

UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF

Aus der Forschungsabteilung des Krankenhauses Großhansdorf

Zentrum für Pneumologie und Thoraxchirurgie

Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. med. H. Magnussen

**Der Effekt von inhaliertem HFA-134a Beclometasondipropionat (Ventolair®) auf
Lymphozyten der Bronchoalveolären Lavage (BAL) bei chronischer Sarkoidose**

DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg vorgelegt von

Andrea Ludwig-Sengpiel
aus Kiel

Hamburg 2009

Angenommen von der Medizinischen Fakultät

der Universität Hamburg am : 4.2.2010

Veröffentlicht mit Genehmigung der Medizinischen

Fakultät der Universität Hamburg

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: Prof. Dr. D. Kirsten

Prüfungsausschuss: 2. Gutacher/in: Prof. Dr. R. Böger

Prüfungsausschuss: 3. Gutacher/in: Prof. Dr. P. Zabel

Inhaltsverzeichnis

1. Arbeitshypothese und Fragestellung	5
1.1. Arbeitshypothese	5
1.2. Fragestellung	5
2. Einleitung	6
2.1. Sarkoidose	6
2.1.1. Ätiologie	6
2.1.2. Epidemiologie.....	6
2.1.3. Pathogenese	6
2.1.4. Extrapulmonaler Befall.....	6
2.1.5. Lungensarkoidose	7
2.1.6. Sarkoidose und Zytokine	7
2.1.7. Immunologische Befunde.....	8
2.2. Diagnostik.....	8
2.2.1. Die akute Sarkoidose	8
2.2.2. Die chronische Sarkoidose	9
2.2.3. Aktivität und Prognose der Sarkoidose	10
2.3. Therapie der Sarkoidose	11
2.3.1. Ventolair®	13
2.4. Ziel der Studie	13
3. Material und Methoden	14
3.1. Patientenauswahl	14
3.2. Studienprotokoll	16
3.3. Untersuchungsmethoden	20
3.3.1. Haut-und Provokationstest	20
3.3.1.1 Intrakutaner Tuberkulintest	20
3.3.1.2. Kutaner-Allergie-Test (Prick-Test)	21
3.3.1.3. Methacholinprovokation.....	22
3.3.2. Lungenfunktionsmessungen	25
3.3.2.1. Bodypletysmographie	25
3.3.2.2. Diffusionskapazität	27
3.3.2.3. Blutgasanalyse	28
3.3.2.4. Spiroergometrie	28
3.3.2.5. Vitalparameter	29
3.3.3. Bronchoskopie	30
3.3.3.1. Histologie.....	31
3.3.3.2. Bronchoalveoläre Lavage	31
3.3.3.3. Zytologie.....	31
3.3.3.4. FACS-Analyse.....	32
3.3.4. Laboruntersuchungen	33

3.3.5. Röntgenthorax	34
3.3.6. Fragebogen und Symptomenbewertungsskala	35
3.3.6.1. Fragebogen zur Lebensqualität.....	35
3.3.6.2. Dysphonie-Analogskala.....	36
3.3.6.3. Symptomen Score.....	37
3.3.6.4. Sputum.....	37
3.3.6.4.1 Induktion.....	37
3.3.6.4.2 Aufarbeitung	38
3.3.6.4.3 Differenzierung der Zytospinpräparate	39
3.3.6.4.4 Bestimmung von TNF α im Sputumüberstand	40
3.3.6.5. Statistische Auswertung	40
4. Ergebnisse	41
4.1 Charakterisierung des untersuchten Patientenkollektivs	41
4.2. Untersuchungsergebnisse	42
4.2.1. Haut- und Provokationstest	42
4.2.2. Lungenfunktion, Blutgase und Spiroergometrie	43
4.2.3. Laborbefunde.....	47
4.2.3.1. Serumparameter.....	47
4.2.4. Röntgenthorax	52
4.2.4.1. Mediastinum und Lungenparenchym	52
4.2.4.2. Röntgentyp.....	52
4.2.5. Dysphonie und Symptomenscore	54
4.2.6. Lebensqualitätsfragebogen SF36.....	55
4.2.3. Bronchoskopie	59
4.2.3.1. Bronchoalveoläre Lavage	59
4.2.3.1.1. Rückgewinnungsrate (Recovery)	59
4.2.3.1.2. Analyse der zellulären Bestandteile	59
4.2.3.1.3. Analyse immunologischer Marker (Durchflusszytometrie).....	64
4.2.4. Sputum.....	67
4.2.4.1. TNF α im Sputumüberstand	67
5. Diskussion	68
6. Zusammenfassung.....	73
7. Anhang	74
7.1. Borgskala.....	74
7.2. Individuelle Patientenwerte	75
7.2.1 Spiroergometrie	75
7.2.2. Radiologische Veränderungen.....	80
7.2.3. Serumparameter.....	81
7.2.4 BAL Analyse	82
8. Abkürzungsverzeichnis	89

9. Literaturverzeichnis.....	92
10.Danksagung.....	100
11.Lebenslauf.....	101
12.Eidesstattliche Versicherung.....	102

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Studiendesign	17
Abb. 2: Haut und Pricktestbewertung	22
Abb. 3: PC ₂₀ FEV ₁ - Berechnungsformel	25
Abb. 4: FEV ₁ Visite 1 vs Visite 4	44
Abb. 5: IVC Visite1 vs Visite 4	45
Abb. 6: DLco Visite1 vs Visite 4	46
Abb. 7: Serum ACE.....	48
Abb. 8: Serum Lysozym.....	49
Abb. 9: Serum β 2-Mikroglobulin	50
Abb. 10: Serum Neopterin.....	51
Abb. 11: Röntgenthorax	52
Abb. 12: Röntgentyp	53
Abb. 13: SF 36 Effektstärken	56
Abb. 14: SF-36 Einzel-und Summenskalen	57
Abb. 15: SF-36 Effektstärken für die 8 Einzelskalen (t2-t3, t2-t4)	57
Abb. 16: BAL-Analyse (Zytospindaten) Lymphozyten (%).....	60
Abb. 17: BAL-Analyse (Zytospindaten) Makrophagen (%).....	61
Abb. 18: BAL-Analyse (Durchflusszytometriedaten) Lymphozyten (%).....	62
Abb. 19: BAL-Analyse (Durchflusszytometriedaten) Makrophagen (%).....	63
Abb. 20: BAL-Analyse (Durchflusszytometriedaten) HLA-DR ⁺ (%).....	65

Tabellenverzeichnis

Tab. 1 Protokollübersicht (Flow chart).....	19
Tab. 2: Provokationsprotokoll	24
Tab. 3: Bewertung des PC ₂₀ FEV ₁	25
Tab. 4: Röntgenbewertung	35
Tab. 5: Merkmale des SF-36	36
Tab. 6: Patientencharakterisierung	42
Tab. 7: Bronchiale Hyperreagibilität	43
Tab. 8: Ergebnisse der funktionalen und klinischen Untersuchungen	58
Tab. 9: Ergebnisse der BAL-Analyse.....	66
Tab. 10: TNF α im Sputumüberstand.....	67
Tab. 11: Borg-Skala.....	74
Tab. 12: Borgskala,Watt, VO ₂ /CO ₂ Visite 2.....	75
Tab. 13: Borgskala,Watt, VO ₂ /CO ₂ Visite 3.....	75
Tab. 14: Borgskala,Watt, VO ₂ /CO ₂ Visite 4.....	76
Tab. 15: BGA (Ruhe)	77
Tab. 16: BGA (RQ=1).....	78
Tab. 17: BGA (Max. Belastung)	79
Tab. 18: Röntgentyp und Radiologischer Score.....	80
Tab. 19: ACE, Lysozym, β 2 Mikroglobulin, Neopterin.....	81
Tab. 20: Zytospin Zelldifferenzierung- Lymphozyten %.....	82
Tab. 21: Durchflusszytometrie (FACS) - Zelldifferenzierung	84
Tab. 22: Durchflusszytometrie (FACS) - NK Zellen und Lymphozyten	85
Tab. 23: Durchflusszytometrie (FACS) - T Lymphozyten.....	86
Tab. 24: Durchflusszytometrie (FACS) - T Lymphozyten Aktivierungsmarker	87
Tab. 25: Durchflusszytometrie (FACS) - Parameter nach max. Stimulierung.....	88

1. ARBEITSHYPOTHESE UND FRAGESTELLUNG

1.1. Arbeitshypothese

Bei Patienten mit chronischer Lungensarkoidose wurde der Lymphozytenanteil in der bronchoalveolären Flüssigkeit als ein Marker für den inflammatorischen Status (Alveolitis) in der Lungenperipherie genutzt und dessen Veränderung, nach 6 monatiger Therapie mit täglich 800 µg Beclometason-17,21-dipropionat, das in Hydrofluoralkan 134a (BDP-HFA 134a, Ventolair®) gelöst ist, untersucht.

Diese Arbeit entstand unter der Hypothese, dass immunologische Marker wie Lymphozyten und deren Produkte durch eine Therapie mit inhalativen Steroiden bei Lungensarkoidose reagieren und so ein Therapie-Effekt vor funktionalen oder klinischen Verbesserungen sichtbar werden würden.

1.2. Fragestellung

Die nachfolgend beschriebene Untersuchung sollte die Fragen beantworten, ob bei einer neu diagnostizierten, chronischen Lungensarkoidose (Röntgentyp I-III), die alleinige Therapie mit einem inhalativen Steroid, mit bekannter ausgeprägter Deposition in der Lungenperipherie, (1) eine Reduzierung des erhöhten Lymphozytenanteils in der Bronchoalveolären Lavage (BAL) bewirken kann und (2) funktionale oder klinische Verbesserungen sichtbar werden.

2. EINLEITUNG

2.1. Sarkoidose

2.1.1. Ätiologie

Die Sarkoidose ist eine Erkrankung unbekannter Ätiologie. Es wird sowohl über infektiöse [1] und umweltbedingte Auslöser (organische und anorganische Stäube) [2] als auch über genetisch multifaktorielle Aspekte [3] diskutiert, die zu einer antigenspezifischen Immunantwort mit konsekutiver inflammatorischer Reaktion führen. Die Erkrankung kann familiär gehäuft auftreten [4]. 2005 wurde bei Sarkoidose-Patienten eine Mutation des Gen BTNL2 auf dem Chromosom 6 identifiziert [5].

2.1.2. Epidemiologie

Die Prävalenz ist im Norden Europas deutlich höher als in den südlichen Ländern, sehr gering in Afrika, Asien oder Südamerika, dagegen erhöht bei Afroamerikanern in den USA. Weltweit übersteigt die Prävalenz, die durch die unterschiedliche geographische Verbreitung eine große Varianz (zwischen <1 bis 80 Erkrankte /100.000 Einwohner) zeigt, deutlich die Inzidenz [6]. Ursächlich hierfür sind u.a. eine nicht unerhebliche Anzahl von asymptomatischen Fällen und die hohe Rate an Spontanremissionen. Der Altersgipfel liegt für beide Geschlechter zwischen dem 20. und 40. für Frauen zusätzlich noch zwischen dem 50. und 60. Lebensjahr.

2.1.3. Pathogenese

Die Sarkoidose ist eine Systemerkrankung, die in den betroffenen Organen zu generalisierten Entzündungen mit Bildung von disseminierten Granulomen führt. Diese können konfluieren und zu grobknotigen Arealen werden. Die Granulome bestehen aus Epitheloidzellen, die von einem Lymphozytensaum umgeben sind und u.a. mehrkernige Riesenzellen und Histiocyten enthalten [7]. Im Gegensatz zur Tuberkulose gibt es keine zentrale Nekrose der Granulome.

2.1.4. Extrapulmonaler Befall

Ein extrapulmonaler Befall ist in jedem Organ möglich. Lymphknoten können generalisiert oder vereinzelt, dann meist cervical, inguinal, axillär oder kubital betroffen sein. Granulome der Mucosa der oberen Atemwege (Nase, Pharynx, Larynx,

Nasennebenhöhlen) führen oft zum Austrocknen der Schleimhäute bis hin zu Dys- oder Aphonie. Augen, Leber und Milz sind häufig im Frühstadium mitbeteiligt. Skelett- und Hautbefall sind eher Spätmanifestationen und Zeichen eines chronischen Verlaufs. Herz- und Neurosarkoidose führen nicht selten zu erheblichen Komplikationen und schweren Verläufen.

2.1.5. Lungensarkoidose

Die Lunge und die mediastinalen Lymphknoten sind zu über 90% der Fälle betroffen. Durch die Erkrankung kommt es meist radiologisch sichtbar zur bilhilären Adenopathie und pulmonalen Infiltration [8] mit Granulombildung. Die deutliche alveoläre Inflammation geht mit einer, in der BAL nachweisbaren, Vermehrung sowohl aktiver T-Lymphozyten, die CD4-positiv sind, als auch mononukleärer Zellen [9], [10], [11] einher.

T-Lymphozyten und Alveolarmakrophagen exprimieren vermehrt Wachstumsfaktoren und Zytokine wie IFN- γ und TNF- α [12]. Die hieraus entstehende chronische Entzündung kann zu einer persistierenden Lungenschädigung führen.

2.1.6. Sarkoidose und Zytokine

Zur Entstehung der Sarkoidose wird ein noch unbekannter Stimulus vermutet, der u.a. die Immunzellen, Monozyten und Makrophagen aktiviert und daraus folgend ein komplexes System an Zytokinen mobilisiert. Aktivierte T-Lymphozyten, die CD4-positiv sind, und den T-Helferzellen Typ 1 (TH1) zuzuordnen sind, vermehren sich. Sie spielen eine Rolle in der zellulären Immunabwehr, exprimieren Zytokin-mRNA und setzen hauptsächlich Interleukin-2 (IL-2) [13] und Interferon- γ (IFN γ) frei. Sie werden ihrerseits von IL-12, freigesetzt von Alveolarepithelzellen Typ II (AEC-II) und von Makrophagen, stimuliert. Alveolarmakrophagen setzen (neben IL-1, IL-6, IL-12, Lysozym, ACE) zusätzlich nach Aktivierung vermehrt den Tumornekrosefaktor α (TNF α) frei, der so bei Patienten mit aktiver Sarkoidose erhöht in der BAL-Flüssigkeit zu messen ist und nach Ziegenhagen et al neben dem löslichen IL-2-Rezeptor als Maß der inflammatorischen Aktivität gelten kann [14]. Das wechselseitige Stimulieren der Immunzellen mit Makrophagen und Alveolarepithelzellen führt zur Entstehung und zum Aufrechterhalten der Alveolitis durch Freisetzen proinflammatorischer Zytokine und Granulombildung durch Transformation der Alveolarmakrophagen in Riesen- und wohl auch zu Epitheloidzellen. Die Entstehung einer Fibrose bei lymphozytärer Alveolitis ist noch nicht genügend erforscht. Möglicherweise gibt es in Analogie zu

anderen Lungenfibrosen auch hier kaum Übergänge von Alveolitis zu Fibrose. Durch den Transformierenden Wachstumsfaktor- β (TGF β) werden sowohl aktivierte Makrophagen, als auch T_{H1}-Zellen inhibiert. Zissel et al fanden gehäuft erhöhte TGF β -Spiegel in der BAL bei Spontanremissionen [15].

2.1.7. Immunologische Befunde

Bei der aktiven Sarkoidose kommt es vermutlich zum Abwandern der Lymphozyten aus dem Blut in die befallenen Organe. So findet man meist in der BAL eine (CD4 dominante) Lymphozytose, im Serum dagegen oft eine Lymphopenie, die für die bekannte kutane Anergie (d.h. negative Tuberkulinreaktion) verantwortlich sein könnte oder nach Miyara et al ursächlich an der antiproliferativen Aktivität peripherer regulatorischer T-Zellen (T_{Reg}) [16] liegt. Es kann bei der Sarkoidose auch zu einer gesteigerten humoralen Immunantwort mit B-Zellaktivitäten, die zu erhöhten IgM-, IgA- oder IgG-Spiegeln führen können, kommen. Die Bedeutung von sarkoidosespezifischen Serummarkern wird unterschiedlich eingeschätzt [17], [18]. Marker für T-Zellaktivierung (u.a. sIL2R, Interferon- γ) und Makrophagenaktivierung (u.a. Angiotensin-I-Converting Enzym (ACE), Neopterin, sIL6R, sTNF α Rezeptor) sind bekannt. Das von T_{H1}-Zellen exprimierte IFN γ stimuliert Makrophagen und Monozyten zur Bildung von Neopterin, welches als direktes Maß der Makrophagenaktivität, sowie als indirektes Maß der T_{H1}-Zellenaktivität im Serum der Patienten bestimmt wird. Der Serum Angiotensin Converting Enzym (ACE) -Wert gilt als Parameter für die bestehende Granulomlast, da es von Epitheloidzellen der Granulome und den Alveolarmakrophagen gebildet wird. Durch die Therapie mit Cortison sinkt der ACE- Spiegel und kann bei primärer Erhöhung so als Therapiekontrolle dienen.

Lysozym wird von Makrophagen, Monozyten und Granulozyten sowie in den Nieren synthetisiert. Erhöhungen im Blut können als Indikator einer Monozyten- und teilweise auch Granulozytenproliferation dienen.

2.2. Diagnostik

Wir unterscheiden zwei Verlaufsformen bei der Sarkoidose.

2.2.1. Die akute Sarkoidose

Die akute Sarkoidose (Löfgren Syndrom) kommt gehäuft im Frühjahr vor und geht in 70-80% mit schweren klinischen Symptomen wie hohem Fieber, Arthralgien, Erythema

nodosum, und bilärer Adenopathie einher. Männer scheinen häufiger unter Arthralgien zu leiden, Frauen dagegen entwickeln eher ein Erythema nodosum [19]. Der Verlauf ist akut und hält 4-8 Wochen an. Es besteht eine hohe spontane Remissionsrate (> 80%).

2.2.2. Die chronische Sarkoidose

Die chronische Sarkoidose ist oftmals ein Zufallsbefund, da ca. 70-80% der Betroffenen asymptomatisch sind oder unspezifische, aber für die Sarkoidose charakteristische Symptome, wie Müdigkeit, Leistungsschwäche, Reizhusten, Dyspnoe und retrosternales Druckgefühl, äußern. Das Röntgenbild kann auch bei wenigen Beschwerden ausgeprägte Veränderungen zeigen. Da diese weder mit den klinischen noch mit den zellulären Veränderungen korrelieren, spricht man nicht von Röntgenstadien, sondern besser von Röntgentypen nach Scadding [20] oder nach de Remée[21]:

- Typ 0: keine Veränderungen in der Röntgenthoraxaufnahme
- Typ I: biläre Adenopathie
- Typ II: biläre Adenopathie mit parenchymalen Veränderungen
- Typ III: parenchymale Veränderungen ohne biläre Adenopathie
- Typ IV: fortgeschrittene Fibrose

Auch die chronische Sarkoidose zeigt spontane oder therapiebegleitete Remissionen, die in Anlehnung an den vorherrschenden Röntgentyp in unterschiedlicher Häufigkeit auftreten. Im Stadium I beobachtet man bis zu 80% , im Stadium II bis zu 70% und im Stadium III bis zu 20 % spontaner Regressionen [22]. Lungenfunktionswerte bleiben bei einigen Patienten unbeeinflusst, andere entwickeln in erster Linie restriktive Lungenfunktionsveränderungen, sichtbar an der Reduktion des Lungenvolumens und der Compliance [23],[24]. Das Ausmaß funktioneller Einschränkungen zeigt sich im Abfall des Sauerstoffpartialdrucks unter Belastung und einer eingeschränkten Diffusionskapazität. In bis zu 30% der Fälle wird eine bronchiale Hyperreagibilität [25], die Grund für den häufig auftretenden Reizhusten sein könnte, festgestellt. Im Labor können, wie bereits beschrieben, die Blutspiegel u.a. für ACE, Neopterin, und Lysozym erhöht sein. Eine Hyperkalzämie ohne Knochen-oder Nierenbeteiligung wird durch eine erhöhte extrarenale Aktivität der 1 α -Hydroxylase in den aktivierten Makrophagen der Sarkoidose-Granulome mit konsekutive erhöhten 1,25-Dihydroxyvitamin D3-

Konzentration im Serum, die wiederum zu einer gesteigerten enteralen Kalziumaufnahme führt, erklärt [26]. Eine Splenomegalie als Ursache einer Anämie oder Thrombopenie kommt in 5-10% der Sarkoidosepatienten vor [27],[28]. Der Hypersplenismus führt zu einer vermehrten Aufnahme und Sequestrierung von Erythro- und Thrombozyten. In der BAL spricht nach A-M. und D. Kirsten eine Lymphozytose für das Vorliegen einer Sarkoidose. Eine erhöhte CD4/CD8-Ratio über 4 ist hinweisend, aber nicht beweisend [29]. Eine histologische Bestätigung einer nichtverkäsenden epitheloidzelligen Granulomatose (mit Langerhans' Riesenzellen und einem Randwall aus Lymphozyten, Monozyten und Fibroblasten) sollte angestrebt werden. Der Nachweis dieser Granulome gelingt bronchoskopisch in 20 bis 40% der Fälle aus der Bronchialschleimhaut, in etwa 70 bis 90% durch eine transbronchiale Biopsie (TBB) und auch die Punktionen der vergrößerten subkarinalen Lymphknoten ist oft erfolgreich [29]. Eine Materialgewinnung ist aber auch aus jedem anderen befallenen Gewebe (z.B. Hautgranulome, Lymphknoten, Nieren) möglich. Differentialdiagnostisch ist insbesondere an die Tuberkulose und maligne Lymphome zu denken. Auch andere fibrosierende Lungenerkrankungen mit Granulombildung, wie die exogen-allergische Alveolitis (EAA), Pneumokoniosen wie Silikose, Mischstaubsilikose, Berylliose oder Asbestose kommen in Frage.

2.2.3. Aktivität und Prognose der Sarkoidose

Die „Aktivität der Sarkoidose“ ist Ausdruck der anhaltenden inflammatorischen Immunantwort auf einen noch unbekanntem Krankheitsauslöser [30] [31]. Wie „aktiv“ die Erkrankung ist, wird über die bereits beschriebenen Symptome und pathologischen Veränderungen, wie z.B. das Thoraxröntgenbild, die Lungenfunktion, die Bronchoalveoläre Lavage, die Serologie, Symptome und klinische Untersuchung gemessen. Die Intensität der Aktivität korreliert nicht unmittelbar mit der Prognose der Erkrankung. So hat die akute Sarkoidose mit deutlichen Krankheitsmerkmalen eine hohe Spontanheilungsrate und gute Prognose, die chronische Sarkoidose eine ungünstige Prognose, wenn bereits bei Diagnosestellung Zeichen einer Fibrosierung der Lunge und eine daraus resultierende restriktive Lungenfunktion bestehen [30].

Lymphozytenzahl und CD4/CD8 Quotient bei Diagnosestellung haben keinen erkennbaren prognostischen Wert zeigen können, jedoch sind erhöhte Serumwerte für Neopterin oder sIL-2R (lösliche Form des Interleukin 2 Rezeptor) nach Ziegenhagen et al ein erhöhtes Risiko bezüglich des Fortschreitens der Erkrankung [14].

2.3. Therapie der Sarkoidose

Obgleich die Ätiologie und Pathogenese der Sarkoidose noch nicht hinreichend erforscht sind, finden immunologische und entzündliche Prozesse bei den Erkrankten statt, die in erster Linie mit Kortikosteroiden therapiert werden. Dies gilt jedoch nur, wenn eine eindeutige Indikation zur Therapie vorliegt.

Bei einer klinisch unauffälligen, chronischen Sarkoidose, ohne Lungenfunktionsverlust und ohne extrapulmonaler Beteiligung, wird zunächst für 6-12 Monate unter Verlaufskontrolle auf eine Therapie verzichtet, da es eine hohe Rate spontaner Remissionen gibt [7].

Und auch die akute Sarkoidose sollte nach Möglichkeit nur symptomatisch behandelt werden, d.h. mit nicht-steroidalen Antiphlogistika. Nur bei Nichtansprechen müssen systemische Kortikoide eingesetzt werden.

Kortikosteroide

Eine unumstrittene Therapieindikation liegt bei progredienter Verschlechterung des radiologischen Status, der Lungenfunktion und bei Multiorganbefall vor. Auch bei neurologischer und kardialer Sarkoidose oder Augenbeteiligung, die nicht auf topische Steroide anspricht, sind die systemischen Steroide Mittel der Wahl [32] [33]. Die Kortisontherapie sollte hoch genug dosiert und lange genug durchgeführt werden um einen Rückfall oder einen Progress der Erkrankung zu verhindern, der dann häufig eine noch höhere Kortisondosis als initial erfordert.

Kortikosteroide kombiniert mit Immunsuppressiva

Die nicht unerheblichen Nebenwirkungen (u.a. Osteoporose, Diabetes mellitus, Muskelatrophie) systemischer Steroide bei einer längeren Behandlungsdauer, können durch eine Dosisreduktion mit Hilfe einer additiven Therapie mit Immunsuppressiva (u.a. Azathioprin, Methotrexat) verringert werden [34].

Antimalariamittel

Chloroquin oder Hydroxychloroquin werden bei Hautsarkoidose, Hyperkalzämie, sowie Hyperkalzurie als Therapieoption eingesetzt.

Thalidomid

kann bei chronischer kutaner Sarkoidose und Lupus pernio hilfreich sein [35], jedoch kommt es zu einer unerwünschten Produktionssteigerung des Interferon γ , was als Parameter gesteigerter Sarkoidoseaktivität gilt, und vielleicht das Nichtansprechen bei der Lungensarkoidose erklärt

Cyclophosphamid

Bei steroidrefraktärer Sarkoidose mit kardialer oder neurologischer Manifestation ist ein Therapieversuch mit Cyclophosphamiden ratsam[36].

Anti-TNF α Substanzen

Die in der BAL gemessene erhöhte Freisetzung des Tumornekrosefaktors α (TNF α) durch Alveolarmakrophagen [37] und dessen Inhibition unter erfolgreicher Therapie mit Kortikosteroiden, Azathioprin und Methotrexat [38] führte in den letzten Jahren zu einem vermehrten Einsatz unterschiedlicher anti-TNF α Substanzen. Auch hier gilt, dass die Therapie häufig durch unerwünschte Nebenwirkungen limitiert ist oder nur bei speziellen Organsystemen erfolgreich scheint. Pentoxifyllin [39] zeigte als milder TNF α Blocker eine Verbesserung der Lungenfunktion bei gering ausgeprägter Lungensarkoidose [40]. Die Behandlung mit Infliximab (monoklonalen TNF α Antikörper) wird als Therapieoptionen bei refraktärer, schwerer Sarkoidose empfohlen[41].

Leflunomid (Arava®)

Arava ist ein langwirksames Antirheumatikum, das die Pyrimidinsynthese blockiert und so die Vermehrung der aktiven Lymphozyten, die chronische Entzündungsprozesse aufrechterhalten, verhindert. Es wirkt nicht nur antiphlogistisch, sondern auch antiproliferative.

Inhalative Steroide

Zur Behandlung der Lungensarkoidose gibt es noch keine ausreichend wirksamen Medikamente. Die Nebenwirkungen, der verfügbaren Therapien, führen häufiger zu unerwünschten Begleiterkrankungen. Eine Therapie mit inhalativen Steroiden hätte den Vorteil direkt am betroffenen Organ ohne nennenswerte Nachteile (Mundsoor, tiefe Stimme) wirken zu können. Allerdings wird der therapeutische Wert inhalativer Steroide für die Lungensarkoidose seit Jahren kontrovers diskutiert. Einige Studien zeigten in der Vergangenheit Verbesserungen der Lungenfunktion, der Thoraxröntgenaufnahmen, der krankheitsbezogenen Serummarker [42], [43] und eine Reduktion des prozentualen Anteils der Lymphozyten und des CD4/CD8 Quotientens in der BAL[44, 45, 46], andere Studienergebnisse konnten keine Wirkung der inhalativer Steroide auf die Lungensarkoidose feststellen [47,48, 49].Ein Grund für die unterschiedlichen Ergebnisse könnte die Steroiddosis in der Lungenperipherie sein, da alle genutzten Formulationen eine vorwiegend bronchiale Deposition aufweisen und das Lungenparenchym kaum erreichen dürften.

2.3.1. Ventolair®

Herkömmliche Dosieraerosolinhalationssysteme (MDI = Metered Dose Inhaler) erfordern eine komplexe Synchronisation zwischen manuellem Auslösen des Sprühstoßes und Inhalation. Dies führt häufig zu Bedienungsfehlern und konsekutiver schlechter Deposition des Aerosols[50].Für diese Studie wurde Beclometasondipropionat (BDP), als eine in HFA (Hydrofluoralkane)-134a in Lösung gebrachte Formulierung mit hoher peripherer Lungendeposition und einem Autohaler als Inhalationssystem genutzt (Ventolair®). Bei der Formulierung mit Hydrofluoralkane-134a liegt das BDP in einem erheblich kleinerem Partikelspektrum (der mittlere aerodynamische Massendurchmesser beträgt nur 0,8-1,2 Mikrometer) vor, als es bei den herkömmlichen FCKW haltigen MDIs der Fall war.

Der Autohaler ist ein Dosierinhalator, der den Wirkstoff automatisch, ausgelöst durch den Atemzug des Patienten, immer zu Beginn der Inhalation und immer in konstanter Dosis freisetzt. Unterstützt durch eine besondere Ventilkonstruktion des Autohalers wird eine Sprühwolke von extrafeinen Partikeln ($< 5\mu\text{m}$) freigesetzt. Dies entspricht einer respirablen Masse von ca.60% (herkömmliche MDIs ca. 5-20%).

Sowohl die reduzierte Geschwindigkeit der Partikel (Sprühwolke), als auch das Partikelspektrum führen zu einer hohen peripheren pulmonalen und einer geringen (ca.20%) oropharyngealen Deposition (begünstigt die Entstehung eines Mundsoors und Dysphonie). Die bessere Deposition des Glukokortikoids ermöglicht eine Dosisreduktion um die Hälfte [51] der FCKW-BDP-Dosis. Die empfohlene Tageshöchstdosis Ventolair® bei der noch keine klinisch relevanten Wirkungen hinsichtlich einer Nebennierenrindensuppression erwartet werden, beträgt $800\mu\text{g/d}$ [52][53].

2.4. Ziel der Studie

Die Durchführung und Beurteilung kontrollierter Studien [11], [54], [55] mit Sarkoidosepatienten ist prinzipiell sehr schwierig, da neben der bekannten hohen Rate an spontaner Remissionen das Auftreten von Rezidiven nicht ungewöhnlich [56] ist und somit Verbesserungen oder Verschlechterungen im Krankheitsverlauf sowohl am Medikament als auch am spontanen Verlauf liegen könnten.

Bei der Bewertung der positiven Ergebnisse vorangegangener Studien besteht außerdem das Problem, das die meisten Patienten vor Studienbeginn bereits mit systemischen

Steroiden vorbehandelt waren, sodass fragwürdig ist, ob die Ergebnisse ausschließlich auf die Wirkung des inhalativen Steroids zurückzuführen sind [17,21,57,58,59,60,61]. Deshalb war es Ziel dieser Studie, Sarkoidosepatienten erstmals mit einem inhalativen Steroid, das eine ausreichende Deposition in der Lungenperipherie [62] zeigte und so auch eine Wirkung auf das Lungenparenchym haben könnte [63], zu behandeln. Die tägliche inhalative Steroiddosis wurde so hoch gewählt, dass eine ausreichende Menge in der Lungenperipherie wirken konnte, aber nicht zu systemischen Wirkungen führen sollte. Die Patienten durften nicht mit systemischen Steroiden vorbehandelt sein, sodass bei einer positiven Wirkung das Ergebnis ohne Zweifel auf das inhalative Steroid und nicht auf die Vorbehandlung zurückzuführen war. Die Patienten mussten eine neu diagnostizierte (nicht älter als 3 Monate) chronische Sarkoidose Typ I-III ohne erkennbare extrapulmonale Manifestation haben. Zur Überprüfung eines Therapieeffektes wählten wir als Primärparameter den Lymphozytenanteil in der bronchoalveolären Flüssigkeit vor und nach Therapie. Wenn das Steroid wirken sollte, dann antiinflammatorisch mit einer Reduktion der Lymphozytenzahl und dies, vermuteten wir, würde als erster Marker sichtbar sein. Wir vermuteten, dass Veränderungen in der Lungenfunktion oder im Röntgenthorax einen längeren Behandlungszeitraum benötigen würden.

3. MATERIAL UND METHODEN

3.1. Patientenauswahl

Die Rekrutierung der Patienten erfolgte über die Ambulanz des Krankenhauses Großhansdorf und die Zuweisung niedergelassener Pneumologen. Alle Patienten gaben nach einer ausführlichen Aufklärung über den Ablauf und Zweck der Studie ihr schriftliches Einverständnis zur Teilnahme. Die Ethikkommission der Ärztekammer Schleswig-Holstein erachtete das Studienprotokoll für unbedenklich.

Einschlusskriterien waren:

Alter zwischen 18 und 70 Jahren ;

Neu diagnostizierte (Datum nicht älter als 3 Monate vor Visite 1), pulmonale Sarkoidose ;

Röntgentyp I-III, bestätigt durch eine Lungenröntgenaufnahme, die zum Zeitpunkt von Visite 1 nicht älter als 4 Wochen war und vor der Randomisierung durchgeführt wurde;

Mindestens 20% Lymphozyten in der BAL, die zum Zeitpunkt von Visite 1 nicht länger als 3 Wochen zurücklag oder spätestens an Visite 1 oder 2 durchgeführt wurde;

Weibliche Patienten durften weder schwanger noch stillend sein. Der unmittelbar vor der Randomisierung durchgeführte Schwangerschaftstest musste negativ sein.

Die Patienten mussten mittels eines Placebos den richtigen Umgang mit einem Autohaler demonstrieren (Visite 1 oder 2) und ein akzeptables Lungenfunktionsmanöver durchführen können;

Klinisch signifikante Erkrankungen durften, nach Beurteilung der Krankengeschichte, des körperlichen Befundes und der Laborwerte durch den untersuchenden Arzt, den Ablauf der Studie oder die Sicherheit des Patienten nicht beeinflussen;

Schriftliche Einverständniserklärung;

Nichtraucherstatus seit mindestens 12 Monaten, sowie bei Exraucher < 10 pack years

Ausschlußkriterien waren:

Pulmonale Verschlechterung oder extrapulmonale Beteiligung, die eine systemische Kortikoidbehandlung notwendig gemacht hätten;

Bei Visite 1 oder 2 um mehr als das zweifache der Norm erhöhte Leberwerte (GOT(=AST), GPT (=ALT), GGT);

Kardiale oder neurologische Beteiligung der Sarkoidose;

Klinisch signifikante, instabile oder unbehandelte endokrinologische, hämatologische, kardiale, hepatische, renale, gastrointestinale, neurologische, immunologische, maligne oder psychiatrische Erkrankungen, die die Sicherheit der Patienten oder das Studienergebnis beeinflusst hätten;

Signifikante, nicht reversible, pulmonale Erkrankungen (z.B. zystische Fibrose, Bronchiektasen, Emphysem, chronisch obstruktive Lungen-erkrankung) oder pulmonale chirurgische Eingriffe (z.B. Lobektomie);

Bekannte Überempfindlichkeit gegenüber Sympathikomimetika oder Kortikosteroide;

Einnahme von systemischen (innerhalb der letzten 3 Monate vor Visite 1), oder inhalativen (innerhalb der letzten 4 Wochen vor Visite 1) Steroiden oder andere die Lungenfunktion beeinflussenden oder antiinflammatorisch wirkenden Medikamenten (u.a. systemisch wirkende Betablocker ($\leq 48h$), Zytostatika (≤ 3 Monate), Immuntherapie (≤ 2 Wochen vor V1));

Geplante Schwangerschaft;

Notwendige Sauerstofftherapie;

Tuberkulose in der Anamnese;

Innerhalb der letzten 30 Tage vor Visite 1 medikamentöse Therapie im Rahmen einer Studie;

Nikotin-(die letzten 12 Monate), Alkohol- oder Drogenabusus (die letzten 2 Jahre)vor Visite1;

Akute Infektexazerbationen des unteren Respirationstraktes bei Visite 1 und/oder Visite 2 hätten eine Wiederholung der Visiten notwendig gemacht.

Erlaubte Begleitmedikation

Folgende Medikamente durften während der Studie eingenommen werden, wenn ein temporäres Aussetzen der Einnahme vor jeder Visite eingehalten werden konnte (inhalative, kurzwirkende, β_2 Agonisten (SABA) ≥ 6 h, Salmeterol und Formoterol (LABA) $\geq 48h$, orale Antihistaminika ≥ 1 Woche)

3.2. Studienprotokoll

Die Phase II Studie wurde in einem doppel-blinden randomisierten, Placebo-kontrollierten, aus parallelen Gruppen bestehenden Design im Forschungsinstitut am Krankenhaus Großhansdorf durchgeführt.

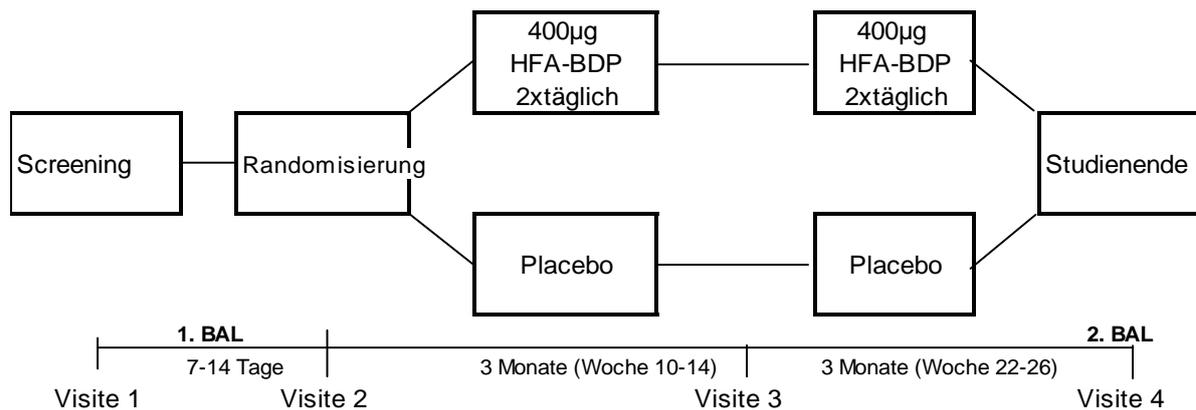


Abb. 1: Studiendesign

Visite 1 (Screeningvisite innerhalb des 1.-7. Tages):

Überprüfung der Ein- und Ausschlusskriterien, Anamnese, Körperliche Untersuchung
 EKG, Röntgenthorax, Routinelabor, Schwangerschaftstest, Bestimmung
 sarkoidosebezogener Serummarker, Haut-Prick-Test, Intrakutaner Tuberkulostest
 Spirometrie, Bodyplethysmographie, Diffusionkapazität, Blutgasanalyse, bronchiale
 Provokation mit Methacholin, Bronchoskopie mit bronchoalveoläre Lavage (BAL).
 Die Bronchoskopie konnte optional während Visite 1 oder 2 durchgeführt werden. Sie
 musste jedoch innerhalb von 3 Tagen, aber mindestens mit einem Tag Abstand, zu der
 in Visite 2 durchgeführten Spiroergometrie stattfinden, da ein Anstieg der
 Lymphozytenzahl im Blut nach Belastungen [64] beschrieben ist und eine solche für die
 BAL vermieden werden sollte.

Visite 2 (Randomisierungsvisite innerhalb des 7.-14. Tages):

Überprüfung von Diskontinuitätskriterien, Fragebogen zur Lebensqualität (SF36),
 Spirometrie, Spiroergometrie
 Die Randomisierung folgte, nachdem die eventuell noch ausstehende Bronchoskopie
 mit Gewinnung der BAL Flüssigkeit abgeschlossen war und das zytologische Ergebnis
 einen Anteil von mindestens 20% Lymphozyten bestätigte. Die BDP Gruppe inhalierte
 ab jetzt täglich über einen Autohaler[®] 2x400 µg BDP, das in HFA-134a gelöst
 (Ventolair[®]/Qvar[®]) vorlag. Die andere Patientengruppe erhielt ein äußerlich vom Verum
 nicht unterscheidbares Placebopräparat in gleicher Dosis. Eine Einweisung in die
 korrekte Inhalationstechnik fand statt.

Visite 3 (3 Monate nach Therapiebeginn):

Überprüfung von Diskontinuitätskriterien, Fragebogen zur Lebensqualität (SF36), Röntgenthoraxaufnahme, EKG , Spirometrie, Bodyplethysmographie, Diffusionskapazität, Spiroergometrie ,Routinelabor

Visite 4 (6 Monate nach Therapiebeginn):

Wie in Visite 1 bzw. 2 wurde wieder eine Bronchoskopie mit Gewinnung der BAL-Flüssigkeit und Bestimmung der Lymphozytenzahl durchgeführt und auf eine Überempfindlichkeit gegenüber Methacholin getestet. Eine ausführliche körperliche Untersuchung wurde dokumentiert. Die weiteren Untersuchungen entsprachen denen aus Visite 3 und lagen im vorgeschriebenen zeitlichen Abstand zur Bronchoskopie.

Tab. 1 Protokollübersicht (Flow chart)

	Visite 1	Visite 2 Woche 0	Visite 3 Woche 12	Visite 4 Woche 24	Nachunter suchung Woche 28 ⁵
Schriftliche Einwilligung	x				
Einschluss-Ausschlusskriterien	x	(x)			
Anamnese einschließlich Medikamentenanamnese	x				
Körperliche Untersuchung	x			x	x
Haut Prick Test	x				
Tubergen-Test ,10 I.E.	x				
Schwangerschaftstest	x	x		x	x
Oropharyngeale Untersuchung	x	x	x	x	x
Vitalparameter (RR,Puls)	x	x	x	x	x
Bronchiale Provokation	x	x ¹		x	
EKG	x	x ¹	x	x	x
QoL, SF36		x	x	x	
Lungenröntgenaufnahme	x	x ⁷	x	x	
Routine-Labor ²	x	x ¹	x	x	x ⁶
Lungenfunktion	x	x	x	x	x
Diffusionskapazität	x	x ¹	x	x	
Blutgasanalyse	x	x	x	x	
Spiroergometrie		x	x	x	
Biopsie ⁴	x ³				
Bronchoalveoläre Lavage	x	x ⁸		x	

- 1: wenn nicht während Visite 1 durchgeführt
- 2: beinhaltet Hämatologie, Klinische Chemie, Urinanalyse, spezielle Sterumparameter: ACE, LZM, β2-Mikroglobulin, Neopterin
- 3: wenn nicht innerhalb der letzten 3 Monate vor Visite 1 durchgeführt
- 4: Histologische Proben der Bronchialschleimhaut, Lymphknoten oder Haut (oder auch bronchoskopisch gewonnene zytologische Befunde)
- 5: findet nur statt, wenn bei Visite 4 signifikante Laborwerte oder unerwartete Ereignisse (AE= Adverse Event) auftraten.
- 6: falls notwendig
- 7: falls nicht innerhalb der letzten 4 Wochen vor Visite 1 durchgeführt
- 8: falls nicht innerhalb der letzten 3 Wochen vor Visite 1 oder an Visite 1 durchgeführt

3.3. Untersuchungsmethoden

3.3.1. Haut-und Provokationstest

3.3.1.1 Intrakutaner Tuberkulintest

Die Tuberkulinreaktion

beruht auf einer Überempfindlichkeit gegen Eiweißbestandteile der Mykobakterien und ist eine T-Zellvermittelte Immureaktion vom verzögerten Typ. Der Test darf nicht durchgeführt werden bei Patienten mit bekannter aktiver Tuberkulose, da es zu schweren ulzerierenden und nekrotisierenden Hautreaktionen kommen kann. Der intrakutane Tuberkulintest wurde zur Erkennung einer aktiven oder durchgemachten Tuberkulose und zur Bestätigung einer mit der Sarkoidose meist assoziierten Hautanergie durchgeführt.

Tuberkuline

Das gereinigte Tuberkulin (GT) und das Purified Protein Derivative (PPD) bestehen aus Tuberkuloproteinen, die durch fraktionierte Fällung aus Überständen von Tuberkulosebakterienkulturen gewonnen werden. Der internationale Standard für kommerziell hergestellten Tuberkuline ist Purified Protein Derivative Standard (PPD-S). Fünf Einheiten PPD-S sind bioäquivalent mit 10 TE (Tuberkulin-Einheiten) GT Behring (Chiron Behring GmbH & Co KG, Marburg, Deutschland).

Tuberkulintestmethode

Verwendet wurde das Präparat Tuberkulin GT Behring (Lagerung bei +2-+8°C). Die Trockensubstanz wurde in 1ml des beigefügten Lösungsmittels durch Umschwenken gelöst. 0,1ml dieser Lösung (entsprechen 10TE) wurden streng intrakutan am mittleren Drittel der Volarseite des Unterarms injiziert. Der Applikationsort wurde markiert und der Patient durfte die folgenden 72 Stunden diese Stelle nicht waschen.

AbleSEN des Testergebnisses

Die Ablesung erfolgte frühestens 72 Stunden und spätestens eine Woche nach Applikation. Weder Erythem noch Ödem wurden bei der Ablesung berücksichtigt, sondern ausschließlich die entstandene Induration. Der größte Querdurchmesser, senkrecht zur Längsachse des Armes wurde in Millimetern angegeben:

Negative Reaktion: Induration < 5 mm

Keine Reaktion oder alleinige Rötung der Teststelle: 0 mm

Positive Reaktion: Induration ≥ 5mm

Nach den Richtlinien des Deutschen Zentralkomitees zur Bekämpfung der Tuberkulose (DZK) von 1996 gilt eine Induration an der Teststelle bis 10mm als kontrollbedürftig, ab 10mm als positiv, und über 15mm als Starkreaktion bei Screeninguntersuchungen unbelasteter Personen. Bei Risikogruppen (z.B. Personen, die Kontakt mit offener Tuberkulose hatten, oder immunsupprimierte Patienten) gelten bereits 5mm als positive Reaktion.

3.3.1.2. Kutaner-Allergie-Test (Prick-Test)

Die Ergebnisse aus dem kutanen Allergietest, der Anamnese, dem Metacholintest und der Lungenfunktionsuntersuchung dienen in der Zusammenschau zum Ausschluss eines Asthma bronchiales. Die dieser Erkrankung zu Grunde liegende pulmonale Inflammation hätte das Untersuchungsergebnis in nicht akzeptabler Weise beeinflusst. Ein positiver Prick-Test bei asymptomatischen oder lediglich unter saisonaler allergischer Rhinitis bzw. Konjunktivitis leidenden Patienten ohne das Vorliegen asthmatischer Symptome galt nicht als Ausschlusskriterium.

Durchführung

Der Allergietest wurde als Haut-Prick-Test an der Volarseite der auf einem Tisch gelagerten Unterarme durchgeführt, nachdem die Haut zur Entfettung mit Alkohol abgerieben wurde. Im Abstand von ca. 4 cm wurde ein Tropfen der jeweiligen Allergenlösungen mittels einer Tropfpipette auf die zuvor markierten Hautstellen platziert. Pro Allergen wurde jeweils eine neue Lanzette im spitzen Winkel durch die Tropflösung auf die Haut aufgesetzt und eingestochen ohne das Blut austrat. Es wurde routinemäßig ein Panel von 20 Allergenen (ALK Scherax, Hamburg, Deutschland) untersucht. Um die individuelle Hautreagibilität des Patienten zu bestimmen, diente ein negativer (NaCl 0.9%) und ein positiver (Histaminlösung) Kontrolltest. Die überstehende Testlösung wurde beim Ablesen des Testergebnisses nach 15 Minuten abgetupft. Eine positive Testreaktion stellt sich als blassgelbliche Quaddel (Ödem) mit einem umgebenen roten Hof dar. Die Größe der Quaddel wurde mittels eines Lineals abgelesen und als Durchmesser in Millimeter angegeben. Die Unterarme wurden mit Ethanol abgewischt und zur Juckreizstillung Soventolgel aufgetragen.

Bewertung des Testergebnisses:

Größe und Beschaffenheit des reagierenden Areals (Erythem, Quaddel) wird als Maß für den Sensibilisierungsgrad des Organismus genutzt.

Bei der **relativen** Bewertung wird die Größe der Hautreaktion in Bezug auf die Positivkontrolle mit Histamin beurteilt:

genauso wie Histaminantwort

stärker als Histaminantwort bzw. Pseudopodien

schwächer als Histaminantwort

Diese Einschätzung des Ergebnisses ist subjektiv beeinflusst, bietet andererseits den Vorteil, bis zu einem gewissen Grade die individuelle Reaktionsfähigkeit der Haut des jeweiligen Patienten zu berücksichtigen. Bei der **absoluten** Bewertung werden Absolutwerte für die Größe von Quaddel und Erythem basierend auf Erfahrungswerten herangezogen. Das Verfahren bietet den Vorteil einer Untersucher-unabhängigen Beurteilung, berücksichtigt jedoch nicht patientenspezifische Variationen. In dieser Studie galt eine Quaddel, die ≥ 3 mm war, als positives Testergebnis. Dokumentiert wurde der Durchmesser der Quaddel je Allergen.

Abb. 2: Haut und Pricktestbewertung

Bewertung	Durchmesser in mm	
	Quaddel	Erythem
Ø negativ	Ø	<3
(+) fraglich	2-3	<3
+	3	6-10
++	4-6	11-20
+++	>6	>20

3.3.1.3. Methacholinprovokation

Es gibt sehr unterschiedliche Studienergebnisse bezüglich der Häufigkeit des Auftretens von bronchialer Hyperreagibilität (BHR) und Lungensarkoidose[65, 66, 67]. Dies mag in den großen Unterschieden zwischen den Studiendesigns, dem Patientenkollektiv, der Auswahl des konstriktorisch wirkenden Agens und der Messparameter liegen oder auch Ausdruck eines multifaktoriellen Hintergrundes der Hyperreagibilität sein. Ob bei den Patienten eine bronchiale Hyperreagibilität vorlag, wurde mittels einer inhalativen Provokation mit Metacholin (Fa. Synopharm, Barsbüttel, Deutschland) überprüft. Metacholin ist ein Muskarinrezeptor-Agonist, ein direkter cholinerg, parasymphomimetischer Bronchokonstriktor, der über eine Stimulation des Nervus vagus wirkt. Metacholin wirkt kumulativ, da es durch die unspezifische Cholinesterase nicht und durch die Acetylcholinesterase nur langsam hydrolysiert wird. Dies bedeutet,

dass im Verlaufe einer Bronchoprovokation mit Metacholin die einzelnen Dosierungen kumulativ eingesetzt (Dosimetrie) und nicht lediglich Konzentrationsschritte (mg/dl) genutzt werden. Voraussetzung für die kumulative Wirkung ist ein zügiges (es sollten möglichst nicht mehr als 3 Minuten zwischen den Inhalationen liegen) Aneinanderreihen der unterschiedlichen Provokationsdosen. Die Durchführung der Provokation entsprach einem in unserer Klinik evaluiertem, modifiziertem Protokoll nach Chai et al., 1975 [68, 69].

Vorbereitung

Vor der Provokation wurde der Patient ausführlich über mögliche Nebenwirkungen aufgeklärt. Kontraindikationen (u.a. Schwangerschaft, bekannte Metacholinchlorid-unverträglichkeit, schwere kardiale Erkrankungen, bradykarde Rhythmusstörungen, schwere arterielle Hypertonie, schweres Asthma bronchiale) wurden beachtet. Das rechtzeitige Absetzen der Begleitmedikation (u.a. Antihistaminika (7d), inhalative Glucocorticoide (14d), Astemizol (6 Wochen), LABA´s(48h), SABA´s (6h), die die Wirkung des Metacholins und das Testergebnis beeinflussen hätten können, wurde überprüft. Vorsichtsmaßnahmen wie die geforderte Erreichbarkeit eines Arztes mit Erfahrung in der Notfallmedizin, die Ausrüstung mit einem Defibrillator und einem Notfallkoffer, sowie der Möglichkeit der Sauerstoffgabe wurden eingehalten.

Herstellung der Metacholinlösungen

Zur Herstellung einer Stammlösung wurden 2,134 g Metacholin in 20 ml physiologischer Kochsalzlösung gelöst, dies entspricht einer Konzentration von 106.7 mg Metacholin/ml. 0,7ml der Stammlösung mit 2,1 ml physiologischer Kochsalzlösung verdünnt ergibt eine Konzentration von 26.67 mg/ml. Es wurde mit den Verdünnungen so weiter fortgefahren, bis die letzte Konzentration 0.026mg/ml entsprach.(Tabelle 2)

Durchführung der Provokation

Nachdem die Ausgangswerte der Lungenfunktion gemessen wurden inhalierten die Patienten zunächst physiologische Kochsalzlösung (und danach Metacholin) wie folgt: Der Vernebler wurde mit 3ml Flüssigkeit (Kochsalzlösung oder Metacholinlösung) befüllt. Es wurden 1-2 Probeverneblungen durchgeführt, um die vollständige Befüllung der Ansaugkapillare des Verneblers sicherzustellen. Der Patient führte dann mit einer aufgesetzten Nasenklemme und über das Mundstück des kalibrierten Verneblers (DeVilbiss 646 (De Vilbiss Co., Somerset, Pa)) 2-3 normale Atemzüge durch. Zu Beginn eines langsamen Einatemmanövers, das vom Residualvolumen zur totalen Lungenkapazität erfolgte, wurde dann automatisch mit Hilfe des Verneblers ein

Aerosolbolus von 0,6 Sekunden Dauer ausgelöst und eingeatmet. Hiernach folgten 1-3 normale Atemzüge, um die Wiederherstellung der endexpiratorischen Atemruhelage sicherzustellen. In dieser Weise wurden zunächst insgesamt vier Atemzüge physiologischer Kochsalzlösung und je nach Protokoll dann später 2 bzw. 4 Atemzüge (langes Protokoll) oder 6 Atemzüge (kurzes Protokoll) Metacholinlösung inhaliert. Zwei Minuten nach der letzten Verneblung wurden zwei aufeinanderfolgende Lungenfunktionen durchgeführt. Erfüllten sie nicht die ATS-Kriterien, musste eine weitere Messung folgen. Der beste akzeptable FEV₁ nach Kochsalzinhalation galt als Vergleichswert für die folgenden FEV₁-Werte nach Metacholinprovokation. Eine Kontrolle der freigesetzten Flüssigkeitsmenge erfolgte bevor der Vernebler mit Aqua destillata gespült und mit 2ml der jeweils in der nächsten Stufe zu verwendenden Metacholinlösung (Tabelle 2) gefüllt wurde. Je nach Subprotokoll wurden nun, wie bereits beschrieben, die Inhalationen und Lungenfunktionsprüfungen durchgeführt. Die Provokation wurde beendet, wenn der FEV₁ Wert unter 80% des Wertes nach Inhalation von Kochsalzlösung fiel oder bei 8mg Methacholin/ml (angegebenen Grenze zwischen normaler und gesteigerter Atemwegempfindlichkeit) dieser Wert noch nicht erreicht wurde. Abschließend inhalierten die Patienten 200µg Salbutamol um eine maximale Bronchodilatation hervorzurufen.

Tab. 2: Provokationsprotokoll

Stufe	Metacholin konzentration(mg·mL ⁻¹)	Anzahl Atemzüge		Metacholin konzentration*(mg·mL ⁻¹) auf 5 Atemzügen berechnet	
		(Teilprotokoll)		(Teilprotokoll)	
		Kurz	Lang	Kurz	Lang
1	0.026	6	4	0.03	0.02
2	0.104		2		0.04
3	0.104	6	4	0.125	0.08
4	0.42		2		0.17
5	0.42	6	4	0.5	0.34
6	1.67		2		0.67
7	1.67	6	4	2	1.34
8	6.67		2		2.67
9	6.67	6	4	8	5.34
10	26.67	2	2	10.67	10.67
11	26.67	6	6	32	32
12	106.7	3	3	64	64

*Diejenige Metacholinkonzentration, die im Standardprotokoll mit 5 Atemzügen benötigt werden würde um die gleiche Dosis Metacholin wie im kurzen Protokoll (mit einer anderen Anzahl an Inhalationen) zu erreichen (nach R.A. Jörres et al)

Berechnung des PC₂₀FEV₁

Der PC₂₀FEV₁ gibt diejenige Konzentration von Methacholin an, die beim Patient einen Abfall des FEV₁ um 20% des Ausgangswertes (nach 0.9% NaCl Inhalation) hervorruft.

Die Formel zur Berechnung des PC₂₀FEV₁ ist wie folgt:

Abb. 3: PC₂₀FEV₁ - Berechnungsformel

$$PC_{20}FEV_1 = \text{antilog} \left(\log C_1 + \frac{(\log C_2 - \log C_1)(20 - W_1)}{(W_2 - W_1)} \right)$$

C1= letzte Konzentration vor C2

C2 = Konzentration, die einen Abfall des FEV₁ um $\geq 20\%$ des NaCl Wertes bewirkt

W1 = FEV₁ nach Inhalation von C1

W2= FEV₁ nach Inhalation von C2

Tab. 3: Bewertung des PC₂₀FEV₁

PC ₂₀ FEV ₁ (mg/ml)	Interpretation
> 8	Normalbefund
4 -8	„borderline“ (grenzwertig)BHR
1 - 4	Milde BHR (positives Testergebnis)
< 1	Moderate bis schwergradige BHR

BHR (Bronchiale Hyperreagibilität)

3.3.2. Lungenfunktionsmessungen

3.3.2.1. Bodypletismographie

Die Lungenfunktionsprüfungen einschließlich Diffusionskapazität wurden im Ganzkörperpletismographen (Masterlab, Jaeger, Würzburg, Germany) durchgeführt. Anhand der gültigen Kriterien der „American Thoracic Society (ATS)“ bzw. der „European Respiratory Society“ (ERS)[70, 71] d.h. gemäß den Richtlinien der amerikanischen oder denen der Europäischen Lungengesellschaft, wurden folgende Parameter erhoben:

Intrathorakales Gasvolumen (ITGV), Funktionelle Residualkapazität (FRC), Spezifischer Atemwegswiderstand (sR_{eff}), Vitalkapazität (IVC), Residualvolumen (RV), Totalkapazität (TLC), Expiratorische Einsekundenkapazität (FEV_1).

Durchführung der Messung

Es wurde zunächst überprüft, ob die Medikamentenauswaschzeiten eingehalten wurden und der Patient auf die Einnahme koffeinhaltiger Getränke verzichtet hat. Das Manöver wurde dem Patienten ausführlich erklärt. Bodyplethysmographische Messungen erfolgten vor Erhebung der spiographischen Parameter, da die forcierten Atemmanöver möglicherweise eine Verschlechterung einer bestehenden Atemwegsobstruktion induzieren können (Spirometer Asthma). Der Patient setzte sich in den Bodyplethysmographen, die Tür wurde luftdicht verschlossen und auf den notwendigen Druckausgleich innerhalb der Kammer gewartet. Nun setzte der Patient die Nasenklemme auf, umschloss das Mundstück des Pneumotachographens lückenlos mit seinen Lippen (die Zunge muss unter der Öffnung des Mundstücks zu liegen kommen) und atmete in aufrechter Sitzhaltung ein und aus. Zunächst wurden bei normaler Atemlage die Resistanzschleifen aufgezeichnet. Es folgte dann die Messung des ITGVs, indem am Ende einer normalen Ausatmung kurzzeitig das Mundstück bei unveränderter In- und Expiration des Patientens geschlossen wurde (Klappe). Jeweils drei Messwerte wurden für das ITGV bzw. den sR_{eff} ermittelt und deren Mittelwerte berechnet.

Es schloss sich bei geöffneter Kammertür das Spiometriemanöver an. Der Patient atmete 3-4 Mal in Ruhe ein und aus (Atemzugvolumen, AZV) gefolgt von einer langsamen maximalen Expiration (bis zum Erreichen des Residualvolumens (RV)) und Inspiration (bis zum Erreichen der Totalkapazität (TLC)) um die Inspiratorische Vitalkapazität (IVC) bestimmen zu können. Dann folgte ein maximal forciertes (FEV_1) Ausatmen bis zum Erreichen des RVs. Das maximal expirierte Volumen entspricht der forcierten Vitalkapazität (FVC). Es schloss sich eine maximale Inspiration an. Es wurden mindestens 3 Lungenfunktionsmessungen, zwischen denen jeweils eine kurze Phase der Ruheatmung lag, durchgeführt. Die Manöver wurden, falls notwendig, so lange wiederholt, bis das FEV_1 zweier akzeptabler Messungen innerhalb von 5% zum höchsten Wert reproduzierbar waren [67,68,69]. Der größte FEV_1 Wert dieser zwei Messungen wurde für die Statistik genutzt. Die anderen Parameter entstammen der Kurve des höchsten FEV_1 Wertes.

3.3.2.2. Diffusionskapazität

Die Diffusionskapazität (Messung des Transferfaktors der Lunge für Kohlenmonoxid (TLco, DLCO) wurde mit der "Single-breath-Methode" (Ein-Atemzug-Methode) nach internationalen Standard [72] gemessen. (Bodytest, Jaeger, Würzburg, Germany)

Der TLco entspricht der Gasmenge, die pro Zeiteinheit (min) und alveolo-kapillärer Druckdifferenz aus dem Alveolarraum in das Blut gelangt und an Hämoglobin gebunden wird:

Transferfaktor = Gasmenge/Zeit/Gaspartialdruckdifferenz [ml/min/mmHg].

Kohlenmonoxid (CO) wird als Indikatorgas genutzt, da es eine deutlich höhere Affinität zum Hämoglobin hat als Sauerstoff und unabhängig von übrigen Ventilationsparametern und Perfusionseinflüssen ist. Bei einem CO-Partialdruck < 1mmHg ist bereits eine vollständige Sättigung erreicht. d.h. der kapilläre CO-Partialdruck ist Null und somit entspricht die alveolo-kapilläre Druckdifferenz dem alveolären CO-Partialdruck. Zur Berechnung des Alveolarvolumens wird parallel eine 10% Heliumverdünnung inhaliert.

Durchführung

Die Diffusionskapazität konnte ebenfalls im dafür ausgerüsteten Bodyplethysmographen nach vorgeschriebener Gas- und Volumeneichung gemessen werden. Der Patient trug eine Nasenklammer und ventilierte einige Atemzüge Außenluft durch das Gerät. Nach maximaler Expiration wurde dann das zugeschaltete Gasgemisch aus CO, Helium und Luft langsam bis zum Erreichen der IVC eingeatmet. Es folgte eine Apnoephase von ca. 10 Sekunden (Kontaktzeit) und eine anschließende, forcierte, vollständige Expiration. Die ersten ca. 750ml Ausatemluft wurden als Totraumatemung verworfen, der Rest zur CO- und He-Konzentrationsbestimmung genutzt. In die DLCO_{-SB} Berechnung wurde die Konzentrationsdifferenz der in- und expirierten Analyse gases, die effektive Atemhaltezeit (beginnend mit ¾ der inspirierten VC, endend mit der Messung der ausgeatmeten Analyse gases) und das Alveolarvolumen gerätestandardisiert integriert.

Gemessene Parameter: Diffusionskapazität für CO (ml/min/mmHg) nach der "single breath" Methode (DLCO_{-SB}) in absoluten und prozentuaalem Anteil vom Sollwert

Bewertung:

Bis 75% des Sollwertes = normal

74-60% des Sollwertes = leichte Einschränkung

59-50% des Sollwertes = mittelgradige Einschränkung

< 50% des Sollwertes = schwergradige Einschränkung

3.3.2.3. Blutgasanalyse

Der Sauerstoffpartialdruck (PaO₂) und der Kohlendioxidpartialdruck (PaCO₂) im arteriellen Blut in Ruhe und bei Belastung wurde mit Hilfe eines Blutgasmessgerätes bestimmt (Rapidlab 840; Bayer-Diagnostik, Deutschland).

Durchführung: das Ohrläppchen wurde mindestens 10 Minuten vor jedem Test mit einer hyperämisierenden Salbe (Finalgon®, Boehringer-Ingelheim, Germany) eingecremt.

Nach Lanzettieren des Ohrläppchens und Verwerfung des ersten Tropfens, wurde das Blut (ohne „melken“ des Ohrläppchens) in eine Kapillare ohne Luftblasen aufgesaugt.

Die Messung im Gerät erfolgte unmittelbar nach Probeentnahme.

Gemessene Parameter: PaO₂ (mmHg), PaC O₂ (mmHg)

3.3.2.4. Spiroergometrie

Vor der Belastung wurden Kontraindikationen ausgeschlossen und der Patient über das Protokoll und Verhaltensregeln während der Belastung aufgeklärt. Kontraindikationen sind u.a. akute fieberhafte Erkrankungen, arterieller Hypertonus (RR_{sys} > 210 mmHg und/oder RR_{diast} > 120 mmHg), akute Bein-/Beckenvenen-thrombose, schwere Herzinsuffizienz (NYHA IV) oder Ruhetachykardie > 120/min [73]. Der Patient sollte am Morgen der Belastung ein leichtes Frühstück zu sich genommen haben. Vor jeder Belastungsuntersuchung wurde zur Sicherheit des Patienten eine Spirometrie und ein Ruhe-EKG angefertigt und durch den Arzt bewertet. Zweck der Ergometrie war die Messung der Parameter unter maximaler Ausbelastung. Hierfür wurde eine Rampenbelastung mit einminütiger Belastungssteigerung gewählt. Die gesamte Belastungsdauer sollte nicht 15 Minuten überschreiten. Die Belastungssteigerung blieb für den einzelnen Patienten in der Studie konstant, wurde jedoch innerhalb der Patienten je nach zu erwartender Leistungseinschränkung zwischen 20, 10 oder 5 Watt / min gewählt. Geschultes Personal, Notfallkoffer und Defibrillator standen stets zur Verfügung. Belastet wurde mit einem elektronischen Fahrradergometer (Jaeger, Würzburg, Germany). Über eine Gesichtsmaske, die an ein Oxycon Champion Gerät (Jäger, Würzburg, Germany) mit „low resistance turbine“ angeschlossen war, atmete der Patient Raumluft ein.

Die Luft wurde nach Flussrate, O₂ und CO₂ Konzentration analysiert. Inspiratorisches und expiratorisches Atemminutenvolumen (V_E), Sauerstoffaufnahme (V_{O2}) und Kohlenstoffdioxidabgabe (V_{CO2}) sind "breath by breath" registriert und alle 5 Sekunden dokumentiert worden. Während der gesamten Untersuchung war der Patient an einen EKG-Monitor angeschlossen, Blutdruckkontrollen erfolgten regelmäßig. Die Sauerstoffsättigung (SaO₂) wurde kontinuierlich über ein Pulsoximeter gemessen. BGA-Kontrollen am hyperämisierten Ohrläppchen erfolgten:

in der letzten Minute der initialen, dreiminütigen Ruhephase
bei Gleichstand der Werte von O₂-Aufnahme und CO₂-Abgabe
(Respirationsquotient (RQ)=1)
und unmittelbar vor dem Ende der maximalen Belastbarkeit.

Die Abfrage über Dyspnoe und muskuläre Erschöpfung mittels der modifizierten Borgskala [74] verlief synchron zu den BGA-Messungen. Da Sprechen die Werte beeinflusst hätten, zeigte der Patient auf die Werte der vorgelegten Borgskala
Belastungsprotokoll (Rampenbelastung):

Nach einer dreiminütiger Ruheventilation auf dem Ergometer folgte eine gleichlange Referenzphase mit „loadless paddling“ (Null-Last-Phase). In der anschließenden Belastungsphase wurde jede Minute die Wattzahl um den gleichen Wert (dieser lag zwischen 5 und 20 Watt) erhöht, bis der Patient sein Belastungsmaximum erreichte. Die abschließende Phase (5 Minuten ohne Treten auf dem Fahrrad sitzend) diente zur Erholung des Patienten mit daraus resultierender Regulierung der Werte von Blutdruck, Puls, Ventilation und Dyspnoeangaben (Borg).

Gemessene Parameter

Daten über Dyspnoe und muskuläre Erschöpfung, durch Abfrage der Werte auf der modifizierten Borgskala.

Maximal erreichte Wattzahl [Watt]

V_{O2}; V_{CO2} (ml/min)

PaO₂ (mmHg), PaCO₂ (mmHg) in Ruhe, beim Erreichen des Respirationsquotienten =1 (RQ=1) und bei maximaler Belastung

3.3.2.5. Vitalparameter

Der Patient musste für mindestens 10 Minuten in sitzender Position ruhen.

Blutdruck und Puls wurden dann am sitzenden Patienten gemessen.

3.3.3. Bronchoskopie

Die Lungenspiegelung und bronchoalveoläre Lavage (BAL) wurde von einem erfahrenen Arzt (D.K.) durchgeführt. Mindestens einen Tag vor der Bronchoskopie wurden die Patienten ausführlich über die Untersuchung aufgeklärt. Eine Einverständniserklärung wurde unterschrieben. Die Patienten mussten nüchtern zur Untersuchung erscheinen. Am Untersuchungstag lag ein aktuelles Röntgenbild und Laborbefunde (insbesondere des Gerinnungsstatus) vor. Eine Prämedikation mit ½-1 Amp. Dicodid 15 mg und Atropin 0,5 mg, mindestens eine halbe Stunde vor Beginn der Untersuchung, wurde, da Dicodid häufig zu Übelkeit und Erbrechen führt, optional subcutan verabreicht [75]. Lidocainlösung 0,8% (max. 25ml/Patient) wurde als Oberflächenanästhesie in jedes Nasenloch (je 1ml) geträufelt. Durch Gurgeln mit 5 ml der Lidocainlösung wurde der Rachen betäubt. Die verbleibende Menge wurde später über das Bronchoskop zu je 2ml auf die Stimmritze, die Trachea, die Hauptbifurkation und die Hauptbronchien und untersuchten Ostien gegeben. Der Patient wurde an einen EKG-Monitor sowie einen O₂-Sättigungsmesser angeschlossen und Blutdruckausgangswerte erhoben. Ein venöser Zugang mit einer Verweilkanüle (Braunüle) wurde grundsätzlich gelegt, auch wenn auf die Gabe eines Benzodiazepins (Dormicum®) verzichtet wurde. Unter Verabreichung einer O₂-Insufflation von ca. 2 Litern wurde zunächst eine nasale Einführung des Bronchoskops, das zusätzlich mit einem Gleit- und Oberflächenanästhetikum (Xylocain Gel 2%) versehen war, auf das flexible Bronchoskop gegeben. Ein oraler Zugang konnte alternative gewählt werden. Nachdem das Bronchoskop eingeführt war und vor einer generellen Inspektion des Bronchialsystems und einer geplanten Biopsie, wurde die BAL durchgeführt. Dieses Vorgehen bietet den größten Schutz vor Kontamination der BAL mit Schleim, Blut oder Entzündungszellen. Vorzugsweise wurde in den Mittellappen 5x20 mL warme, isotonische Kochsalzlösung instilliert. Jede dieser Einzelportionen wurde sofort aspiriert. Die erste Portion wurde getrennt von den restlichen vier, studienrelevanten und gepoolten BAL-Anteilen dem Zytologen zur Aufarbeitung übergeben. Nach Entfernen des Bronchoskops, wurden sedierte Patienten geweckt und für mindestens zwei Stunden beobachtet bevor sie mit einer Begleitperson die Klinik verlassen konnten.

3.3.3.1. Histologie

Bei Patienten, die noch keinen histologischen Nachweis einer Sarkoidose vorlegen konnten, wurde während der Lungenspiegelung bioptisches Material entnommen. Verfahren wie Bronchialschleimhaut-Biopsien, perbronchiale Lymphknotenpunktion der hilären und/oder mediastinalen Lymphknoten, sowie transbronchiale Lungenbiopsien (TBB) wurden angewandt. Das pathologische Institut, Prof. Dr. Michael J. Amthor, Diakoniekrankenhaus Rotenburg (Wümme), übernahm die histologische Bewertung. Zytologische Befunde des durch Feinnadelpunktion (Somatex-Nadel) gewonnenen Aspirationsmaterials oder Imprintbiopsiematerial (auf Objektträger abgetupftes Exzidat) wurden im zytologischen Labor des Krankenhauses Großhansdorf, Dr. Welker, erstellt.

3.3.3.2. Bronchoalveoläre Lavage

Nachdem das Volumen der gewonnenen Lavage bestimmt war, wurde dieses in zwei Portionen geteilt. Bei nur geringer Rückgewinnung erhielt zunächst der Zytologe das benötigte Volumen, der verbleibende Rest (oder die 2. Portion) wurde für die FACS-Analyse benötigt. Das Labor Kesser/Arndt, Hamburg, erhielt aus der ersten BAL-Portion einen Anteil zum Ausschluss einer Tuberkulose für mikroskopische und kulturelle Nachweismethoden.

3.3.3.3. Zytologie

Die BAL-Flüssigkeit wurde von Mitarbeitern des zytologischen Labors, des Krankenhauses Großhansdorfs aufgearbeitet. Sie wurde durch eine Lage steriler Gaze gefiltert, zentrifugiert (15 min, 4°C, 65 g) und resuspendiert. Die Gesamtzellzahl wurde in einer Neubauer Zählkammer ermittelt. Zytospinobjektträger wurden mit je 50.000 Zellen hergestellt (Heraeus Sepatech Omnifuge 2.0 RS, Hanau, Germany) und mit May-Grünwald-Giemsa gefärbt um ≥ 500 Zellen auszuzählen. Die Zellen des BAL-Differentialbildes, wie Alveolarmakrophagen, Neutrophile, Eosinophile, Lymphozyten, wurden in absoluten und prozentualen Werten dokumentiert. Angaben über die Lymphozytendifferenzierung in CD3+, CD4+, CD8+ und der CD4/CD8 Quotient sind nach Inkubation mit Flurorescein isothiocyanaten (FITC)-versehenen Monoklonalen Antikörpern (DAKO, Hamburg, Germany) möglich gewesen (Normwerte siehe Tab.9).

3.3.3.4. FACS-Analyse

FACS steht für Fluorescence activated cell sorting (geschützte Handelsmarke der Firma Becton Dickinson). Es handelt sich um eine Durchflusszytometrie und beruht auf der Emission von optischen Signalen seitens der Zelle, wenn diese einen Laserstrahl passiert. Es werden in einer Lösung befindliche Zellen durch eine Kapillare gesaugt und passieren im Sensormodul einzeln einen Laserstrahl. Die Zelle emittiert dabei Streulicht. Wenn Antikörper gebunden sind entstehen Fluoreszenzimpulse, woraus man unterschiedliche Eigenschaften der Zelle ableiten kann. Das Streulicht wird durch Zellgröße, die Struktur der Zellwand sowie intrazelluläre Bestandteile beeinflusst. Die Zellen können damit in unterschiedliche Fraktionen sortiert und gezählt werden. Hierzu dienen zwei Parameter: Das Vorwärtsstreulicht FSC (Forward Scatter) als Maß für die Zellgröße und das Seitwärtsstreulicht SSC (Side Scatter) als Maß für die Granularität (Größe und Struktur des Zellkerns etc.). Mit diesen beiden Parametern lassen sich zum Beispiel die Zellen des Blutes bereits recht gut auftrennen. Zudem kann man die Probe vorher mit Antikörpern, die mit verschiedenen fluoreszierenden Farbstoffen verbunden sind, inkubieren. Die Antikörper sind gegen bestimmte Oberflächenmerkmale (z.B. CD = "Cluster of differentiation") gerichtet. Nach Markierung kann dann auch die Sortierung nach diesen Merkmalen erfolgen. Die FACS-Analyse wurde von Frau Elke Jaksztat in enger Zusammenarbeit mit dem Labor "Dr. Kramer und Kollegen", Geesthacht, nach den gültigen Richtlinien durchgeführt [76]. Es wurde ein Analysegerät (FACS-Calibur) genutzt, das mit einem Argonlaser und einer roten Laserdiode ausgestattet ist und die gleichzeitige Analyse von bis zu vier Farben ermöglicht. Zur Kalibrierung des Gerätes wurde eine Suspension von Mikropartikeln (DAKO FluoroSpheres) mit unterschiedlicher Fluoreszenzintensität untereinander und unterschiedlicher Fluorochrome auf jedem einzelnen Partikel genutzt.

Die intrazelluläre Produktion von [77] Interleukin(IL2), Tumor Nekrose Faktor(TNF)- α und Interferon(IFN)- γ wurde in BAL Lymphozyten gemessen, nachdem die Zellen (mit 1640 RPM (rounds per minute)) zentrifugiert wurden. Ein Teil wurde dann mit Phorbol Myristate Acetate (PMA 20 ng/mL) plus Ionomycin (1 μ g/mL) für 4 Stunden stimuliert, während die Sekretion gehemmt wurde (Monensin, 5 μ M). Nach Permeabilisierung (Fix&Perm, Caltag, Burlingame, CA), wurden die Zellen wieder mit Antikörpern gegen CD3 und das selektierte Zytokin (BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ) inkubiert. Die

Ergebnisse wurden in Prozent, der für das spezielle Zytokin positiven T-Lymphozyten, entweder stimuliert oder nicht stimuliert, angegeben.

Gemessene Parameter

Prozentualer Anteil der Antikörper positiven Zellen (bezogen auf die eingesetzten Marker):

Gesamtzellzahl (Coulter Flow Count Beads) und dessen Differenzierung in Alveolarmakrophagen, Granulozyten, Lymphozyten

Kontaminierende Erythrozyten(CD45-/Glykophorin A+)

Lymphozyten Lebensfähigkeit(CD45+/Propidium Iodid (PI-)),

T-Lymphozyten (CD45+/CD3+),

TH-Lymphozyten (CD45+/CD3+/CD4+),

TS-Lymphozyten (CD45+/CD3+/CD8+),

NK Zellen(CD45+/CD3-/CD16/56+),

B-Lymphozyten (CD45+/CD3-/CD19+),

CD4/CD8-Quotient

Aktivierungsmarker auf T Lymphozyten:

CD45⁺/ CD3⁺/CD25⁺ (IL2R),

CD45⁺/ CD3⁺/HLA-DR⁺,

CD45⁺/ CD3⁺/ CD69⁺.

Intrazelluläre Zytokine nach maximaler Stimulation oder nicht stimuliert:

Interleukin(IL2)

Tumor Nekrose Faktor(TNF)- α ,

Interferon(IFN)- γ

3.3.4. Laboruntersuchungen

Die Untersuchung der Blut- und Urinproben übernahm das Klinische Labor des Krankenhauses Großhansdorf. Im Labor Keeser/Arndt & Partner, Hamburg, wurden die Sarkoidosespezifischen Serumparameter bestimmt, wobei Proben für die Neopterinanalyse an ein Fremdlabor (Labor Schiwara, Bremen und Labor Limbach , Heidelberg) delegiert wurde. Die einzelnen Parameter wurden mit folgenden Verfahren bestimmt:

ACE (Photometrie), Lysozym (Radioimmunoassay (RIA), β_2 -Mikroglobulin (Mikropartikelenzymimmunoassay MEIA; Abbott), Neopterin (Enzyme ImmunoAssay EIA ,BRAHMS, Germany)(Referenzdaten in Tabelle 8).

Hämatology: Erythrozytenzahl, Hämoglobin, Hämatokrit, MCV (mittleres Zellvolumen der Erythrozyten), Leukozytenzahl und Differentialblutbild, Thrombozytenzahl.

Serum: AST(SGOT), ALT (SGPT), Alkalische Phosphatase, LDH, Gamma-GT, Natrium, Kalium, Kalzium, Gesamtprotein, Harnstoff, Kreatinin, Gesamtbilirubin, gesamt Kreatin-Kinase (CK), Gesamt-IgE (nur Visite 1), ACE ,Lysozym, β 2-Mikroglobulin, Neopterin

Schwangerschaftstest: Urintest oder alternativ Serumtest

Urinanalyse: Orientierende Harnuntersuchung des frischen Mittelharnurins mittels eines Teststreifens für pH, Glukose, Ketonkörper, Eiweiß, Bilirubin und Blut. Bei einem auffälligen Befund folgte eine mikroskopische Harnuntersuchung.

Candida Abstrich: Bestand klinisch ein Verdacht auf Mundsoor, wurde ein Abstrich der Zunge und des Rachenraums entnommen und dem Labor Keeser/Arndt, Hamburg in einem geeigneten Transportmedium zur Analyse auf Candida albicans geschickt.

3.3.5. Röntgenthorax

In der Röntgenabteilung des Krankenhauses Großhansdorf wurden an Visite 1,3 und 4 p.-a. (posterior-anterior) und links anliegende Lungenthoraxaufnahmen erstellt. Ersatzweise konnten vorhandene Röntgenaufnahmen genutzt werden, die nicht älter als 4 Wochen waren. Die Beurteilung der Röntgenbilder übernahm ein Radiologe des Krankenhauses Großhansdorfs (Dr.T.Z.).

Anhand der Aufnahmen von **Visite 1 und 4** [78] erfolgte die Bestimmung des Röntgentyps (0-III durfte randomisiert werden) der Sarkoidose. Zusätzlich wurden in **Visite 3 und 4** jeweils im Vergleich zu Visite 1 Daten zum radiologischen Verlauf, aufgeteilt in Hilus/Mediastinum und das Interstitium, dokumentiert

Tab. 4: Röntgenbewertung

Visite 1 und 4 Röntgeneinteilung							
Röntgentyp	0	I	II	III	IV		
Visite 3 und 4 Beurteilung des radiologischen Verlaufs jeweils im Vergleich zu Visite 1							
Hilus/Mediastinum	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3
Parenchym	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3
Bewertungsskala							
Verschlechterung	-3	hochgradig	-2	deutlich	-1	minimal	
Verbesserung	+3	hochgradig	+2	deutlich	+1	minimal	
Status quo	0						

3.3.6. Fragebogen und Symptombewertungsskala

3.3.6.1. Fragebogen zur Lebensqualität

Fragebögen zur Lebensqualität versuchen die subjektive Einschätzung des Betroffenen über körperliche, emotionale, psychische und soziale Einschränkungen durch die Erkrankung zu erfassen [79]. Der SF-36 ist ein standardisierter Fragebogen, der sich bei interstitiellen Lungenerkrankungen [80] bereits bewert hat. Er wurde von den Patienten während Visite 2, 3 und 4 (t2, t3, t4) selbstständig ausgefüllt und besteht aus 36 Fragen, die sich in 8 Einzelskalen und 2 Summenskalen gliedern:

Tab. 5: Merkmale des SF-36

nach Petermann F (2000) [77]

Einzelmerkmale:	
MHI	Psychisches Wohlbefinden(z.B. Depressionen, Angst, positive Stimmung....)
ROLPH	Körperliche Rollenfunktion (Maß der krankheitsbedingten Beeinträchtigung täglicher Aktivitäten/Arbeit)
PAIN	Körperliche Schmerzen (Maß des Einflusses der Schmerzen auf die tägliche Arbeit)
GHP	Allgemeine Gesundheitswahrnehmung (Einschätzung des aktuellen und zukünftig erwarteten Gesundheitszustandes)
VITAL	Vitalität (Einschätzung von energievoll bis erschöpft)
SOCIAL	Soziale Funktionsfähigkeit(Maß der krankheitsbedingten Beeinträchtigung normaler sozialer Aktivitäten)
ROLEM	Emotionale Rollenfunktion (Maß der Beeinträchtigung der Aktivitäten durch emotionale, krankheitsbedingte Probleme)
PFI	Körperliche Funktionsfähigkeit (Maß der krankheitsbedingten, körperlichen Einschränkung, wie Gehen, Bücken, Heben, Treppensteigen...)
Summenmerkmale:	
KSK	Körperliche Summenskala
PSK	Psychische Summenskala

3.3.6.2. Dysphonie-Analogskala

Bei jeder Visite wurde der Patient über Veränderungen (insbesondere Heiserkeit) seiner Stimme befragt und aufgefordert einen Strich auf eine visuelle Analogskala zu zeichnen, der den aktuell empfundenen Schweregrad der Dysphonie am besten traf. Die Analogskala hat eine Länge von 10cm. 0 bedeutet keine Heiserkeit, 10 bedeutet extreme Heiserkeit bis Verlust der Stimme. Da das Symptom Heiserkeit Folge sehr unterschiedlicher Ursachen (u.a. ein Infekt, eine orale Candidose, Nebenwirkung der inhalativen Steroidbehandlung oder der Sarkoidose) sein konnte und dadurch unterschiedliche Konsequenzen hatte, war eine klinische Einordnung wichtig. Bei

einem Verdacht auf eine orale Candidose (z.B. durch Befall der Mundschleimhaut/ Zunge /Rachen mit weißlichen, stippchenförmigen Belegen) wurde ein Abstrich entnommen und in einem geeigneten Transportmedium an das Labor Keeser/Arndt & Partner, Hamburg versendet, wo eine Kultur angelegt und auf *Candida albicans* untersucht wurde.

3.3.6.3. Symptomen Score

An Visite 1,2,3,und 4 wurde der Patient gebeten Symptome wie Husten, Dyspnoe, Müdigkeit und Krankheitsgefühl in einer Skala von 0-3 (nicht vorhanden (0), mild (1), moderat (2), schwer/sehr ausgeprägt(3)) bezogen auf die zurückliegenden 8 Wochen einzustufen. Die Fragen waren wie folgt:

Wie war Ihr Husten die letzten 8 Wochen?

Wie war Ihre Luftnot die letzten 8 Wochen?

Fühlten Sie sich müde?

Fühlten Sie sich krank?

3.3.6.4. Sputum

3.3.6.4.1 Induktion

Die Sputuminduktion wurde nach Pin et al. [81, 82] durchgeführt. Nach ausführlicher Aufklärung des Patienten über die Durchführung und Risiken der Induktion, schloss sich die Ausgangslungenfunktionsmessung nach ATS-Richtlinien [69] an. Bei einem FEV₁ Wert unter 60 % des Solls hätte nicht induziert werden dürfen. Es folgte die Messung des besten FEV₁ Werts 10 Minuten nach Inhalation von 200 µg Salbutamol, dieser galt als Ausgangswert. Fällt der FEV₁ Wert während der Induktion unter 90% dieses Wertes, dann wird die NaCL-Konzentration nicht weiter gesteigert, fällt er unter 80% wird die Prozedur abgebrochen, der Patient inhaliert 200µg Salbutamol und verbleibt so lange im Institut unter ärztlicher Aufsicht bis eine Kontrollspirometrie \geq 80% des Ausgangswertes bestätigt. Unter diesen Voraussetzungen erfolgte hintereinander für jeweils 10 Minuten die Inhalation von 30ml 3%, 4% und 5% frisch zubereiteter Kochsalzlösung mit Hilfe eines Ultraschallverneblers (NE-U12, Omron,

Tokyo, Japan; nominaler Output 3 mL/min; durchschnittlicher Output (SD) 1.72 ± 0.2 mL/min; durchschnittlicher Partikeldurchmesser 4.9 μm). Die Höhe des Outputs einer jeden Konzentration wurde durch Berechnung der Differenz zwischen Ausgangsvolumen und Restvolumen (ml) nach erfolgter Inhalation ermittelt und dokumentiert. Eine Spirometrie mit je 2 Manövern wurde jeweils während (nach 5 Minuten) und nach den einzelnen Konzentrationen (nach 10 Minuten) durchgeführt. Sputumproben wurden nach der ersten (3%), während und nach der zweiten (4%) und während und nach der dritten (5%) Inhalation gewonnen. Um Sputum zu gewinnen, wurde der Patient angeleitet gründlich die Nase zu putzen, den Mund mehrmals mit klarem Wasser auszuspülen, zu gurgeln und Wasser zu trinken. Dieses Vorgehen soll die Kontamination des Sputums mit Plattenepithelien und Keimen aus dem Mund- und Rachenraum reduzieren. Bei möglichst trockenem Mund sollte durch stoßartiges Ausatmen nun Sputum „nach oben“ befördert und durch leichtes Aushusten auf eine Petrischale entleert werden. Das Sputum wurde sofort gewogen und mit Hilfe eines Mikroskops

1. seine Qualität mit den Noten 1-6 beurteilt:

1- optimale Sputumflocke, gut von Plattenepithelien und „Spucke“ zu trennen

6- schlechtes diffuses Material, fast unmöglich zu trennen

2. eine möglichst „reine“ Flocke mit vielen Zellen aber wenig Plattenepithel/Spucke Mittels einer Öse, Pipettenspitze oder einer Kanüle selektiert.

Am Ende der Induktion wurde das brauchbare Sputummaterial aller Konzentrationsstufen gepoolt, in ein abgewogenes und beschriftetes Eppendorf-Cup gefüllt und gewogen. Die Probe musste, damit die Zellen vital blieben, innerhalb von 2 Stunden aufgearbeitet und bis dahin im Kühlschrank bei 4°C gelagert werden.

3.3.6.4.2 Aufarbeitung

Das zweifache Volumen der Flocke entsprach der Menge an Sputolysin® (Sputtolysin Reagent, SL, Calbiochem Nr. 560000, Bad Soden, Deutschland), die dem Sputum zugesetzt wurde. Während der Inkubation im Wasserbad (37°C /15 Min) wurde der Inhalt des Cups alle 5 Minuten durch leichtes „Schnippen“ gemischt. Um eine 20-fache Verdünnung herzustellen, wurde PBS (die Menge errechnet sich aus der Gesamtmenge des Cups multipliziert mit 6,67 minus der Gesamtmenge des Cups) zum Lösen der

Flocke zugefügt. Es folgte das Zentrifugieren in der Biofuge (Heraeus Biofuge 13) bei 2800 RPM (10 Min.) und vorsichtiges Abschöpfen des Überstands, der danach nochmals bei 3600 RPM (3 Min) zentrifugiert, in vorbereitete (gewogen, beschriftet) Cups gefüllt und bei -80°C bis zur Analyse ($\text{TNF}\alpha$ (pg/mL)) gelagert wurde. Nach Resuspension des verbleibenden Pellets mit 200 μl PBS/BSA (1%), erfolgte ein erneutes Bestimmen des Volumens und Umfüllen von 10 μl in ein mit 20 μl Trypan Blau Lösung (0,4%, T8154, Sigma AA2153, Stienheim, Deutschland) gefülltes Cup. Hiervon wurden 10 μl in eine Neubauer Zählkammer gegeben und innerhalb von 5 Minuten unter einem Mikroskop unter Ausschluss der Plattenepithelien mindestens 100 Zellen in einem großen Quadrat (16 kleine) gezählt. Zur Vitalitätsbestimmung wird der Anteil der vitalen (braun, kugelig) Zellen zur Gesamtzahl in Prozent ausgedrückt. Um die Zellzahl $\cdot 10^6/\text{ml}$ Suspension zu berechnen, wird die ausgezählte Zellzahl/Quadrat durch 80 dividiert. Für den Zytospin werden ca. 30.000 Zellen auf einem Objektträger benötigt. Die Menge Suspension (μl), die hierfür pro Zytospin benötigt wird, errechnet sich durch Division von 30 durch die berechnete Zellzahl /ml Suspension. Sie wird mit PBS/BSA (10x, Invitogen Corporation Nr. 14 200-067)/(Bovine Serum Albumine, Sigma A2153, Steinheim, Deutschland) auf 100 μl aufgefüllt und in einen Objektträger, der beschriftet, mit Filterpapier und Trichter versehen ist, gefüllt. Bei 800 RPM für 5 Minuten wurde in der Cytospin3 Cytofuge (Shandon Life Sciences Int. Ltd. Europe, Astmoor, U.K. Serial Nr. MA 1205E9708, Kat.Nr.74000211) zentrifugiert. Es wurden immer 2-4 Objektträger hergestellt. Nachdem die an der Luft getrockneten Proben 5 Minuten in 1:1 Aceton/Methanol (1.06009, Merck, Darmstadt, Deutschland) fixiert und wieder getrocknet waren, wurden sie für 20 Minuten in 10ml Giemalösung (1.209204, Merk, Darmstadt, Deutschland) gefärbt, dann mit Aqua dest.(B.Braun Medical AG, Melsungen, Deutschland) abgespült, bei Raumtemperatur getrocknet und standen dann für die Zellzählung bereit.

3.3.6.4.3 Differenzierung der Zytospinpräparate

Die Präparate wurden von einer Mitarbeiterin des Pneumologischen Forschungsinstituts am Krankenhaus Großhansdorf und mir unabhängig von einander gezählt. Wenn möglich, wurden mindestens 400 Zellen inklusive Plattenepithelien differenziert und als Mittelwert der beiden Zähler angegeben. Makrophagen, neutrophilen und eosinophilen Granulozyten, Lymphozyten und Flimmerepithelien wurden in Prozent der Nicht-

Plattenepithelien und als absolute Zellzahl dokumentiert. Die Plattenepithelien wurden ebenfalls als absolute Zahlen und als Prozentzahl der Gesamtzahl angegeben. Die Qualität der Präparate wurde mit 0 (schlecht, nicht verwertbar) 1(mittel) und 2(gut) benotet und sank mit geringer Vitalität / Unversehrtheit der Zellen und hohen Anteil an Plattenepithelien.

3.3.6.4.4 Bestimmung von TNF α im Sputumüberstand

Die quantitative Bestimmung des TNF α im Sputumüberstand erfolgte mit Hilfe eines enzym-linked-immunosorbent-assay (ELISA) der Firma Biosource entsprechend der Anweisungen des Herstellers. Zunächst wurden die Proben aufgetaut und mit einem ersten antigenspezifischen Antikörper (gegen TNF α) an eine Mikrotiterplatte gebunden und freie Bindungsstellen mit Puffer abgesättigt. Die TNF α Moleküle konnten sich so unter der folgenden Inkubation an diesen Antikörper binden.

Ein zweiter TNF α spezifischer Antikörper, an den Peroxidase gebunden ist, wird hinzugefügt und bindet an die bereits an den ersten Antikörper gebundenen Zytokin-Moleküle. Proportional zur gebundenen Zytokinmenge wird nun ein weiterer Zusatz umgesetzt. 2N Schwefelsäure stoppt die Reaktion ab. Die Bestimmung und quantitative Auswertung wurde freundlicherweise durch Dr. rer. nat. Olaf Holz aus dem Verein zur Förderung der Pneumologie am Krankenhaus Großhansdorf durchgeführt.

3.3.6.5. Statistische Auswertung

Je nach Verteilung wurden die Daten entweder als arithmetische Mittelwerte (mit Standardfehler des Mittelwertes (SEM) oder Standardabweichungen (SD)) oder als Mediane (mit Interquartilen Abstand) dargestellt. Für die Darstellung der Unterschiede zwischen der Verum- und der Placebogruppe in den Ausgangsmessungen an Visite 1 bzw. 2 wurde der Mann-Whitney U Test für nicht-parametrische Daten verwendet.

In jeder der beiden Gruppen erfolgte der Vergleich von Werten, die vor und nach den Behandlungen gemessen wurden, mittels des paarigen t-Tests oder des Wilcoxon-matched-pairs-signed-rank-Tests. Das Ausmaß der Veränderungen während der Therapiezeit wurde per t-Test ermittelt. Multifaktorielle ANOVA (analysis of variance) mit Messwiederholung wurde genutzt um die radiologischen mediastinalen und parenchymalen Veränderungen zu analysieren. Ein p-Wert < 0,05 wurde als Signifikanzniveau gewählt. Zur Berechnung wurde das Statistikpaket STATISTIKA 5.0 (Statsoft) genutzt.

4. ERGEBNISSE

4.1 Charakterisierung des untersuchten Patientenkollektivs

Zwischen Mai 2001 und April 2002 wurden 66 Patienten gescreent. 15 Patienten mit chronischer pulmonaler Sarkoidose, Röntgentyp I-III wurden randomisiert und konnten die Studie protokollkonform ohne Abbruch oder Ausschluss beenden. Die mittlere Krankheitsdauer bis zum Einschluss in die Studie betrug 4 Monate (1-18 Monate) und war in beiden Gruppen ähnlich verteilt. Innerhalb von 6 Monaten vor Studienbeginn wurde den Patienten Biopsiematerial zur Bestätigung der Diagnose entnommen. Bei 2 Placebopatienten wurde der Zeitraum um einige Tage überschritten. Die Patienten waren alle lebenslang Nichtraucher bis auf einen Exraucher mit 8 pack-years (kein Nikotinkonsum in den letzten 20 Jahren). Weibliche Patienten, die nicht hysterektomiert, sterilisiert, oder mindestens 2 Jahre postmenopausal waren, nutzten eine sichere Kontrazeption, waren weder schwanger (ein Schwangerschaftstest wurde durchgeführt) noch stillend. Es wurde sichergestellt, dass keiner der Patienten unter Begleiterkrankungen litt, dessen Behandlung signifikant für den Studienablauf gewesen wäre, oder die Sicherheit des Patienten währenddessen beeinflusst hätte. Bei Sarkoidose mit Multiorganbefall, mit Hyperkalzämie oder Symptomen, die einen Verdacht auf Beteiligung von Herz, Hirn, oder Augen nahe legten und eine sofortige Therapie mit oralen oder intravenösen Kortikoiden erforderten, war ein Einschluss in die Studie nicht möglich. Bei einem Patienten (Placebo) wurde während der Studie ein Hautgranulom chirurgisch entfernt und als (nicht therapiebedürftige) Hautsarkoidose histologisch bestätigt. Wurden systemische Kortikoide bis zu 3 Monate (inhalative Steroide 4 Wochen) vor der Screening Visite eingenommen, konnte der Patient nicht in die Studie eingeschlossen werden. Nur zwei Patienten (beide Placebo) hatten jemals zuvor inhalative Steroide bekommen. Gemäß der Randomisierung erhielten 9 Patienten Placebo (5m/4w, mittleres Alter 38 (26-61) Jahre; mittlere Werte(\pm SD) IVC, 98 ± 14 %pred; FEV1, 97 ± 14 %pred; TLCO, 82 ± 15 %pred) [83] und 6 Patienten erhielten BDP (4m/2w, mittleres Alter 31 (23-37) Jahre; mittlere Werte(\pm SD) IVC, 99 ± 9 %pred; FEV1, 96 ± 19 %pred; TLCO, 85 ± 7 %pred.). 5 (3 Placebo, 2 Verum) Patienten fielen auf Grund der Ergebnisse des Allergietests (Haut-Prick Test) und der jeweiligen Krankengeschichte unter die Diagnose allergische Rhinitis oder saisonale Rhinokonjunktivitis. Sie waren während der Studie asymptomatisch und bei keinem lag

ein begleitendes Asthma vor. Eine bronchiale Überempfindlichkeit gegenüber Methacholin konnte bei den Patienten mit allergischer Rhinitis bzw. Rhinokonjunktivitis während der Studie nicht nachgewiesen werden.

Tab. 6: Patientencharakterisierung

		Placebo	Verum
Anzahl (n)		9	6
Geschlecht	m	5	4
	w	4	2
Mittleres Alter (range)		38 (26-61)	31(23-37)
Mittlere Werte(±SD)(% pred)	IVC	98±14	99±9
	FEV₁	97±14	96±19
	TLco	82±15	85±7
Saisonale Rhinitis oder Rhinokonjunktivitis		3	2
Positiver Prick Test		3	2
Bronchiale Hyperreagibilität (V1,2)		1*	1*
Radiologisches Stadium initial (V1)	I	3	
	II	5	6
	III	1	

Zwei Patienten ohne Allergien vielen vor der Randomisierung durch PC₂₀ FEV₁ Werte < 8mg/ml Metacholin auf. Der eine war ein Placebopatent (006), der zu V1 bei einem PC₂₀ FEV₁ von 0,23 mg/ml Metacholin die Provokation wegen Hustenreiz abbrechen musste. Bei der Wiederholung zu Visite 3 und 4 konnte der gleiche Patient mit über 32mg/ml Metacholin provoziert werden. Der andere war ein Verumpatient (016), der einen Abfall des FEV₁ um 20% bei einem Wert von 7,55mg/ml Metacholin, also knapp unter dem Normwert von 8mg/ml zeigte. Ein weiterer Placebopatent(021) konnte erst zu V3 (>8mg/ml) provoziert werden

4.2. Untersuchungsergebnisse

4.2.1. Haut- und Provokationstest

Intrakutanen Tuberkulintest: Alle Patienten dieser Studie hatten erwartungsgemäß ein negatives Testergebnis.

Prick Test : 3 Placebo- und 2 Verumpatienten reagierten auf mindestens ein Allergen positive. Ein Placebopatent entwickelte eine Quaddel von 3 mm Durchmesser hervorgerufen durch die Negativekontrolle.

Bronchiale Hyperreagibilität: Tabelle 7 zeigt, dass bei Studienbeginn keiner außer der unter 4.1. beschriebenen Sarkoidosepatienten hyperreagibel war. Nach 6 Monaten wiesen je zwei Patienten aus beiden Gruppen einen PC₂₀FEV₁ < 8mg/ml auf. Keiner dieser hyperreagiblen Patienten litt unter saisonaler allergischer Rhinokonjunktivitis.

Tab. 7: Bronchiale Hyperreagibilität

Placebo	PC ₂₀ FEV ₁ [mg/ml Methacholin]		
	Patient no.	Visite 1,2	Visite 4
	001	> 8	1,19
	005	> 16	> 16
	006	0,23 (V3 >32)	> 32
	014	> 16	> 16
	015	> 16	> 16
	019	> 16	> 16
	018	9,07	> 5,34
	021	(V3 > 8)	26,60
	020	> 8	> 16

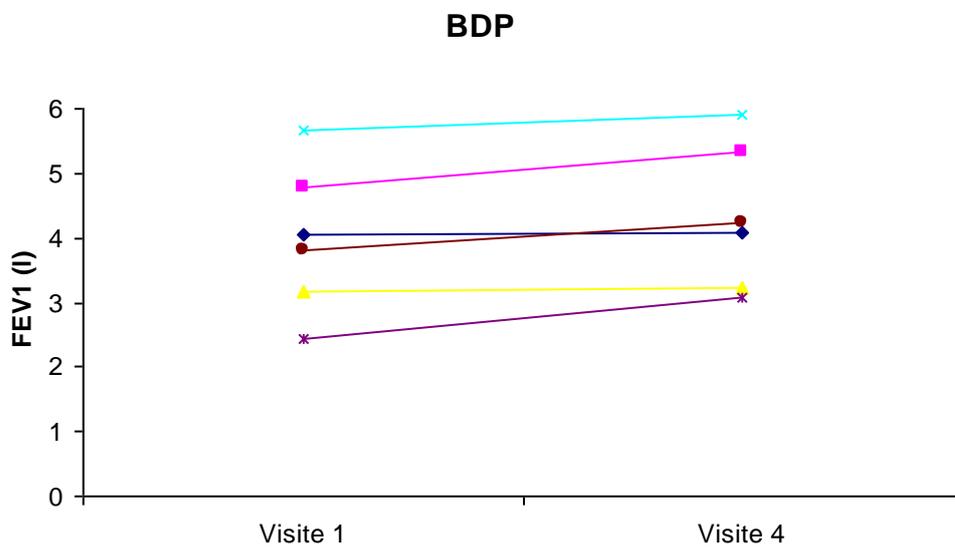
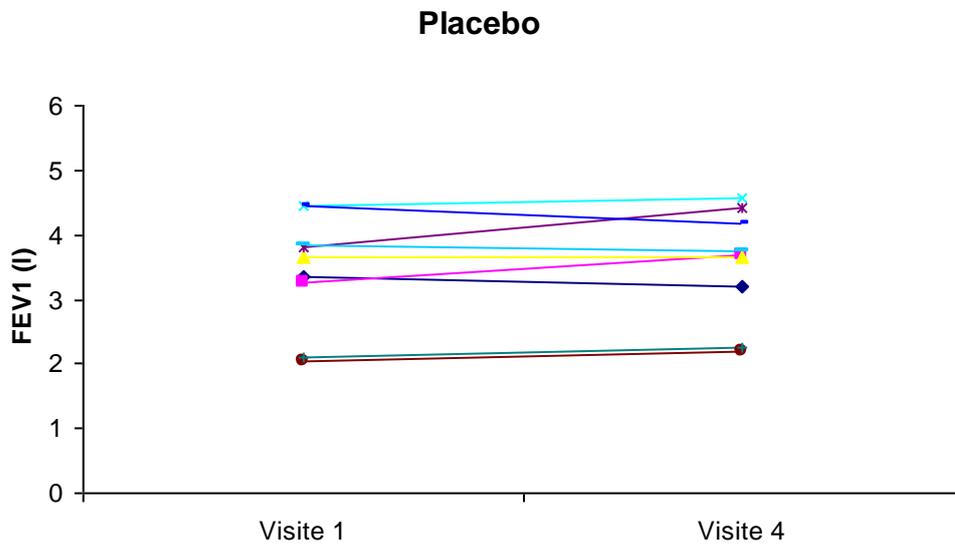
BDP

	002	8,58	2,67
	004	22,11	> 8
	003	> 16	> 16
	013	> 16	> 16
	016	7,55	2,33
	017	32,00	28,89

4.2.2. Lungenfunktion, Blutgase und Spiroergometrie

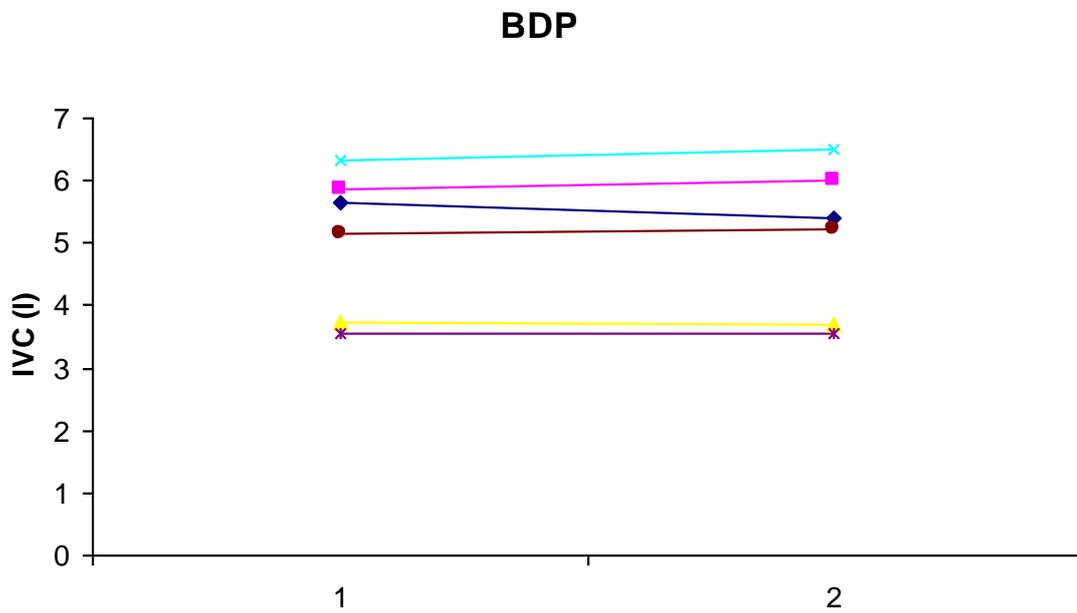
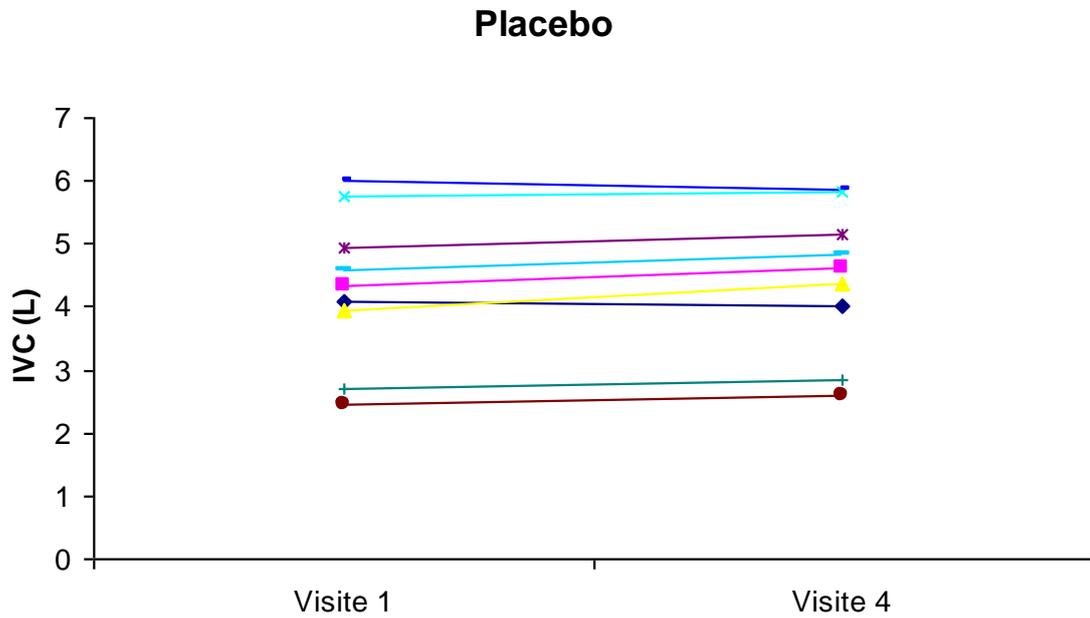
Lungenfunktion: In der BDP-Gruppe gab es einen statistisch signifikanten Anstieg der FEV1 und DLco Werte und in der Placebo-Gruppe der IVC Werte nach Therapie (Tab.8, Abb. 4, 5,6) Alle anderen spirometrischen oder bodyplethysmographischen Parameter veränderten sich während der Studie nicht signifikant.

Abb. 4: FEV₁ Visite 1 vs Visite 4



Individuelle Patientenwerte des Forcierten expiratorischen Volumens in der ersten Sekunde (FEV₁) vor (Visite1) und nach (Visite4) Behandlung mit Placebo oder BDP.
p<0.05 V1 vs V4 (Verumgruppe).

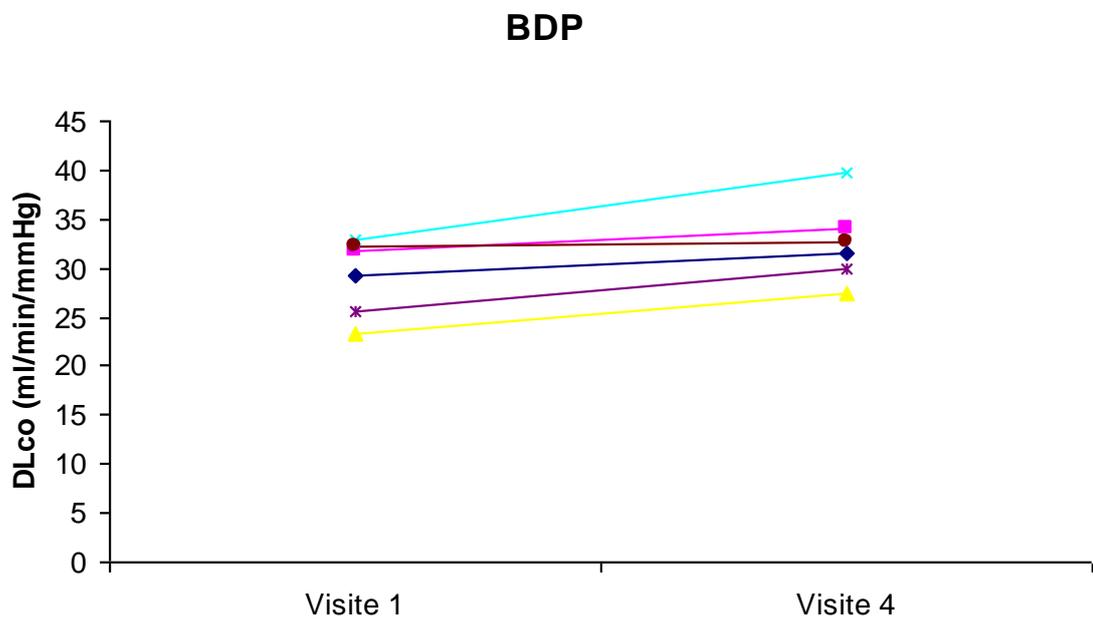
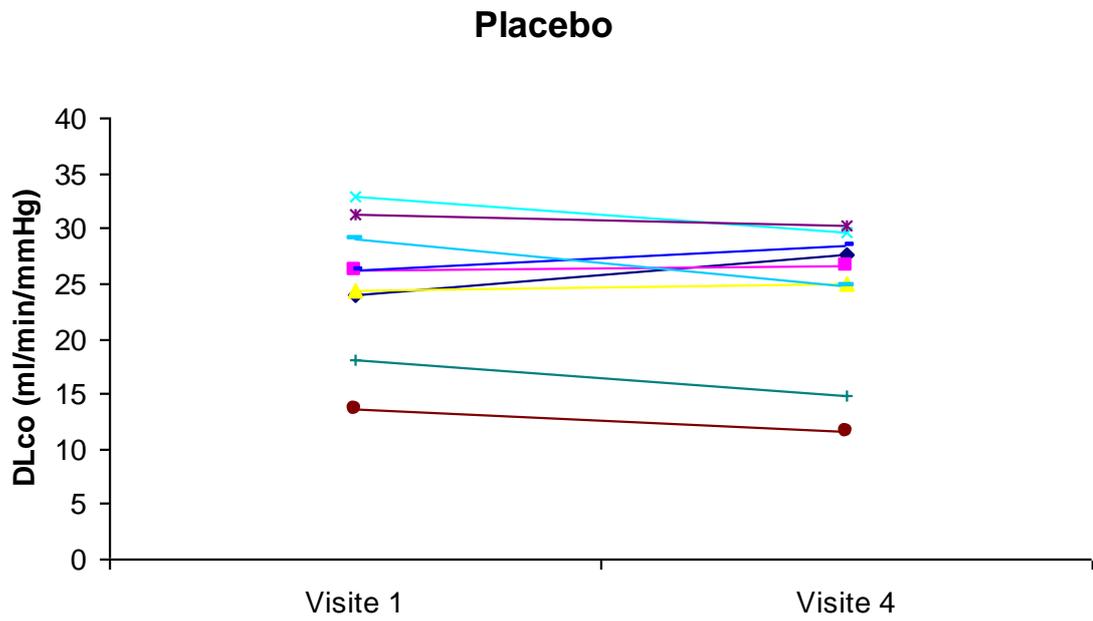
Abb. 5: IVC Visite1 vs Visite 4



Individuelle Patientenwerte der inspiratorischen Vitalkapazität (IVC(l)) vor (Visite1) und nach (Visite4) Behandlung mit Placebo oder BDP.

$p < 0.05$ V1 vs V4 (Placebogruppe).

Abb. 6: DLco Visite1 vs Visite 4



Individuelle Patientenwerte der Diffusionskapazität (DLco(mL/min/mmHg)) vor (Visite1) und nach (Visite4) Behandlung mit Placebo oder BDP.

$p < 0.05$ V1 vs V4 (Verumgruppe).

Blutgasanalyse und Spiroergometrie: Sowohl in der Placebo- als auch in der Verumgruppe unterlag die maximal erreichbare Wattzahl und die Blutgasanalyse vor, während und unmittelbar nach maximaler Belastung keinen signifikanten Veränderungen durch die Therapie. Dies galt sowohl für Beobachtungen innerhalb einer Gruppe, als auch im Vergleich zwischen den beiden Gruppen. (Tab. 8)/ (Anhang)

4.2.3. Laborbefunde

Ein Patient aus der Verumgruppe (Pat.002) entwickelte nach Randomisierung Leberenzymwerte, die mehr als das doppelte der Norm entsprachen, aber keiner Therapie bedurften. Es gab einen Verumpatienten (Pat.004), der einen positiven Hautallergietest aufwies und über saisonale Rhinitis in der Anamnese berichtete, der erhöhte IgE-Werte im Serum hatte. Bei einem Placebopatient (Pat. 019) fanden wir Gesamt-IgE-Werte bis 620 IU/ml ohne weitere Hinweise auf eine allergische Diathese. Eine Lymphozytopenie im Serum fand sich bei je 3 Patienten/Gruppe im Laufe der Studie. Ansonsten waren die erhobenen Werte (Hämatologie, Unrinanalyse, Klinische Chemie) im Verlauf der Studie unauffällig oder nicht klinisch signifikant.

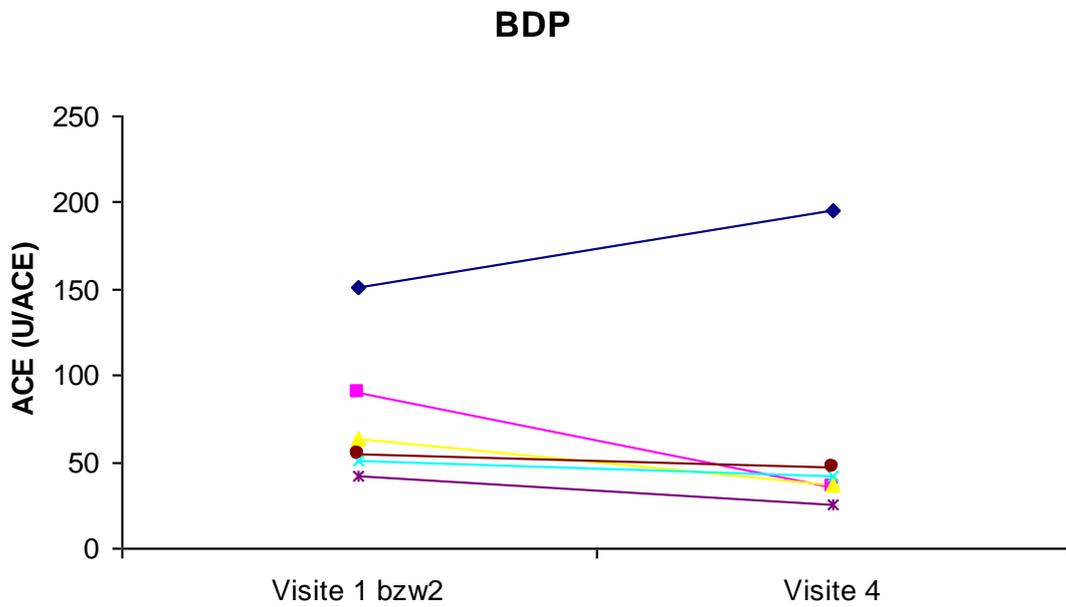
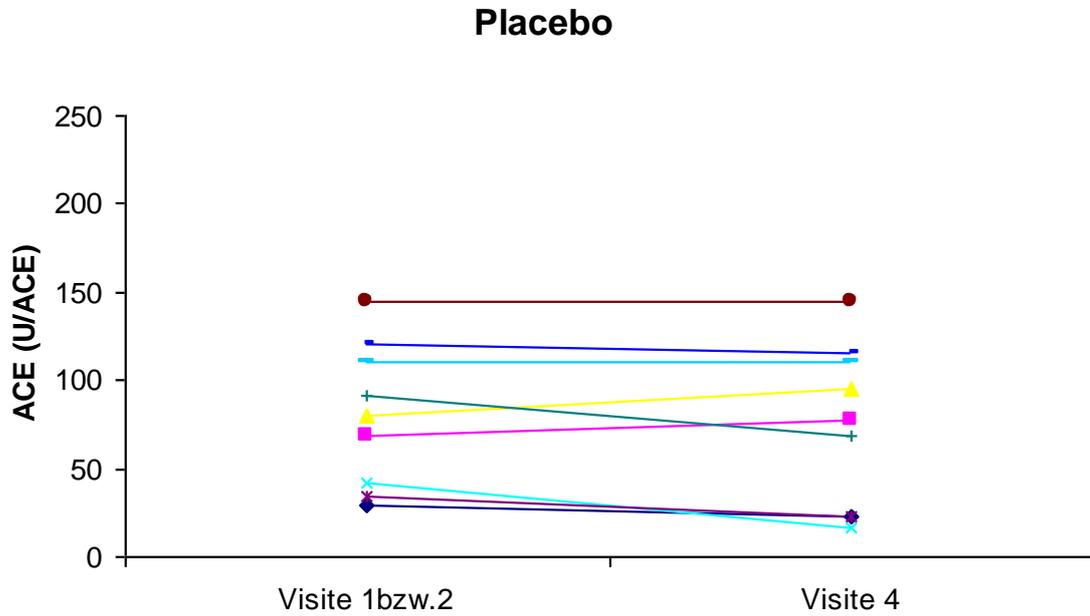
4.2.3.1. Serumparameter

Vor Therapiebeginn waren in der Placebo-bzw. Verumgruppe (diese nachstehend in Klammern) die Werte für ACE (Angiotensin-I-Converting-Enzym) bei 6 (5), für Lysozym bei 8 (5), für β_2 -Mikroglobulin bei 5 (3) und für Neopterin bei 4 (2) Patienten erhöht. Nach der Therapie konnten sich noch erhöhte Serumwerte für ACE (Angiotensin-I-Converting-Enzym) bei 6(1), für Lysozym bei 7(5), für β_2 -Mikroglobulin bei 5(3) und für Neopterin bei 3(1) Patienten finden. Obgleich sich in der BDP-Gruppe der Median für ACE (Tab.8) nicht signifikant änderte, hatte nach Therapie nur noch einer von ursprünglich 5 BDP- Patienten erhöhte ACE-Werte, in der Placebo-Gruppe waren es vor und nach Therapie unverändert 6 Patienten(Abb.7). Somit entwickelte sich das Verhältnis von pathologischen zu normalen Serumwerten von (BDP/Placebo) 5/6 vor zu 1/6 nach Therapie ($p=0.045$, zweiseitiger Proportionalitätstest)

Dagegen war in der BDP-Gruppe eine signifikante ($p < 0.05$; Tab.8) Verbesserung der Werte für β_2 -Mikroglobulin und Lysozym festzustellen, die allerdings nicht mit einer signifikanten Veränderung der pathologischen zu den normalen Werten einherging (Tab.8, Abb.9, 10).

Abb. 7: Serum ACE

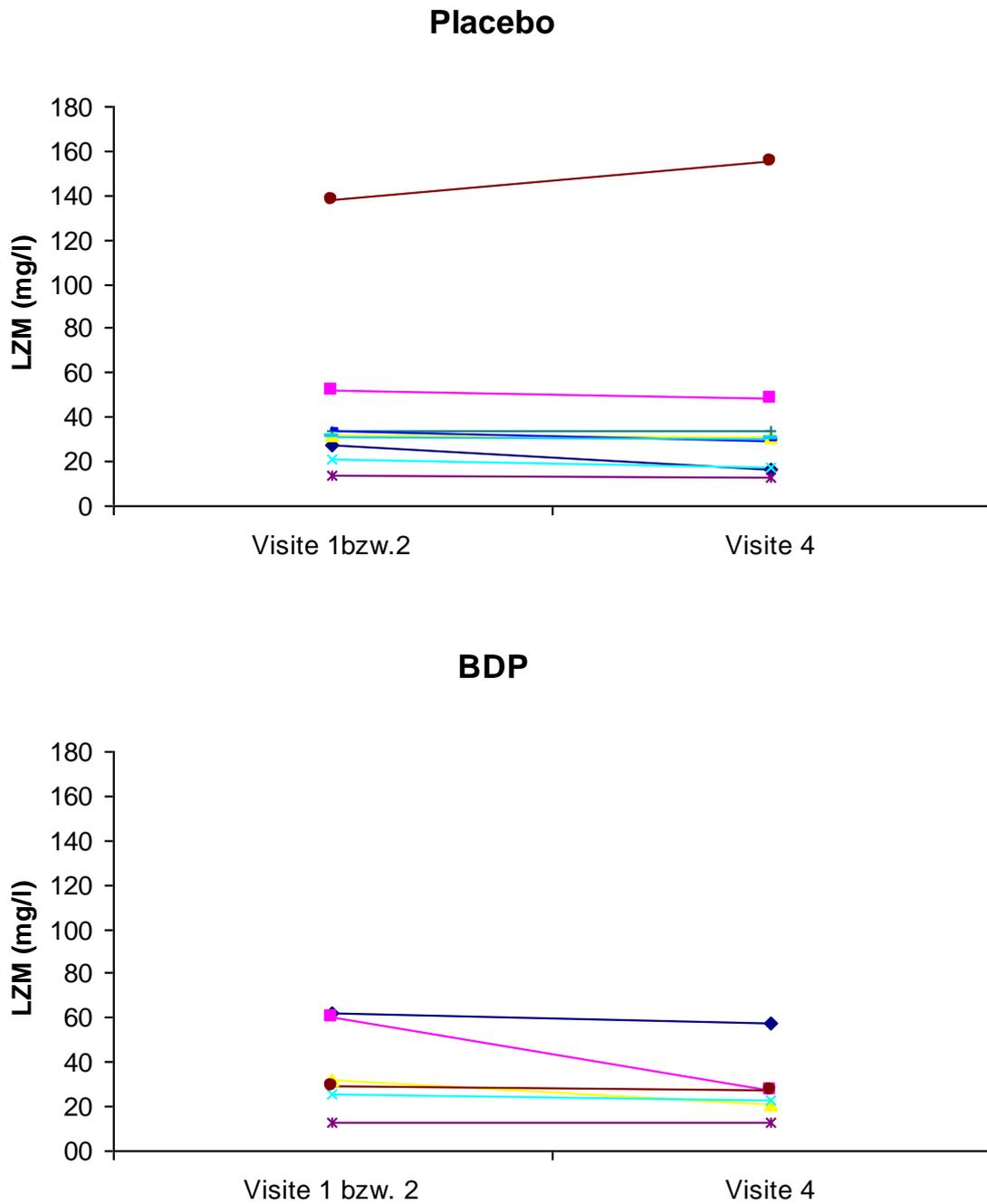
ACE (Normwerte: 18-55 U/ACE)



Individuelle Patientenwerte des Angiotensin-I-Converting-Enzyms vor (Visite1) und nach (Visite4) Behandlung mit Placebo oder BDP. Keine statistische Signifikanz. Verumpat. 002 mit hohen ACE Werten.

Abb. 8: Serum Lysozym

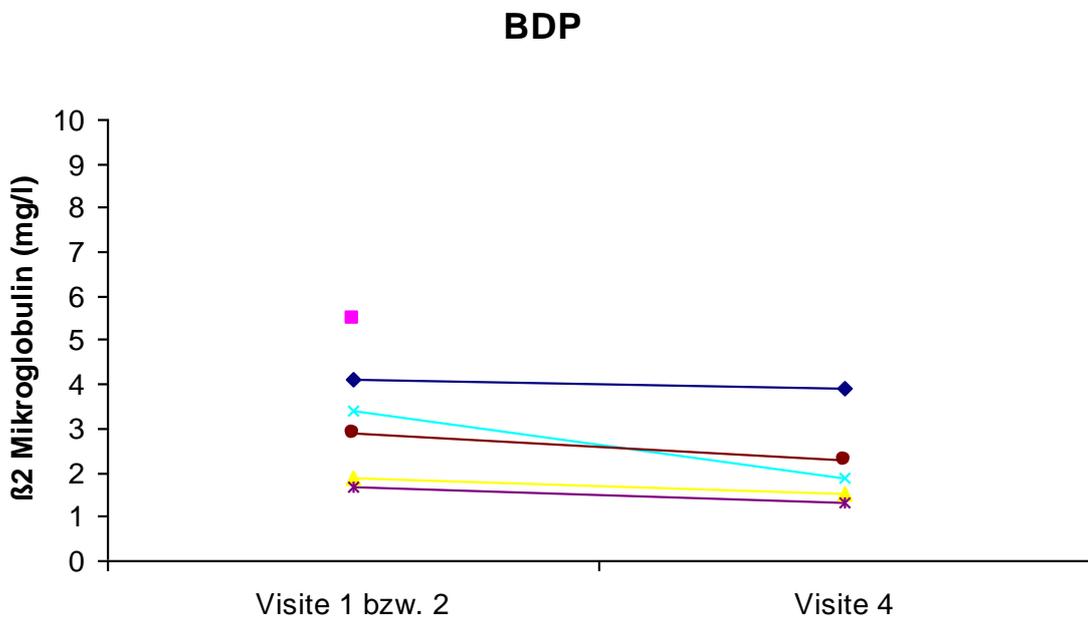
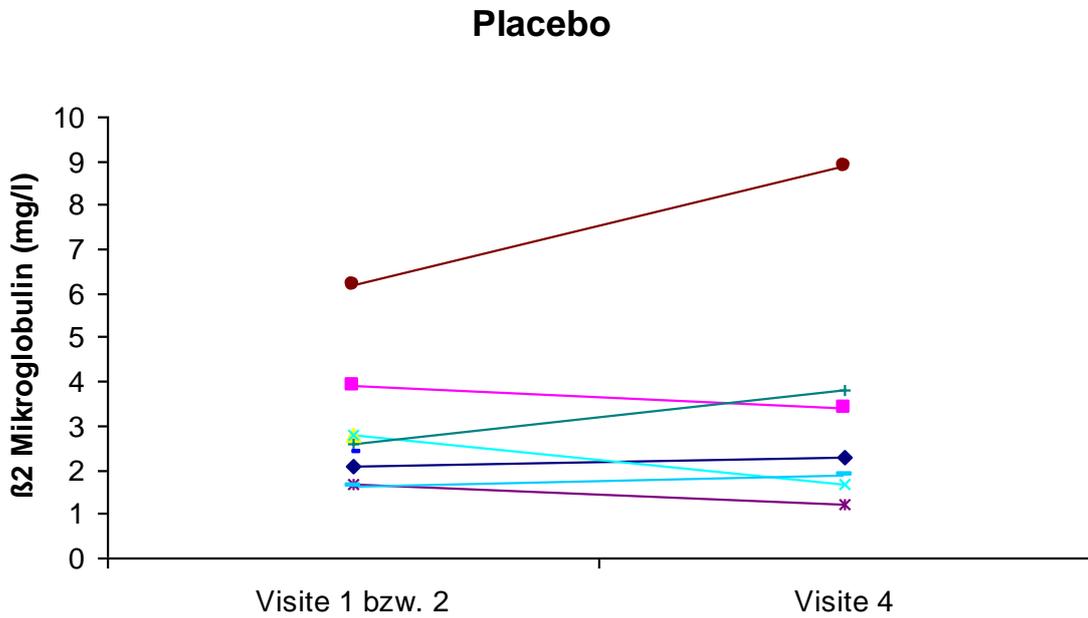
Lysozym (Normwerte: 10-17mg/l)



Individuelle Patientenwerte des Lysozyms vor (Visite1) und nach (Visite4) Behandlung mit Placebo oder BDP. $p < 0.05$ V1 vs V4 (Verumgruppe). Placebopat. 019 mit hohen LZM-Werten.

Abb. 9: Serum β_2 -Mikroglobulin

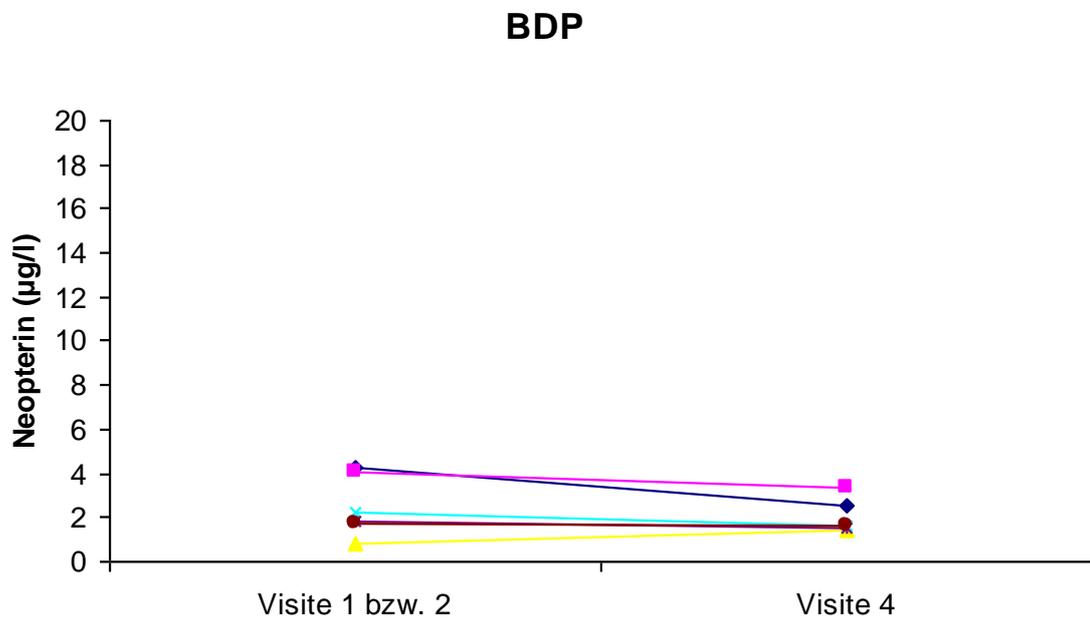
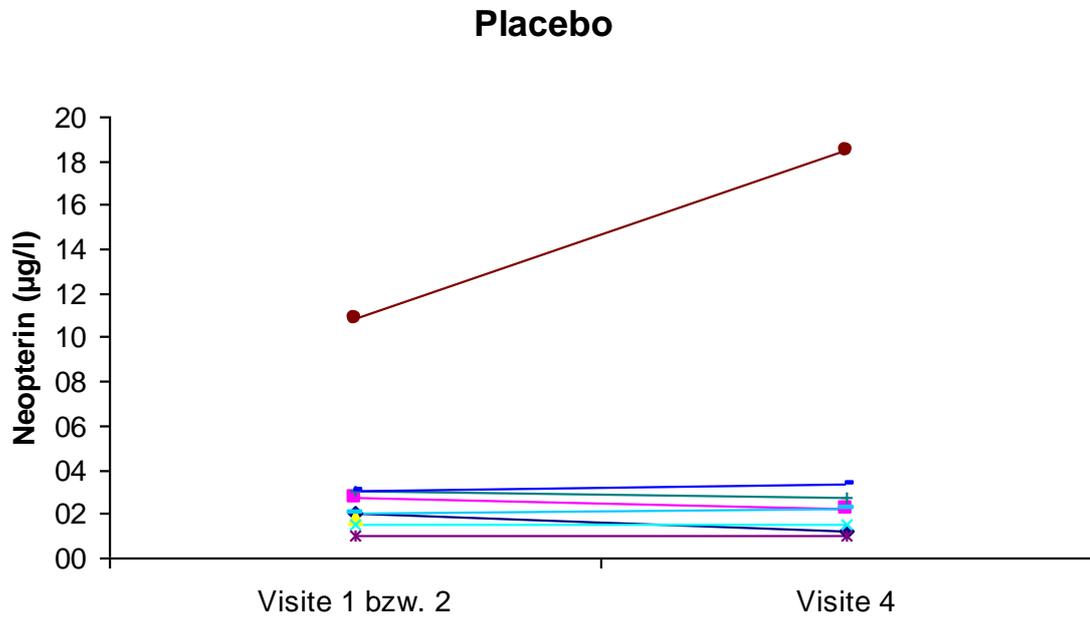
β_2 Mikroglobulin (Normwerte: 1,5-2,5 mg/l)



Individuelle Patientenwerte des β_2 -Mikroglobulins vor (Visite1) und nach (Visite 4) Behandlung mit Placebo oder BDP. $p < 0.05$ V1 vs V4 (Verumgruppe). Ein Verumpatient ohne Werte nach Therapie. Placebopat.019 mit hohen β_2 Mikroglobulinwerten.

Abb. 10: Serum Neopterin

Neopterin (Normwerte: $<2,5\mu\text{g/l}$)



Individuelle Patientenwerte des Neopterin vor (Visite1) und nach (Visite4) Behandlung mit Placebo oder BDP. Keine statistische Signifikanz. Placebopat.019 mit hohen Neopterinwerten.

4.2.4. Röntgenthorax

4.2.4.1. Mediastinum und Lungenparenchym

Die radiologischen Veränderungen im Mediastinum waren in der Verumgruppe signifikant nach 3 und 6 Monaten ($p < 0.05$; Tabelle 8). Bei 5 von 6 Patienten wurde eine radiologisch sichtbare Verbesserung des Mediastinums und bei einem Patienten ein Status quo beschrieben. Dagegen gab es bei der Placebogruppe Entwicklungen in beide Richtungen. Wir konnten radiologisch keine wesentlichen Veränderungen im Lungenparenchym feststellen.

Abb. 11: Röntgenthorax

Visite 1: Röntgentyp II



Visite 4: Röntgentyp 0

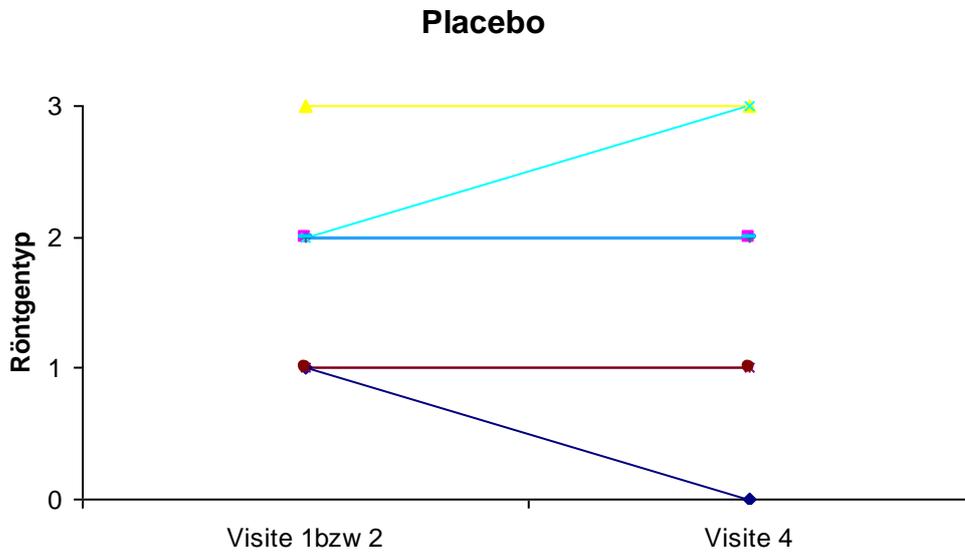


34 jähriger Patient (Verumpat. 004)

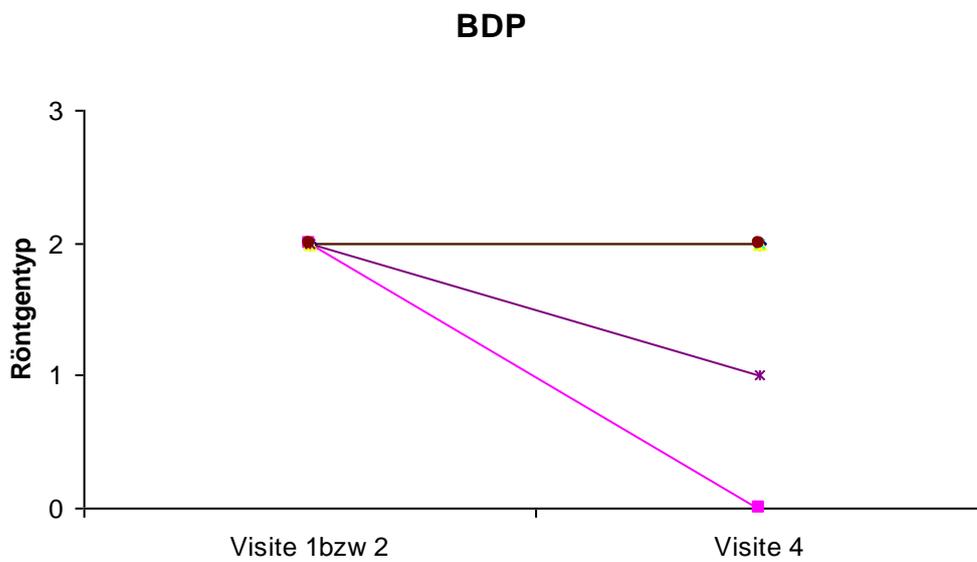
4.2.4.2. Röntgentyp

In der Placebogruppe gab es Röntgentypentwicklungen in beide Richtungen, in der Verumgruppe dagegen nur Veränderungen von Typ II in Typ I und 0 (Tabelle 8)

Abb. 12: Röntgentyp



Bemerkung :n= 4 für Typ II ,n=2 für Typ I unverändert



Bemerkung :n=4 für Typ II unverändert

4.2.5. Dysphonie und Symptomenscore

Dysphonie und orale Candida albicans Infektion

Innerhalb der Placebogruppe gab es eine Patientin, die vor Studienmedikamenteneinnahme in V1 einen Mundsoor hatte und in V2 über verstärkte Heiserkeit klagte. Sie war eine der beiden Patienten, die bereits vor der Studie mit inhalativem Kortison therapiert wurde, welches gemäß den Einschlusskriterien 4 Wochen vor V1 abgesetzt worden war. Innerhalb der Placebo bzw. Verum-Gruppe beschrieben noch je 1 Patient eine vorübergehende Beeinträchtigung durch Dysphonie und/oder Halsschmerzen. Bei zwei anderen Patienten der Verum-Gruppe konnte eine orale Candida albicans Infektion einmal während Visite 1, also nicht „drug related“, und einmal zur Abschlussvisite diagnostiziert und erfolgreich therapiert werden.

Symptomenscore

Es fanden sich keine statistisch relevanten Daten.

Krankheitsgefühl: In beiden Gruppen korrelierte das Gefühl krank zu sein mit keinem anderen Parameter. Einschätzungen in Richtung Verbesserung oder Verschlechterung kam in beiden Gruppen gleichmäßig verteilt vor.

Dyspnoe: Im Vergleich von Visite 1 und 4 blieb die Bewertung des Symptoms Dyspnoe in beiden Gruppen unverändert bei „nicht vorhanden (0) oder mild (1), mit der Ausnahme, dass je ein Placebopatient eine Verschlechterung, die auch klinisch mit einer Verschlechterung der Diffusionskapazität einherging, und ein anderer eine Verbesserung um eine Stufe zum Ausgangswert empfand.

Müdigkeit/ Husten: Je 3 von 6 BDP-Patienten, die vor der Therapie über Husten (Score 2) oder Müdigkeit (Score 2 und 1) klagten, gaben in Visite 4 keinen Husten oder Müdigkeit mehr an (Score 0), bei den anderen Verumpatienten blieb der Score unverändert. Der verminderte Husten mag ein Hinweis auf die positive Wirkung des inhalativen Kortikoids sein. Die Beurteilung der Intensität des Hustens und der Müdigkeit entwickelte sich in der Placebogruppe in beide Richtungen.

4.2.6. Lebensqualitätsfragebogen SF36

Die Auswertung der SF-36 Daten übernahm Dr. Matthias. Morfeld, Institut und Poliklinik für Medizinische Psychologie, Universitätsklinikum Hamburg.

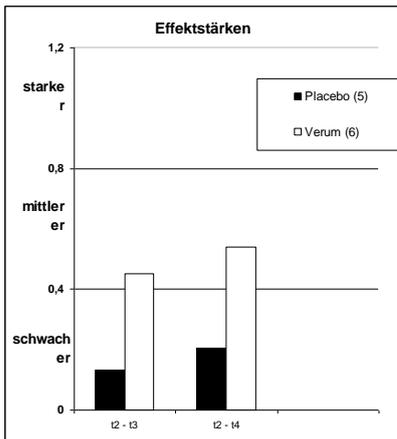
Er erstellte für die acht Subskalen sowie die beiden Summenskalen Körper und Psyche für jeden der drei Messzeitpunkte (Visite 2, 3, 4) Mittelwerte und Standardabweichung, berechnete und stellte grafisch die Effektstärken zur Basis t2 nach Cohen da.

Ergebnis: Es fanden sich keine statistisch signifikanten Unterschiede hinsichtlich des zeitlichen Verlaufs unabhängig vom Faktor, zusätzlich keine Unterschiede zwischen den Faktoren unabhängig vom zeitlichen Verlauf. Ursache hierfür kann auch die geringe Stichprobengröße, oder/und Verluste durch „missing data“ in der Placebogruppe (Pat.014 (V2),018 und 021 (V4)) sein[84].

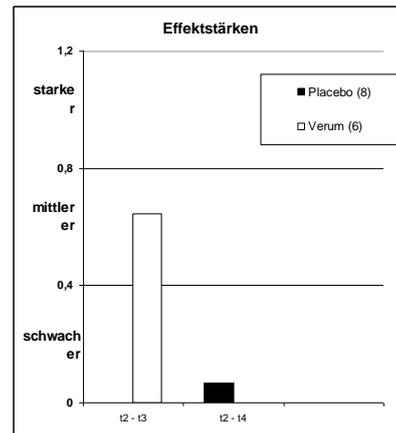
Bei den Effektstärken fanden sich nicht statistisch signifikante, aber deutlich sichtbare Unterschiede in den Effektstärken der psychischen Summenskala (psk), emotionalen Rollenfunktion (rolem), Vitalität (vital) und körperlichen Funktionsfähigkeit (pfi) zu Gunsten der Verumgruppe.

Abb. 13: SF 36 Effektstärken

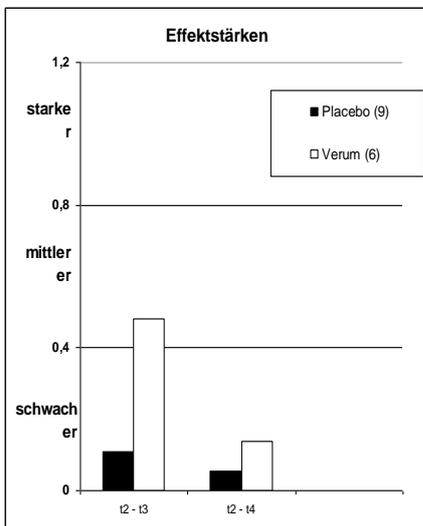
Psk (Psychische Summenskala)



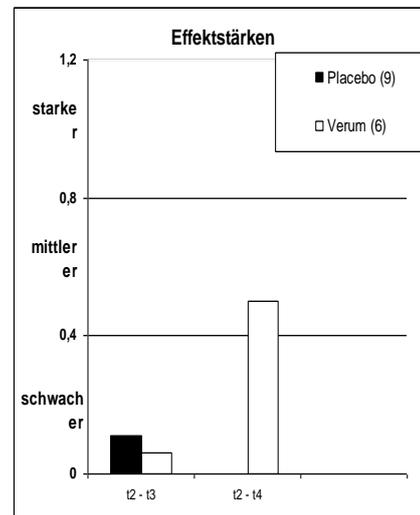
Rolem (Emotionale Rollenfunktion)



Vital (Vitalität)



Pfi (Körperliche Funktionsfähigkeit)



Bewertung der Zeiträume zwischen Visite 2 und 3 (t2-t3) und Visite 2 und 4 (t3-t4)

Abb. 14: SF-36 Einzel-und Summenskalen

Darstellung der Einzel-und Summenskalen des SF-36 für Visite 2(t2), 3(t3), 4(t4)

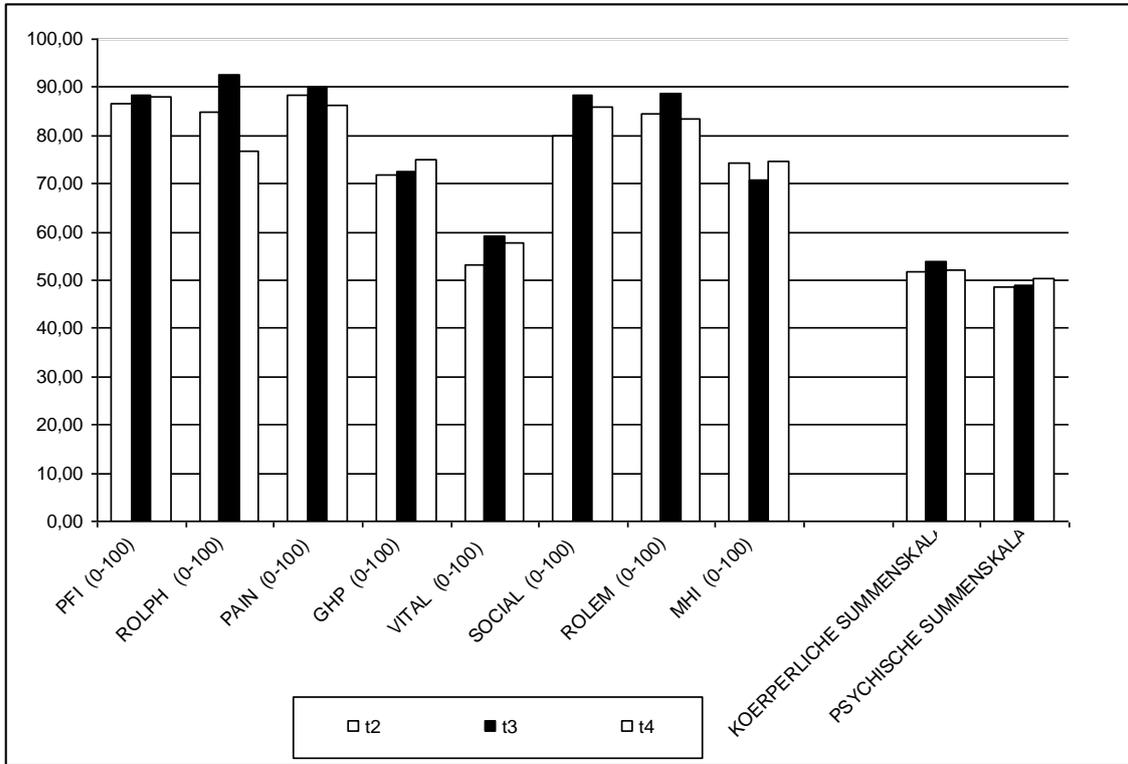
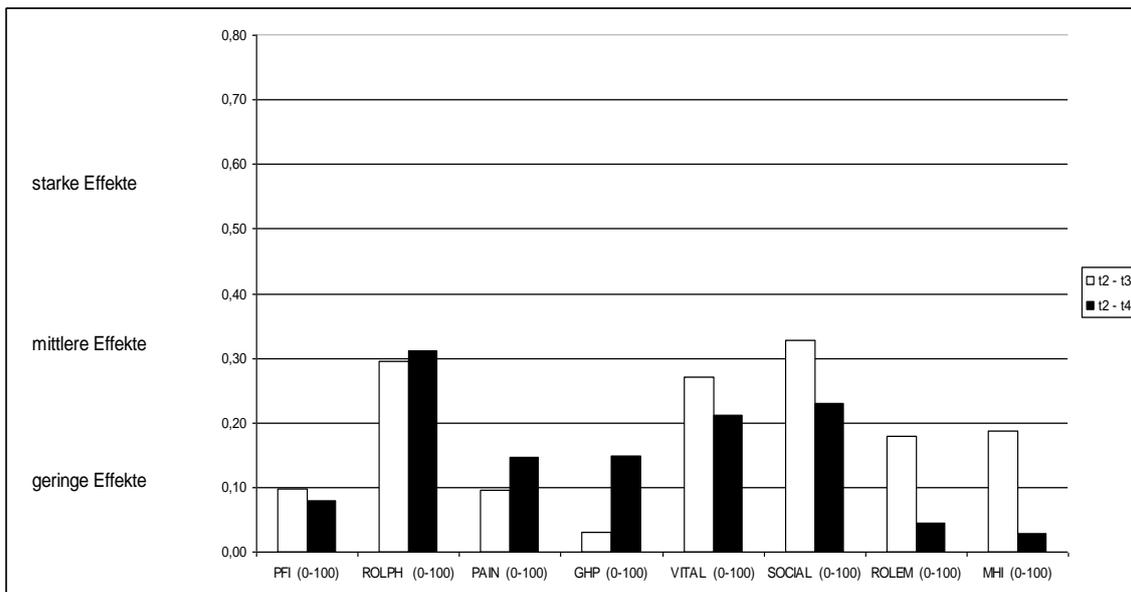


Abb. 15: SF-36 Effektstärken für die 8 Einzelskalen (t2-t3, t2-t4)

Darstellung der Effektstärken für die 8 Einzelskalen im Bezug auf t2-t3, t2-t4



Tab. 8: Ergebnisse der funktionalen und klinischen Untersuchungen

Behandlung		Placebo		BDP	
		vor	nach	vor	nach
Röntgentyp (0/I/II/III)		0/3/5/1	1/2/4/2	0/0/6/0	1/1/4/0
<u>Radiol. Veränderungen :</u>					
im Mediastinum [§]	Punktzahl	1 (1) [#]	0 (1)	1.5 (2) ^{#, &}	2.5 (2) ^{&}
im Parenchym [§]	Punktzahl	0 (0) [#]	0 (0)	1 (2) [#]	1 (2)
<u>Lungenfunktion</u>					
FEV ₁	L	3.44 ± 0.29	3.54 ± 0.29	3.98 ± 0.47	4.31 ± 0.46*
FEV ₁	%pred	97 ± 5	100 ± 4	96 ± 8	104 ± 8*
IVC	L	4.31 ± 0.40	4.46 ± 0.39*	5.05 ± 0.47	5.07 ± 0.49
TL _{CO}	mL/min/mmHg	25.0 ± 2.0	24.3 ± 2.2	29.1 ± 1.6	32.5 ± 1.7*
TL _{CO}	%pred	82 ± 5	79 ± 6	85 ± 3	95 ± 4*
<u>Spiroergometrie</u>					
Max. Belastung am Ergometer	Watt	176 ± 19	181 ± 20	200 ± 21	187 ± 26
PaO ₂ bei max. Belastung	mmHg	90.0 ± 3.3	89.0 ± 2.7	87.2 ± 3.1	88.0 ± 2.6
PaCO ₂ bei max. Belastung	mmHg	38.8 ± 1.5	37.2 ± 1.1	39.4 ± 2.3	39.1 ± 1.6
<u>Serumparameter</u>					
ACE im Blut ^{§,§} (18-55)	U/L	78 (68)	77 (87)	59 (39)	40 (11)
Lysozym ^{§,§} (10-17)	mg/L	32 (7)	30 (16)	31 (34)	25 (6)*
β ₂ -Mikroglobulin ^{§,§} (1.2-2.5)	mg/L	2.6 (0.7)	2.3 (1.7)	3.2 (2.2)	1.9 (0.8)*
Neopterin ^{§,§} (<2.5)	µg/L	2.0 (1.1)	2.2 (1.7)	2.0 (2.4)	1.6 (1.0)

FEV₁ = Forciertes expiratorisches Volumen in der ersten Sekunde (Atemstoß), IVC = Inspiratorische Vitalkapazität, TL_{CO} = Transferfaktor der Lunge für Kohlenmonoxid. Werte als arithmetisches Mittel und SEM, [§]alternative Angabe in Median und Quartilabstand (in Klammern). [#] Diese Daten beziehen sich auf die Visite 3, 3 Monate nach Behandlungsbeginn. [§] Normwerte in Klammern. *p<0.05 vor vs nach, [&]p<0.05 Differenz gegenüber Null gemäß dem Konfidenzintervall.

4.2.3. Bronchoskopie

4.2.3.1. Bronchoalveoläre Lavage

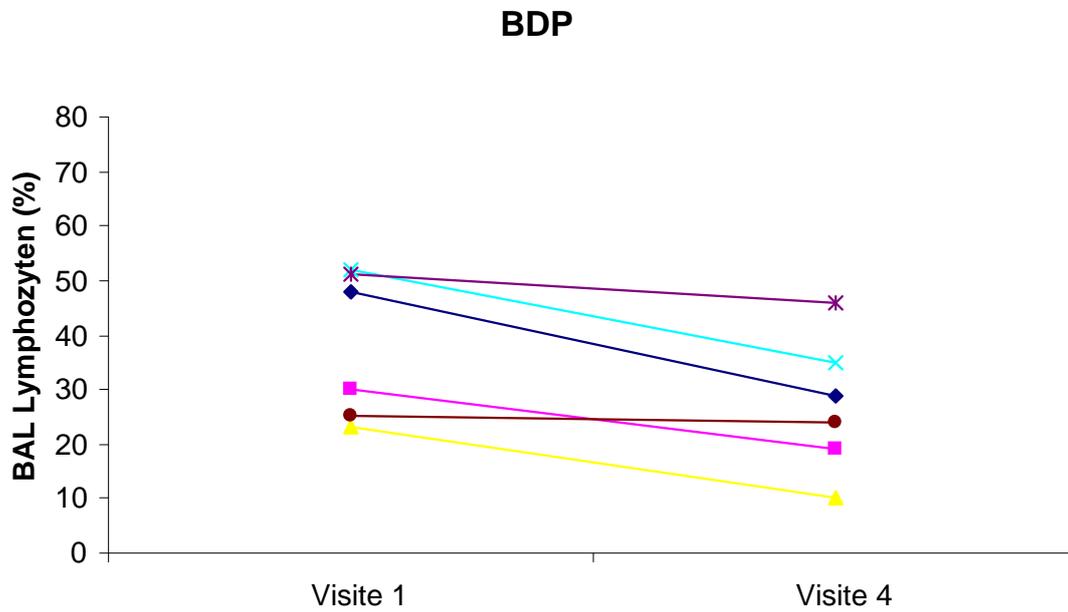
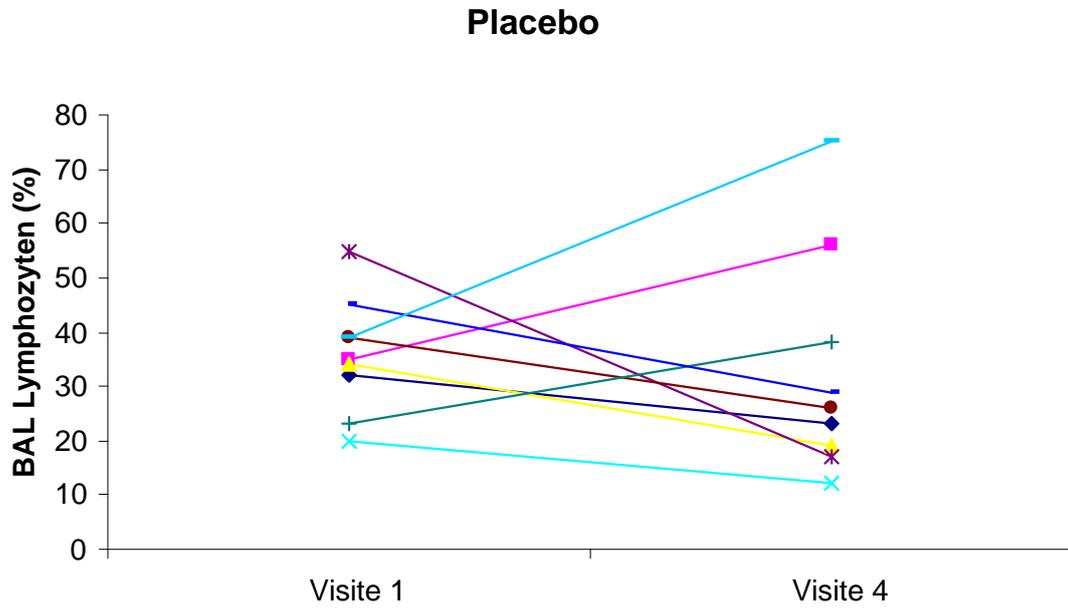
4.2.3.1.1. Rückgewinnungsrate (Recovery)

Die Rückgewinnungsrate der nach installierter physiologischer NaCl-Lösung gewonnenen BAL-Flüssigkeit betrug unabhängig von den Gruppen vor Therapie 57% und nach 6 Monaten 62%. Dies ist eine akzeptable Größe im Vergleich mit Arbeitsgruppen wie Ettersohn et al [85] und Costabel (Mittellappen und Lingula) [86], die durchschnittliche Werte von 63% und 75% bei Gesunden angeben.

4.2.3.1.2. Analyse der zellulären Bestandteile

Die Analyse der zellulären Bestandteile der BAL mittels Zytospin ließ eine deutliche Verringerung des prozentualen Anteils der Lymphozyten ($p=0.028$) und eine entsprechende Erhöhung des prozentualen Makrophagenanteils ($p=0.043$) innerhalb der BDP Gruppe erkennen. (Tab.9; Abb.16,17). Weitere statistisch signifikante Änderungen innerhalb oder zwischen der BDP und Placebogruppe fanden wir nicht. Dies betrifft auch Daten zur absoluten Zellzahl, zum CD4- und CD8 Anteil innerhalb der Lymphozytenpopulation als auch dem CD4/CD8 Quotienten. Die Analyse der BAL mittels Durchflusszytometrie bestätigte die Reduktion des prozentualen Anteils der Lymphozyten in der BDP Gruppe ($p=0.046$); Tab.9, Abb. 18,19). Eine Veränderung in der Placebogruppe war auch hier nicht sichtbar. Sowohl Zytospin als auch durchflusszytometrische Daten zeigen somit gleichermaßen signifikante Ergebnisse in der BDP Gruppe, sodass wir die Änderung des prozentualen Lymphozytenanteils nach der Behandlung mit inhalativem BDP/Placebo gemittelt haben, um statistisch eindeutiger Aussagen präsentieren zu können. Es zeigte sich ein deutlicher Unterschied zwischen der Verum- und Placebogruppe (mittlere Änderung (\pm SEM) Verum $\Delta = -12.5 \pm 3.5\%$ vs Placebo $\Delta = 0.9 \pm 5.4\%$; $p=0.0277$, einseitiger T-test).

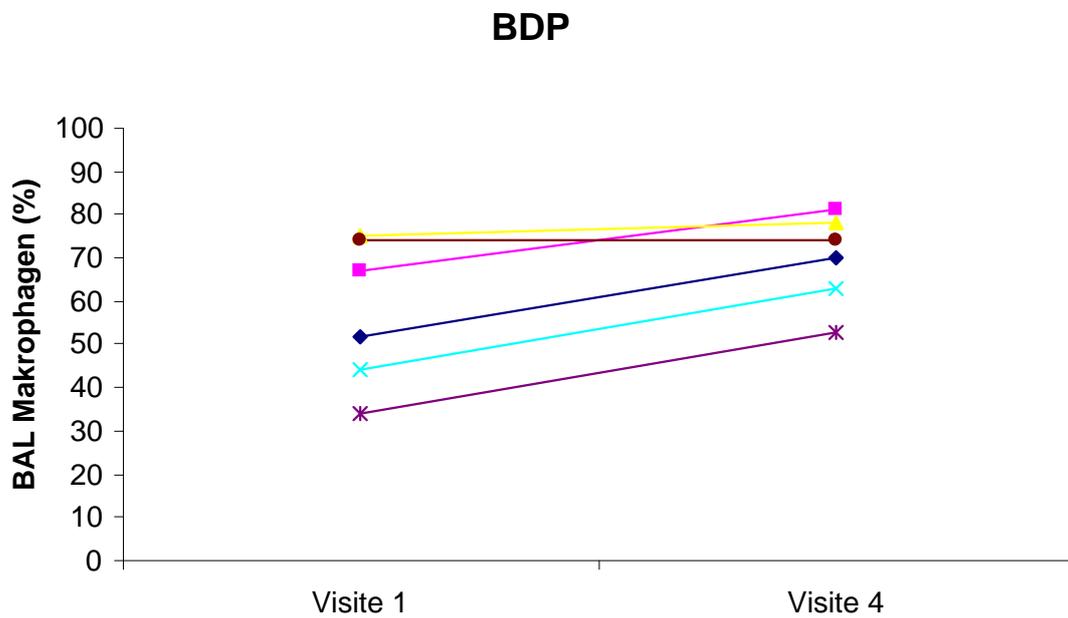
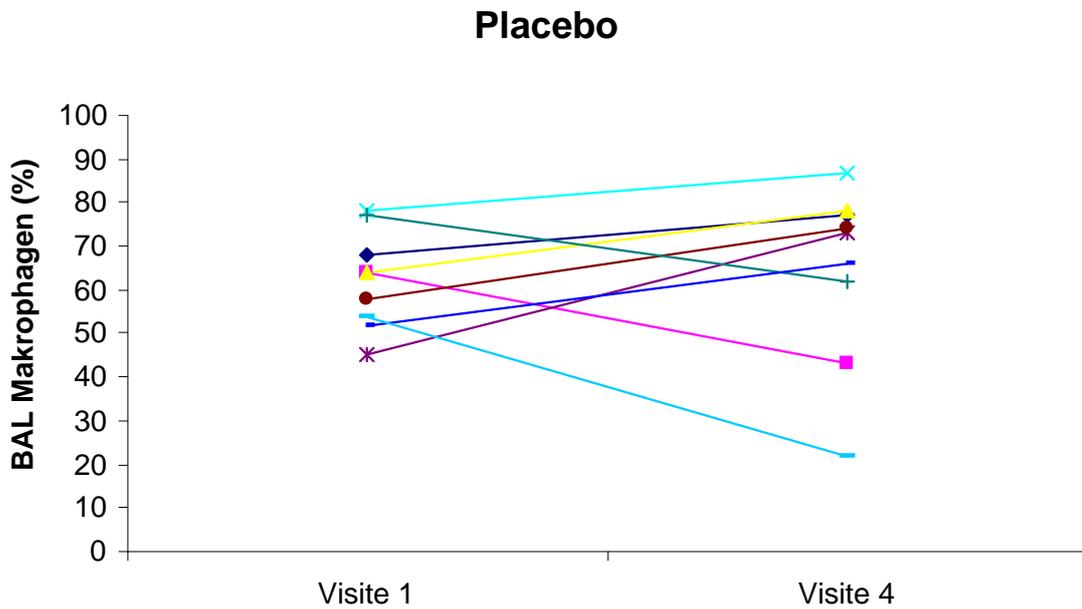
Abb. 16: BAL-Analyse (Zytospindaten) Lymphozyten (%)



Individuelle Patientenwerte (in Prozent) der Lymphozyten in der BAL Flüssigkeit vor (Visite1) und nach (Visite4) Behandlung mit Placebo oder BDP. Zytospindaten.

p=0.028 V1 vs V4.

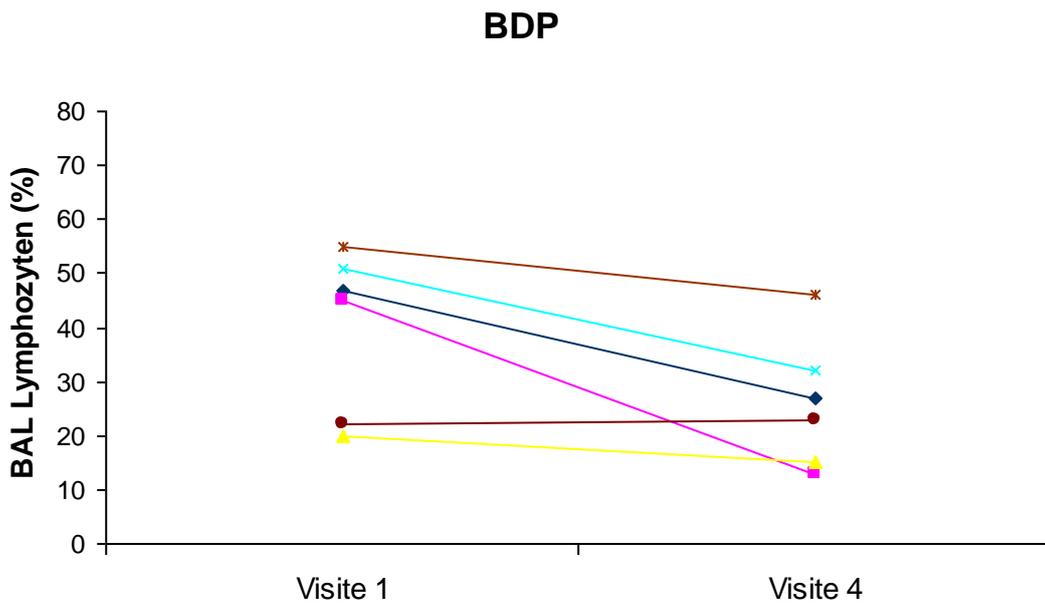
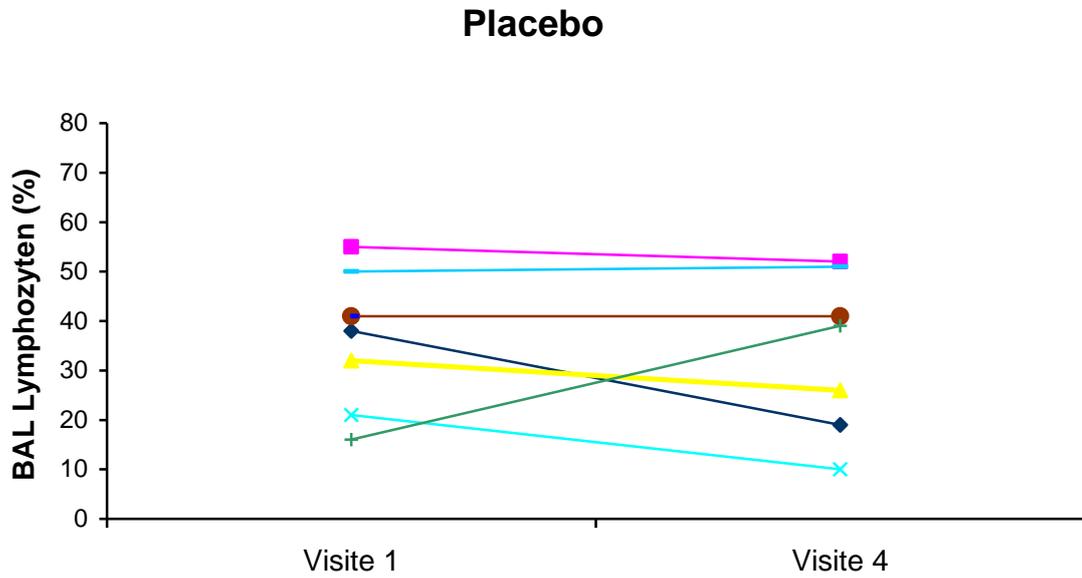
Abb. 17: BAL-Analyse (Zytospindaten) Makrophagen (%)



Individuelle Patientenwerte (in Prozent) Makrophagen in der BAL Flüssigkeit vor (Visite1) und nach (Visite4) Behandlung mit Placebo oder BDP. Zytospindaten.

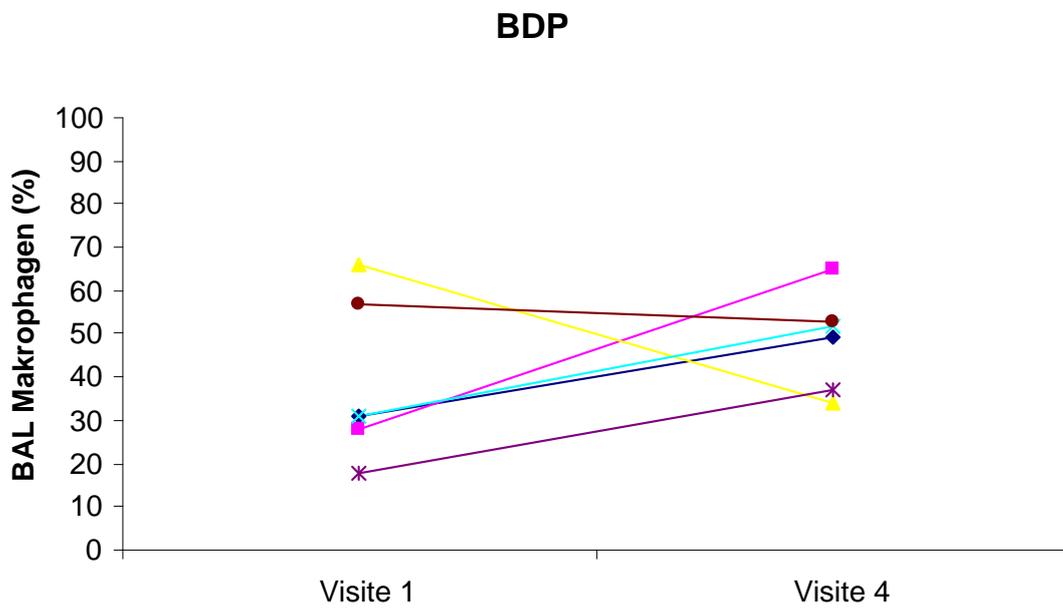
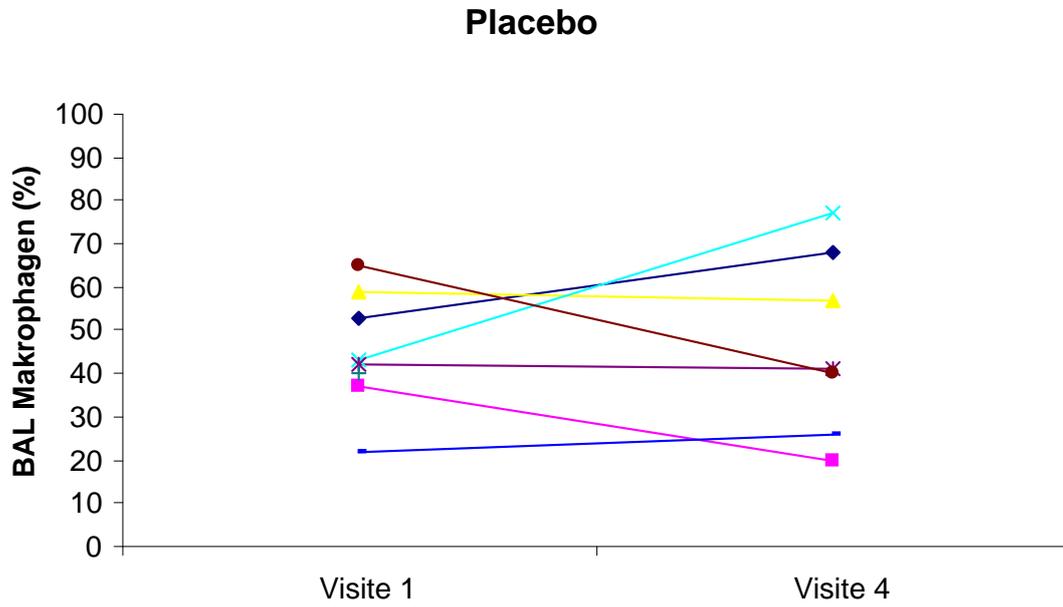
p=0.043 V1 vs V4.

Abb. 18: BAL-Analyse (Durchflusszytometriedaten) Lymphozyten (%)



Individuelle Patientenwerte (in Prozent) der Lymphozyten in der BAL Flüssigkeit vor (Visite1) und nach (Visite4) Behandlung mit Placebo oder BDP. Durchflusszytometrie
p=0.046 V1 vs V4.

Abb. 19: BAL-Analyse (Durchflusszytometriedaten) Makrophagen (%)



Individuelle Patientenwerte (in Prozent) der Lymphozyten in der BAL Flüssigkeit vor (Visite1) und nach (Visite4) Behandlung mit Placebo oder BDP. Durchflusszytometrie.

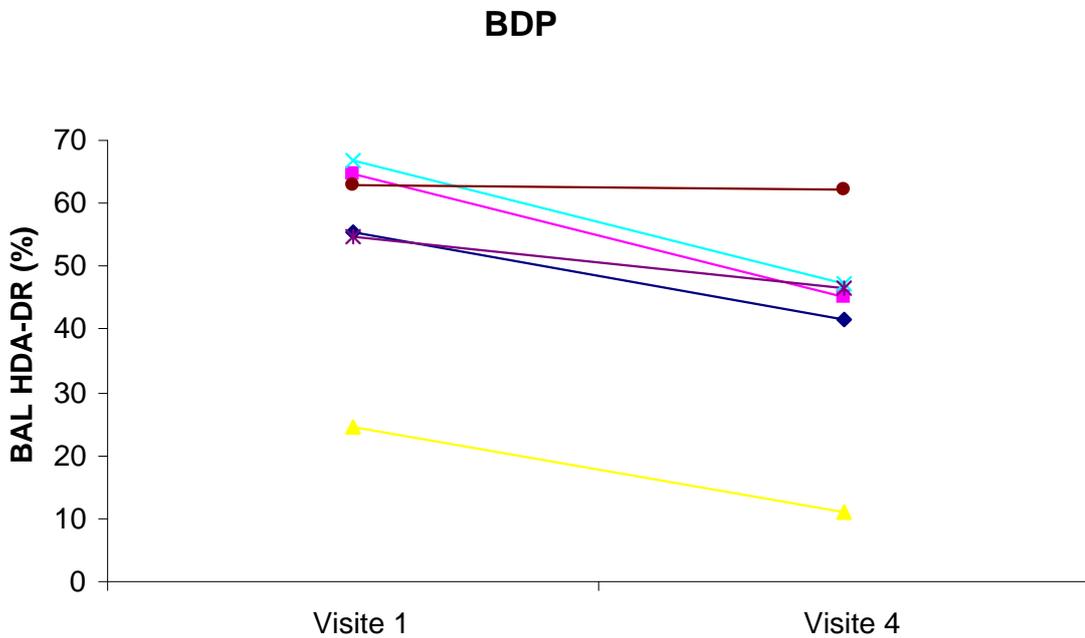
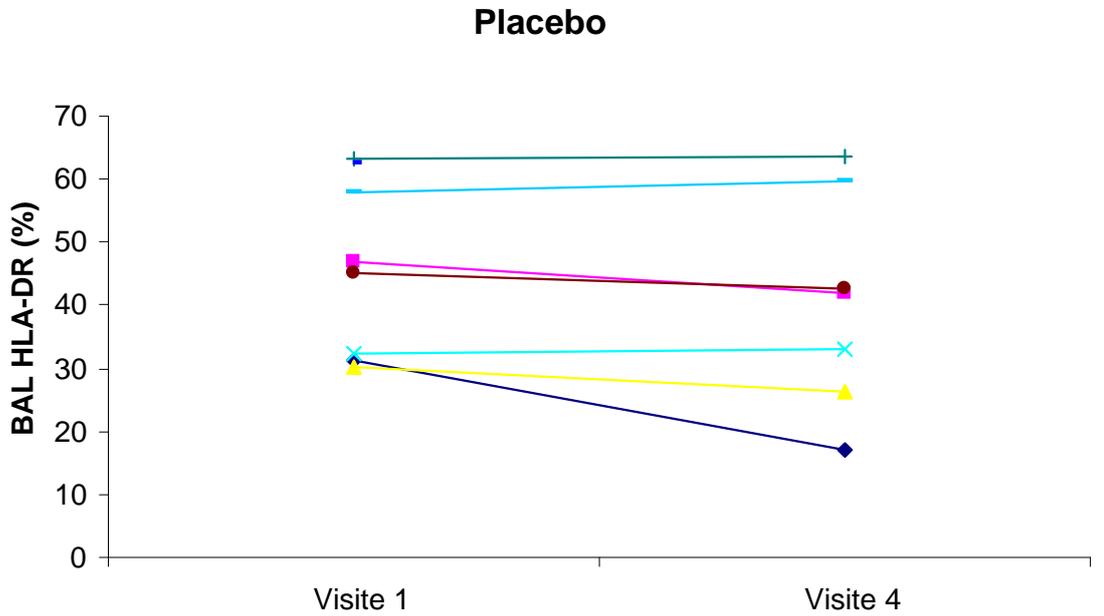
$p < 0.05$ V1 vs V4.

4.2.3.1.3. Analyse immunologischer Marker (Durchflusszytometrie)

Die Expression von analysierten Aktivierungsmakern der T-Lymphozyten wie IL-2 Rezeptoren und CD69 änderte sich während der Studie in keiner Gruppe eindeutig, obgleich in der Placebogruppe eine Tendenz zur Abnahme der CD69 Expression ($p=0.06$) sichtbar wurde. Der prozentuale Anteil von HLA-DR bei den Verumpatienten dagegen nahm signifikant ab ($p=0.028$; Tab. 9). Der Anteil von Zellen, die auf die Stimulation der intrazellulären Zytokine Tumor Nekrose Faktor (TNF)- α und Interferon (IFN)- γ reagierten, scheint nach der Therapie mit BDP ($p=0.07$ für TNF α und IFN γ) gestiegen zu sein, jedoch lässt sich auf Grund des limitierten Datensatzes ($n= 4$ Patienten/ vor und nach Therapie) keine statistisch seriöse Aussage machen.

Nicht stimulierte Zellen zeigten insgesamt eine geringe Produktion von Interleukin (IL2), Tumor Nekrose Faktor (TNF)- α und Interferon (IFN)- γ . Dies traf für beide Gruppen zu und änderte sich auch nicht signifikant nach 6 Monaten. Die Anzahl zytokinpositiver Zellen lag im Durchschnitt bei 0.5-1.0%

Abb. 20: BAL-Analyse (Durchflusszytometriedaten) HLA-DR⁺ (%)



Individuelle Patientenwerte (in Prozent) des HLD-DR⁺ in der BAL Flüssigkeit vor (Visite1) und nach (Visite4) Behandlung mit Placebo oder BDP. Durchflusszytometrie.

p=0.028V1 vs V4 (Verumgruppe)

Tab. 9: Ergebnisse der BAL-Analyse

Behandlung		Placebo		BDP	
		vor	nach	vor	nach
Gesamtzellzahl ^{#,§,+} (2.6-13.3)	x10 ⁶	2.33 ÷ 1.17	1.80 ÷ 1.19	2.17 ÷ 1.44	2.41 ÷ 1.44
<u>Zytospin</u>					
Makrophagen ⁺ (86-89%)	%	62.2 ± 3.7	64.7 ± 6.8	57.7 ± 6.9	69.8 ± 4.2*
Neutrophile ⁺ (0-3 %)	%	1.1 ± 0.8	2.0 ± 1.1	1.8 ± 0.7	2.8 ± 1.9
Lymphozyten ⁺ (0-10 %)	%	35.8 ± 3.5	32.8 ± 6.8	38.2 ± 5.5	27.2 ± 5.1*
CD4 ^{&}	%	65.1 ± 4.7	60.8 ± 4.6	69.7 ± 7.6	71.2 ± 7.5
CD8 ^{&}	%	28.3 ± 4.3	24.9 ± 4.5	21.8 ± 9.3	22.4 ± 5.4
CD4/CD8 [§]	%	2.5 ÷ 1.3	2.6 ÷ 1.3	5.0 ÷ 1.8	3.7 ÷ 1.5
<u>Durchflusszytometrie</u>					
Lymphozyten	%	36.8 ± 4.7	34.0 ± 6.1	40.0 ± 6.2	26.0 ± 5.0*
CD4 ^{&}	%	68.4 ± 4.5	62.4 ± 6.1	70.0 ± 9.6	60.2 ± 11.9
CD8 ^{&}	%	25.5 ± 4.3	29.7 ± 5.6	23.9 ± 10.9	34.8 ± 10.5
CD4/CD8 [§]	%	2.9 ÷ 1.3	2.3 ÷ 1.4	4.5 ÷ 1.8	2.1 ÷ 1.9
IL-2 Rezeptor ^{&,\$}	%	5.6 (1.6)	7.3 (4.5)	6.8 (3.2)	6.1 (2.9)
HLA-DR ^{&,\$}	%	46.0 (28.5)	41.8 (33.2)	59.1 (10.1)	46.0 (5.4)*
CD69 ^{&,\$}	%	76.7 (18.1)	73.2 (30.9)	77.3 (18.0)	82.2 (13.9)
stimuliert IL-2 Produktion ^{&,\$}	%	67.6 (19.8)	48.8 (39.5)	26.4 (32.4)	42.0 (37.6)
stimuliert IFN- γ Produktion ^{&,\$}	%	52.1 (24.2)	37.4 (43.8)	16.5 (5.8)	31.1 (16.9)
stimuliert TNF- α Produktion ^{&,\$}	%	61.8 (19.2)	49.9 (51.8)	20.9 (9.3)	28.7 (11.9)

[#]Gemessen mittels Haemacytometer. ⁺Normale Werte für Nichtraucher in Klammern. [&]Relativ zu der Anzahl der T (CD3+) Zellen. Arithmetischer Mittelwert und SEM sind gegeben, [§]alternativ Median und Quartilsabstand (in Klammern). [§]Mittelwert und SEM gekennzeichnet durch (÷). *p<0.05 vor vs nach Therapie

4.2.4. Sputum

Je Visite wurde eine Sputuminduktion pro Patient durchgeführt. 30% der Sputen konnten nicht verwertet werden, entweder weil die Patienten es nicht produzieren konnten oder weil die Qualität mangelhaft war, was sich in einem hohen Anteil von Plattenepithelien und einem zu geringem Anteil an verwertbaren Zellen widerspiegelte. Die Auswertung der noch zur Verfügung stehenden Daten ergab keine statistisch relevante Veränderung der zellulären Anteile des Sputums innerhalb der Gruppen oder im Vergleich zueinander.

4.2.4.1. TNF α im Sputumüberstand

Da der Überstand aus dem gewonnenen Sputum abzentrifugiert wird, haben wir leider auch hier eine Rate von nur 70% (42 von 60 Sputen) verwertbarem Material, das selten als Datenpaar messbar war und so auch hier keine verwertbaren Ergebnisse erzielt werden konnten.

Tab. 10: TNF α im Sputumüberstand

Patient no.	(Placebo) TNF α (pg/mL)			
	Visite 1	Visite 2	Visite 3	Visite 4
001	nicht produzierbar	60,2	nicht verwertbar	nicht verwertbar
005	0,0	66,2	3,0	0,0
006	Nicht durchgeführt	41,2	nicht verwertbar	nicht verwertbar
014	nicht produzierbar	0,0	1,2	0,0
015	0,00	0,0	256	0,0
019	199,4	20,1	86,4	66,1
018	0,0	39,8	49,2	nicht verwertbar
021	0,0	nicht verwertbar	nicht verwertbar	nicht verwertbar
020	nicht verwertbar	0,0	0,0	0,0

Patient no.	(BDP) TNF α			
	Visite 1	Visite 2	Visite 3	Visite 4
002	0,0	127,8	39,8	nicht verwertbar
004	27,9	1,8	0,0	0,0
003	0,0	nicht verwertbar	0,0	0,0
013	nicht verwertbar	79,6	nicht verwertbar	16,5
016	47,0	42,2	0,0	0,0
017	61,4	nicht verwertbar	87,8	nicht verwertbar

5. DISKUSSION

Wir wählten für unsere Studie ein doppelblindes, randomisiertes, placebokontrolliertes, paralleles Gruppen Design. Die Gabe von Placebo lässt sich ethisch gut vertreten, da bei neu diagnostizierten Patienten, die keine systemische Therapie benötigen, wegen der bekannten hohen Anzahl an Spontanremissionen zunächst unter engmaschiger Verlaufskontrolle selbst bei parenchymaler Lungenbeteiligung [12,32,78, 87] abgewartet und nicht sofort therapiert wird. Eine frühzeitige Gabe von systemischen Steroiden ist nicht nur überflüssig und ruft unerwünschte Nebenwirkungen hervor, sondern wird auch als Ursache für eine erhöhte Rate von Rezidiven diskutiert. Da das BDP-HFA eine sehr hohe Depositionsrate primär in der Lungenperipherie und den kleinen Atemwegen erzielt, erschien es uns prädestiniert für eine optimale Therapie einer Lungenparenchymerkrankung ohne unerwünschte systemische Nebenwirkungen wie bei der oralen Steroidtherapie zu provozieren.

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, dass eine tägliche Inhalation von 800µg HFA-134a Beclomethasondipropionat (Ventolair®) bei Patienten mit Lungensarkoidose (Röntgentyp II) nach einer Behandlungsdauer von 6 Monaten mit einer Abnahme der Lymphozytenzahl in der Bronchoalveolären Lavage assoziiert werden kann. Das heißt, das mit einer HFA Formulierung (Hydroflouralkan-134a) sich eine hohe pulmonale Deposition erzielen lässt, wobei das Beclomethason die Lungenperipherie und das Interstitium erreicht. Unsere Daten stehen im Einklang mit vorangegangenen Studienergebnissen bei denen Sarkoidosepatienten eine Reduzierung der Lymphozytenzahl in der Bronchoalveolären Lavage nach einer 8-16 wöchigen Therapie mit 1600µg/d inhalativen Budesonid aufwiesen [44, 45]. 1988 veröffentlichte Erkkilä S et al eine Studie mit neu diagnostizierten, nicht vorbehandelten Sarkoidosepatienten. Es zeigte sich in der Verumgruppe (n=9) nach 8-10 Wochen Therapie eine Reduzierung der ACE- und β_2 -Mikroglobulin Werte im peripheren Blut, sowie der T-Lymphozyten und des T4/T8 Quotientens in der BAL bei konstanten Werten der Placebogruppe (n=10). Veränderungen im radiologischen Staging wurden wegen der kurzen Behandlungsdauer nicht erwartet, bezüglich der Lungenfunktion gab es aber positive Tendenzen in der Verumgruppe, die in unserer Studie sogar statistisch signifikant ausfielen. Dagegen fanden wir keine, wie in der Studie von Erkkilä S et al beschrieben, statistisch signifikante Reduktion des CD4/CD8 Quotientens, obgleich eine entsprechende Tendenz zu erkennen war (Tab. 9). Dies war auch nicht zu erwarten

bei den doch sehr unterschiedlichen Ausgangswerten von Lymphozytenzahlen und CD4/CD8 Quotienten in der BAL der Patienten. Unsere Ergebnisse bezüglich der krankheitsspezifischen Serumparameter bestätigen so die Daten von Erkkilä S et al (1988 Sarcoidosis) [44] und anderen vorangegangenen Studien, wie die von Selroos O et al von 1994 (Sarcoidosis) [42] und Spiteri MA et al 1989 (Eur Respir J) [45] . Es zeigten sich in der Verumgruppe statistisch signifikante Verbesserungen der Serumkonzentration von Lysozym und β_2 -Mikroglobulin und eine deutliche Tendenz in Richtung Normwerte für das ACE. Leider ist es nicht möglich zu sagen, ob unsere Ergebnisse im Vergleich zu Erkkilä der besseren Deposition oder der längeren Behandlungsdauer zuzuordnen sind [44], da wir kein zweites inhalatives Kortison als Vergleich testen konnten. Somit lässt sich auch nicht klären, ob die in der Stärke vergleichbare doppelte Dosis Budesonid über einen herkömmlichen MDI inhaliert, eine vergleichbare Depositionsmenge an ähnlich peripheren Lungenarealen wie Ventolair® ermöglicht. Die unterschiedliche Pharmakokinetik unterschiedlicher Steroide, differente Formatierungen und Inhalationssysteme machen den Vergleich der Studienergebnisse schwierig. Eine Reduktion des prozentualen Anteils der Lymphozyten und des Anteils der CD4 positiven Zellen in der Bronchoalveolären Lavage wurde bereits unter der Therapie mit oralen Steroiden beschrieben [46, 88]. Andererseits zeigte eine Studie aus der Pädiatrie (Chadelat et al) [89] wie sich bei Kindern (n=8), die an Sarkoidose erkrankten und 6 Monate mit oralen Steroiden therapiert wurden, radiologische aber keine Lungenfunktions-Verbesserungen ergaben. Dies führte man auf die unverändert erhöhte Anzahl von Lymphozyten und CD4/CD8 Quotienten in der BAL zurück.

Die Anzahl der Neutrophilen in der BAL Flüssigkeit wurde zuvor als prognostischer Parameter der Erkrankung beschrieben [90]. Wir konnten keine Veränderung der Neutrophilenzahl zwischen Visite 1 und 4 feststellen. Gleichermaßen korrelierte die Anzahl der Neutrophilen des einzelnen Patienten auch nicht mit seinem radiologischen oder klinischen Status oder der Entwicklung der BAL- Lymphozytenzahl. Die intrazelluläre Zytokinproduktion von CD4+ and CD8+ Lymphozyten aus der Bronchoalveolären Lavage von Sarkoidosepatienten zeigt ein TH1-Typ Muster, charakterisiert durch IL-2, IFN- γ und TNF- α Produktion [91, 92, 93]. Um die Wirkung des inhalativen Steroids auf die Zytokinproduktion messen zu können, wurde die Produktion (mit und ohne Stimulation) von IL-2, IFN- γ und TNF- α und die Werte der Aktivierungsmarker CD69, IL-2 Rezeptor und HLA-DR vor und nach Therapie mittels

Durchflusszytometrie gemessen. In unserer Studie änderte sich die prozentuale Verteilung der IL-2, IFN- γ oder TNF- α positiven T-Lymphozyten, stimuliert oder nicht stimuliert, nach einer 6 monatigen Therapie mit täglich 800 μ g BDP-HFA nicht. Ursache hierfür könnte die geringe Probengröße sein. Milburn et al [94] beschrieb einen Anstieg des IL-2 und IL-4 Levels und eine Reduktion des IFN- γ bei Sarkoidosepatienten nach Steroidtherapie. Ein niedriger IFN- γ Spiegel vor Therapie soll ein Indikator für ein schlechteres Ansprechen auf Steroide sein[95], sodass ein in die Verlaufskontrolle integriertes Monitorieren des Zytokinstatus sinnvoll sein kann[96]. Das Ausmaß der Freisetzung von TNF- α durch Alveolarmakrophagen wurde als ein prognostischer Marker für die Sarkoidose beschrieben [97], und ist der wissenschaftliche Hintergrund für die Einführung bzw. Prüfung der Wirksamkeit verschiedener TNF- α -Substanzen bei Sarkoidose. Eine induzierte Freisetzung bei gesunden Probanden konnte durch BDP-HFA gemildert werden [63]. Die verringerte Expression von HLA-DR auf den Lymphozyten unserer Verumpatienten nach Therapie deuteten wir als positiven Erfolg des inhalativen Kortikoids [98], [99]. Wirkungen auf die CD69 und CD25 Werte sind ausgeblieben[100,101] lassen sich aber vielleicht auch hier mit der geringen Probengröße und Streubreite der Daten erklären [90,92]. Weder in Bezug auf die Ausgangswerte noch auf Veränderungen während der Studie ergaben sich statistisch wertvolle Korrelationen zwischen dem radiologischen Status, Serumparameter oder Lungenfunktion einerseits und der Zytokinproduktions andererseits. Zuvor beschriebene radiologische Veränderungen unter der Therapie von inhalativen Steroiden [42] bei Sarkoidosepatienten, zeigten sich auch in unserer Studie in einer Verbesserung der hilären/mediastinalen Lymphadenopathie. Eine relevante Entwicklung im Lungenparenchym der Patienten war radiologisch nicht erkennbar. Bei Studienbeginn entsprachen alle Verumpatienten radiologisch Typ II, die Placebopatienten aber Typ I bis III. Veränderungen des Röntgentyps nach Therapie gab es in der Verumgruppe nur in Richtung Typ I oder 0 in der Placebogruppe in beide Richtungen. Unter der Annahme, dass eine Spontanremission beim radiologischen Typ I oder II wahrscheinlicher ist als bei Typ III, mag argumentiert werden, dass dies die Ergebnisse beeinflusst haben könnte. Dem widerspricht, dass es in der Placebogruppe auch Entwicklungen Richtung Typ III gab. Es ist zu betonen, dass es in jeder Gruppe nur je 2 Patienten mit Veränderungen im radiologischen „staging“ gab und somit eine hohe Remissionsrate nicht vorlag. Dies impliziert ebenfalls, dass die Inhalation von BDP-HFA, wie wohl zu erwarten war, über einen Zeitraum von 6 Monaten keine

größeren strukturellen Veränderungen der Lunge bewirkt oder bei dieser kleinen Probenzahl nicht erkennbar ist. Unabhängig davon, war eine Änderung des Röntgentyps nicht Ziel dieser Studie. In der Verumgruppe verbesserte sich übereinstimmend mit anderen Studienergebnissen [42,60] die Diffusionskapazität für Kohlenmonoxid (TLco) und auch der FEV₁ Wert erhöhte sich statistisch signifikant. In der Placebogruppe fiel ein statistisch relevant erhöhter IVC Wert auf, dessen Relevanz oder Ursache ungeklärt ist. Die Ergebnisse sprechen für eine Besserung der Werte in der Verumgruppe innerhalb des Normwertbereichs. Diskutabel wäre ein positiver Effekt des in der Lungenperipherie deponierten Kortisons auf die durch die Sarkoidose entstandenen besonders bronchovaskulär gelegenen Granulome. Bronchiale Hyperreagibilität wurde im Zusammenhang mit Sarkoidose beschrieben [102], wir konnten durch unsere Studie keine Erkenntnisse darüber gewinnen.

Zu den unerwünschten Nebenwirkungen einer inhalativen Therapie mit Steroiden gehört der Mundsoor, der nur bei einem Patienten (Verum) am Ende der Studie auftrat unter vermutlich mit der Inhalation des BDP's im Zusammenhang stand. Dies war trotz der niedrigen oropharyngealen Deposition des Ventolairs® bei den hohen Tagesdosen zu erwarten. Die Einschätzung der Ausprägung der Dysphonie (Dysphonie-Analogskala) verlief während der 6 monatigen Therapie bei beiden Gruppen in beide Richtungen und war somit dem BDP nicht zuzuordnen. Es wäre sicherlich wünschenswert gewesen HFA-134a Beclomethasondipropionat nicht nur gegen ein Placebopräparat, sondern auch gegen ein in der Dosis äquivalentes inhalatives Kortison mit anderer Formatierung des Aerosols und/oder anderem Inhalator zu prüfen. So hätte unsere These, dass die Reduzierung der Lymphozytenzahl in der BAL nach 6 monatiger Gabe von HFA-134a BDP insbesondere auf die gute Deposition in der Lungenperipherie auf Grund der extrafeinen Formatierung des Aerosols zurückzuführen ist, besser beurteilt werden können. Gegen das Einbeziehen einer weiteren Prüfsubstanz sprach, dass eine höhere Patientenzahl notwendig gewesen wäre, die sich, wie es sich im Laufe der Studie bestätigte, schwer rekrutieren ließ. Von den 66 gescreenten konnten nur n=15 Patienten in die Studie eingeschlossen werden. Neben u.a. zu geringen Lymphozytenzahlen in der BAL, eine zu lange zurückliegende Diagnosestellung, und eine notwendige systemische Therapie, lagen die Rekrutierungsprobleme hauptsächlich in einer nicht erwarteten hohen Anzahl von Rauchern begründet. Trotz der im Krankenhaus Großhansdorf bestehenden Sarkoidoseambulanz (Prof. D.Kirsten) mit einem großen Einzugsgebiet (ca. 200km)

und der Zuweisung niedergelassener Pneumologen, waren wir gezwungen nach einem Jahr die Rekrutierung zu terminieren. Die in der Studie verbliebenen Patienten hielten sich sehr diszipliniert an die Vorgaben und die einzuhaltenden Termine. Sie ließen sich nicht nur zweimalig innerhalb eines halben Jahres bronchoskopieren, sondern akzeptierten auch enorme Anfahrtswege um an der Studie teilnehmen zu können. Infolge der kleinen Probengröße war zu befürchten keine statistisch hinreichenden Aussagen gewinnen zu können, berechnet man jedoch die zugegebenermaßen niedrige „power“ basierend auf der Variabilität innerhalb der Placebogruppe und der beobachteten Effektgröße neu (49%-74% bei einem Signifikanzniveau von 5%, je nach Berechnungsmodell), dann zeigt sich, dass selbst mit der limitierten Anzahl an Patienten eine relativ hohe Wahrscheinlichkeit bestand, einen Verumeffekt zu beobachten. Dies lag insbesondere an der klinischen Stabilität der Placebogruppe, die die Wahrscheinlichkeit, dass die Veränderungen in der Verumgruppe rein zufällig und nicht auf das Prüfmedikament zurückzuführen waren, limitiert. Die klinische Stabilität zeigte sich im Ausbleiben von signifikanten Veränderungen in der Placebogruppe, die außer einer geringen FVC Verbesserung einen unveränderten Status in den restlichen Lungenfunktionsparametern, der Diffusionskapazität für Kohlenmonoxid, der sarkoidoseassoziierten Serummarker und der Klinik zeigten. Im Röntgenstaging gab es nur zwei Veränderungen, diese jedoch in entgegengesetzte Richtungen. In der Verumgruppe dagegen verbesserte sich die Diffusionskapazität (TLco), drei der vier Serummarker tendierten Richtung Normwerte, die radiologische Bewertung von Mediastinum/Hilus und die Entwicklung des Röntgentyps zeigten eine positive Entwicklung.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Zusammenfassend zeigen die Studiendaten, dass die Inhalation von hoch dosiertem BDP-HFA als extrafeines Aerosol die Anzahl der Lymphozyten in der Bronchoalveolären Lavage von Patienten mit neu diagnostizierter chronischer pulmonaler Sarkoidose Röntgentyp II reduzieren und zusätzlich Verbesserungen der radiologischen Veränderungen und der Lungenfunktion bewirken kann. Inhalative Steroide könnten eine Option in der Behandlung von Sarkoidosepatienten sein, da sie bei nicht relevanten Nebenwirkungen eine deutliche Verbesserung krankheitsspezifischer Parameter erzielen können. Eine hohe Deposition in der Lungenperipherie ist anzustreben und wird unterstützt durch die geeignete Formatierung des Steroids, einen Inhaler mit einfacher Handhabung und suffizienter Einweisung der Patienten in die richtige Inhalationstechnik. Für Patienten mit einem Röntgentyp I-II, die keine systemische Therapie benötigen, unter engmaschiger Kontrolle stehen und respiratorische Symptome wie Husten und Belastungsdyspnoe aufweisen, ist die Behandlung mit einem inhalativen Steroids möglich. Patienten, die eine systemische Therapie bei schwereren Verläufen (mit und ohne extrapulmonaler Beteiligung) benötigen, könnten zur Einsparung oraler Steroide und zur Reduktion der durch sie hervorgerufenen unerwünschten Nebenwirkungen von der additiven Gabe inhalativer Steroide profitieren. Der Anteil von Lymphozyten-Produkten in der BAL könnte neben Lungenfunktions- und Serummarkerdaten, ein sensitiver Parameter in Studien mit hoch dosierten inhalativen Steroiden mit hoher peripherer Lungendeposition bei Sarkoidose sein, selbst bei einer nur kleinen zur Verfügung stehenden Probenzahl.

Ob die durch eine 6 monatige Therapie mit inhalativem BDP hervorgerufenen Verbesserungen auch einen lang anhaltenden klinischen Vorteil bei den Patienten bewirkt, lässt sich durch unsere Daten nicht beantworten. Weiterführende multizentrische Studien mit mehreren inhalativen Steroiden zum Vergleich, einem größeren Patientenkollektiv und längerer Therapiezeit wären wünschenswert.

Solche Studien müssen vom Studien-Design einfacher sein als unsere Untersuchung. Die hier durchgeführten Methoden wie Sputum-Analysen haben keinen diagnostischen Zugewinn erbracht

7. ANHANG

7.1. Borgskala

Tab. 11: Borg-Skala

0	überhaupt nicht (gerade wahrnehmbar)	
0,5	sehr, sehr leicht	
1	sehr leicht	
2	leicht	
3	mäßig	
4	ziemlich	
5	schwer	
6		Stufe 1
7	sehr schwer	Stufe 2
		Stufe 3
8		
9	sehr, sehr schwer (beinahe maximal)	
10	maximal	

7.2. Individuelle Patientenwerte

7.2.1 Spiroergometrie

Tab. 12: Borgskala,Watt, VO₂/CO₂ Visite 2

Visite 2	Borgskala(1-10)				VO ₂ /VCO ₂ [ml/min]				Maximal
Patient no.	Ruhe		Max Belastung		Ruhe		Max Bel.		Watt
(Placebo)	Dyspnoe	muskulär müde	Dyspnoe	muskulär müde	V O ₂	V CO ₂	V O ₂	V CO ₂	[Watt]
001	0	0	9	9	286	230	1914	2113	165
005	0	0	3	7	127	130	2538	3112	225
006	0	0	3	5	436	342	1813	1996	140
014	0	0	3	5	263	187	2648	3064	250
015	0	0	1	2	314	276	3050	3362	240
019	0	0	3	5	315	289	1434	1823	95
018	0	2	2	5	237	196	1136	1228	100
021	1	0	2	5	359	335	2227	2618	193
020	0	0	0	3	189	164	2258	2567	180
(BDP)									
002	1	1	7	7	417	386	2400	2916	205
004	0	0	2	5	246	206	2834	3652	270
003	0	0	3	4	247	207	1831	2016	170
013	0	0	7	8	482	421	2689	3787	240
016	2	1	3	7	600	590	1682	1743	125
017	0	0	1	1	438	364	2714	3044	190

Tab. 13: Borgskala,Watt, VO₂/CO₂ Visite 3

Visit 3	Borgskala(1-10)				VO ₂ /VCO ₂ [ml/min]				Maximal
Patient no.	Ruhe		Max Belastung		Ruhe		Max Bel.		Watt
(Placebo)	Dyspnoe	muskulär müde	Dyspnoe	muskulär müde	V O ₂	V CO ₂	V O ₂	V CO ₂	[Watt]
001	2	2	9	9	231	185	1477	1759	180
005	1	1	2	7	356	338	2483	2988	225
006	0	0	1	6	343	276	1519	1788	155
014	0	0	3	3	366	313	2585	3209	250
015	0	0	3	3	454	373	4098	4124	245
019	0	0	4	4	314	249	1177	1439	86
018	0	0	3	1	257	232	1558	1761	110
021	1	0	4	7	771	659	2708	3561	200
020	0	0	1	5	413	301	2329	2636	193
(BDP)									
002	1	1	5	7	255	221	1981	2499	190
004	0	0	4	9	322	268	3368	4231	290
003	0	0	3	3	241	202	1980	2239	170
013	0	0	4	5	235	222	2125	3234	215
016	0	0	3	4	766	636	1833	1887	120
017	0	0	2	3	604	515	2877	3364	205

Tab. 14: Borgskala,Watt, VO₂/CO₂ Visite 4

Visite 4	Borgskala(1-10)				VO ₂ /VCO ₂ [ml/min]				Maximal
Patient no.	Ruhe		Max Belastung		Ruhe		Max Bel.		Watt
(Placebo)	Dyspnoe	musculär müde	Dyspnoe	musculär müde	V O ₂	V CO ₂	V O ₂	V CO ₂	[Watt]
001	2	2	8	8	290	270	1784	2123	155
005	0	0	5	8	526	482	2615	3040	225
006	0	0	3	1	135	114	1584	2203	135
014	0	0	3	4	322	258	2600	2660	205
015	0	0	1	2	343	289	3484	3864	265
019	0	0	4	5	376	325	1180	1413	87
018	0	0	2	1	161	128	1398	1450	114
021	1	0	3	6	358	287	2658	3338	215
020	0	0	1	3	543	439	2296	2942	230
(BDP)									
002	2	2	6	7	280	217	1931	2255	145
004	0	0	1	7	463	321	3705	4391	300
003	0	0	5	5	339	319	1573	1651	150
013	0	0	5	5	397	354	2693	3084	205
016	1	2	3	7	220	157	1535	1520	125
017	0	0	1	2	162	140	2109	2369	195

Tab. 15: BGA (Ruhe)

BGA in Ruhe [mmHg] (Placebo)								
Patient no.	PaO2				PaCO2			
	Visite 1	Visite 2	Visite 3	Visite 4	Visite 1	Visite 2	Visite 3	Visite 4
001	98,40	88,70	93,80	94,40	36,70	39,80	35,60	40,40
005	87,20	93,50	86,20	86,20	34,40	38,70	37,50	36,00
006	80,10	98,60	86,20	88,90	38,00	36,10	43,00	36,50
014	90,20	94,60	90,50	86,90	36,90	39,80	42,70	40,20
015	83,80	95,40	96,10	89,80	41,00	39,60	41,30	39,50
019	ND	74,00	81,20	80,10	ND	40,80	37,00	36,70
018	79,20	86,80	86,30	80,30	40,70	39,00	38,40	38,10
021	ND	97,90	90,00	86,00	ND	39,00	37,00	36,80
020	95,80	89,20	88,40	85,00	36,20	43,10	44,30	43,00
BGA in Ruhe [mmHg] (BDP)								
Patient no.	PaO2				PaCO2			
	Visite 1	Visite 2	Visite 3	Visite 4	Visite 1	Visite 2	Visite 3	Visite 4
002	95,00	86,70	94,50	82,70	38,10	37,50	34,50	42,20
004	79,20	88,20	78,80	84,40	39,60	42,60	43,00	42,20
003	96,10	101,00	96,30	88,50	35,10	40,30	37,60	42,10
013	84,30	82,30	93,00	78,40	39,50	42,50	42,00	41,50
016	86,70	90,90	91,40	88,30	33,20	36,50	33,80	35,50
017	80,70	84,50	85,00	88,60	42,60	42,90	42,20	41,10

Tab. 16: BGA (RQ=1)

BGA RQ=1 [mmHg] (Placebo)								
Patient no.	PaO2				PaCO2			
	Visite 1	Visite 2	Visite 3	Visite 4	Visite 1	Visite 2	Visite 3	Visite 4
001	94,90	ND	94,90	99,20	37,70	ND	37,70	40,70
005	78,60	80,00	78,60	80,40	41,10	40,10	41,10	37,20
006	93,50	87,90	93,50	92,30	43,20	38,40	43,20	42,00
014	94,70	100,20	94,70	96,80	44,20	41,20	44,20	40,40
015	84,50	84,00	84,50	88,60	47,20	46,90	47,20	46,90
019	76,90	69,40	76,90	74,90	35,10	40,70	35,10	37,40
018	94,50	93,10	94,50	89,80	40,50	41,40	40,50	37,70
021	87,00	101,00	87,00	93,20	42,00	39,50	42,00	40,00
020	85,40	89,20	85,40	87,30	47,70	46,20	47,70	47,10
BGA RQ=1 [mmHg] (BDP)								
Patient no.	PaO2				PaCO2			
	Visite 1	Visite 2	Visite 3	Visite 4	Visite 1	Visite 2	Visite 3	Visite 4
002	97,20	ND	97,20	95,40	39,60	ND	39,60	39,20
004	87,60	84,80	87,60	86,50	45,70	42,30	45,70	43,50
003	77,30	ND	77,30	80,80	48,30	ND	48,30	47,50
013	95,90	93,40	95,90	86,60	44,10	44,70	44,10	44,40
016	115,00	90,00	115,00	92,00	25,40	39,70	25,40	39,70
017	84,50	83,70	84,50	80,10	40,90	43,70	40,90	45,40

Tab. 17: BGA (Max. Belastung)

BGA (max.Belastung) [mmHg] (Placebo)								
Patient no.	PaO2				PaCO2			
	Visite 1	Visite 2	Visite 3	Visite 4	Visite 1	Visite 2	Visite 3	Visite 4
001		99,60	102,10	99,80		35,50	29,90	35,10
005		79,50	73,10	76,50		35,80	34,40	33,90
006		98,00	97,90	96,70		36,90	36,80	35,30
014		99,30	93,50	93,70		35,30	39,40	37,50
015		79,20	78,40	87,20		48,00	48,10	41,90
019		74,30	82,00	79,70		34,70	30,60	34,40
018		97,10	91,70	94,40		38,30	38,70	35,60
021		95,80	86,00	90,70		40,80	38,00	38,30
020		87,30	88,20	82,00		43,80	41,90	43,00
BGA at maximal exercise [mmHg] (BDP)								
Patient no.	PaO2				PaCO2			
	Visit 1	Visit 2	Visit 3	Visit 4	Visit 1	Visit 2	Visit 3	Visit 4
002		91,90	99,40	95,10		32,30	33,50	35,70
004		77,40	78,70	90,00		42,40	39,60	35,00
003		82,80	78,00	80,60		48,70	46,70	44,80
013		98,50	104,10	90,00		35,40	34,00	38,50
016		90,00	115,00	92,50		39,70	25,40	38,10
017		82,30	79,90	79,60		38,00	38,70	42,50

7.2.2. Radiologische Veränderungen

Tab. 18: Röntgentyp und Radiologischer Score

Radiologischer Score/ Röntgentyp (nach de Remée) (Placebo)						
Patient no.	Röntgentyp		Mediastinum / HilusScore		Parenchym Score	
	Visit 1 oder 2	Visit 4	Visit 3	Visit 4	Visit 3	Visit 4
001	1	0	+2	+3	0	0
005	2	2	-1	-1	-2	-2
006	3	3	0	0	+2	+2
014	2	3	+1	+1	+2	+2
015	1	1	+2	+2	0	0
019	1	1	0	0	0	0
018	2	2	+1	+1	0	0
021	2	2	0	0	0	0
020	2	2	+1	0	0	-1

Radiologischer Score/ Röntgentyp (nach de Remée) (BDP)						
Patient no.	Röntgentyp		Mediastinum / HilusScore		Parenchym Score	
	Visit 1 bzw 2	Visit 4	Visit 3	Visit 4	Visit 3	Visit 4
002	2	2	+1	+3	-2	-2
004	2	0	+2	+3	+1	+3
003	2	2	+2	+2	+1	+1
013	2	2	0	+1	-1	-1
016	2	1	+2	+3	+1	+1
017	2	2	0	0	+1	+1

7.2.3. Serumparameter

Tab. 19: ACE, Lysozym, β 2 Mikroglobulin, Neopterin

Placebo								
Pat.	ACE [18-55 U/ACE]				LZM [10-17mg/l]			
No.	Visit 1	Visit 2	Visit 3	Visit 4	Visit 1	Visit 2	Visit 3	Visit 4
001	29		N/D	23.0	27		14	16
005	N/D	69	61	77.0	N/D	52 \uparrow	44	48
006	80		71	95	32		30	31
014	42		N/D	16	21		18,2 \uparrow	17,6
015	34		35	23	14		9,8	12,4
019	145		143	145	138		111	155
018	92		76	69	34		30	34
021	N/D	120	112	115	N/D	34	32	29
020	110		99	110	31		32	30
BDP								
002	151		157	195	N/D	62	57	58
004	90		58	36	60		35	27
003	63		50.0	37	32		27	21
013	51		34.0	42	26		20,4	23
016	42		32	25	13		9.8	12,4
017	54		36.0	47	29		25	27
Placebo								
Pat.	β 2 microglobulin [1,5-2,5 mg/l]				Neopterin [$<2,5 \mu$ g/l]			
No.	Visit 1	Visit 2	Visit 3	Visit 4	Visit 1	Visit 2	Visit 3	Visit 4
001	2,1		N/D	2.3	2,0		1,2	1.20
005	N/D	3,9	3.5	3.4	N/D	2,7	2.9	2.20
006	2,8		3,3	N/D	1,8		2,1	N/D
014	2,8		3,6	1,7	1,5		1,6	1,5
015	1,7		1.1	1.2	1,0		1.40	1,0
019	6,2		13.98	8.91	10,9		14,18	18,48
018	2,6		1.9	3,83	3,0		2.10	2,79
021	N/D	2.42	2.45		N/D	3,0	2,33	3,3
020	1,6		1,96	1,9	2,0		2,48	2,2
BDP								
002	4,1		3,9	3,9	4,3		3 \uparrow	2.5
004	5,5		3,6	N/D	4,1		2,7	3.40 \uparrow
003	1,9		1.5	1.5	0,8		1.10	1.40
013	3,4		2.7	1.9	2,2		2.00	1.60
016	1,7		1.1	1,3	1,8		1.5	1.5
017	2,9		1,7	2,28	1,7		1,7	1.57

7.2.4 BAL Analyse

Tab. 20: Zytospin Zelldifferenzierung

Placebo										
Pat.	Gesamtzellzahl		Zelldifferenzierung							
No.	(Zell*10 ⁶ /ml]		Makrophagen %		Neutrophile %		Eosinophile %		Lymphozyten %	
	Visite 1	Visite 4	Visite 1	Visite 4	Visite 1	Visite 4	Visite 1	Visite 4	Visite 1	Visite 4
001	4,52	0,63	68,00	77,00	0,00	0,00	0,00	0,00	32,00	23,00
005	1,79	0,95	64,00	43,00	0,00	1,00	0,00	0,00	35,00	56,00
006	1,79	2,25	64,00	78,00	0,00	2,00	1,00	1,00	34,00	19,00
014	1,37	1,89	78,00	87,00	0,00	1,00	1,00	0,00	20,00	12,00
015	4,20	1,99	45,00	73,00	0,00	10,00	0,00	0,00	55,00	17,00
019	4,20	2,20	58,00	74,00	2,00	0,00	1,00	0,00	39,00	26,00
018	2,21	1,89	77,00	62,00	0,00	0,00	0,00	0,00	23,00	38,00
021	1,58	3,15	52,00	66,00	1,00	3,00	2,00	2,00	45,00	29,00
020	1,68	3,00	54,00	22,00	7,00	1,00	0,00	2,00	39,00	75,00

BDF										
Pat.	Gesamtzellzahl		Zelldifferenzierung							
No.	(Zell*10 ⁶ /ml]		Makrophagen %		Neutrophile %		Granulozyten %		Lymphozyten %	
	Visite 1	Visite 4	Visite 1	Visite 4	Visite 1	Visite 4	Visite 1	Visite 4	Visite 1	Visite 4
002	1,68	2,31	52,00	70,00	0,00	1,00	0,00	0,00	48,00	29,00
004	1,99	2,94	67,00	81,00	3,00	0,00	0,00	0,00	30,00	19,00
003	0,63	0,53	75,00	78,00	1,00	12,00	1,00	0,00	23,00	10,00
013	8,72	3,57	44,00	63,00	3,00	2,00	1,00	0,00	52,00	35,00
016	3,89	8,00	34,00	53,00	4,00	1,00	10,00	0,00	51,00	46,00
017	1,47	1,89	74,00	74,00	0,00	1,00	1,00	0,00	25,00	24,00

Tab. 21: Zytospin Zelldifferenzierung- Lymphozyten %

Placebo										
Pat.	Zelldifferenzierung - Lymphozyten %									
No.	Lymphozyten %		CD3+ Lymphozyten %		CD4+ Lymphozyten %		CD8+ Lymphozyten %		CD4/CD8 - Ratio	
	Visite 1	Visite 4	Visite 1	Visite 4	Visite 1	Visite 4	Visite 1	Visite 4	Visite 1	Visite 4
001	32,00	23,00	92,00	96,00	67,00	52,00	32,00	43,00	2,09	1,21
005	35,00	56,00	86,00	81,00	77,00	68,00	15,00	12,00	5,13	5,67
006	34,00	19,00	91,00	72,00	60,00	51,00	32,00	20,00	1,90	2,00
014	20,00	12,00	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
015	55,00	17,00	98,00	89,00	50,00	60,00	46,00	29,00	1,09	2,07
019	39,00	26,00	91,00	86,00	78,00	72,00	15,00	14,00	5,20	5,14
018	23,00	38,00	94,00	85,00	73,00	64,00	21,00	17,00	3,48	3,70
021	45,00	29,00	93,00	99,00	74,00	80,00	21,00	19,00	3,52	4,21
020	39,00	75,00	88,00	82,00	42,00	39,00	44,00	45,00	0,95	0,80

BDP										
Pat.	Zelldifferenzierung - Lymphozyten %									
No.	Lymphozyten %		CD3+ Lymphozyten %		CD4+ Lymphozyten %		CD8+ Lymphozyten %		CD4/CD8 - Ratio	
	Visite 1	Visite 4	Visite 1	Visite 4	Visite 1	Visite 1	Visite 4	Visite 1	Visite 4	Visite 1
002	48,00	29,00	89,00	98,00	77,00	84,00	13,00	14,00	5,92	6,00
004	30,00	19,00	92,00	88,00	83,00	61,00	9,00	26,00	9,22	2,35
003	23,00	10,00	94,00	ND	81,00	ND	7,00	ND	11,60	ND
013	52,00	35,00	89,00	97,00	83,00	91,00	3,00	6,00	27,70	15,10
016	51,00	46,00	99,00	92,00	38,00	70,00	61,00	33,00	0,62	2,10
017	25,00	24,00	95,00	82,00	56,00	50,00	38,00	33,00	1,47	1,60

Tab. 22: Durchflusszytometrie (FACS) - Zelldifferenzierung

Placebo										
Pat.	Kontaminierung Erythrozyten		Gesamtzellzahl		Zelldifferenzierung					
No.	[CD45 ⁻ Glycophorin A ⁺]		[CD45 ⁺ (Zell./ml)]		Makrophagen %		Granulozyten %		Lymphozyten %	
	Visit 1	Visit 4	Visit 1	Visit 4	Visit 1	Visit 4	Visit 1	Visit 4	Visit 1	Visit 4
001	2,90	7,40	0,78	0,51	53,00	68,00	1,00	1,00	38,00	19,00
005	29,00	21,90	2,02	0,27	37,00	20,00	1,00	3,00	55,00	52,00
006	4,40	8,70	1,19	0,96	59,00	57,00	0,00	2,00	32,00	26,00
014	9,80	4,60	0,53	1,06	43,00	77,00	5,00	1,00	21,00	10,00
015	ND	ND	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
019	16,90	1,70	2,24	1,08	42,00	41,00	2,00	1,00	41,00	41,00
018	0,40	10,10	1,55	0,78	65,00	40,00	0,00	2,00	16,00	39,00
021	21,20	ND	0,50	N/D	40,00	N/D	1,00	N/D	41,00	N/D
020	30,60	12,00	0,39	1,39	22,00	26,00	4,00	2,00	50,00	51,00

BDF										
Pat .	Kontaminierung Erythrozyten		Gesamtzellzahl		Zelldifferenzierung					
No.	[CD45 ⁻ Glycophorin A ⁺]		[CD45 ⁺ (Zell./ml)]		Makrophagen %		Granulozyten %		Lymphozyten %	
	Visit 1	Visit 4	Visit 1	Visit 4	Visit 1	Visit 4	Visit 1	Visit 4	Visit 1	Visit 4
002	26,90	8,10	0,42	1,91	31,00	49,00	2,00	5,00	47,00	27,00
004	48,50	4,30	0,91	1,81	28,00	65,00	4,00	2,00	45,00	13,00
003	3,10	8,70	0,40	0,06	66,00	34,00	2,00	0,00	20,00	15,00
013	5,60	20,50	4,99	2,48	31,00	52,00	3,00	1,00	51,00	32,00
016	4,40	2,10	1,84	3,17	18,00	37,00	10,00	1,00	55,00	46,00
017	18,40	34,60	1,21	0,72	57,00	53,00	2,00	2,00	22,00	23,00

Tab. 23: Durchflusszytometrie (FACS) - NK Zellen und Lymphozyten

Placebo						
Pat.	NK Zellen		B Lymphozyten		T lymphozyten	
No.	[CD45⁺ / CD3⁻ / CD16⁺/56⁺]		[CD45⁺ / CD3⁻ / CD19⁺]		[CD45⁺ / CD3⁺]	
	Visite 1	Visite 4	Visite 1	Visite 4	Visite 1	Visite 4
001	2,50	1,90	1,40	0,50	4,30	7,30
005	11,60	5,90	2,80	9,00	10,70	7,30
006	7,60	11,30	0,90	2,10	4,50	10,00
014	3,00	8,50	1,20	4,70	5,20	8,50
015	ND	ND	ND	ND	ND	ND
019	0,10	1,70	0,10	0,00	5,80	7,50
018	1,90	1,60	1,30	0,70	6,30	4,00
021	4,30	ND	0,80	ND	6,60	ND
020	7,00	8,70	1,80	1,80	5,40	3,40

BDP						
Pat.	NK Zellen		B Lymphozyten		T lymphozyten	
No.	[CD45⁺ / CD3⁻ / CD16⁺/56⁺]		[CD45⁺ / CD3⁻ / CD19⁺]		[CD45⁺ / CD3⁺]	
	Visite 1	Visite 4	Visite 1	Visite 4	Visite 1	Visite 4
002	6,70	10,90	3,20	3,40	9,70	8,00
004	3,60	5,70	1,20	2,40	3,70	8,50
003	5,60	3,50	0,70	1,20	6,80	2,60
013	3,20	1,40	2,20	0,00	9,30	5,10
016	1,30	1,30	0,30	2,20	ND	5,40
017	3,00	5,90	1,10	5,50	6,10	6,80

Tab. 24: Durchflusszytometrie (FACS) - T Lymphozyten

Placebo										
Pat.	Lymhozyten Viabilität		T Lymhozyten		T Helfer Lymhozyten		T Suppressor Lymhozyten		CD4 / CD8 Ratio	
No.	[CD45⁺ / PI]		[CD45⁺ / CD3⁺]		[CD45⁺ / CD3⁺ / CD4⁺]		[CD45⁺ / CD3⁺ / CD8⁺]			
	Visite 1	Visite 4	Visite 1	Visite 4	Visite 1	Visite 4	Visite 1	Visite 4	Visite 1	Visite 4
001	99,00	97,30	95,40	95,00	65,10	45,80	30,20	51,70	2,20	0,90
005	97,60	96,50	85,50	87,10	74,80	72,60	10,00	14,20	7,50	5,10
006	96,90	96,60	90,90	89,60	52,00	54,50	35,10	38,20	1,50	1,40
014	98,40	98,80	97,10	88,60	61,50	51,50	35,30	36,20	1,70	1,40
015	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
019	98,70	68,70	99,60	98,70	86,80	89,20	13,80	10,50	6,30	8,50
018	90,50	96,80	97,30	97,30	80,70	72,90	15,20	20,70	5,30	3,50
021	95,80	ND	95,90	ND	73,20	ND	21,30	ND	3,40	ND
020	90,30	97,10	93,60	89,80	52,70	50,00	43,30	36,70	1,20	1,40

BDF										
Pat.	Lymhozyten Viabilität		T Lymhozyten		T Helfer Lymhozyten		T Suppressor Lymhozyten		CD4 / CD8 Ratio	
No.	[CD45⁺ / PI]		[CD45⁺ / CD3⁺]		[CD45⁺ / CD3⁺ / CD4⁺]		[CD45⁺ / CD3⁺ / CD8⁺]			
	Visite 1	Visite 4	Visite 1	Visite 4	Visite 1	Visite 4	Visite 1	Visite 4	Visite 1	Visite 4
002	94,80	98,00	89,20	91,10	79,10	78,30	9,20	14,70	8,60	5,30
004	94,80	94,00	94,60	93,80	86,80	66,90	7,60	27,90	11,50	2,40
003	90,80	82,20	86,40	92,50	78,40	12,20	7,80	77,80	10,10	0,20
013	97,60	98,60	96,70	98,90	91,20	98,60	5,50	4,90	16,70	19,90
016	98,60	98,20	99,00	97,40	28,80	54,70	70,30	42,10	0,40	1,30
017	95,30	94,60	94,70	90,30	55,80	50,20	42,90	41,10	1,30	1,20

Tab. 25: Durchflusszytometrie (FACS) - T Lymphozyten Aktivierungsmarker

Placebo						
	IL2R		HLA-DR⁺ [CD45 ⁺ / CD3 ⁺ / CD19 ⁺]			
Pat.	[CD45⁺ / CD3⁺ / CD25⁺]		[CD45⁺ / CD3⁺ / CD19⁺]		[CD45⁺ / CD3⁺ / CD69⁺]	
No.	Visite 1	Visite 4	Visite 1	Visite 4	Visite 1	Visite 4
001	4,30	7,30	31,10	17,00	60,60	50,40
005	10,70	7,30	46,90	41,80	58,40	50,40
006	4,50	10,00	30,10	26,40	81,00	86,50
014	5,20	8,50	32,50	33,00	88,50	81,30
015	ND	ND	ND	ND	ND	ND
019	5,80	7,50	45,10	42,80	68,90	45,90
018	6,30	4,00	63,40	63,60	74,40	79,60
021	6,60	ND	62,60	ND	84,60	ND
020	5,40	3,40	58,00	59,60	78,90	73,20

BDP						
	IL2R		HLA-DR⁺ [CD45 ⁺ / CD3 ⁺ / CD19 ⁺]			
Pat.	[CD45⁺ / CD3⁺ / CD25⁺]		[CD45⁺ / CD3⁺ / CD19⁺]		[CD45⁺ / CD3⁺ / CD69⁺]	
No.	Visite 1	Visite 4	Visite 1	Visite 4	Visite 1	Visite 4
002	9,70	8,00	55,30	41,70	67,90	75,60
004	3,70	8,50	64,80	45,20	85,90	80,60
003	6,80	2,60	24,50	11,00	77,30	90,90
013	9,30	5,10	66,70	47,10	60,60	83,70
016	ND	5,40	54,70	46,70	ND	76,90
017	6,10	6,80	62,90	62,10	91,70	90,80

Tab. 26: Durchflusszytometrie (FACS) - Parameter nach max. Stimulierung

Placebo						
	Parameter (intrazellulär) nach maximaler Stimulierung					
Pat.	TNFα		IL2		Interferon γ	
No.	Visite 1	Visite 4	Visite 1	Visite 4	Visite 1	Visite 4
001	72,50	ND	68,10	ND	81,40	ND
005	69,30	9,20	58,30	8,50	66,30	12,90
006	42,30	52,60	25,50	31,20	54,30	46,00
014	33,20	13,10	25,90	8,90	53,10	13,70
015	ND	ND	ND	ND	ND	ND
019	56,60	59,30	52,80	52,70	74,10	65,50
018	68,10	45,40	58,60	43,60	46,20	53,80
021	69,10	ND	51,40	ND	71,60	ND
020	67,10	52,10	42,60	55,00	57,20	75,40

BDP						
	Parameter (intrazellulär) nach maximaler Stimulierung					
Pat.	TNFα		IL2		Interferon γ	
No.	Visite 1	No.	Visite 1	No.	Visite 1	No.
002	26,40	55,50	20,80	29,90	30,00	30,10
004	54,10	ND	29,40	ND	60,50	ND
003	ND	ND	ND	ND	ND	ND
013	21,70	28,50	15,00	12,80	20,70	23,40
016	3,60	20,10	3,70	32,20	20,90	44,20
017	59,60	68,30	16,50	44,20	10,40	27,20

8.ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

<u>Abkürzung</u>	<u>Definition</u>
ACE	Angiotensin I Converting Enzym
AE.....	adverse event, Unerwünschtes/unerwartetes Ereignis
ACE	Angiotensin-I-Converting-Enzym
ALT	Alanin-Aminotransferase
AST.....	Aspartat-Aminotransferase
ATS.....	American Thoracic Society, Amerikanische Lungengesellschaft
BAL	Bronchoalveoläre Lavage
BDP	Beclometasondipropionat
BfArM	Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte
BGA.....	Blutgasanalyse
BTPS.....	body temperature, ambient pressure, saturated with water vapor Körpertemperatur-und-druck, unter diesen Bedingungen wasserdampfgesättigt °C..... Grad Celsius
CD4,CD8	T-Lymphozyten Helferzellen, Suppressorzellen
CV.....	Curriculum vitae, Lebenslauf
cm	Zentimeter
CO.....	Kohlenstoffmonoxid
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
CRF.....	case report form, Prüfbogen
CV.....	Curriculum vitae, Lebenslauf
DLCO _{SB}	Diffusionskapazität für Kohlenstoffmonoxid nach der „Ein Atemzug Methode“
DZK	Deutschen Zentralkomitees zur Bekämpfung der Tuberkulose
EKG.....	Elektrokardiogramm
ERS.....	European Respiratory Society, Europäische Lungengesellschaft
FACS	Fluorescence Activated Cell Sorting
FCKW.....	Fluorchlorkohlenwasserstoffe
FEF	Forcierte expiratorische Atemstromstärke
FEF ₂₅	FEF, wenn noch 25% der FVC auszuatmen sind
FEF ₅₀	FEF, wenn noch 50% der FVC auszuatmen sind
FEV ₁	Forciertes expiratorisches Volumen in der ersten Sekunde(Atemstoß)
FVC	Forcierte Vitalkapazität
FRC.....	Funktionelles Residualvolumen
GCP	Good Clinical Practice, Gute Klinische Praxis
GGT	Gamma Glutamyl Transferase
GOT.....	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT.....	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
GT.....	gereinigtes Tuberkulin
He	Helium
HFA-134a.....	Hydrofluoroalkane-134a
HFA-BDP	Beclometasondipropionat gelöst in dem HFA-134a Ersatztreibgas

IFN γ	Interferon γ
IgE	Immunoglobulin E
IEC	Independent Ethics Committee
ITGV	Intrathorakales Gasvolumen
ITT	intent-to-treat
IVC	Inspiratorische Vitalkapazität
LDH	Lactatdehydrogenase
log	Logarithmus
MCV	Mittleres Zellvolumen
MDI	metered dose inhaler, Dosieraerosol
m	männlich
mg	Milligramm
min	Minute
mL	Milliliter
mm	Millimeter
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
NA	not applicable, nicht zutreffend
NaCl	Natrium Chlorid
ND	not done, nicht durchgeführt
PaCO ₂	Kohlendioxidpartialdruck
PaO ₂	Sauerstoffpartialdruck
PC ₂₀ FEV ₁	Provokations-Konzentration von Methacholin für einen 20% Abfall im FEV ₁
PEF	Maximale expiratorische Atemstromstärke
pH	neg. dekadischer Logarithmus der Wasserstoffionenkonzentration
%pred.	Prozentualer Anteil vom Sollwert
PPD	Purified Protein Derivative
PPD-S	Purified Protein Derivative Standard
Raw	Atemwegswiderstand
RQ	Respirationsquotient
RV	Residualvolumen
s	Sekunde
SAE	Schwerwiegendes unerwartetes unerwünschtes Ereignis
SaO ₂	Sauerstoffsättigung
SB	single breath, ein Atemzug
SD	Standardabweichung
SF36 Health Survey	Lebensqualitätsfragebogen, Short Form mit 36 Fragen
SGOT	Serum Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
SGPT	Serum Glutamat-Pyruvat-Transaminase
TE	Tuberkulin Einheit
T _L	Transferfaktor der Lunge
TLC	Totalkapazität
TL _{CO}	Transferfaktor der Lunge für Kohlenmonoxid
TNF α	Tumornekrosefaktor α
URTI	upper respiratory tract infection, Infektion der oberen Atemwege

μg	Mikrogramm
μm	Mikrometer
V_E	Atemminutenvolumen
V_{O_2}	Sauerstoffaufnahme
V_{CO_2}	Kohlenstoffdioxidabgabe
w	weiblich

9. LITERATURVERZEICHNIS

- 1 Drake WP, et al: Molecular analysis of sarcoidosis tissues for mycobacterium species DNA. *Emerg Infect Dis* 2002;8:1334-1341
- 2 Müller-Quernheim J: Ätiologie der Sarkoidose: Eine Suche nach belebten und unbelebten Auslösern. In Kirsten D, Magnussen H, Sarkoidose Up-Date 2000, Interpneu Verlag
- 3 M. Schürmann, P. Reichel, B. Müller-Myhsok et al.: Familial sarcoidosis is linked to the major histocompatibility complex region, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2001, 164, 840-6.
- 4 Schürmann M, Kwiatkowski R, Albrecht M, Fischer A, Hampe J, Müller-Quernheim J, Schwinger E, Schreiber S: Study of Toll-like receptor gene loci in sarcoidosis. *Clin Exp Immunol.* 2008 Jun; 152(3):423-31. Epub 2008 Apr 16
- 5 Ruta Valentonyte, Jochen Hampe, Klaus Huse, Philip Rosenstiel, Mario Albrecht, Annette Stenzel, Marion Nagy, Karoline I Gaede, Andre Franke, Robert Haesler, Andreas Koch, Thomas Lengauer, Dirk Seegert, Norbert Reiling, Stefan Ehlers, Eberhard Schwinger, Matthias Platzner, Michael Krawczak, Joachim Müller-Quernheim, Manfred Schürmann, Stefan Schreiber: Sarcoidosis is associated with a truncating splice site mutation in BTNL2. *Nature Genetics* 37,357-364, 2005
- 6 Newman LS, Rose CS, Maier LA: Sarcoidosis. *N Engl J Med* 1997;336:1224-12-34
- 7 Kirsten D(1995) Sarkoidose. In Konietzko N, Wendel H, Wiesner B, Erkrankungen der Lunge, Walter de Gruyter, Berlin, New York.
- 8 Yamamoto M, Sharma OP, Hosoda Y: Special report: the 1991 descriptive definition of sarcoidosis. *Sarcoidosis* 1992: 9: 33-4.
- 9 Hunninghake GW, Crystal RG: Pulmonary sarcoidosis: a disorder mediated by excess helper T-lymphocyte activity at sites of disease activity. *N Engl J Med* 1981; 305: 429-34.
- 10 Semenzato G, Pezzutto A, Chilosi M, Pizzolo G: Redistribution of T-lymphocytes in the lymph nodes of patients with sarcoidosis. *N Engl J Med* 1982; 306: 48-9.
- 11 Agostini C, Trentin L, Zambello R, Bulian P, Siviero F, Masciarelli M, Festi G, Cipriani A, Semenzato G: CD8 alveolitis in sarcoidosis: incidence, phenotypic characteristics, and clinical features. *Am J Med* 1993; 95: 466-72.
- 12 Hunninghake GW, Costabel U: American Thoracic Society: Statement on sarcoidosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160: 736-55.

- 13 Grutters JC, Fellrath JM, Mulder L, Janssen R, van den Bosch JM, van Velzen-Blad H.:Serum soluble interleukin-2 receptor measurement in patients with sarcoidosis: a clinical evaluation.*Chest* 2003Jul; 124 (1):186-95.
- 14 Ziegenhagen MW, Benner UK, Zissel G, Zabel P, Schlaak M, Müller-Quernheim J: Sarcoidosis: TNF-alpha release from alveolar macrophages and serum level of sIL-2R are prognostic markers. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156: 1586-92.
- 15 Zissel G, Homolka J, Schlaak J, Schlaak M, Müller-Quernheim J: Antiinflammatory cytokine release by alveolar macrophages in pulmonary sarcoidosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154: 713-719.
- 16 Miyara M, Amoura Z, Parizot C, Badoual C, Dorgham K, Trad S, Kambouchner M, Valeyre D, Chapelon-Abrie C, Debré P, Piette JC, Gorochov G.: The immune paradox of sarcoidosis and regulatory T cells. *J Exp Med.*2006 Feb 20;203(2):477.
- 17 Müller-Quernheim J, Sarcoidosis : immunopathogenetic concepts and their clinical application. *Eur. Respir. J.* 12 (1998)716-738
- 18 Costabel U, Teschler H : Biochemical changes in sarcoidosis. *Clin. Chest Med.* 18 (1997)827-842
- 19 Grunewald J, Eklund A. Sex-Specific Manifestations of Löfgren's Syndrome. *Am J Respir Crit Care Med.* 2007 Jan 1;175 (1):40-44.
- 20 Scadding, J.G., (1961), Prognosis of intrathoracic sarcoidosis in England. A review of 136 cases after five years' observation. *Br Med J*, **5261**: p. 1165-72.
- 21 Remée,de RA : roentgenographic staging of sarcoidosis. *Chest* 83(1983)128
- 22 Costabel U., Sarkoidose. Gustav Paumgartner, MyiLibrary . Therapie Innerer Krankheiten.Veröffentlicht von Springer, 2005; 11:436-441
- 23 Peckham, D.G. and Spiteri, M. A.: Sarcoidosis. *Postgrad Med J.* 1996 April; 72(846): 196–200.
- 24 Sharma, O.P.: functional impairment in sarcoidosis. *Sarcoidosis* 5 (1988) 11.
- 25 Nowak, D., G. Kanzow, A. Meyer et al.: Empfindlichkeit der Atemwege bei Patienten mit Sarkoidose. *Atemw.-Lungenkrkh.* 15 (1989) 11
- 26 Adams JS, Sharma OP, Gacad MA, Singer FR. Metabolism of 25-hydroxyvitamin D3 produced by cultured alveolar macrophages in sarcoidosis. *J. Clin. Invest* 1983; 72: 1856-1860
- 27 Lynch JP, Sharma OP, Baughman RP: Extrapulmonary Sarcoidosis. *Sem Respir Infections* 1998; Vol 13, No 3: 229-54.

- 28 Cristal RG: Sarcoidosis: Harrison´s principles of internal medicine tenth edition; 1922-8.
- 29 Kirsten A-M., Kirsten D., Diagnose und Therapie der Sarkoidose, Urban & Vogel, München 2000;95:211–2 (Nr. 4).
- 30 MW Ziegenhagen, J Müller-Quernheim, Aktivität und Prognose der Sarkoidose in *Sarkoidsoe Up-Date 2000*, D. Kirsten , H. Magnussen, Interpneu Verlag
- 31 World Association of Sarcoidosis and Other Granulomatous Disorders: Consensus conference : activity of Sarcoidosis. *Eur. Respir.J.7* (1994) 624-627
- 32 Morey SS: American Thoracic Society issues consensus statement on sarcoidosis. *Am Fam Physician* 2000; 61: 553-4, 556.
- 33 Selroos O: Treatment of sarcoidosis. *Sarcoidosis* 1994; 11: 80-3.
- 34 Baughman RP, Winget DB, Lower EE; Methotrexate is steroid sparing in acute sarcoidosis; results of a double blind, randomized trial. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis* 2000; 17: 60-66
- 35 Carlesimo M, Giustini S, rossi A, Bonaccorsi P, Calvieri S. Treatment of cutaneous and pulmonary sarcoidosis with thalidomide. *J Am Acad Dermatol* 1995; 32: 866-669.
- 36 Bolliger CT, Progress in Respiratory Research. *Karger* Vol.36 , p128-138.
- 37 Baughman RP, Strohofer SA, Buchsbaum J, Lower EE. Release of tumour necrosis factor by alveolar macrophages of patients with sarcoidosis . *J Lab Clin Med* 1990; 11: S217-S220.
- 38 Müller-Quernheim J, Kienast K, Held M, Pfeifer S, Costabel U. Treatment of chronic sarcoidosis with an azathioprine/prednisolone regime. *Eur Respir J* 1999; 14: 1117-1122.
- 39 Marques LJ, Zheng L, Poulakis N, Guzman J, Costabel U. Pentoxifylline inhibits TNF-alfa producton from human alveolar macrophages. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159:508-511.
- 40 Zabel P, Entzian P, Dalhoff K, Schlaak M. Pentoxifylline in treatment of sarcoidosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155: 1665-1669.
- 41 Baughman RP, Drent M, Judson MA, Costabel U, du Bois R, Albera C, Brutsche M, Davis G, Donohue JF, Müller-Quernheim J, Schlenker-Herceg R, Flavin S, Lo KH, Oemar B, Barnathan ES, Sarcoidosis Investigators: Infliximab therapy in patients with chronic sarcoidosis and pulmonary involvement. *Am J Respir Crit Care Med* 2006;174: 795-802.

- 42 Selroos O, Löfroos AB, Pietinalho A, Miemstö M, Riska H: Inhaled budesonide for maintenance treatment of pulmonary sarcoidosis. *Sarcoidosis* 1994; 11: 126-31.
- 43 Alberts C, van der Mark TW, Jansen HM: Inhaled budesonide in pulmonary sarcoidosis: a double-blind, placebo-controlled study. Dutch Study Group on Pulmonary Sarcoidosis. *Eur Respir J* 1995; 8: 682-8. Comments in: *Eur Respir J* 1995; 8: 679-81, 1996; 9: 180-1.
- 44 Erkkilä S, Froseth B, Hellström PE, Kaltiokallio K, Taskinen E, Viljanen A, Viljanen B, Selroos O: Inhaled budesonide influences cellular and biochemical abnormalities in pulmonary sarcoidosis. *Sarcoidosis* 1988; 5: 106-10.
- 45 Spiteri MA, Newman SP, Clarke SW, Poulter LW: Inhaled corticosteroids can modulate the immunopathogenesis of pulmonary sarcoidosis. *Eur Respir J* 1989; 2: 218-24.
- 46 Bencic D, Batinic D, Cucevic I, Boranic M, Miculinic N: The role of T-lymphocyte subpopulation in bronchoalveolar lavage in pulmonary parenchyma diseases. *Sarcoidosis* 1990; 7: 106-9.
- 47 Milman N, Graudal N, Grode G, Munch E: No effect of high-dose inhaled steroids in pulmonary sarcoidosis: a double-blind, placebo controlled trial. *J Int Med* 1994; 236: 285-90.
- 48 Milman N: Oral and inhaled corticosteroids in the treatment of pulmonary sarcoidosis--a critical reappraisal. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis* 1998; 15: 150-7.
- 49 Herer B: Failure of inhaled corticosteroids to improve small airway obstruction in two patients with sarcoidosis. *Respiration* 2002; 69: 107-8.
- 50 Cromton GK. Problems patients have using pressurized aerosol inhalers. *Eur J Respir Dis*, Suppl. 1982, 119, Vol. 63, 1982, 101-104.
- 51 Busse W, Colice G, Hannon S. CFC-BDP requires 2,6 times the dose to achieve equivalent improvement in FEV₁ as BDP-BDP. *Am J Respir Crit Care Med*, March 1998, Vol 157 (3), A405
- 52 Ventolair®, Produktmonographie, 3M Medica, Mat-Nr.:5512590, Stand Oktober 1999
- 53 Thompson PJ, Davies RJ, Young WF, Grossman AB, Donnell D. Safety of hydrofluoroalkane-134a beclomethasonedipropionate extrafine aerosol. *Respir Med*, June 1998, Vol 92, Suppl A, 33-39
- 54 Gottlieb JE, Israel HL, Steiner RM, Triolo J, Patrick H: Outcome in sarcoidosis: the relationship of relapse to corticosteroid treatment. *Chest* 1997; 111: 623-31.

- 55 Paramothayan S, Jones PW: Corticosteroid therapy in pulmonary sarcoidosis: a systematic review. *JAMA* 2002; 287: 1301-7.
- 56 Mana J, Montero A, Vidal M, Marcoval J, Pujol R: Recurrent sarcoidosis: a study of 17 patients with 24 episodes of recurrence. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis* 2003; 20: 212-21.
- 57 Gupka SK: Treatment of sarcoidosis patients by steroid aerosol: a ten-year prospective study from eastern india. *Sarcoidosis* 1989; 6: 51-4.
- 58 Zych D, Pawlicka L, Zielinski J: Inhaled budesonide vs prednisolone in the maintenance treatment of pulmonary sarcoidosis. *Sarcoidosis* 1993; 10: 56-61.
- 59 Pietinalho A, Tukiainen P, Haahtela T, Persson T, Selroos O: Oral prednisolone followed by inhaled budesonide in newly diagnosed pulmonary sarcoidosis: a double-blind, placebo-controlled multicenter study. Finnish Pulmonary Sarcoidosis Study Group. *Chest* 1999; 116: 424-31. Comment in: *Chest* 2000; 118: 567.
- 60 Pietinalho A, Tukiainen P, Haahtela T, Persson T, Selroos O; Finnish Pulmonary Sarcoidosis Study Group: Early treatment of stage II sarcoidosis improves 5-year pulmonary function. *Chest* 2002; 121: 24-31. Comment in: *Chest* 2002; 121: 3-5.
- 61 Baughman RP, Iannuzzi MC, Lower EE, Moller DR, Balkissoon RC, Winget DB, Judson MA: Use of fluticasone in acute symptomatic pulmonary sarcoidosis. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis* 2002; 19: 198-204.
- 62 Leach CL: Improved delivery of inhaled steroids to the large and small airways. *Respir Med*; 1998; 92 (suppl A):3-8.
- 63 Marshall BG, Wangoo A, Harrison LI, Young DB, Shaw RJ: Tumour necrosis factor-alpha production in human alveolar macrophages: modulation by inhaled corticosteroid. *Eur Respir J* 2000; 15: 764-70.
- 64 Singh A, Zelazowska EB, Petrides JS, Raybourne, Sternberg EM, Gold PW, Deuster PA A: Lymphocyte subset responses to exercise and glucocorticoid suppression in healthy men. *Med Sci Sports Exerc* 1996; 28: 822-8.
- 65 Boulet LP, Milot J, La Forge J, Laviolette M. Lymphocytic alveolitis and airway responsiveness in recently diagnosed sarcoidosis. *Sarcoidosis* 1992; 9:43-48.
- 66 Ohrn MB, Skold CM, van Hage-Hamsten M, Sigurdardottir O, Zetterstrom O, Eklund A. Sarcoidosis patients have bronchial hyperresponsiveness and signs of mast cell activation in their bronchoalveolar lavage. *Respiration* 1995;62: 136-142.
- 67 Aggarwal AN, Gupta D, Chandrasekhar G, Jindal SK. Bronchial Hyperresponsiveness in Patients with Sarcoidosis. *J Assoc Physicians India*. 2004 Jan;52:21-3

- 68 Chai H , Farr RS, Froehlich LA, Mathison DA, McLean JA, Rosenthal RR, Sheffer AL, Spector SL, Townley RG. Standardization of Bronchial Inhalation Challenge Procedures. *J Allergy Clin Immunol* 1975;6:323-327.
- 69 Jörres RA, Nowak D, Kirsten D, Grönke L, Magnussen H. A short protocol for methacholine provocation testing adapted to the Rosenthal-Chai dosimeter technique. *Chest* 1997; 111: 866-869
- 70 American Thoracic Society. Lung function testing: selection of reference values and interpretative strategies. *Am. Rev. Respir. Dis* 1991; 144: 1202-1218.
- 71 American Thoracic Society. Standardization of Spirometry, 1994 Update. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1995; 152:1107-1136.
- 72 American Thoracic Society. Single breath carbon monoxide diffusing capacity, recommendations for a standart technique. *Am Rev Respir Dis* 1987; 136:1299-1307
- 73 K-H. Rühle, Praxisleitfaden der Spiroergometrie, 2., überarbeitete und erweiterte Auflage, 2001/2008 W. Kohlhammer GmbH Stuttgart
- 74 Borg G: Psychophysical bases of perceived exertion. *Med Science Sports Exercise* 1982; 14: 377-381
- 75 Klech H, Hutter C, Costabel U, eds: Clinical guidelines and indications for bronchoalveolar lavage (BAL). *Eur Respir Rev* 1992; 2: 47-127.
- 76 Calvelli T, Denny TN, Paxton H, Gelman R, Kagan J. Guideline for flow cytometric immunophenotyping; a report from the National Institute of Allergy and Infectious Diseases, division of AIDS. *Cytometry* 1993; 14: 702 – 715
- 77 Krug N, Madden J, Redington AE, Lackie P, Djukanovic R, Schauer U, Holgate ST, Frew AJ, Howarth PH: T-cell cytokine profile evaluated at the single cell level in BAL and blood in allergic asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1996; 14: 319-26. Comment in: *Am J Respir Cell Mol Biol* 1996; 14: 316-8.
- 78 Costabel U, Hunninghake GW: ATS/ERS/WASOG statement on sarcoidosis. Sarcoidosis Statement Committee. American Thoracic Society. European Respiratory Society. World Association for Sarcoidosis and Other Granulomatous Disorders. *Eur Respir J* 1999; 14: 735-7.
- 79 Petermann F(2000) Lebensqualität bei Lungenerkrankungen -aktuelle Forschungsergebnisse. In Kirsten D, Magnussen H, *Sarkoidose Up-Date 2000*, Interpneu Verlag
- 80 Chang JA, Curtis JR, Patrick DL, Rhaghu G: Assessment of health-related quality of life in patients with interstitial lung disease. *Chest* 1999; 116: 1175-82. Comment in: *Chest* 2000; 118: 275.

- 81 Pin I, Gibson PG, Kolendowicz R, Girgis-Garbado A, Denburg JA, Hargreave FE, Dolowich J. Use of induced sputum cell counts to investigate airway inflammation in asthma. *Thorax* 1992; 47: 25 – 29
- 82 Holz O, Jörres RA, Koschyk S, Speckin P, Welker L, Magnussen H. Changes in sputum composition during sputum induction in healthy and asthmatic subjects. *Clin Exp Allergy* 1998; 28: 284 – 292
- 83 Quanjer PH, Tammeling GJ, Cotes JE, Pedersen OF, Peslin R, Yernault JC: Lung volumes and forced ventilatory flows. *Eur Respir J* 1993; 16 (suppl): 5-40.
- 84 Morfeld M, Dietsche S, Bürger W, Koch U (2003) Der SF-12-Das Problem der Missing Data. *Diagnostica* 49 (3), 129-135)
- 85 Ettensohn DB, Jankowski MJ, Redondo AA, Duncan PG. Bronchoalveolar lavage in the normal volunteer subject. II. Safety and results of repeated BAL, and use in the assessment of intrasubject variability. *Chest* 1988;94(2):281-85. 50 - 60 %
- 86 Costabel U. Technik und Methodik der bronchoalveolären Lavage bei interstitiellen Lungenkrankheiten. *Schweiz Med Wschr* 1986;116:1238-1244.
- 87 Costabel U. Sarcoidosis: clinical update. *Eur Respir J* 2001;18: Suppl.32 56s-68s.
- 88 Sharma SK, Khanna M, Sharma S, et al: Effect of corticosteroid treatment on various serological & bronchoalveolar lavage abnormalities in patients with sarcoidosis. *Indian J Med Res* 1995 ; 101: 207-12.
- 89 Chadelat K, Baculard A, Grimfeld A, et al: Pulmonary sarcoidosis in children: serial evaluation of bronchoalveolar lavage cells during corticosteroid treatment. *Pediatr Pulmonol* 1992; 16:41-7.
- 90 Drent M, Jacobs JA, de Vries J, Lamers RJ, Liem IH, Wouters EF: Does the cellular bronchoalveolar lavage fluid profile reflect the severity of sarcoidosis? *Eur Respir J* 1999; 13: 1338-44.
- 91 Möllers M, Aries SP, Drömann D, Mascher B, Braun J, Dalhoff K: Intracellular cytokine repertoire in different T cell subsets from patients with sarcoidosis. *Thorax* 2001; 56: 487-93.
- 92 Wahlström J, Katchar K, Wigzell H, Olerup O, Eklund A, Grunewald J: Analysis of intracellular cytokines in CD4+ and CD8+ lung and blood T cells in sarcoidosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163: 115-21.
- 93 Prasse A, Georges CG, Biller H, Hamm H, Matthys H, Luttmann W, Virchow JC Jr: Th1 cytokine pattern in sarcoidosis is expressed by bronchoalveolar CD4+ and CD8+ T cells. *Clin Exp Immunol* 2000; 122: 241-8.

- 94 Milburn HJ, Poulter LW, Dilmeç A, Cochrane GM, Kemeny DM: Corticosteroids restore the balance between locally produced Th1 and Th2 cytokines and immunoglobulin isotypes to normal in sarcoid lung. *Clin Exp Immunol* 1997; 108: 105-13.
- 95 Prior C, Haslam PL: Increased levels of serum interferon-gamma in pulmonary sarcoidosis and relationship with response to corticosteroid therapy. *Am Rev Respir Dis* 1991;143:53-60.
- 96 Salmeri FM, Sofo V, Ando FG, Vastola MB, Crosca S, Bitto A, Gaeta M, Girbino G: Imbalance of serum cytokine network in sarcoid patients: index of sarcoidosis relapse? *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis* 2003;20:53-61.
- 97 Ziegenhagen MW, Benner UK, Zissel G, Zabel P, Schlaak M, Müller-Quernheim J: Sarcoidosis: TNF-alpha release from alveolar macrophages and serum level of sIL-2R are prognostic markers. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156: 1586-92.
- 98 Hol BE, Hintzen RQ, Van Lier RA, Alberts C, Out TA, Jansen HM: Soluble and cellular markers of T cell activation in patients with pulmonary sarcoidosis. *Am Rev Respir Dis* 1993; 148: 643-9.
- 99 Planck A, Katchar K, Eklund A, Gripenback S, Grunewald J: T-lymphocyte activity in HLA-DR17 positive patients with active and clinically recovered sarcoidosis. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis* 2003; 20: 110-7.
- 100 Wahlström J, Berlin M, Skold CM, Wigzell H, Eklund A, Grunewald J: Phenotypic analysis of lymphocytes and monocytes/macrophages in peripheral blood and bronchoalveolar lavage fluid from patients with pulmonary sarcoidosis. *Thorax* 1999; 54: 339-46.
- 101 Katchar K, Wahlström J, Eklund A, Grunewald J: Highly activated T-cell receptor AV2S3(+) CD4(+) lung T-cell expansions in pulmonary sarcoidosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163: 1540-5.
- 102 Mihailovic-Vucinic V, Zugic V, Videnovic-Ivanov J: New observations on pulmonary function changes in sarcoidosis. *Curr Opin Pulm Med* 2003; 9: 436-41.

10. DANKSAGUNG

Herrn Professor Dr. med. D. Kirsten danke ich für die Überlassung des Themas, für die fürsorgliche Betreuung und fachliche Unterstützung bei der Durchführung der Untersuchung, insbesondere für die bronchoskopische Gewinnung der Lavage, sowie für die sorgfältige und kritische Durchsicht des Manuskriptes.

Herrn Professor Dr. med. H. Magnussen danke ich für die Möglichkeit, die Untersuchung am Krankenhaus Großhansdorf durchführen zu können, sowie für die Unterstützung der vorliegenden Arbeit.

Herrn Dr rer. nat. Rudolf A. Jörres danke ich für die wertvolle Beratung bei der Durchführung der Untersuchung, die inhaltliche und außerordentlich zeitintensive Unterstützung bei der Verfassung des in der Zeitschrift Sarcoidosis Vasculititis Diffuse Lung Diseases im Oktober 2005 erschienenen Artikels sowie für die Analyse der statistischen Daten. Bei Fragen insbesondere zur Methodik einzelner Untersuchungen konnte ich mich stets an Herrn Dr. rer. nat. Olaf Holz wenden. Danke für die freundliche und kompetente Wissensvermittlung. Ich danke Dr. Thomas Zeschnigk und Dr. Martin Claussen für die umfangreichen Röntgenbeurteilungen, Dr. Welker und Mitarbeitern des zytologischen Labors für die sachkundige Aufarbeitung und Bewertung der bronchoalveolären Lavage, Dr. Matthias Morfeld für die Auswertung des Lebensqualitätsfragebogens SF36, Dr. rer. nat. Elke Jaksztat, Dr. rer. nat. Deflef Loppow und dem Labor Dr. Kramer und Kollegen in Geesthacht für die Durchführung und Unterstützung bei der Durchflußzytometrischen Untersuchung der Lavage.

Allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der Pneumologischen Forschungsabteilung am Krankenhaus Großhansdorf und der Lungenfunktionsabteilung Dr. med. B. Lehnigk des Krankenhauses Großhansdorf danke ich für die Einweisung in die Durchführung von Lungenfunktionsmessungen, Haut-Prick-Testungen, Methacholinprovokationen, Induktion und Aufarbeitung von Sputum.

Danken möchte ich auch den niedergelassenen Kollegen, die mir bei der Rekrutierung der Patienten hilfreich zur Seite standen. Alle Patienten, die an der Studie teilnahmen, ließen sich zweimal bronchoskopieren und hielten sich gewissenhaft an die Vorgaben des Protokolls. Ihnen möchte ich ganz herzlich danken, denn ohne sie wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen.

11. LEBENSLAUF

„Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.“

12. EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG:

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe. Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Andrea Ludwig-Sengpiel