeweils aktive / inaktive Sarkoidose unterschieden. Die Werte für die Zellen sind jeweils in % angegeben.

Die Daten in Tabelle 5.3 zeigen gute Übereinstimmungen der Lymphozytenanteile für die EAA und der IPF mit denen der aufgeführten Arbeiten. Für die Sarkoidose finden sich ganz unterschiedliche Ergebnisse. Bis auf die Arbeit von Pfeifer & Müller-Quernheim und der vorliegenden Arbeit wurden in den anderen Studien höhere Lymphozytenzahlen beschrieben. Ursache für diese Abweichungen voneinander könnte eine bestehende Immunsuppression sein. Zum Anderen ist ein höherer Makrophagenanteil bei Rauchern mit nachfolgend relativ geringerer Lymphozytose denkbar (Costabel, 1993).

### 5.4.2 Makrophagen

In der Differentialzytologie der BALF ist der Makrophagenanteil bei 80% normal. Bei Rauchern sind deutlich höhere Anteile, bis zu 95% möglich (Costabel, 1993).

	n	Mittelwert ± SD	
Fibrose	15	59 ± 30	
IPF	2	79 ± 18	
EAA	3	31 ± 4	
Sarkoidose	2	51 ± 36	
Nichtfibrose	60	69 ± 26	
IPF	6	70 ± 20	Costabel & Matthys, 1986
Nichtfibrose	4	96 ± 3	
IPF	6	48 ± 27	Striz et al., 1995
Sarkoidose <sup>§</sup>	13 / 9	51 ± 14 / 71 ± 19	
Nichtfibrose	8	88 ± 9	
IPF	5	67 ± 16	Pfeifer & Müller-Quernheim, 1994
Sarkoidose <sup>§</sup>	11 / 5	80 ± 14 / 83 ± 16	
Nichtfibrose	4	86 ± 14	
EAA <sup>£</sup>	4 / 4	25 ± 18 / 22 ± 9	Costabel & Matthys, 1984
Sarkoidose	11	45 ± 21	
Nichtfibrose	10	92 ± 4	

**Tabelle 5.4: Makrophagen in der Differentialzytologie der BAL bei pulmonalen Fibrose im Vergleich zu anderen Ergebnissen.** <sup>£</sup> Für die EAA wurde zwischen Patienten mit / ohne Allergenexposition (in den letzten 24 Stunden) differenziert. <sup>§</sup> Für die Sarkoidose wurden jeweils aktive / inaktive Sarkoidose unterschieden. Die Werte für die Zellen sind jeweils in % angegeben.

Die Ergebnisse aller in Tabelle 5.4 aufgeführten Arbeitsgruppen zeigen für die pulmonalen Fibrosen deutlich weniger Makrophagen in der Differentialzytologie der BALF im Vergleich zur jeweiligen Gruppe Nichtfibrose. Insbesondere wird dieser Zusammenhang für der EAA deutlich. Hier kommt es durch die ausgeprägte Lymphozytose (vgl. dazu Abschnitt 5.4.1) zu einer prozentualen Abnahme der Makrophagenzahl. Dennoch fand sich, bezüglich der Makrophagen in der vorliegenden Arbeit, kein signifikanter Unterschied zwischen pulmonaler Fibrose und der Gruppe 'Nichtfibrose'. Durch den Einflußfaktor Rauchen kommt es zu Verschiebungen der Makrophagenanteile in der Differentialzytologie, unabhängig von der Grunderkrankung und beeinflussen so das Ergebnis.

Die Auswertung dieser Arbeit zeigt sogar, dass bei Rauchern die Makrophagen signifikant erhöht gegenüber Nichtrauchern sind ( $p < 0,01$ ), unabhängig vom Vorliegen einer pulmonale Fibrose (vgl. Abschnitt 4.3.2). Während dieser Zusammenhang auch Gültigkeit für die Raucher in der Gruppe Nichtfibrose hat, findet sich bei pulmonaler Fibrose (mit 10% weniger Rauchern) keine Signifikanz mehr (vgl. Abbildung 4.11, 4.12, 4.13).

### 5.4.3 Granulozyten

In der BALF sind neutrophile Zellen bis zu 3% und eosinophile Zellen bis zu 0,5% bei lungengesunden normal (Costabel, 1993). In der nachfolgenden Tabelle 5.5 zeigen die Ergebnisse, dass sowohl mehr neutrophile- als auch eosinophile Granulozyten bei den einzelnen Entitäten der pulmonalen Fibrose im Vergleich zur Literatur auftraten. Eine überwiegende neutrophile Granulozytose ist hiernach bei der IPF zu erwarten. In unserem Kollektiv fanden sich allerdings weniger neutrophile Zellen im Vergleich zu den anderen Arbeitsgruppen. Dagegen stimmt der Eosinophilenanteil bei der IPF mit den Angaben aus der Literatur überein.

Die geringfügigen Verschiebungen dieser zellulären Parameter im Vergleich zu den Normwerten und denen aus der Literatur lassen sich möglicherweise durch die auftretenden Begleiterkrankungen (eosinophile-, bakterielle- und virale Pneumonien, COPD) erklären. Auch könnten die Ergebnisse bei den überwiegend stationären Patienten mit Pneumonien in die gleiche Richtung verschoben sein.

	n	Neu	Eos	
Fibrose	16	6,5 ± 10,5	0,9 ± 1,1	
IPF	2	5,0 ± 3,5	2,3 ± 2,5	
EAA	3	2,3 ± 2,8	0,8 ± 0,7	Eigene Daten
Sarkoidose	2	12,3 ± 11,0	0,8 ± 1,1	
Nichtfibrose	58	10,4 ± 18,5	2,4 ± 5,4	
IPF	15	14 ± 15	6 ± 7	Costabel & Matthys, 1986
Nichtfibrose	11	0,4 ± 0,4	0,03 ± 0,05	
IPF	6	11,3 ± 5,2	1,7 ± 0,6	Rihs et al., 1996
EAA	5	3,6 ± 1,9	1,7 ± 1,2	
Sarkoidose	10	1,6 ± 0,3	0,4 ± 0,2	
Nichtfibrose	4	1,7 ± 0,6	0,2 ± 0,1	

**Tabelle 5.5: Granulozyten in der Differentialzytologie der BAL bei pulmonalen Fibrose im Vergleich zu Ergebnissen anderer Arbeiten.** Neu=neutrophile-, Eos=eosinophile Granulozyten; angegeben in (Mittelwert ± SD)%.

## 5.5 Spezielle T-Zellaktivierungsmarker

### 5.5.1 CD25<sup>+</sup> und HLA-DR<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten in der BAL

Nach Bindung eines Antigens an den CD3/CD4-Rezeptorkomplex der T-Helfer-Lymphozyten kommt es nach intrazellulärer Signaltransduktion zu biochemischen und morphologischen Veränderungen auf der Zelloberfläche. Die ersten Hinweise dafür zeigen sich z.B. bei der Expression des CD69-Antigens oder von CD25 (IL-2R) und CD71 (Transferrinrezeptor). Dagegen erscheint HLA-DR relativ spät, erst nach 2-3 Tagen auf der Zelloberfläche. Zusammenfassend sind durch eine vermehrte Expression von CD25 (>6%) und HLA-DR (>5%) aktivierte CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten charakterisiert (Costabel, 1993).

In Tabelle 5.6 sind für die CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten CD25 und HLA-DR nach der Ätiologie der pulmonalen Fibrose und Nichtfibrose im Vergleich mit denen einer anderen Arbeitgruppe gegenübergestellt.

	n	CD25	HLA-DR	
Fibrose	16	12,5 ± 13,4	8,0 ± 9,5	
IPF	2	29,2 ± 13,9	5,1 ± 3,8	
EAA	3	1,7 ± 0,7	2,9 ± 1,4	Eigene Daten
Sarkoidose	2	7,5 ± 1,1	7,0 ± 6,2	
Nichtfibrose	60 bzw. 59	13,5 ± 11,4	9,5 ± 12,1	
IPF	6	8,7 ± 1,8	40,7 ± 11,5	
EAA	5	9,1 ± 5,0	38,5 ± 8,5	Rihs et al., 1996
Sarkoidose	10	9,7 ± 2,9	38,3 ± 7,1	
Nichtfibrose	4	5,7 ± 0,3	10,2 ± 1,7	

**Tabelle 5.6:** CD25<sup>+</sup> und HLA-DR<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten bei den pulmonalen Fibrosen und Nichtfibrose im Vergleich zur Literatur. Angaben in (Mittelwert ± SD) %.

Insgesamt zeigt sich eine geringere Expression beider T-Zellaktivierungsmarker bei den verschiedenen pulmonalen Fibrosen im Vergleich mit den Daten aus der Literatur. Dabei ist zu berücksichtigen, dass alle Patienten der unten aufgeführten Studie (Rihs et al., 1996) zum Zeitpunkt der BAL ohne Immunsuppression waren. Dieser Umstand könnte die geringere Expressionen von CD25 und HLA-DR in den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit zumindest teilweise erklären.

### 5.5.2 CD45RO<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten

Das transmembrane Leukozytenantigen CD45 ist für die Signaltransduktion in der Zelle von Bedeutung. Nach der Struktur unterscheidet man verschiedene Isoformen des Moleküls. Naive T-Zellen (ohne Antigenkontakt) werden mit CD45RA und nach erfolgter Antigenerkennung, also aktivierte Lymphozyten ('memory' T-Zellen / oder Gedächtniszellen), mit CD45RO bezeichnet.

In der nachfolgenden Tabelle sind analog zu den obigen T-Zellaktivierungsmarkern die Ergebnisse mit denen aus der Literatur gegenübergestellt.

	n	CD45RO	
Fibrose	16	97,1 ± 2,2 *	
IPF	2	98,7 ± 1,5	
EAA	3	99,2 ± 0,4	Eigene Daten
Sarkoidose	2	94,6 ± 4,0	
Nichtfibrose	46	89,2 ± 17,2 *	
<hr/>			
IPF	5	99,1 ± 0,5	
Sarkoidose <sup>£</sup>	11 / 5	99,2 ± 0,4 / 98,9 ± 1,4	Pfeifer et al., 1994
Nichtfibrose	7	98,7 ± 0,5	

**Tabelle 5.7:** CD45RO<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten bei den pulmonalen Fibrosen und Nichtfibrose im Vergleich zu Ergebnissen aus der Literatur. Signifikante Unterschiede sind mit \* markiert. <sup>£</sup> Die Zahlen beziehen sich auf aktive / inaktive Sarkoidose. Angaben in (Mittelwert ± SD) %.

Es fanden sich signifikant erhöhte Zahlen für CD45RO<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten bei pulmonaler Fibrose gegenüber 'Nichtfibrose' in dieser Arbeit (p<0,05). Die Ergebnisse von Pfeifer et al. zeigen vergleichbar hohe Zahlen für die Memory-T-Zellen, dabei konnten jedoch keine Signifikanzen zur Kontrollgruppe gefunden werden. Im Gegensatz zu CD25 und HLA-DR, ist bei der Expression von CD45RO auf CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten keine Beeinflussung durch Immunsuppressiva zu erkennen.

## 5.6 CD103<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten (CD103<sup>+</sup>) in der BAL

Übereinstimmend mit den Daten von Rihs et al., 1996 und Lohmeyer et al., 1999 fand sich in der Gegenüberstellung ein hochsignifikant erhöhter CD103<sup>+</sup>-Anteil auf CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten in der Gruppe Fibrose gegenüber der Gruppe Nichtfibrose (vgl. Abbildung 4.23).

### 5.6.1 CD103<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten (CD103<sup>+</sup>) bei verschiedenen pulmonalen Fibrosen

Im Vergleich zu bereits veröffentlichten Daten der Arbeitsgruppe Lohmeyer et al., 1999, finden sich gute Übereinstimmungen (Tabelle 5.8).

	n	CD103 <sup>+</sup>	
Fibrose	16	51,0 ± 5,6 *	
IPF	2	24,2 ± 5,9	
EAA	3	80,0 ± 2,9	Eigene Daten
Sarkoidose	2	46,3 ± 8,1	
Nichtfibrose	61	28,7 ± 1,9 *	
<hr/>			
IPF	18	70,0 ± 2,4	
EAA	20	70,0 ± 2,4	
Sarkoidose	44		
<i>Stadium I</i>		14,3 ± 1,5	Lohmeyer et al., 1999
<i>Stadium II</i>		50,0 ± 3,8	
<i>Stadium III</i>		64,0 ± 4,8	
Nichtfibrose	15	30,0 ± 1,8	

**Tabelle 5.8: CD103<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten (CD103<sup>+</sup>) bei verschiedenen pulmonalen Fibrosen. Vergleich zu den Daten von Lohmeyer et al., 1999.** Signifikante Unterschiede sind mit \* markiert. Angaben in (Mittelwert ± SD) %.

Insbesondere lassen sich bei der EAA und der Pneumokoniose deutlich höhere Anteile an CD103<sup>+</sup> auf den CD4 positiven T-Lymphozyten in der BAL nachweisen (vgl. Abbildung 4.24). Die EAA ist durch eine ausgeprägte Lymphozytose in der BAL mit starker Krankheitsaktivität und unbehandelt klinisch rasch progredientem Verlauf mit interstieller Fibrose gekennzeichnet. Bei einer medianen Lymphozytose von 65% sind die hohen Werte für CD103<sup>+</sup> Ausdruck einer starken Fibroseaktivität. Auch Lohmeyer et al. fand in fortgeschrittenen Stadien der Sarkoidose entsprechend höhere CD103<sup>+</sup>-Anteile in der BAL (vgl. Tabelle 5.8).

### **5.6.2 CD103<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten ( $\alpha^E\alpha_7$ ) bei pulmonaler Fibrose und Rauchern**

Die Expression von  $\alpha^E\alpha_7$  zeigte bei Patienten mit pulmonaler Fibrose keinen signifikanten Unterschied zwischen Rauchern und Nichtrauchern (vgl. Abbildung 4.25), tendentiell war bei Nichtrauchern die Expression größer. Dieser Zusammenhang steht möglicherweise mit der klinischen Beobachtung im Einklang, nach der dieser Nikotinabusus mit zunehmend schwerem Krankheitsverlauf zurückgeht.

### **5.6.3 $\alpha^E\alpha_7$ Expression unter Immunsuppression**

Patienten mit pulmonaler Fibrose und unter immunsuppressiver Therapie exprimieren tendentiell mehr  $\alpha^E\alpha_7$  als Patienten ohne Immunsuppression. Dieser Zusammenhang könnte wie oben mit der Beobachtung vereinbar sein, dass bei schwererem klinischen Verlauf mehr Patienten medikamentös behandelt sind, auch wenn die Daten statistisch kein Signifikanzniveau erreichen (vgl. Abb. 4.26).

### **5.6.4 $\alpha^E\alpha_7$ Expression und Krankheitsaktivität**

Die Expression von  $\alpha^E\alpha_7$  in Abhängigkeit von der Aktivität der pulmonalen Fibrose lässt sich nur indirekt, anhand folgender, bereits dargestellter Zusammenhänge einschätzen.

Bei der Lungenfibrose ist  $\alpha^E\alpha_7$  hochsignifikant gegenüber der 'Nichtfibrose' erhöht. Dabei imponiert ein vermutlich schwererer Krankheitsverlauf (Patienten mit Immunsuppression, Nichtraucher, eingeschränkter Diffusionskapazität) durch eine vermehrte Expression von  $\alpha^E\alpha_7$  auf T-Lymphozyten (vgl. Kap. 5.6.2 und 5.6.3). Im Einklang mit dieser Beobachtung steht die deutlich höhere Expression von  $\alpha^E\alpha_7$  bei der EAA und der Pneumokoniose. Diese Patienten leiden oft an einem schweren Krankheitsgefühl und zeigen unbehandelt eine rasche Progredienz der pulmonalen Symptomatik. Auch in der BAL dieser Patienten finden sich tendentiell höhere Lymphozytenanteile als Ausdruck der Aktivität der vorliegenden Alveolitis (vgl. Tabelle 4.7).

Diese Beobachtungen lassen somit eine Assoziation zwischen einer vermehrten Expression von  $\alpha^E\alpha_7$  und der Krankheitsaktivität vermuten. Es werden jedoch weitergehende Daten und umfangreichere Studien benötigt (vgl. dazu Kap. 5.1), um diese Hypothese zu beweisen.

## 5.7 Klinische Anwendung

Unter der Annahme, dass sich mit Hilfe der  $\alpha^E\alpha_7$ -Expression die Aktivität einer pulmonalen Fibrose einschätzen lässt, könnte dieser Marker breite klinische Anwendung finden. In der klinischen Praxis stünde dem behandelnden Kollegen somit ein Baustein zur Beurteilung der Indikation einer nebenwirkungsreichen immunsuppressiven Therapie zur Verfügung. Das gewinnt insbesondere dann Bedeutung, wenn zum Zeitpunkt der Erstmanifestation der Erkrankung noch keine Funktionseinschränkungen vorliegen. Hierdurch ließe sich möglicherweise bereits ein sehr frühzeitiger Therapiebeginn ermöglichen und somit schwere restriktive Veränderungen mit einer Progredienz der Erkrankung unterbinden.

Weiter könnte  $\alpha^E\alpha_7$  im Rahmen von Verlaufskontrollen unter der eingeleiteten Therapie als ein klinisch prognostischer Parameter für die Aktivitätsbeurteilung der Lungenfibrose verwendet werden.

## 5.8 Weiterführende Untersuchungen

Zur Unterstützung der Hypothese, dass  $\alpha^E\alpha_7$  ein verlässlicher Parameter in der Aktivitätsbeurteilung einer pulmonalen Fibrose ist, sind weitere Daten notwendig. Bei höherer Fallzahl lassen sich durch weitergehende statistische Verfahren unter Berücksichtigung bekannter Verlaufsparemeter der Lungenfibrose (Diffusionskapazität) diese Ergebnisse untermauern.

Interessante Ansätze zu weiterführenden zellulären Untersuchungen zeigten Rihs et al., 1996 mit dem Nachweis, dass TGF $\alpha$  in vitro die Expression von  $\alpha^E\alpha_7$  auf T-Lymphozyten erhöhen und das TGF $\alpha$ 1 direkt die Expression der  $\alpha^E$ - und der  $\alpha_7$ -mRNA Transkription erhöht (Lim et al., 1998). Das epitheliale Zytokin TGF $\alpha$ 1 ist ein potenter Aktivator von Fibrosoblasten. Durch parallele Bestimmung von TGF $\alpha$ 1 im Überstand der BAL ließe sich  $\alpha^E\alpha_7$  als ein potentieller Marker der Aktivität der pulmonalen Fibrose besser zuordnen.



## 6 Zusammenfassung

Im Mittelpunkt der Arbeit stand die Untersuchung der Expansion von  $\square^E\square_7^+$  CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten in der bronchoalveolären Lavage bei Patienten mit interstitiellen Lungenerkrankungen. Von besonderem Interesse dabei war die Rolle von  $\square^E\square_7^+$  CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten als Marker für pulmonale Fibrosen sowie deren diagnostische Relevanz. Anhand definierter histopathologischer, funktioneller und klinischer Kriterien wurden insgesamt 77 stationäre und ambulante Patienten auf das Vorliegen einer Lungenfibrose untersucht. Bei 16 Patienten konnte eine pulmonale Fibrose eindeutig diagnostiziert werden. In der Kontrollgruppe wurden 61 Patienten ohne Hinweis auf eine Lungenfibrose zusammengefaßt.

Die Auswertung der Daten der Durchflußzytometrie wiesen für  $\square^E\square_7$  auf CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten deutlich höhere Werte bei der pulmonalen Fibrose auf. Dieser Unterschied ist im Vergleich zur 'Nichtfibrose' hochsignifikant ( $p < 0,01$ ). Auch die höhere Gesamtzellzahl und die verminderte Diffusionskapazität sind bei der pulmonalen Fibrose signifikant ( $p < 0,05$ ) und finden Übereinstimmung mit den Angaben in der Literatur. Die T-Zellaktivierungsmarker CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> und HLA-DR<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> waren bei der pulmonalen Fibrose geringer exprimiert, statistisch jedoch nicht signifikant. Hingegen ließen sich signifikant mehr 'memory' T-Zellen (CD45RO<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>) bei der pulmonalen Fibrose nachweisen ( $p < 0,05$ ). Diese sich scheinbar widersprechende Ergebnisse bekannter Aktivitätsparameter einer T-zellulären Entzündung ist durch die weitgehende immunsuppressive Vorbehandlung der Fibrosepatienten (bei starker Krankheitsaktivität) bedingt. Durch die Immunsuppression unbeeinflusst, zeigt sich neben CD45RO auch  $\square^E\square_7$ , dessen Expression tendentiell höher war als bei Vorbehandlung.

Damit könnte  $\square^E\square_7$  ein Marker für pulmonale Fibrose darstellen, unabhängig von einer immunsuppressiven Therapie und geeignet sein, die Krankheitsaktivität zu erfassen. Die diagnostische Bedeutung von  $\square^E\square_7^+$  CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten-Expansion bei fibrotischen Lungenerkrankungen ist umso größer, da bisher kein klinischer Marker einer pulmonalen Fibrogenese existiert. Allein die Diffusionskapazität konnte als funktioneller Parameter Patienten mit bzw. ohne Fibrose unterscheiden ( $p < 0,05$ ).

Diese Arbeit konnte somit erste Hinweise auf die diagnostische Wertigkeit von  $\square^E\square_7^+$  CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten bei pulmonalen Fibrosen darstellen. Die klinische

Relevanz von  $\alpha\text{E}\alpha_7^+$  CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten muß durch weitere Studien mit höheren Fallzahlen und unter Einbeziehung bekannter anderer Parameter auf eine sichere Basis (Grundlage) gestellt werden.

## 7 Literaturverzeichnis

Antoniades HN, Bravo MA, Avila RE, Galanopoulos T, Neville-Golden J, Maxwell M, Selman M. Platelet-derived growth factor in idiopathic pulmonary fibrosis. *J Clin Invest* 1990; 86:1055-1064.

ATS/ERS/WASOG. Statement on Sarcoidosis. *Sarcoidosis Vasculitis and Diffuse Lung Diseases* 1999; 16:149-173.

Borges AC, Witt C. Diagnostik pulmonaler und kardialer Manifestation von Kollagenosen. *Atemw-Lungenkrkh* 1998; 24:49-57.

Bortz J, Lienert GA. Kurzgefasste Statistik für die klinische Forschung. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, 1998, pp. 121-136.

Burmester GR, Pezzutto A. Taschenatlas der Immunologie. Thieme Verlag, Stuttgart, 1998, pp. 204-205.

Cantin AM, North SL, Fells GA, Hubbard RC, Crystal RG. Oxidant-mediated epithelial cell injury in idiopathic pulmonary fibrosis. *J Clin Invest* 1987; 79:1665-1673.

Carre PC, Mortenson RL, King TE Jr, Noble PW, Sable CL, Riches DW. Increased expression of the interleukin-8 gene by alveolar macrophages in idiopathic pulmonary fibrosis: a potential mechanism for the recruitment and activation of neutrophils in lung fibrosis. *J Clin Invest* 1991; 88:1802-1810.

Cepek KL, Parker CM, Madara JL, Brenner MB. Integrin  $\alpha^E\beta_7$  mediates adhesion of T-Lymphocytes to epithelial cells. *J Immunol* 1993;150:3459-3470.

Cepek KL, Shaw SK, Parker CM, Russel GJ, Morrow JS, Rimm DL, Brenner MB. Adhesion between epithelial cells and T-lymphocytes mediated by E-cadherin and the alpha-E beta-7 integrin. *Nature* 1994; 372:190-193.

Cerf-Bensussan N, Begue B, Gagnon J, Meo T. The human intraepithelial lymphocyte marker HML-1 is an integrin consisting of a beta 7 subunit associated with a distinctive alpha chain. *Eur J Immunol* 1992; 22:273-277.

Cerf-Bensussan N, Jarry A, Brousse N, Lisowska-Grospierre B, Guy-Grand D, Griscelli C. A monoclonal antibody (HML-1) defining a novel membrane molecule present on human intestinal lymphocytes. *Eur J Immunol* 1987; 17:1279-1285.

Costabel U. Atlas der bronchoalveolären Lavage. Thieme Verlag, Stuttgart, 1993, pp. 20-23.

Costabel U, Guzman J, Billmann P, Matthys H. Diagnostik interstitieller Lungenparenchymerkrankungen. Die Internistische Welt 1987; 181-191.

Costabel U, Roncossek V, Guzman J, Rühle KH, Matthys H. Zelluläre Befunde in der bronchoalveolären Lavage und Krankheitsverlauf bei idiopathischer Lungenfibrose. Atemw-Lungenkrkh 1986; 12:309-311.

Coxson HO, Hogg JC, Mayo JR, Behzad H, Whitall KP, Schwartz DA, Hartley PG, Galvin JR, Wilson JS, Hunninghake GW. Quantification of idiopathic pulmonary fibrosis using computed tomography and histology. Am J Respir Crit Care Med 1997; 155:1649-1656.

Dakhama A, Hegele RG, Leflamme G, Israel-Assayag E, Cormier Y. Common respiratory viruses in lower airways of patients with acute hypersensitivity pneumonitis. Am J Respir Crit Care Med 1999; 159:1316-1322.

Denis M, Cormier Y, Fournier M, Tardif J, Laviolette M. Tumor necrosis factor plays a role in determining hypersensitivity pneumonitis in a mouse model. Am J Respir Cell Mol Biol 1991; 5:477-483.

Erle DJ, Brown T, Christian D, Aris R. Lung epithelial lining fluid T cell subsets defined by distinct patterns of beta-7 and beta-1 integrin expression. Am J Respir Cell Mol Biol 1994; 10:237-244.

Fogoros RN, Anderson KP, Winkle RA, Swerdlow CD, Mason JW. Amiodarone: clinical efficacy and toxicity in 96 patients with recurrent, drug-refractory arrhythmias. Circulation 1983; 68:88-94.

Frenette PS, Wagner DD. Molecular medicine: adhesion molecules - part I. The New Engl J Med 1996; 334:1526-1529.

Hunninghake GW, Gadek JE, Lawley TJ, Crystal RG. Mechanisms of neutrophil accumulation in the lungs of patients with idiopathic pulmonary fibrosis. J Clin Invest 1981; 68:259-269.

Ikeda S, Yanai N, Ishikawa S. Flexible Bronchofiberscope. Keio J Med 1968; 17:1-16.

Katzenstein AL, Myers JL. Idiopathic pulmonary fibrosis: clinical relevance of pathologic classification. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157:1301-1315.

Katzenstein AL, Myers JL, Mazur MT. Acute interstitial pneumonia: a clinicopathologic, ultrastructural, and cell kinetic study. *Am J Surg Pathol* 1986; 10:256-267.

Katzenstein AL, Forelli RF. Nonspecific interstitial pneumonia /fibrosis: histologic features and clinical significance. *Am J Surg Pathol* 1994; 18:136-147.

Nakhosteen JA, Niederle N, Zavala DC. Atlas und Lehrbuch der Bronchoskopie, Springer Verlag, Berlin, 1989, pp. 7-8.

Konietzko N, Wendel H, Wiesner B. Erkrankungen der Lunge. W de Gruyter Verlag, Berlin, 1995, pp.

Liebow AA. Definition and classification of interstitial pneumonias in human pathology. *Prog Respir Res* 1975; 8:1-31.

Lim SP, Leung E, Krissansen GW. The  $\alpha 7$  integrin gene (Itgb-7) promoter is responsive to TGF- $\beta 1$ : defining control regions. *Immunogenetics* 1998; 48:184-195.

Lörcher U, Schmidt H. HR-CT der Lunge. Thieme Verlag, Stuttgart, 1996, pp. 219-227.

Lohmeyer J, Friedrich J, Grimminger F, Maus U, Tenter R, Morr H, Velcovsky HG, Seeger W, Rosseau S. Expression of mucosa-related alpha-E beta-7 on alveolar T cells in interstitial lung diseases. *Clin Exp Immunol* 1999; 116:340-346.

Martinet Y, Rom WN, Grotendorst GR, Martin GR, Crystal RG. Exaggerated spontaneous release of platelet-derived growth factor by alveolar macrophages from patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *N Engl J Med* 1987; 317:202-209.

Müller-Quernheim J, Pfeifer S, Mannel D, Stausz J, Ferlinz R. Lung-restricted activation of the alveolar macrophage/monocyte system in pulmonary sarcoidosis. *Am Rev Respir Dis* 1992; 145:187-192.

Nagata N, Suematsu R, Yoshii C, Miyazaki H, Sueishi K, Kido M. Characterization of amiodarone pneumonitis as related to inflammatory cells and surfactant apoprotein. *Chest* 1997; 112:1068-1074.

Newman LS, Rose CS, Maier LA. Sarcoidosis. *New Engl J Med* 1997; 336:1224-1234.

Ohar JA, Jackson F, Dettenmeier PA, Bedrossian CW, Tricomi SM, Evans RG. Bronchoalveolar lavage cell count and differential are not reliable indicators of amiodarone-induced pneumonitis. *Chest* 1992; 102:999-1004.

Ozaki T, Hayashi H, Tani K, Ogushi F, Yasuoka S, Ogura T. Neutrophil chemotactic factors in the respiratory tract of patients with chronic airway diseases and idiopathic pulmonary fibrosis. *Am Rev Respir Dis* 1992; 145:85-91.

Papiris SA, Vlachoyiannopoulos PG, Maniati MA, Karakostas KX, Constantopoulos SH, Moutsopoulos HH. Idiopathic pulmonary fibrosis and pulmonary fibrosis in diffuse systemic sclerosis: two fibrosis with different prognosis. *Respir* 1997; 64:81-85.

Parker CM, Cepek KL, Russel GJ, Shaw SK, Posnett DN, Schwarting R, Brenner MB. A family of beta-7 integrins on human mucosal lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89:1924-1928.

Quanjer PH, Tammeling GJ, Cotes JE, Pedersen OF, Peslin R, Yernault JC. Lung volumes and forced ventilatory flows. Report Working Party Standardization of Lung Function Tests, European Community for Steel and Coal. Official Statement of the European Respiratory Society. *Eur Respir J Suppl.* 1993; 16:5-40.

Reynolds HY. Bronchoalveolar Lavage. *Am Rev Respir Dis* 1987; 135:250-263.

Schieferdecker HL, Ullrich R, Weiss-Breckwoldt AN, Schwarting R, Stein H, Riecken EO, Zeitz M. The HML-1 antigen of intestinal lymphocytes is an activation antigen. *J Immunol* 1990; 144:2541-2549.

Rihs S, Walker CH, Virchow JC, Boer C, Kroegel C, Giri SN, Braun RK. Differential expression of  $\alpha^E\beta_7$  integrins on bronchoalveolar lavage T-lymphocyte subsets: regulation by  $\alpha_4\beta_1$ -integrin crosslinking TGF- $\beta$ . *Am J Respir Cell Mol Biol* 1996; 15:600-610.

Shaw SK, Cepek KL, Murphy EA, Russel GJ, Brenner MB, Parker CM. Molecular cloning of the human mucosal lymphocyte integrin alpha E subunit. *J Biol Chem* 1994; 269:6016-6025.

Stiefelhagen P. Sarkoidose – state of the art. *Der Internist* 1998; 39:334-336.

Striz I, Zheng L, Wang YM, Pokorná H, Bauer PC, Costabel U. Soluble CD14 is increased in bronchoalveolar lavage of active sarcoidosis and correlates with alveolar macrophage membrane-bound CD14. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151:544-547.

Toellner R. *Illustrierte Geschichte der Medizin*. Andreas Verlag, Vaduz, 1992, p. 2718.

Zissel G, Bäumer I, Fleischer B, Schlaak M, Müller-Quernheim J. TCR V $\beta$  families in T-cell clones from sarcoid lung parenchyma, bal, and blood. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156:1593–1600.

## 8 Abkürzungsverzeichnis

<sup>67</sup> Ga-Szintigraphie	<sup>67</sup> Galliumszintigraphie
ACE	Angiotensin Converting Enzyme
AZV	Atemzugvolumen
CD	Cluster of Differentiation
CO-	Kohlenmonoxid-
CREST	cutaneus raynaud esophageal skleroderma teleangiectasia
ERS	European Respiratory Society
FEV <sub>1</sub>	Forciertes expiratorisches Volumen der ersten Sekunde
GM-CSF	granulocyte and monocyte-colony stimulating factor
HLA-DR	humanes Leukozytenantigen-DR
IFN- $\gamma$	Interferon-gamma
IgE, IgG	Immunglobulin E, -G
IGF-1	Insulin- like growth factor-1
IL	Interleukin
LDH	Laktatdehydrogenase
LTB <sub>4</sub>	Leukotrien B <sub>4</sub>
M-CSF	Monocyte-colony stimulating factor
NK-Zellen	“Natürliche“ Killer-Zellen
PAF	plättchenaktivierender Faktor
PaO <sub>2</sub>	peripher arterielle Sauerstoffdruck
PDGF	platelet derived growth factor
SD	Standarddeviation
sIL-2R	löslicher Interleukin-2-Rezeptor
TGF- $\beta$ <sub>1</sub>	Transforming growth factor- $\beta$ <sub>1</sub>
TNF- $\alpha$	Tumornekrosefaktor- $\alpha$
ZNS	Zentralnervensystem



## 9 **Abbildungsverzeichnis**

<u>Abbildung 4.1: Absolute und relative Geschlechtsverteilung der Patienten mit und ohne pulmonale Fibrose. In Klammern sind die relativen Häufigkeiten in der Gruppe angegeben.</u>	27
<u>Abbildung 4.2: Absolute und relative Häufigkeiten des Nikotinabusus. Vergleich zwischen pulmonaler Fibrose und Nichtfibrose. In Klammern stehen die relativen Angaben für die jeweilige Gruppe.</u>	29
<u>Abbildung 4.3: Lungenfunktion bei Fibrose und Nichtfibrose. Gegenübergestellt ist jeweils der Median aus den Gruppen für die einzelnen Lungenfunktionsparameter.</u>	30
<u>Abbildung 4.4: Die Gesamtzellzahl beider Gruppen, dargestellt in Boxplots. Es sind die absoluten Zellzahlen angegeben.</u>	31
<u>Abbildung 4.5: Gesamtzahl in der BAL von Patienten mit und ohne pulmonale Fibrose, in Abhängigkeit von den Rauchgewohnheiten.</u>	32
<u>Abbildung 4.6: Gesamtzellzahl bei verschiedenen pulmonalen Fibrose. Die GZZ ist jeweils als absolute Zellzahl angegeben.</u>	33
<u>Abbildung 4.7: Lymphozyten in der BAL der untersuchten Patienten mit (n=15) und ohne (n=60) pulmonaler Fibrose.</u>	34
<u>Abbildung 4.8: Lymphozyten bei pulmonaler Fibrose unterschiedlicher Ätiologie.</u>	35
<u>Abbildung 4.9: CD4/CD8-Verhältnis der T-Zellen in der BAL in den einzelnen Ätiologien der pulmonalen Fibrose.</u>	36
<u>Abbildung 4.10: Makrophagen in der BAL der untersuchten Patienten mit (n=15) und ohne (n=60) pulmonale Fibrose.</u>	37
<u>Abbildung 4.11: Makrophagen in Abhängigkeit vom Rauchverhalten bei allen Patienten (n=75).</u>	38
<u>Abbildung 4.12: Makrophagen in der Differentialzytologie in Abhängigkeit vom Rauchen bei pulmonaler Fibrose (n=15).</u>	39

<a href="#"><u>Abbildung 4.13: Makrophagen in der Differentialzytologie der BAL bei Nichtfibrose nach Rauchgewohnheiten.</u></a>	40
<a href="#"><u>Abbildung 4.14: Granulozytensubpopulationen in der BAL bei pulmonaler Fibrose und Patienten ohne Fibrose.</u></a>	41
<a href="#"><u>Abbildung 4.15: Neutrophile Granulozyten bei pulmonaler Fibrose unterschiedlicher Ätiologie.</u></a>	42
<a href="#"><u>Abbildung 4.16: Eosinophile Granulozyten bei pulmonaler Fibrose unterschiedlicher Ätiologie.</u></a>	43
<a href="#"><u>Abbildung 4.17: CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten in der BAL bei pulmonaler Fibrose und Patienten ohne Fibrose.</u></a>	44
<a href="#"><u>Abbildung 4.18: CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten bei pulmonaler Fibrose unterschiedlicher Ätiologie.</u></a>	45
<a href="#"><u>Abbildung 4.19: HLA-DR<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten bei Patienten mit (n=16) und ohne (n=59) pulmonaler Fibrose. Die Werte für die Zellen sind jeweils in % angegeben.</u></a>	46
<a href="#"><u>Abbildung 4.20: HLA-DR<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten bei pulmonaler Fibrose unterschiedlicher Ätiologie.</u></a>	47
<a href="#"><u>Abbildung 4.21: CD45RO<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten in der BAL.</u></a>	48
<a href="#"><u>Abbildung 4.22: CD45RO<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten bei pulmonaler Fibrose unterschiedlicher Ätiologie.</u></a>	49
<a href="#"><u>Abbildung 4.23: CD103<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten in der BAL.</u></a>	50
<a href="#"><u>Abbildung 4.24: Verteilung von CD103<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten bei verschiedenen pulmonalen Fibrosen.</u></a>	51
<a href="#"><u>Abbildung 4.25: Verteilung von CD103<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten bei Rauchern mit pulmonaler Fibrose.</u></a>	52
<a href="#"><u>Abbildung 4.26: Verteilung von CD103<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten bei pulmonaler Fibrose bei Patienten mit bzw. ohne Immunsuppression.</u></a>	53

## 10 Tabellenverzeichnis

<a href="#"><u>Tabelle 1.1: Pathologisch-anatomische Klassifikation der IPF nach Liebow.</u></a>	8
<a href="#"><u>Tabelle 1.2: Klassifikation der IPF nach Katzenstein &amp; Myers.</u></a>	8
<a href="#"><u>Tabelle 1.3: Radiologische Stadieneinteilung der Sarkoidose.</u></a>	10
<a href="#"><u>Tabelle 4.1: Absolute (n) und relative Häufigkeit (%) der Ätiologie der untersuchten Patienten mit pulmonaler Fibrose.</u></a>	28
<a href="#"><u>Tabelle 4.2: Lageparameter der Altersverteilung für die Gruppen Fibrose und Nichtfibrose. Die Zahlen für das Alter sind in Jahren angegeben.</u></a>	28
<a href="#"><u>Tabelle 4.3: Lungenfunktionsparameter der Gruppen Fibrose (n=16) und Nichtfibrose (n=61). Die Werte für die Lungenvolumina und Indizes sind jeweils nach den Sollwertformeln der ERS (in % vom Soll) angegeben (Quanjer et al., 1993), als MW ± SEM bzw. als <i>Median</i>. Signifikante Unterschiede sind unterstrichen (p&lt;0,05).</u></a>	29
<a href="#"><u>Tabelle 4.4: Gesamtzellzahl in der BAL bei Fibrose und Nichtfibrose. Die GZZ bezieht sich auf die jeweilige Rückgewinnung (recovery) der BAL. Signifikante Unterschiede (p&lt;0,01) sind unterstrichen. Die Werte sind in 10<sup>6</sup>-Zellen angegeben.</u></a>	30
<a href="#"><u>Tabelle 4.5: Gesamtzellzahl bei verschiedenen pulmonalen Fibrose. Es sind die absoluten Zellzahlen, in 10<sup>6</sup> angegeben.</u></a>	32
<a href="#"><u>Tabelle 4.6: Lymphozyten in der BAL der untersuchten Patienten mit (n=15) und ohne (n=60) pulmonale Fibrose. Die Werte für die Lymphozytenanteile in der Differentialzytologie sind jeweils in % angegeben.</u></a>	33
<a href="#"><u>Tabelle 4.7: Lymphozyten bei pulmonaler Fibrose unterschiedlicher Ätiologie. Die Werte sind jeweils in % angegeben.</u></a>	34
<a href="#"><u>Tabelle 4.8: Das CD4/CD8-Verhältnis der T-Lymphozyten in der BAL der pulmonalen Fibrosen unterschiedlicher Ätiologie.</u></a>	35

Tabelle 4.9: Makrophagen in der BAL der untersuchten Patienten mit (n=15) und ohne (n=60) pulmonale Fibrose. Die Werte für die Makrophagenanteile in der Differentialzytologie sind jeweils in % angegeben. 36

Tabelle 4.10: Makrophagen in der Differentialzytologie, dargestellt nach den Rauchgewohnheiten aller Patienten. Die Werte für die Makrophagenanteile in der Differentialzytologie sind jeweils in % angegeben. 37

Tabelle 4.11: Zahl der Makrophagen in der Differentialzytologie der BAL von Patienten mit pulmonaler Fibrose nach Rauchgewohnheiten. Die Werte für die Makrophagenanteile in der Differentialzytologie sind jeweils in % angegeben. 38

Tabelle 4.12: Makrophagen in der Differentialzytologie der BAL bei Nichtfibrose nach Rauchgewohnheiten. Die Werte für die Makrophagenanteile in der Differentialzytologie sind jeweils in % angegeben. 39

Tabelle 4.13: Granulozytensubpopulationen in der BAL. Gegenübergestellt sind jeweils pulmonale Fibrose und Nichtfibrose. Die Werte für die Granulozytenanteile in der Differentialzytologie sind jeweils in % angegeben. 40

Tabelle 4.14: Neutrophile Granulozyten bei pulmonaler Fibrose unterschiedlicher Ätiologie. Die Werte für die Neutrophilenanteile in der Differentialzytologie sind jeweils in % angegeben. 41

Tabelle 4.15: Eosinophile Granulozyten bei pulmonaler Fibrose unterschiedlicher Ätiologie. Die Werte für die Eosinophilenanteile in der Differentialzytologie sind jeweils in % angegeben. 42

Tabelle 4.16: CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten in der BAL bei pulmonaler Fibrose und Patienten ohne Fibrose. Die Werte für die Zellen sind jeweils in % angegeben. 43

Tabelle 4.17: CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten bei pulmonaler Fibrose unterschiedlicher Ätiologie. Die Werte für die Zellen sind jeweils in % angegeben. 44

Tabelle 4.18: HLA-DR<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten bei Patienten mit und ohne pulmonaler Fibrose. Die Werte für die Zellen sind jeweils in % angegeben. 45

Tabelle 4.19: HLA-DR<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten bei pulmonaler Fibrose unterschiedlicher Ätiologie. Die Werte für die Zellen sind jeweils in % angegeben.

46

Tabelle 4.20: CD45RO<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten. Die Werte für die Zellen sind jeweils in % angegeben.

47

Tabelle 4.21: CD45RO<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten bei pulmonaler Fibrose unterschiedlicher Ätiologie. Die Werte für die Zellen sind jeweils in % angegeben.

48

Tabelle 4.22: CD103<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten. Die Werte sind jeweils in % angegeben.

49

Tabelle 4.23: Verteilung von CD103<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten bei verschiedenen pulmonalen Fibrosen. Die Werte für die Zellen sind jeweils in % angegeben.

50

Tabelle 5.1: Lungenfunktionsparameter bei pulmonaler Fibrose und 'Nichtfibrose' im Vergleich zur Literatur. Die Daten sind als % des Sollwertes in Mittelwert  $\pm$  SEM angegeben. Unterstrichene Werte markieren signifikante Unterschiede ( $p < 0,05$ ). von der Gruppe Nichtfibrose.

55

Tabelle 5.2: Gesamtzellzahl bei Fibrose und Nichtfibrose dieser Arbeit im Vergleich zur Literatur. Unterstrichene Werte markieren signifikante Unterschiede ( $p < 0,05$ ) von der zugehörigen Gruppe Nichtfibrose. Die GZZ ist jeweils in  $10^6$  angegeben.

56

Tabelle 5.3: Lymphozyten in der Differentialzytologie der BAL bei pulmonalen Fibrose im Vergleich zu anderen Ergebnissen. <sup>£</sup> Für die EAA wurde zwischen Patienten mit / *ohne* Allergenexposition (in den letzten 24 Stunden) differenziert. <sup>§</sup> Für die Sarkoidose wurden jeweils aktive / *inaktive* Sarkoidose unterschieden. Die Werte für die Zellen sind jeweils in % angegeben.

57

Tabelle 5.4: Makrophagen in der Differentialzytologie der BAL bei pulmonalen Fibrose im Vergleich zu anderen Ergebnissen. <sup>£</sup> Für die EAA wurde zwischen Patienten mit / *ohne* Allergenexposition (in den letzten 24 Stunden) differenziert. <sup>§</sup> Für die Sarkoidose wurden jeweils aktive / *inaktive* Sarkoidose unterschieden. Die Werte für die Zellen sind jeweils in % angegeben.

58

Tabelle 5.5: Granulozyten in der Differentialzytologie der BAL bei pulmonalen Fibrose im Vergleich zu Ergebnissen anderer Arbeiten. Neu=neutrophile-, Eos=eosinophile Granulozyten; angegeben in (Mittelwert  $\pm$  SD)%. 59

Tabelle 5.6: CD25<sup>+</sup> und HLA-DR<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten bei den pulmonalen Fibrosen und Nichtfibrose im Vergleich zur Literatur. Angaben in (Mittelwert  $\pm$  SD) %. 60

Tabelle 5.7: CD45RO<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten bei den pulmonalen Fibrosen und Nichtfibrose im Vergleich zu Ergebnissen aus der Literatur. Signifikante Unterschiede sind unterstrichen. <sup>£</sup> Die Zahlen beziehen sich auf aktive / *inaktive* Sarkoidose. Angaben in (Mittelwert  $\pm$  SD) %. 61

Tabelle 5.8: CD103<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten ( $\square^E \square_7$ ) bei verschiedenen pulmonalen Fibrosen. Vergleich zu den Daten von Lohmeyer et al., 1999. Signifikante Unterschiede sind unterstrichen. Angaben in (Mittelwert  $\pm$  SD) %. 62

## **11 Danksagung**

Herrn Prof. Dr. Dr. C. Kroegel als Leiter der Pneumologie & Allergologie/Immunologie an der Universität Jena danke ich für die Bereitstellung dieses Themas, die umfassende Unterstützung und viele wertvolle Diskussionen bei der Ausarbeitung und Niederschrift der Arbeit.

Mein besonderer Dank gilt den Mitarbeitern des pneumologischen Forschungslabors der Universität Jena für die tatkräftige technische Unterstützung und Einführung in die Methodik der Immunzytologie. Für die intensiven wissenschaftlichen Diskussionen und Anregungen sowie breite Unterstützung danke ich hier vor allem Herrn Dr. R. Braun und Dipl.-Biol. M. Foerster ganz herzlich.

## 12 Lebenslauf

### Persönliche Daten

Name Christian Schumann  
Geburtsdatum/ -ort 25.02.1972 in Berlin  
Anschrift Ingeborg-Bachmann Str. 29; 89134 Blaustein,  
Tel. & Fax 0731-5502131  
Familienstand ledig

### Schulbildung

1979-1989 Polytechnische Oberschule in Berlin  
1989 - 1990 Erweiterte Oberschule in Berlin; Abitur  
Studium  
1991 Immatrikulation an der Universität Jena,  
Fach: Humanmedizin  
1993 Ärztliche Vorprüfung  
1994 1. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung  
1997 2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung  
1998 3. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

### Praktische Ausbildung

1993 Wissenschaftliches Praktikum im FILT Berlin  
(Dr. G. Becher)  
1994 Famulatur an einer bronchopneumologischen  
Kinderarztpraxis in Merseburg  
1995 Famulatur Innere Medizin, Kölleda  
10/97-2/98 1. Teil Praktisches Jahr  
Innere Medizin: Rheumatologie/Osteologie,  
Universitätsklinik Jena  
2/98-6/98 2. Teil Praktisches Jahr  
HNO: mit Rotation,  
Universitätsklinik Jena  
6/98-9/98 3. Teil Praktisches Jahr  
Chirurgie: Abdominalchirurgie,  
Universitätsklinik Jena

### Promotion

Seit 1999 Doktorvater: Prof. Dr. Dr. C. Kroegel  
„Expansion von  $\square^E \square_7^+$  CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten in der  
bronchoalveolären Lavage als Marker für  
pulmonale Fibrosen -  
Beziehung zu interstitiellen Lungenkrankheiten und  
diagnostische Relevanz“

### Ärztliche Tätigkeit

01/99-07/2000 Arzt im Praktikum, Innere Medizin II,  
Universitätsklinikum Ulm, FB Pneumologie.  
Seit 07/2000 Assistenzarzt, Innere Medizin II,  
Universitätsklinikum Ulm, FB Pneumologie.



### **13 Ehrenwörtliche Erklärung**

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben: Prof. Dr. Dr. C. Kroegel, Dr. R. Braun,

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorliegenden Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Ulm, 06.04.2003

Unterschrift des Verfassers