

Medizinische Fakultät der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

Durchflusszytometrische Analysen von Lungenspülflüssigkeit

Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
Doktorin der Medizin (Dr. med.)

vorgelegt
der Medizinischen Fakultät
der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von Ines Adelman
geboren am 31.08.1991 in Ludwigshafen am Rhein
Betreuerin PD Dr. med. D. Riemann

Gutachterinnen/Gutachter:

1. PD Dr. med. Dagmar Riemann
2. Prof. Dr. med. Wolfgang Schütte
3. Prof. Dr. med. Claus Kroegel, Jena

23.07.2019

13.01.2020

Referat

In dieser Arbeit wurden zytologische und durchflusszytometrische Analysen von Zellen in bronchoalveolärer Lavageflüssigkeit (BALF) sowie epidemiologische und klinische Parameter von Personen mit verschiedenen Lungenerkrankungen ausgewertet. Ziel der Arbeit war es, verschiedene Krankheitsgruppen zu charakterisieren, weiterführende Untersuchungen bezüglich der in einer anderen Dissertation als eigenständige Erkrankung postulierten Sarkoidose-ähnlichen Erkrankung anzustellen sowie einen auf BAL-Parametern beruhenden Diagnosescore für die Erkrankung Sarkoidose zu entwickeln.

Insgesamt wurden Datensätze von 2903 Personen ausgewertet, die sich im Krankenhaus Martha-Maria Halle-Dölau oder im angeschlossenen MVZ für Pneumologie aufgrund verschiedener Indikationen einer bronchoalveolären Lavage unterzogen hatten. Die zytologischen und durchflusszytometrischen Untersuchungen erfolgten nach entsprechender Aufbereitung des Materials im Institut für Medizinische Immunologie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg. Anhand der vorliegenden Krankenakten wurden epidemiologische und klinische Informationen ergänzt. So war es möglich, aus der Gesamtgruppe Lungenerkrankter Personen zu den drei Hauptkrankheitsgruppen Sarkoidose, Sarkoidose-ähnliche Erkrankung und exogen allergische Alveolitis zuzuordnen. Die Datensätze wurden mit Hilfe parametrischer und nichtparametrischer strukturprüfender Verfahren statistisch ausgewertet.

Für die Gruppen Sarkoidose und Sarkoidose-ähnliche Erkrankung konnten bezüglich der erhobenen BAL-Parameter keine wesentlichen signifikanten Unterschiede nachgewiesen werden, während sich die Gruppen im Hinblick auf die Lungenfunktionsparameter, die Belastung durch eine Fatiguesymptomatik sowie das Ansprechen auf eine Glucokortikoidmonotherapie erheblich unterschieden. Anhand der vorliegenden zytologischen und durchflusszytometrischen Daten konnten verschiedene Modelle von diagnostischen Scores zur Ergänzung der Sarkoidosediagnostik erstellt werden. Für den eine optimale Modellsparsamkeit berücksichtigenden Score 5 ergaben sich unter Einschluss der Variablen CD4+/CD8+-Ratio, Lymphozytenanteil, Neutrophilenanteil und HLA-DR+-T-Zellen eine Sensitivität von 76,6% und eine Spezifität von 69,4%. Die erarbeiteten Diagnosescores müssen in prospektiven Studien überprüft werden.

Inhaltsverzeichnis

I.	Abbildungsverzeichnis	IV
II.	Tabellenverzeichnis	V
III.	Abkürzungsverzeichnis	VII
1.	Einleitung	1
1.1	Sarkoidose	1
1.1.1	Epidemiologie der Sarkoidose	1
1.1.2	Ätiologie der Sarkoidose	1
1.1.3	Immunologische Vorgänge bei Sarkoidose	2
1.1.4	Klinische Präsentation	4
1.1.5	Diagnostik	5
1.1.6	Therapie und Verlauf	6
1.1.7	Prognose der Sarkoidose	7
1.2	Sarkoidose-ähnliche Erkrankung/SLD	7
1.3	Exogen allergische Alveolitis/EAA	7
1.3.1	Epidemiologie der EAA	7
1.3.2	Pathogenese der EAA	8
1.3.3	Klinische Präsentation	8
1.3.4	Diagnostik	9
1.3.5	Therapie	9
1.3.6	Prognose der EAA	10
1.4	Bronchoalveoläre Lavage/BAL	10
1.4.1	Indikationen und Durchführung	10
1.4.2	Referenzwerte	10
1.5	Durchflusszytometrie	11
1.6	Oberflächenmoleküle zur Identifikation von Immunzellen	12
2.	Zielstellung	13
3.	Material und Methoden	14
3.1	Datensatz	14
3.1.1	Herkunft und Bearbeitung der Rohdaten	14
3.1.2	Gesamtgruppe der zu analysierenden Daten	14
3.1.3	Bildung der analyserelevanten Gruppen	15
3.1.4	Sarkoidosegruppe	16
3.1.5	Gruppe der Sarkoidose-ähnlichen Erkrankung/SLD	16
3.1.6	Gruppe der exogen allergischen Alveolitis/EAA	16
3.1.7	Lymphozytose- und Nichtlymphozytosegruppe	17
3.2	Statistische Analysen	17

3.2.1	Datenverarbeitungsprogramme	17
3.2.2	Überprüfung von Verteilungsannahmen	17
3.2.3	Korrelationen	17
3.2.4	Box-Whisker-Plots	18
3.2.5	Mittelwertvergleiche bei zwei unverbundenen Stichproben	18
3.2.6	Mittelwertvergleiche bei mehr als zwei unverbundenen Stichproben	18
3.2.7	Logistische Regression	19
3.2.8	Diagnostischer Test und Gütekriterien	20
3.2.9	ROC-Kurven und Youden-Index	21
4.	Ergebnisse	21
4.1	Gruppen Sarkoidose und SLD	21
4.1.1	Epidemiologische Maßzahlen und Zusammenhänge	21
4.1.2	Verteilung bildgebender und histologischer Befunde bei Sarkoidose	22
4.1.3	Zytologische und durchflusszytometrische Parameter der BALF	23
4.1.4	Lungenfunktionsparameter	24
4.1.5	Fatiguescore	25
4.1.6	Therapie und Therapieansprechen	27
4.1.7	Weitere Ergebnisse untersuchter Untergruppen	29
4.2	Gruppe der exogen allergischen Alveolitis	29
4.2.1	Epidemiologische Maßzahlen und Zusammenhänge	29
4.2.2	Auswertung bildgebender Befunde	30
4.2.3	Zytologische und durchflusszytometrische Parameter der BALF	30
4.2.4	Lungenfunktionsparameter	31
4.2.5	Therapie und Therapieansprechen	31
4.3	Gesamtgruppe lungenerkrankter Personen	32
4.3.1	Epidemiologische Maßzahlen und Zusammenhänge	32
4.3.2	Zytologische und durchflusszytometrische Parameter der BALF	33
4.4	Vergleich der Lymphozytosefraktionen innerhalb der Gruppen Sarkoidose, SLD, EAA und der Gesamtgruppe	34
4.4.1	Epidemiologische Maßzahlen und Zusammenhänge	34
4.4.2	Zytologische und durchflusszytometrische Parameter der BALF	35
4.4.3	Lungenfunktionsparameter	35
4.4.4	Fatiguescore	35
4.5	Analyse der Diskriminationsfähigkeit von BAL-Parametern für die Diagnostik der Sarkoidose	36
4.5.1	CD4+/CD8+-Ratio als mögliche Trennvariable	36
4.5.2	Lymphozytenanteil als mögliche Trennvariable	36

4.5.3	CD16+-T-Zellen als mögliche Trennvariable	37
4.5.4	HLA-DR+-T-Zellen als mögliche Trennvariable	37
4.5.5	Kombination von Trennvariablen: Versuch der Entwicklung eines diagnostischen Scores für Sarkoidose	38
4.5.6	Zusammenfassung der Diskriminierungsfähigkeit der untersuchten Trennvariablen und Diagnosescores	42
5.	Diskussion	43
5.1	Einordnung epidemiologischer Charakteristika der Krankheitsgruppen	43
5.1.1	Sarkoidose	43
5.1.2	Sarkoidose-ähnliche Erkrankung/SLD	43
5.1.3	Exogen allergische Alveolitis/EAA	44
5.1.4	Gesamtgruppe Lungenerkrankter	44
5.2	Methodische Limitationen	45
5.2.1	Statistische Tests	45
5.2.2	BAL und Durchflusszytometrie	45
5.3	Interstitielle Lungenerkrankungen/ILD und Stellenwert der BAL	46
5.4	Einordnung der BAL-Ergebnisse der Sarkoidosegruppe	47
5.4.1	Lymphozytenanteil und CD4+/CD8+-Ratio	47
5.4.2	Weitere BAL-Parameter bei Sarkoidose	49
5.5	Einordnung der Ergebnisse Gruppe SLD im Vergleich zu Sarkoidose	50
5.5.1	BAL-Parameter	50
5.5.2	Lungenfunktionsparameter	50
5.5.3	Belastung durch Fatigue	51
5.5.4	Therapieansprechen	52
5.5.5	„Sarkoidose“ als Sammelbegriff	52
5.6	Einordnung der Ergebnisse der Gruppe EAA	53
5.6.1	BAL	53
5.6.2	Lungenfunktion und Therapie	53
5.7	Vergleich der Sarkoidosescores	54
6.	Zusammenfassung	57
7.	Literaturverzeichnis	59
8.	Tabellenanhang	66
9.	Thesen	78
IV.	Curriculum vitae	IX
V.	Selbstständigkeitserklärung	X
VI.	Erklärung über frühere Promotionsversuche	XI
VII.	Danksagung	XII

I. Abbildungsverzeichnis

Abb. 1:	Schematische Darstellung eines Durchflusszytometers	11
Abb. 2:	Flussdiagramm Datensatzmodifikation	15
Abb. 3:	Bildliche Darstellung der Untergruppen	15
Abb. 4:	Diagramm zur Verteilung bildgebender und histologischer Befunde bei Sarkoidose	22
Abb. 5:	Box-Plots zur Verteilung von Lymphozyten und Ratio CD4+/CD8+-T-Zellen bei Sarkoidose, SLD	23
Abb. 6:	Box-Plots zur Verteilung von totaler Lungenkapazität und Vitalkapazität bei Sarkoidose, SLD	25
Abb. 7:	Diagramm Anzahl Personen je Fatigueschweregrad bei Sarkoidose, SLD	26
Abb. 8:	Box-Plots zur Verteilung der Punktzahl im Fatiguescore nach Geschlecht bei Sarkoidose, SLD	26
Abb. 9:	Kreisdiagramme zur Reaktion auf Therapie bei Sarkoidose, SLD	27
Abb. 10:	Diagramm zur Anzahl Personen je Schweregrad im Fatiguescore abh. vom Therapieansprechen bei Sarkoidose	28
Abb. 11:	Diagramm zur Anzahl Personen je Schweregrad im Fatiguescore abh. vom Therapieansprechen bei SLD	29
Abb. 12:	Box-Plots zur Verteilung der Ratio CD4+/CD8+-T-Zellen bei Sarkoidose, SLD, EAA, Gesamtgruppe	30
Abb. 13:	Box-Plots zur Verteilung von TLC und VC bei Sarkoidose, SLD, EAA	31
Abb. 14:	Box-Plots zur Verteilung der Lymphozyten bei Sarkoidose, SLD, EAA, Gesamtgruppe	33
Abb. 15:	Box-Plots zur Verteilung der CD4+- und CD8+-T-Zellen bei Sarkoidose, SLD, EAA, Gesamtgruppe	34
Abb. 16:	ROC-Kurven für Ratio CD4+/CD8+-T-Zellen und Lymphozytenanteil als Trennvariablen	37
Abb. 17:	ROC-Kurven für CD16+-T- und HLA-DR+-T-Zellen als Trennvariablen	38
Abb. 18:	ROC-Kurve für Score 3 als Trenninstrument	40

II. Tabellenverzeichnis

Tab. 1:	Referenzwerte für Differentialzytologie bei Nichtrauchenden	10
Tab. 2:	Referenzwerte für Immunphänotypisierung bei Nichtrauchenden	10
Tab. 3:	Durchflusszytometrisch erfasste Zelltypen der BAL-Flüssigkeit	13
Tab. 4:	Überblick über die metrischen Variablen	66
Tab. 5:	Überblick über die kategorialen Variablen	66
Tab. 6:	Geschlechterverteilung bei Personen mit Sarkoidose, SLD	22
Tab. 7:	Angaben zum Nikotinkonsum bei Personen mit Sarkoidose, SLD	22
Tab. 8:	Gegenüberstellung metrischer Parameter der Hauptgruppen	67
Tab. 9:	Mittelwertvergleich der Hauptgruppen mit einfaktorieller Varianzanalyse	68
Tab. 10:	Vergleich der zentralen Tendenz der Hauptgruppen mit Kruskal-Wallis-Test	68
Tab. 11:	Einteilung nach Seneszenzmarker CD57 bei Sarkoidose, SLD	24
Tab. 12:	Gegenüberstellung metrischer Parameter der Gruppen nach Dauer der Lymphozytenaktivität	69
Tab. 13:	Gegenüberstellung metrischer Variablen nach Geschlecht in den Krankheitsgruppen	70
Tab. 14:	Einteilung der Belastung durch Fatigue in Schweregrade	25
Tab. 15:	Gruppen Therapieansprechen bei Sarkoidose, SLD	27
Tab. 16:	Gegenüberstellung metrischer Variablen bei Ansprechenden und Nichtansprechenden in den Gruppen Sarkoidose, SLD und EAA	73
Tab. 17:	Geschlechterverteilung in der Gruppe EAA	30
Tab. 18:	Angaben zum Nikotinkonsum in der Gruppe EAA	30
Tab. 19:	Therapie/Therapieansprechen in der Gruppe EAA	32
Tab. 20:	Geschlechterverteilung in der Gesamtgruppe	32
Tab. 21:	Angaben zum Nikotinkonsum in der Gesamtgruppe	32
Tab. 22:	Personen in den Hauptgruppen mit Lymphozytose	34
Tab. 23:	Geschlechterverteilung in den Lymphozytosefraktionen	35
Tab. 24:	Angaben zum Nikotinkonsum in den Lymphozytosefraktionen	35
Tab. 25:	Gegenüberstellung metrischer Parameter der Lymphozytosefraktionen der Gruppen Sarkoidose, SLD, EAA und Gesamtgruppe	75
Tab. 26:	Ergebnisse der einfaktoriellen Varianzanalyse beim Vergleich der Lymphozytosefraktionen der Gruppen Sarkoidose, SLD, EAA und Gesamtgruppe	76

Tab. 27:	Ergebnisse Kruskal-Wallis Test bei den Lymphozytosefraktionen	77
Tab. 28:	Klassifizierungstabelle Trennvariable Ratio	36
Tab. 29:	Klassifizierungstabelle Trennvariable Lymphozyten	37
Tab. 30:	Klassifizierungstabelle Trennvariable CD16+-T-Zellen	37
Tab. 31:	Klassifizierungstabelle Trennvariable HLA-DR+-T-Zellen	38
Tab. 32:	Score 1 Sarkoidose	38
Tab. 33:	Score 2 Sarkoidose	39
Tab. 34:	Klassifizierungstabelle Score 2	39
Tab. 35:	Score 3 Sarkoidose	39
Tab. 36:	Klassifizierungstabelle Score 3	40
Tab. 37:	Erweiterung Score 3 um Einzelvariablen	40
Tab. 38:	Klassifizierungstabelle Score 4	41
Tab. 39:	Score 5 Sarkoidose	42
Tab. 40:	Klassifizierungstabelle Score 5	42
Tab. 41:	Güte der Klassifizierungsfähigkeit der Einzelvariablen	42
Tab. 42:	Güte der Klassifizierungsfähigkeit der Diagnosecores	42

III. Abkürzungsverzeichnis

ACE	A ngiotensin- C onverting- E nzym
ANOVA	A nalysis of V ariance/Varianzanalyse
ANXA-11	A nnexin11
ATS	A merican T horacic S ociety
AUC	A rea under the C urve
BAL	b ronchoalveoläre L avage
BALF	b ronchoalveoläre L avage- F lüssigkeit
BTNL2	B utyrophilin-like-2
CCL	C - C -Motiv- C hemokin- L igand
CD	C luster of D ifferentiation/zelluläres Differenzierungsantigen
COPD	C hronic O bstructive P ulmonary D isease/chronisch obstruktive Lungenerkrankung
DZ	d endritische Z ellen
EAA	e xogen a llergische A lveolitis
EKG	E lektro k ardiogramm
ERS	E uropean R espiratory S ociety
FACS	F luorescence- a ctivated C ell S orting/fluoreszenzaktivierte Zellsortierung
FSC	F oreward S catter/Vorwärtslichtstreuung
G	G esamtgruppe
GWAS	g enom w eite A ssoziations s tudie
HLA	H uman L eukocyte A ntigen/ h umanes L eukozytenantigen
HRCT	H igh R esolution C omputed T omography/hochauflösende Computertomografie
IFN	I nter f eron
Ig	I mmunglobulin
IL	I nterleukin
ILD	I nterstitial L ung D isease/interstitielle Lungenerkrankung
KI	K onfidenzintervall
MFIS	M odified F atigue I mpact S cale
MHC	M ajor H istocompatibility C omplex/Haupthistokompatibilitätskomplex
MVZ	M edizinisches V ersorgungszentrum
MW	M ittelwert
n	Anzahl
n.s.	nicht s ignifikant
NK-Zellen	N atural K iller-Cells/natürliche Killerzellen
NPW	n egativer p rädiktiver W ert

OS9	O steosarcoma- a mplified-9
PAMP	P athogen A ssociated M olecular P attern/Pathogen-assoziertes molekulares Muster
PPW	p ositiver p rädiktiver W ert
PRR	P attern R ecognition R eceptors/Mustererkennung-Rezeptoren
ROC	R eceiver O perating C haracteristics
S	S arkoidose
SD	S tandard D eviation/Standardabweichung des Mittelwertes
SLD	S arkoidosis-like D isease/Sarkoidose-ähnliche Erkrankung
SSC	S ideward S catter/Seitwärtslichtstreuung
TGF	T ransforming G rowth F actor/transformierender Wachstumsfaktor
T _H	T - H elfer-Zellen
TLC	T otal L ung C apacity/totale Lungenkapazität
TLR	T oll-like- R ezeptor
TNF	T umor- N ekrose- F aktor
VC	V ital C apacity/Vitalkapazität
WASOG	W orld A ssociation for S arcoidosis and O ther G ranulomatous Disorders

1. Einleitung

1.1 Sarkoidose

Die Sarkoidose ist eine granulomatöse Multisystemerkrankung unbekannter Ursache, die sich vor allem in Form von bilateraler Lymphadenopathie und Lungeninfiltration, Augen- und Hautläsionen bemerkbar macht. Prinzipiell kann sich die Erkrankung aber an jedem Organ manifestieren. Diese Definition wurde im Jahr 1999 von der American Thoracic Society (ATS) in Zusammenarbeit mit der European Respiratory Society (ERS) und der World Association for Sarcoidosis and Other Granulomatous Disorders (WASOG) erstellt (ATS et al., 1999). Die Sarkoidose zählt zu den interstitiellen Lungenerkrankungen. Möglicherweise wird die überschießende granulomatöse Reaktion durch Exposition gegenüber bislang nicht identifizierten Antigenen bei genetisch suszeptiblen Personen ausgelöst.

1.1.1 Epidemiologie der Sarkoidose

Sarkoidose ist ein weltweit auftretendes Krankheitsbild, die Prävalenzen und Inzidenzen variieren jedoch aufgrund epidemiologischer und sozioökonomischer Faktoren. Besonders häufig sind Menschen in Schweden, Dänemark und Menschen schwarzafrikanischer Herkunft in den USA betroffen (Valeyre et al., 2014). In Deutschland liegt die Prävalenz bei 40/100000 Personen, die Inzidenz bei 10/100000 Personen (Costabel, 2014a). Die Krankheitspräsentation und –schwere gestaltet sich bei verschiedenen ethnischen Gruppen unterschiedlich. So sind Menschen schwarzafrikanischer Herkunft in der Regel schwerer betroffen und weisen öfter extrathorakale Manifestationen auf, während Menschen in Europa meist asymptomatisch sind oder akute Manifestationen mit guter Prognose erleiden. Die Erkrankung manifestiert sich hauptsächlich bei Personen zwischen 25 und 45 Jahren, ein zweiter Anstieg der Erkrankungshäufigkeit wird für Frauen ab 50 Jahren beobachtet. Generell sind Frauen etwas häufiger betroffen als Männer und nichtrauchende Personen häufiger als rauchende. Die Mortalität beträgt 1-5%, hauptsächlich aufgrund respiratorischen Versagens (ATS et al., 1999).

1.1.2 Ätiologie der Sarkoidose

Die Ursache der Erkrankung ist bis heute ungeklärt. Familiäre und geografische Cluster von Krankheitsfällen weisen auf genetische und umweltbedingte Hintergründe hin. Im Rahmen von genomweiten Assoziationsstudien (GWAS) konnte gezeigt werden, dass viele für Sarkoidose prädisponierende Gene existieren und dass die genaue Kombination dieser Gene bei einer Person die Art der Manifestation und den Verlauf der Erkrankung beeinflusst (Fischer et al., 2014). Prädisponierend sind vor allem Gene,

deren Produkte an der Immunregulation beteiligt sind. Als Beispiele sind das BTNL2-Gen (Valentonyte et al., 2005), das ANXA11-Gen (Hofmann et al., 2008) oder das OS9-Gen (Wei et al., 2013) zu nennen. HLA-I-Allele bestimmen den Krankheitsverlauf mit, HLA-II-Allele das Erkrankungsrisiko (Fischer et al., 2014).

1.1.3 Immunologische Vorgänge bei Sarkoidose

Verschiedene aufeinander folgende immunologische Geschehnisse führen bei der Sarkoidose zur Granulombildung (Zissel, 2014). Erlebt eine Person mit einem empfänglichen genetischen Hintergrund eine Exposition gegenüber einem oder mehreren bislang noch unbekanntem Antigenen, werden zunächst dendritische Zellen (DZ) aktiviert. Durch deren Antigenprozessierung und –präsentation in Lymphknoten kommt es letztendlich zum Erwerb einer T-Zell-Immunität gegen das Antigen. Die Induktion der Granulombildung resultiert dann aus einer Makrophagen- und T-Zell-Akkumulation.

Nicht nur ein einzelner Auslöser, sondern verschiedene Antigene könnten einen bestimmten pathogenetischen Mechanismus induzieren, der dann zu der Erkrankung führt, die wir „Sarkoidose“ nennen (Zissel, 2014). In Betracht gezogenen Antigene umfassen unter anderem infektiöse Antigene wie Viren und Bakterien (Chen et Moller, 2014), organische Substanzen wie Pollen oder anorganische Substanzen wie Aluminium (Vuyst et al., 1987) oder Zirkonium (Skelton et al., 1993). Da aktivierte T-Lymphozyten bei Sarkoidose außer in Granulomen nur in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit (BALF) nachweisbar sind, liegt der Verdacht auf ein inhalatives Antigen nahe (Darlington et al., 2012). Im Rahmen der physiologischen Immunantwort wandern DZ nach Antigenkontakt aus dem Gewebe in regionale Lymphknoten ein und präsentieren im aktivierten Zustand Antigene über MHC-Klasse-I- und MHC-Klasse-II-Moleküle zusammen mit kostimulierenden Molekülen an naive T-Lymphozyten. Treffen die DZ auf T-Zellen mit passendem Rezeptor, kommt es zur Ausbildung der sogenannten immunologischen Synapsen, die eine ausreichend lange und enge Interaktion zwischen den beiden Zelltypen ermöglichen. Über den Kontakt von kostimulierenden Molekülen auf den DZ und passenden Liganden auf den T-Zellen sowie durch Freisetzung von Zytokinen beider Zellarten wird die Proliferation von antigenspezifischen naiven T-Zellen und deren Differenzierung zu Effektor-T-Zellen in Gang gesetzt. Bei T-Helfer-Zellen (T_H) bestimmt die Art der freigesetzten Zytokine, welchem Helferzell-Subtyp die entstehenden Zellklone entsprechen. Fertiggestellte Effektor-T-Zellen verlassen die Lymphknoten mit der Lymphe, zirkulieren im Blut und wandern in das Gewebe ein, in dem sie benötigt werden (Rink et al., 2012a). Obwohl DZ die potentesten antigenpräsentierenden Zellen für naive T-Zellen sind, spielen bei der Pathogenese der

Sarkoidose auch aktivierte Alveolarmakrophagen eine entscheidende Rolle. Hinweis darauf ist unter anderem die im Vergleich zu Gesunden erhöhte Anzahl von Alveolarmakrophagen (Zissel, 2014). Die Aktivierung von PRR (pattern recognition receptors) über PAMPs (pathogen associated molecular patterns) führt zu einer starken inflammatorischen Antwort, im Rahmen derer die Makrophagen vermehrt MHC-Klasse-II-Moleküle und kostimulierende Moleküle exprimieren und IL-12, IL-15 und TNF α freisetzen. Die Immunantwort bei Sarkoidose wird als zellvermittelte T_H1-Reaktion auf ein wahrscheinlich schlecht eliminierbares und deshalb persistierendes Antigen beschrieben. Die T_H1-Zellen bilden unter anderem IFN- γ , IL-2 und IL-3 und koordinieren so normalerweise die Immunantwort bei intrazellulären Erregern oder regen B-Zellen zur Bildung von Antikörpern gegen extrazelluläre Bakterien an. Die Polarisation naiver T_H-Zellen in Richtung T_H1 erfolgt über IL-12 von antigenpräsentierenden Zellen (Zissel et al., 2010).

Auch andere Helferzell-Populationen sind in die Pathogenese der Sarkoidose involviert. T_H17-Zellen als Effektor-T-Zellen infiltrieren angelockt durch das Chemokin CCL20 die Lunge und sind in frühen und späten Krankheitsphasen nachweisbar (Facco et al., 2011). Diese Subpopulation wird generell mit chronisch-inflammatorischen Erkrankungen assoziiert, soll bei Sarkoidose eine Rolle bei der Krankheitsprogression spielen und ist vermehrt in der BAL nachweisbar (Facco et al., 2011). Darüber hinaus wurde bei chronischer Sarkoidose ein Anstieg von regulatorischen T-Zellen mit eingeschränkter immunsuppressiver Fähigkeit beobachtet (Rappl et al., 2011).

Letztendlich resultiert die langdauernde Immunantwort mit Makrophagen- und T-Zell-Aktivierung bei Sarkoidose in der Bildung epitheloidzelliger, nicht verkäsender Granulome. Granulombildung zeigt die Unfähigkeit des Immunsystems, ein Antigen vollständig zu eliminieren. Eine Annahme ist, dass die mit einer intensiven Immunreaktion einhergehende aktive Form der Erkrankung für die Eradikation des Antigens ausreicht und deshalb nur von begrenzter Dauer ist. Dagegen kann bei einer chronischen Form aufgrund des niedrigen Inflamationslevels keine komplette Eradikation des Antigens erfolgen, sodass die anhaltende Stimulation der Zellen mit Freisetzung von Mediatoren zur Fibrosierung des Lungengewebes führt (Zissel, 2014). Sarkoidosegranulome bestehen zentral aus Makrophagen und sich aus Makrophagen entwickelnden epitheloiden Zellen und Riesenzellen sowie T-Helfer-Zellen (Ma et al., 2007). In der Peripherie finden sich zytotoxische T-Zellen, Fibroblasten und B-Zellen. Im Krankheitsverlauf kommt es entweder zur Auflösung der Granulome oder zum fibrotischen Umbau von peripher nach zentral. Da die Fibrosierung von Granulomen auszugehen scheint, zieht sie sich wie die Granulome auch vor allem entlang von Lymphabflusswegen (Patterson et al., 2013). Während die Pathophysiologie in der

frühen Phase der Erkrankung bis hin zur Granulombildung relativ gut verstanden ist, sind die Gründe für die Entwicklung der fibrotischen Sarkoidose weitgehend unklar. Eine Verschiebung der zu Beginn vorherrschenden T_H1-Zytokine hin zu fibrotisch wirkenden T_H2-Zytokinen, wie IL-13 und CCL2, und eine Phänotypänderung von Makrophagen mit der Freisetzung von profibrotisch wirkendem TGF- β werden in der Literatur als Auslöser diskutiert (Patterson et Streck, 2013). Fraglich ist, ob eine Fibrosierung bei Prädisponierten schon früh im Krankheitsverlauf durch bestimmte proinflammatorische Vorgänge getriggert wird oder eine Wundheilungsantwort auf eine unkontrollierte, chronische Inflammation darstellt (Patterson et al., 2012).

1.1.4 Klinische Präsentation

Das klinische Bild der Sarkoidose ist abhängig davon, welche Organe betroffen sind und wie sich der Krankheitsverlauf gestaltet. Man unterscheidet eine akute, selten rezidivierende von einer chronischen, häufig rezidivierenden Form. Der Übergang der akuten in die chronische Verlaufsform ist extrem selten (Kirsten, 2016a). Als chronisch gelten Verläufe ab einer Dauer von etwa drei bis fünf Jahren (Wessendorf et al., 2015). Als häufigste Manifestation der akuten Sarkoidose gilt das Löfgren-Syndrom mit einer Symptomtrias aus Sprunggelenksarthritis, Erythema nodosum und bilateraler Lymphadenopathie, das bevorzugt bei jungen Frauen auftritt (Herold, 2014a). Bei der chronischen Sarkoidose stehen respiratorische Symptome wie Belastungsdyspnoe und trockener Reizhusten im Vordergrund, da in über 90% der Fälle die Lunge betroffen ist. Zudem klagen viele Patientinnen und Patienten über eine ausgeprägte Fatigue sowie eventuell Nachtschweiß, Gewichtsverlust oder Fieber (Kirsten, 2016b). Zur Entstehung der Fatigue können verschiedene Faktoren beitragen, darunter sowohl die chronisch ablaufende Immunantwort mit Zytokinfreisetzung als auch Therapienebenwirkungen bei Glucokortikoidgabe wie Gewichtszunahme oder Steroiddiabetes (Górski et Piotrowski, 2016). 20-50% der Betroffenen haben lediglich eine asymptomatische bilaterale Lymphadenopathie (ATS et al., 1999). Die häufigsten extrapulmonalen Manifestationen betreffen periphere Lymphknoten, Haut und Augen (Wessendorf et al., 2015). Ein Hautbefall tritt bei 20-50% der Patientinnen und Patienten auf und kann einer systemischen Manifestation vorausgehen oder nachfolgen. Besonders häufig treten die sich vielschichtig äußernden Hautveränderungen im Gesicht, an den Ohrläppchen und den Extremitätenstreckseiten auf (Sharma, 1972). Eine Augenbeteiligung ist oft eine Frühmanifestation der Sarkoidose, die sich als Iridozyklitis äußern kann. Lymphknotenbeteiligung kann sich in Form von tastbaren, verschieblichen Lymphknoten bemerkbar machen, aber auch intrathorakal vorliegen. Weitere mögliche Manifestationen sind zum Beispiel die Neurosarkoidose mit Beteiligung des peripheren

oder zentralen Nervensystems oder die kardialen Sarkoidose mit Rhythmusstörungen bis hin zum plötzlichen Herztod (Kirsten, 2016c).

1.1.5 Diagnostik

Ergeben sich in der Anamnese Hinweise auf eine Sarkoidose, sollte nach der körperlichen Untersuchung zunächst eine Bildgebung erfolgen. Standardbildgebung bei Verdacht auf Sarkoidose ist das Röntgenbild des Thorax, da die Erkrankung, wie bereits erläutert, in der überwiegenden Anzahl der Fälle mit einer Beteiligung von Lunge und Lymphknoten des Thorax einhergeht (Wessendorf et al., 2015). Die ursprüngliche Stadieneinteilung der Sarkoidose beruht auf der im Thoraxröntgenbild sichtbaren Lungenbeteiligung, das eruierte Stadium gibt Auskunft über die Langzeitprognose (Wurm, 1960). Eine Indikation für eine hochauflösende Computertomografie des Thorax (High-Resolution-Computertomografie/HRCT) ergibt sich erst bei persistierender Sarkoidose mit vermuteten Komplikationen wie etwa Bronchiektasien und ist auch aufgrund der hohen Strahlenbelastung kein Bestandteil der Basisdiagnostik (Wessendorf et al., 2015). Dem Thoraxröntgen schließt sich die Durchführung einer Lungenfunktionsuntersuchung an. Die Vital- und Diffusionskapazität gelten als zur Verlaufsbeurteilung der chronischen Sarkoidose geeignete Parameter. Es zeigen sich in der Regel restriktive Veränderungen der Lungenfunktion, obstruktive Veränderungen deuten auf Atemwegsbeteiligung hin (Kirsten, 2016d). Im Rahmen einer Bronchoskopie mit BAL ist die Gewinnung von Schleimhautbiopsien und transbronchialen Biopsien wünschenswert, auch der Einsatz von endobronchialen Ultraschall oder die Gewinnung von Kryobiopsien hat sich bewährt (Kebbe et Abdo, 2017). In der bronchoalveolären Lavage (BAL) zeigt sich typischerweise eine lymphozytäre Alveolitis mit erhöhter CD4+/CD8+-Ratio (Zaiss et al., 1988). An den Biopstaten kann dann der Nachweis epitheloidzelliger Granulome erfolgen. Gegebenenfalls sollten Biopsien aus anderen möglicherweise betroffenen Organen entnommen werden. Zur Evaluation des über die Lunge hinausgehenden Organbefalls sind eine ophthalmologische Untersuchung und EKG-Ableitung obligat. Wichtig ist auch der Ausschluss anderer granulomatöser Erkrankungen wie der Tuberkulose (Kirsten, 2016e). Im Blut können Makrophagen- oder Granulom-assoziierte Parameter wie das Angiotensin Converting Enzyme (ACE) (Wessendorf et al., 2015) oder Lymphozyten-assoziierte Parameter wie der lösliche Interleukin-2-Rezeptor bestimmt werden (Grutters et al., 2003). Das Serum-ACE gilt beispielsweise als Marker für Granulombelastung und ist bei 40-80% der Erkrankten erhöht. Allerdings sind Granulome kein sarkoidosespezifisches Phänomen und bei Einnahme von ACE-Hemmern wird die ACE-Bildung trotz Granulomanwesenheit unterdrückt. Darüber hinaus existiert eine interindividuelle Variabilität der

Serumkonzentration durch Polyallelie für das ACE-Gen (Kruit et al., 2007). Als weiterer Biomarker gilt die Konzentration des Enzyms Chitotriosidase im Serum. Dieses wird von aktivierten Makrophagen freigesetzt. Für die Chitotriosidasekonzentration wurden signifikant höhere Werte bei Personen mit Sarkoidose als bei Gesunden oder an anderen granulomatösen Erkrankungen Leidenden beschrieben (Bargagli et al., 2013). Der Marker weist eine hohe Sensitivität und Spezifität auf. Die Rolle bei Diagnosestellung ist noch unzureichend erforscht, stabile können jedoch von progredienten Verläufen abgegrenzt werden.

Aktuell kann kein Biomarker für die korrekte Diagnose oder den Ausschluss der Diagnose oder für Therapieentscheidungen genutzt werden. Es existieren Fragebögen zum Assessment des Gesundheitszustandes wie zum Beispiel der King´s Sarcoidosis Questionnaire (Patel et al., 2013). Eine Evaluation der Fatiguesymptomatik mittels Fragebögen ist ebenfalls möglich (Wessendorf et al., 2015). Diese erfolgte bei den in dieser Arbeit analysierten Sarkoidoseerkrankten mittels der „Modified Fatigue Impact Scale“, die ursprünglich für multiple Sklerose entwickelt wurde. Analysiert werden physische, kognitive und psychosoziale Aspekte (National Multiple Sclerosis Society, www.nationalmssociety.org). Als Cut-Off-Wert, ab dessen Erreichen eine klinisch relevante Fatigue angenommen werden kann, gelten dabei 38 von 84 Punkten.

1.1.6 Therapie und Verlauf

Therapieindikationen sind Auftreten von Symptomen sowie gestörte Organfunktionen. Der Nachweis epitheloidzelliger Granulome ohne bestehende Beschwerden oder Funktionsverlust der Lunge oder anderer Organe bedarf keiner Therapie (Prasse, 2016). Glucokortikoide gelten als Medikamente erster Wahl zur Unterdrückung der verstärkten zellulären Immunreaktion, angestrebte Therapiedauer sind sechs bis zwölf Monate. Bei Rezidiven, die in etwa 40% der Fälle auftreten, sollte zunächst wieder eine Glucokortikoidtherapie erfolgen (Grutters et van den Bosch, 2006). Andere Immunsuppressiva, wie Azathioprin, Cyclophosphamid oder Methotrexat, können bei frustriertem Einsatz der Glucokortikoide oder zum Einsparen der Dosis genutzt werden. Auch die TNF α -Hemmung durch Substanzen wie Infliximab ist möglich (Baughman et al., 2013). Als ultima ratio kann eine Lungentransplantation erfolgen. Das Kontrollintervall bei Lungensarkoidose kann von drei Monaten bei Stabilisierung der Erkrankung auf sechs Monate ausgeweitet werden. Eine Überwachung ist für mindestens drei Jahre nach Erreichen einer Remission indiziert (Kirsten, 2016f).

1.1.7 Prognose der Sarkoidose

Die akute Sarkoidose geht mit einer sehr günstigen Prognose einher. In über 90% der Fälle kommt es zum spontanen oder therapieinduzierten Rückgang der Beschwerden. Bei chronischer Sarkoidose kann es zur Entwicklung einer Lungenfibrose mit pulmonalerterieller Hypertension kommen, wodurch sowohl Lebensqualität als auch Lebenserwartung eingeschränkt sind (Valeyre et al., 2014).

1.2 Sarkoidose-ähnliche Erkrankung/SLD

Nach ATS/ERS/WASOG muss für die Diagnostik der Sarkoidose das klinisch-radiologische Befundbild durch den Nachweis von nichtverkäsenden epitheloidzelligen Granulomen untermauert werden (ATS et al., 1999). Bei Personen mit der Symptomtrias aus Fatigue, Dyspnoe und Husten ohne Nachweis radiologischer Veränderungen an der Lunge und ohne histologischen Nachweis epitheloidzelliger Granulome wurde das Vorliegen einer sarkoidoseähnlichen Erkrankung postuliert (Hofer, 2015). Im Unterschied zur Sarkoidose betrifft diese Erkrankung Frauen deutlich häufiger als Männer. Betroffene leiden vor allem unter der Fatiguesymptomatik. Wie die Sarkoidose ist die sarkoidoseähnliche Erkrankung mit einer erhöhten CD4+/CD8+-Ratio und einer Lymphozytose in der BAL vergesellschaftet. Die für Sarkoidoseerkrankte vorgesehene Basistherapie mit Glucokortikoiden musste bei Hofer in der Mehrzahl der Fälle mit SLD um weitere immunsuppressive Medikamente erweitert oder ersetzt werden, um eine Beschwerdefreiheit zu erreichen.

1.3 Exogen allergische Alveolitis/EAA

Die EAA ist eine interstitielle Lungenerkrankung, bei der es durch eine nicht IgE-vermittelte allergische Reaktion zur Entzündungsreaktion des Lungenparenchyms und der Bronchioli terminales kommt (Riario Sforza et Marinou, 2017). Ausgelöst wird die Reaktion durch Inhalation vor allem organischer Antigene bei zuvor sensibilisierten Personen. Als häufigste Krankheitsbilder gelten die Vogelhalterlunge, die Farmerlunge und die Befeuchterlunge (Costabel, 2014b).

1.3.1 Epidemiologie der EAA

Die EAA ist eine seltene Erkrankung. Ihre Prävalenz ist von Umweltfaktoren, sozialen und kulturellen Bedingungen abhängig. Als Umweltfaktoren kommen dabei die Allergenkonzentration, Häufigkeit und Dauer der Exposition gegenüber dem Antigen, Partikelgröße oder Klimaverhältnisse in Frage (Riario Sforza et Marinou, 2017). Epidemiologische Studien sind eingeschränkt beurteilbar bei unterschiedlich angelegten Diagnosekriterien für die Erkrankung. Die Prävalenz der Farmerlunge beträgt für die

Allgemeinbevölkerung etwa 0,01-2%, für Exponierte in der Landwirtschaft bis zu 10%. Unter Wellensittichhaltenden beträgt die Prävalenz etwa 3,4%, bei Taubenzüchtenden bis zu 21% (Koschel, 2016a) . Wie auch die Sarkoidose tritt EAA häufiger bei Personen auf, die nicht rauchen (Solaymani-Dodaran et al., 2007). Auch genetische Faktoren beeinflussen die Wahrscheinlichkeit, zu erkranken. Assoziationen zwischen bestimmten MHC-II-Moleküle und dem Auftreten der Vogelhalterlunge werden in der Literatur beschrieben (Camarena et al., 2001).

1.3.2 Pathogenese der EAA

Als ursächlich für die Erkrankung wird die Kombination einer Immunreaktion vom humoralen und zellvermittelten Typ nach Inhalation von Antigenen mit einer Größe von höchstens 5 µm erachtet (Riario Sforza et Marinou, 2017). Die genaue Pathogenese der komplexen Immunreaktion ist dabei unklar. Nach Erkennen der Antigene über Toll-like-Rezeptoren (TLR) und Freisetzung von IL-8 kommt es zum Einstrom von neutrophilen Granulozyten innerhalb der ersten 48 Stunden der Immunreaktion. Danach läuft in der akuten Phase der EAA eine T_H1-Immunreaktion ab. Im Rahmen der Zytokinfreisetzung wandern Lymphozyten, vor allem CD8+-T-Zellen, in die Lunge ein, woraus die lymphozytäre Alveolitis 48-72 Stunden nach Antigenexposition resultiert (Koschel, 2016b). Ähnlich wie bei Sarkoidose wird eine Beteiligung von T_H17 und regulatorischen T-Zellen bei der Pathogenese vermutet (Schuyler et al., 2000). Auch bei der EAA kommt es zur Granulombildung. Einige Erkrankte entwickeln zudem eine Lungenfibrose (Coleman et Colby, 1988).

1.3.3 Klinische Präsentation

Die akute Verlaufsform zeichnet sich durch innerhalb von drei bis zwölf Stunden nach Allergenexposition auftretende grippeähnliche Symptome, Atemnot mit trockenem Husten, Brustenge und Abgeschlagenheit aus. Auskultatorisch macht sich oft ein inspiratorisches Knisterrasseln über der Lunge bemerkbar. Bei Allergenkarenz sind die Symptome auch ohne Therapie innerhalb von einem bis zwei Tagen vollständig regredient (Koschel, 2016c). Die chronische Verlaufsform kann durch eine langanhaltende, niedrigschwellige Allergenexposition oder durch rezidivierende nichterkannte akute Episoden ausgelöst werden. Die progrediente fibrotische Veränderung des Lungenparenchyms äußert sich durch eine zunehmende Belastungsdyspnoe (Ohtani et al., 2003).

1.3.4 Diagnostik

Ergeben sich anamnestisch Hinweise auf eine Antigenexposition und expositionsabhängige Symptome, sollte eine akute EAA in Betracht gezogen werden (Lacasse et al., 2003). Der Nachweis von erhöhten spezifischen IgG-Antikörpern gegen verdächtige Antigene (Fenoglio et al., 2007) und einer restriktiven Ventilationsstörung mit eingeschränkter Diffusionskapazität in der Lungenfunktionsdiagnostik untermauern den Verdacht (Hapke et al., 1968). Im Röntgenbild des Thorax lassen sich in vielen Fällen beidseitige milchglasartige Infiltrate oder eine netzartige Überlagerung der Lungengefäßzeichnung vor allem in den Mittel- und Unterfeldern nachweisen (Hodgson et al., 1989). In der bronchoskopisch gewonnenen BALF zeigt sich eine lymphozytäre Alveolitis mit erniedrigtem CD4+/CD8+-T-Zell-Quotienten. Unter allen ILDs weist die EAA die höchste Gesamtzellzahl und stärkste Lymphozytose auf (Welker et al., 2004). Innerhalb der ersten 48 Stunden nach Antigenexposition steht allerdings eine neutrophile Alveolitis im Vordergrund (Koschel, 2016d). Auch bei der chronischen EAA erfolgt die Bestimmung von antigenspezifischem IgG im Serum. Es können sowohl restriktive als auch obstruktive Ventilationsstörungen auftreten (Koschel, 2016e). Im Thoraxröntgen stehen zunehmende retikulonoduläre Infiltrationen vor allem in den mittleren und apikalen Lungenfeldern im Vordergrund, auch Zeichen eines Lungenemphysems sind möglich (Hodgson et al., 1989). Die Durchführung einer HRCT ergänzt die bildgebende Diagnostik. Bei chronischer EAA ist in der BAL der Nachweis einer nur leichten oder auch fehlenden Lymphozytose möglich. Eine normale oder erhöhte CD4+/CD8+-T-Zell-Ratio schließt die Erkrankung nicht aus (Welker et al., 2004). Der histologische Nachweis der EAA kann in Betracht gezogen werden. Akut zeigen sich ein bronchiolozentrisches lymphozytäres Infiltrat sowie unregelmäßig im Parenchym verteilte Granulome (Coleman and Colby, 1988), bei der chronischen Verlaufsform kommt es zu einer zunehmenden interstitiellen Fibrosierung (Akashi et al., 2009). Bei der chronischen EAA sind differentialdiagnostisch viele weitere interstitielle Lungenerkrankungen zu berücksichtigen.

1.3.5 Therapie

Wichtigste therapeutische Maßnahme ist die Allergenkarenz, die nicht in jedem Falle leicht zu realisieren ist. Medikamentöse Therapie der Wahl sind Glukokortikoide, die allerdings keinen Ersatz für die Allergenkarenz darstellen (Kokkarinen et al., 1992). Bei der chronischen EAA können Immunsuppressiva wie Azathioprin die Glukokortikoiddosis und damit die Nebenwirkungen der Steroide reduzieren. Bei Lungenfibrose mit respiratorischer Insuffizienz stellt die Lungentransplantation eine Therapieoption dar (Koschel, 2016f).

1.3.6 Prognose der EAA

Der Nachweis einer Lungenfibrose bei EAA ist mit einer schlechten Prognose assoziiert. Auch das Auftreten akuter Exazerbationen bei chronischer EAA ist mit einer hohen Mortalität verbunden (Hanak et al., 2008).

1.4 Bronchoalveoläre Lavage (BAL)

1.4.1 Indikationen und Durchführung

Mithilfe der BAL gelingt die Gewinnung zellulärer und nichtzellulärer Bestandteile von der Epitheloberfläche der Alveolen und Bronchioli terminales (Müller-Quernheim, 2012a). Indikationen sind die Diagnostik von Lungenerkrankungen, insbesondere von interstitiellen Lungenerkrankungen (ILD), die Beurteilung der Entzündungsaktivität bei bekannten Lungenerkrankungen und die Durchführung als therapeutische Maßnahme (Müller-Quernheim, 2012b). Die Untersuchung wird im Rahmen der fiberoptischen Bronchoskopie als komplikationsarme Untersuchungstechnik durchgeführt. Über das Bronchoskop werden in das für die Lavage ausgewählte bronchopulmonale Segment 100-300 ml isotoner Salzlösung in mehreren Portionen instilliert und dann wieder aus der Lunge abgesaugt. Für die optimale Abdeckung distaler Atemwege soll das abgesaugte Volumen mindestens 30% des instillierten Volumens entsprechen (Meyer et al., 2012).

1.4.2 Referenzwerte

Die Referenzwerte sind abhängig von Alter, Rauchverhalten und Lavagemethode.

Tabellen 1 und 2 zeigen die Referenzwerte für Differentialzytologie und

Immunphänotypisierung bei Nichtrauchenden

(<http://www.laborvolkmann.de/analysenspektrum/PDF/bronchoalveolaere-lavage.pdf>).

Tab. 1: Referenzwerte für Differentialzytologie bei Nichtrauchenden

Leukozytensubgruppen	Referenzwert in % der Leukozyten
Makrophagen	> 84,0
Lymphozyten	< 15,0
neutrophile Granulozyten	< 3,0
eosinophile Granulozyten	< 0,5
basophile Granulozyten	< 0,5
Mastzellen	< 0,5

Tab. 2: Referenzwerte für Immunphänotypisierung bei Nichtrauchenden

Lymphozytensubgruppen	Referenzwert in % der Lymphozyten
B-Zellen	< 4,0
NK-Zellen	2,0 – 14,0
T-Zellen	63,0 – 83,0
T-Zell-Subgruppen	Referenzwert in % der T-Zellen

CD4+-T-Zellen	40,0 – 70,0
CD8+-T-Zellen	20,0 – 40,0
Ratio CD4+/CD8+-T-Zellen	1,1 – 3,5

1.5 Durchflusszytometrie

Bei der Durchflusszytometrie handelt es sich um eine automatisierte laserbasierte Messung von Streulicht- und Fluoreszenzeigenschaften von Zellen in Suspension (Rink et al., 2012b). Neben dem schnellen Zählen der Zellen und der Identifikation unterschiedlicher Zellpopulationen verfügen moderne Durchflusszytometer auch über die Fähigkeit, die verschiedenen Zellsorten getrennt aufzufangen (FACS/fluorescence activated cell sorting). Die Geräte bestehen aus einer optischen Einheit mit Lichtquelle und Linsensystemen zur Fokussierung des Lichtstrahls, einem flüssigkeitsbasierten Transportsystem sowie einer Signaldetektionseinheit und sind mit einem Computer verbunden, der über eine geeignete Analysesoftware verfügt (Abb. 1) (Rothe et al., 2012a). Vor der Analyse im Durchflusszytometer werden einer Probe eines zu untersuchenden Zellgemisches fluoreszenzmarkierte monoklonale Antikörper zugegeben, die gegen für die zu erwartenden Zelltypen spezifischen Oberflächenantigene gerichtet sind. In der Flusszelle der optischen Einheit trifft der Laserstrahl des Zytometers auf die im Flüssigkeitsstrahl vereinzelt Partikel der

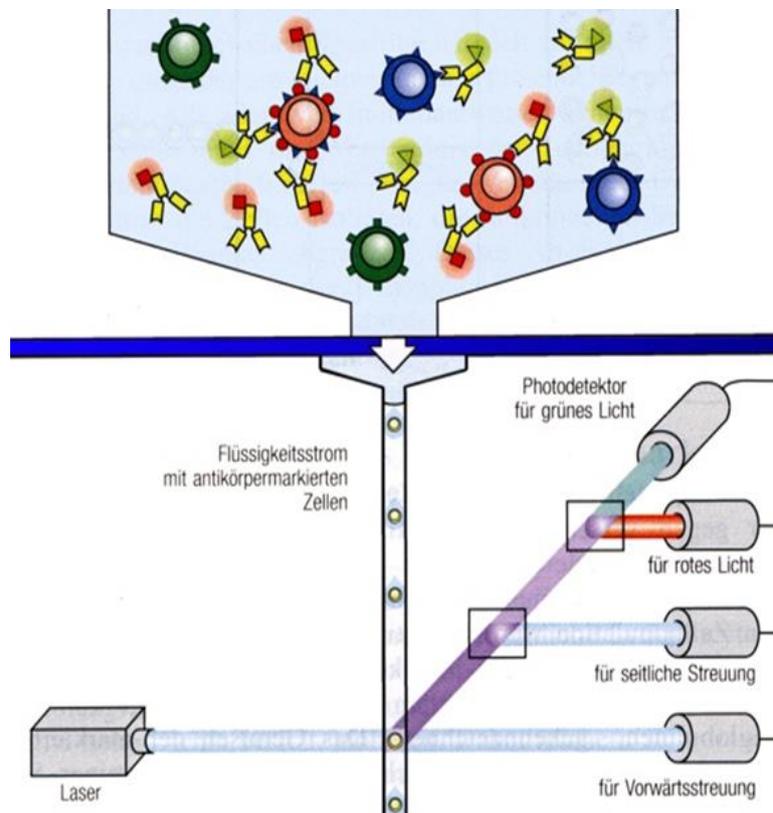


Abb. 1: Schematische Darstellung eines Durchflusszytometers (Murphy et al., 2009b)

Suspension (Murphy et al., 2009a). Beim Durchtritt durch den Laserstrahl entstehen sowohl Streulicht- als auch Fluoreszenzsignale. An Streulichtsignalen werden die Vorwärtslichtstreuung (FSC/forward scatter), die in Relation zur Zellgröße steht und die Seitwärtslichtstreuung (SSC/sideward scatter), die in Relation zur Granularität des Partikels steht, erfasst (Göttlinger et al., 2000). Die an die Zellen gekoppelten Fluoreszenzfarbstoffe werden durch Laserlicht einer bestimmten Wellenlänge optimal angeregt, um dann selbst Licht einer größeren Wellenlänge zu emittieren. Die selektive Analyse eines spezifischen Fluoreszenzsignals erfolgt über ein System von Spiegeln und Filtern, wodurch die Abbildung der für einen bestimmten Fluoreszenzfarbstoff typischen Wellenlängenbereiche auf einen zugehörigen Detektor realisiert wird (Rothe et al., 2012b). Photomultiplerröhren zur Fluoreszenzdetektion verstärken das optische Signal und wandeln es in ein elektrisches um. Über Analog-Digital-Wandler wird die Speicherung der elektrischen Impulse im Computer möglich. Durch den simultanen Einsatz von verschiedenen Fluoreszenzmarkierungen wird die Durchflusszytometrie zur multiparametrischen Analysemethode. Überlappungen in den Emissionsspektren der verschiedenen Fluoreszenzfarbstoffe können bei der Datenverarbeitung im Computer kompensiert werden (Rothe et al., 2012c).

1.6 Oberflächenmoleküle zur Identifikation von Immunzellen

Die im Rahmen der Durchflusszytometrie genutzten monoklonalen fluoreszenzmarkierten Antikörper richten sich gegen Oberflächenantigene, die für bestimmte Zelltypen und ihre Subpopulationen spezifisch sind. Dadurch wird deren Identifikation, Zählung und Auftrennung möglich (Murphy et al., 2009c).

Das Immunglobulin CD3 ist ein T-Zell-Rezeptor-assoziiertes Molekül der Zelloberfläche, das in die Signaltransduktion eingebunden ist und auf allen T-Zellen vorkommt (Murphy et al., 2009d). CD4 dient als Korezeptor für MHC-Klasse-II-Moleküle und ist typisch für T-Helfer-Zellen, während CD8 einen Korezeptor für MHC-Klasse-I-Moleküle darstellt und typisch für zytotoxische T-Zellen ist (Murphy et al., 2009e). CD16 ist Teil des niedrigaffinen F_c -Rezeptors $F_c\gamma RIII$. Dieser Immunglobulinrezeptor befindet sich auf NK-Zellen, Makrophagen und neutrophilen Granulozyten und trägt zu deren Phagozytoseeigenschaften und der Antikörper-abhängigen zellvermittelten Zytotoxizität bei. Zusammen mit dem Vorhandensein von CD3 auf einer Zelle kann es auch für die Identifikation sogenannter NKT-like-Zellen genutzt werden (Murphy et al. 2009f). CD56 und/oder CD16 dienen als Funktionsmoleküle auf NK-Zellen. CD57 ist als Oligosaccharid Teil von Zelloberflächenglykoproteinen verschiedenster Zellen (Murphy et al., 2009g). Es wird jedoch auch als Marker für viele durchlaufene Zellteilungen und damit eine gewisse Zellseneszenz betrachtet (Strioga et al., 2011). Das MHC-Klasse-II-

Molekül HLA-DR wird unter anderem auf aktivierten T-Zellen exprimiert (Heron et al., 2010). CD19 und CD20 sind B-Zell-Marker (Murphy et al., 2009h). CD19 stellt einen Korezeptor auf B-Zellen dar, während CD20 als Oberflächenmolekül mit vier Transmembranabschnitten eine Rolle bei der B-Zell-Aktivierung zugeschrieben wird. Tabelle 3 zeigt die durchflusszytometrisch erfassten Zelltypen der BAL der in dieser Dissertation analysierten Datensätze von Patientinnen und Patienten.

Tab. 3: Durchflusszytometrisch erfasste Zelltypen der BAL-Flüssigkeit

Oberflächen-Moleküle	Zelltyp
CD19	B-Zelle
CD3, CD16 und/oder CD56	NK-Zelle
CD3	T-Zelle
CD3, CD4	T-Helfer-Zelle
CD3, CD8	zytotoxische T-Zelle
CD3, CD57	seneszente T-Zelle
CD3, HLA-DR	aktivierte T-Zelle
CD3, CD16	NKT-like-Zelle

2. Zielstellung

Die zytologische und durchflusszytometrische Analyse von bronchoalveolärer Lavageflüssigkeit ist Teil der Sarkoidosediagnostik. Als diagnoseunterstützend gilt der Nachweis einer Lymphozytosekonstellation mit erhöhter CD4+/CD8+-Ratio. Ziel dieser Arbeit war es, weitere zur Diagnosestellung geeignete BALF-Parameter zu identifizieren und davon ausgehend ein diagnostisches Scoresystem zu entwickeln. Dieses sollte durch Ergänzung des bisher etablierten diagnostischen Vorgehens bei Verdacht auf das Vorliegen einer Sarkoidose die Sicherheit der Diagnosestellung erhöhen.

In der Literatur existiert die Erstbeschreibung der SLD, die neben den für Sarkoidose typischen Symptomen wie trockenem Husten, Luftnot, Brustschmerzen und Fatigue ebenfalls mit einer Lymphozytose und erhöhten CD4+/CD8+-Ratio in der BALF vergesellschaftet ist. Der bildgebende oder funktionelle Nachweis von Lungenveränderungen oder der histologische Nachweis von Granulomen fehlt jedoch. Im Gegensatz zur Sarkoidose sind überwiegend Frauen betroffen, eine Glucokortikoidmonotherapie ist zur Symptomlinderung oftmals nicht ausreichend. Anhand der vorliegenden zytologischen und durchflusszytometrischen Befunde der BAL von Personen mit Sarkoidose und SLD sollte eine Analyse über die bereits bekannten Veränderungen des Lymphozytenanteils und der CD4+/CD8+-Ratio hinaus erfolgen. Diese Untersuchungen sollten einen weiteren Einblick in das bislang nur erstbeschriebene Krankheitsbild verschaffen.

Weiterhin wurde als Entität der ILD die EAA untersucht. Von dieser Personengruppe sollten ebenfalls zytologische und durchflusszytometrisch erhobene Daten der BAL, Ergebnisse von Lungenfunktionsuntersuchungen sowie Informationen zu Therapieversuchen ausgewertet werden.

3. Material und Methoden

3.1 Datensatz

3.1.1 Herkunft und Bearbeitung der Rohdaten

Im Zeitraum zwischen Juli 2010 und Juni 2015 wurden 3435 Proben durch BAL gewonnenen Materials von lungenkranken Patientinnen und Patienten des Krankenhauses Martha-Maria in Halle sowie des angeschlossenen MVZ Pneumologie im Institut für Medizinische Immunologie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg durchflusszytometrisch und durch mikroskopische Auszählung der Zellen untersucht. Durchflusszytometrisch erfasst wurden die Parameter T-Zellen, CD4+-T-Zellen, CD8+-T-Zellen, CD4+CD8+-T-Zellen, CD16+-T-Zellen, CD57+-T-Zellen, HLA-DR+-T-Zellen, B-Zellen und NK-Zellen (alle in % der Lymphozyten). Ebenfalls Eingang in die Parameterdarstellung fand die Angabe der CD4+/CD8+-T-Zell-Ratio.

Ausgehend vom Rohdatensatz wurden 50 Datensätze aufgrund zahlreicher fehlender Angaben von der statistischen Untersuchung ausgeschlossen. Für eine Datenanalyse ohne Messwiederholungen an Untersuchungseinheiten wurde pro Person nur ein Datensatz betrachtet. Dadurch reduzierte sich die Anzahl der zu analysierenden Datensätze um 482 Stück auf eine Anzahl von 2903 zu analysierenden Datensätzen. Dabei wurde der jeweils erste vorhandene Datensatz ausgewählt, außer, wenn bei Verdachtsdiagnose „lymphozytäre Alveolitis“ ein hoher Anteil von neutrophilen Granulozyten an Gesamtleukozyten auf eine Infektion hinwies (Abb. 2).

3.1.2 Gesamtgruppe der zu analysierenden Daten

Die Datensätze von 2903 lungenkranken Patientinnen und Patienten bildeten den Gesamtdatensatz, der in dieser Arbeit beschriebenen statistischen Analyse zugrunde liegt. Die Personen der Gesamtgruppe waren bezüglich der indikationsgebenden Erkrankungen und Symptome, die zur Durchführung einer Bronchoskopie mit Gewinnung bronchoalveolärer Lavageflüssigkeit führten, als sehr heterogen zu beschreiben. Als Beispiele für die Durchführung einer therapeutischen Bronchoskopie mit Absaugung von Sekret sind das Vorliegen einer Pneumonie oder exazerbierten chronisch obstruktiven Lungenerkrankung (COPD) zu nennen. Bronchoskopien zu diagnostischen Zwecken erfolgten bei Verdacht auf Sarkoidose oder

EAA, bei therapieresistentem Asthma, dem Verdacht auf eine Asbestose, auf pulmonale Primärtumore oder Metastasen im Rahmen anderer Prima.

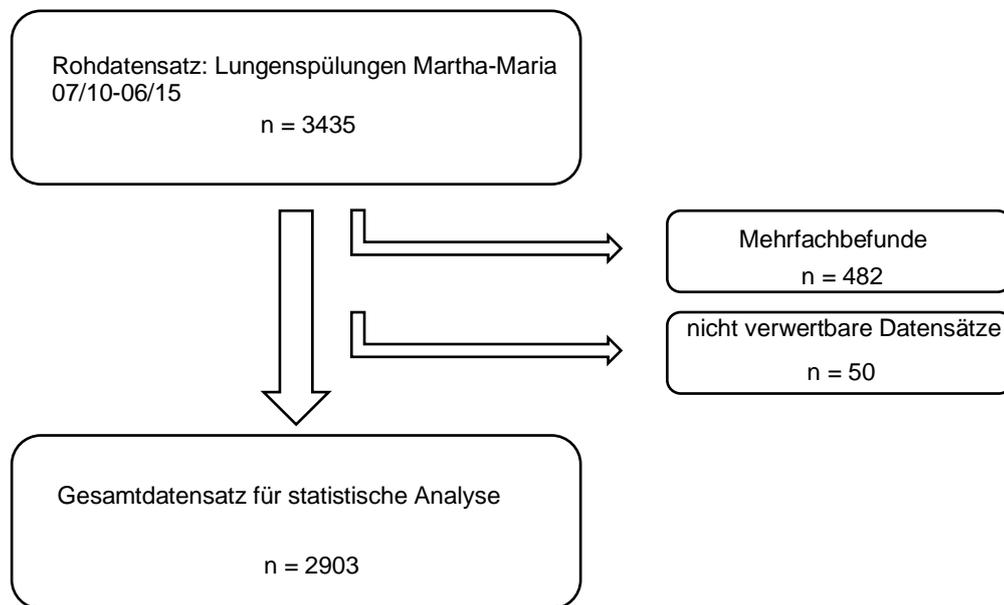


Abb. 2: Flussdiagramm Datensatzmodifikation

3.1.3 Bildung der analyserelevanten Gruppen

Anhand der Informationen in den Krankenakten konnten in der Gesamtgruppe 97 Personen mit Sarkoidose, 67 Personen mit SLD und 25 Personen mit EAA identifiziert werden.

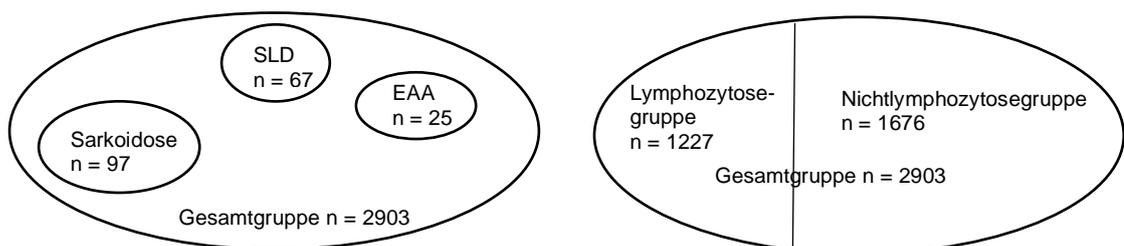


Abb. 3: Bildliche Darstellung der Untergruppen

In diesen drei Haupterkrankungsgruppen wurden die bereits vorhandenen epidemiologischen Informationen bezüglich Geschlecht und Alter zum Zeitpunkt der Untersuchung um Angaben zum Nikotinkonsum, zum histologischen Befund, zum bildgebenden Befund, zur gewählten Therapieform und Ansprechen auf die Therapie

sowie um die im Fatiguescore erreichte Punktzahl bei Diagnosestellung und bodyplethysmografische Parameter ergänzt (Tabellen 4 und 5 im Anhang). Als Ansprechen auf eine Glucokortikoidtherapie gewertet wurde dabei eine subjektive Linderung der krankheitstypischen Beschwerden. Musste die Therapie wegen starker unerwünschter Wirkungen in ihrer Dosis reduziert werden oder musste sie um ein weiteres Medikament ergänzt werden, wurde dies als Nichtansprechen gewertet. Unter Berücksichtigung der durchflusszytometrisch erhobenen Parameter erfolgte weiterhin eine Unterteilung der Gesamtgruppe in die Lymphozytose- und Nichtlymphozytosegruppe (Abb. 3).

3.1.4 Sarkoidosegruppe

Wiesen die in stationärem Umfeld befindlichen oder im MVZ vorstelligen Personen Symptome wie trockenen Husten, Atemnot, subfebrile Temperaturen oder Fatigue auf, ergab sich die Indikation zur pulmonalen Bildgebung und Bronchoskopie mit BAL zum Ausschluss einer atypischen Pneumonie, Sarkoidose oder einer anderen interstitiellen Lungenerkrankung. Bei stimmigen klinischen, bildgebenden und immunzytologischen Befunden wurde die Diagnose einer Sarkoidose gestellt und entsprechend behandelt. Im Rahmen dieser Arbeit wurden dabei nur diejenigen Sarkoidosepatientinnen und -patienten in die Sarkoidosegruppe eingeschlossen, bei denen die Diagnostik auch krankheitstypische Veränderungen in der Bildgebung, Histologie oder beiden Untersuchungen ergab.

3.1.5 Gruppe der Sarkoidose-ähnlichen Erkrankung/SLD

Zeigten sich bei zu Sarkoidose passender Symptomatik und passendem BAL-Befund weder in der pulmonalen Bildgebung noch in der Lungenhistologie sarkoidosetypische Veränderungen, wurde die Person in der vorliegenden Arbeit der SLD-Gruppe zugeordnet. Die Auswahl der Personen basierte auf der in der Dissertation „Erstbeschreibung einer sarkoidoseähnlichen Erkrankung“ (Hofer, 2015) analysierten Gruppe von Patientinnen und Patienten.

3.1.6 Gruppe der Exogen allergischen Alveolitis/EAA

Ergab die Anamnese bei Personen mit trockenem Husten, Dyspnoe und chronischem Krankheitsgefühl mit Abgeschlagenheit oder bei akut aufgetretenen grippalen Symptomen einen Hinweis auf den Kontakt mit alveolengängigen organischen Partikeln und gelang der Nachweis von Antikörpern vom Typ IgG gegen das mögliche Allergen im Serum, wurde eine EAA als Ursache der Beschwerden angenommen. Diese Personen bildeten in dieser Arbeit die Gruppe EAA.

3.1.7 Lymphozytose- und Nichtlymphozytosegruppe

Ein Lymphozytenanteil größer oder gleich fünfzehn Prozent in der BALF diente in Anlehnung an die von der American Thoracic Society erarbeitete Leitlinie für das Vorliegen einer lymphozytären Alveolitis (Meyer et al., 2012) als Kriterium für die Zuordnung einer Person zur Lymphozytosegruppe, ein Anteil von weniger als fünfzehn Prozent für die Zuordnung zur Nichtlymphozytosegruppe.

3.2 Statistische Analysen

Die statistische Auswertung des Datenmaterials erfolgte mit der Unterstützung von Frau Dr. Unverzagt und Herrn Dr. Horn vom Institut für Epidemiologie, Biometrie und Informatik der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg. Es wurde ein zweiseitiges Signifikanzniveau von 5% ($p = 0,05$) festgelegt.

3.2.1 Datenverarbeitungsprogramme

Microsoft Excel 2013

IBM SPSS Statistics 25

3.2.2 Überprüfung von Verteilungsannahmen

Zur Überprüfung der Verteilung einer Variablen wurden in dieser Arbeit Histogramme sowie Q-Q-Diagramme herangezogen (Janssen und Laatz, 2017a).

3.2.3 Korrelationen

Zusammenhänge zwischen metrischen Variablen wurden zunächst anhand von Scatterplots grafisch dargestellt und optisch beurteilt. Ließ sich ein annähernd linearer Zusammenhang annehmen, wurde im Rahmen der bivariaten Korrelation der dimensionslose Produkt-Moment-Korrelationskoeffizient r_p nach Pearson als Maßzahl für Stärke und Richtung des Zusammenhanges berechnet (Janssen und Laatz, 2017b). Erschien ein linearer Zusammenhang unwahrscheinlich, erfolgte die Ermittlung des Korrelationskoeffizienten nach Spearman r_s . Dieser konnte auch bei der Beurteilung des Zusammenhanges zwischen metrischen und ordinal skalierten Variablen herangezogen werden (Weiß, 2013a).

Zur Beschreibung des Zusammenhanges zwischen einer abhängigen metrischen und einer unabhängigen nominalen Variable diente der Koeffizient Eta (Janssen und Laatz, 2017c). Zusammenhänge zwischen Variablen auf kategorialem Niveau wurden anhand von Kreuztabellen untersucht, sowohl der χ^2 -Unabhängigkeits-Test als auch der exakte Test nach Fisher kamen zum Einsatz (Weiß, 2013b).

3.2.4 Box-Whisker-Plots

Die grafische Darstellung der Verteilung eines quantitativen Merkmales gelingt mittels Box-Whisker-Plots, kurz Box-Plots. Diese beinhalten Informationen über Lagemaße wie den Median, Quartile, Maximum und Minimum der Stichprobe sowie über Streuungsmaße wie Spannweite und Quartilsabstand (Weiß, 2013c).

Die Box repräsentiert die Werte der Stichprobe, die zwischen dem ersten und dem dritten Quartil (also dem 25. und 75. Perzentil) liegen. Der Querstrich innerhalb der Box zeigt das 50. Perzentil an, das gleichbedeutend mit dem Median ist. Die Enden der von Ober- und Unterseite der Box ausgehenden Striche (englisch „whisker“) veranschaulichen das Maximum und das Minimum der Stichprobenwerte. Mehr als anderthalb Boxlängen außerhalb liegende Werte gelten als Ausreißer und werden mit einem Kreis gekennzeichnet. Mehr als drei Boxlängen außerhalb liegende Werte gelten als Extremwerte, diese werden mit einem Stern markiert (Bühl, 2014a).

3.2.5 Mittelwertvergleiche bei zwei unverbundenen Stichproben

Mittels des t-Testes für unverbundene Stichproben gelang bei annähernder Normalverteilung der Werte der Stichprobe der Mittelwertvergleich (Weiß, 2013d) für verschiedene interessierende Untergruppen innerhalb der Krankheitsgruppen Sarkoidose, SLD und EAA. Dabei war beispielsweise von Interesse, ob es signifikante Unterschiede zwischen auf Glucokortikoide ansprechenden und nicht ansprechenden Personen gibt oder wie sich Personen mit rein pulmonaler Sarkoidose im Vergleich zu Multiorganerkrankten präsentieren.

Erschien eine Normalverteilung der Werte innerhalb der Stichproben unwahrscheinlich, wurde alternativ zum t-Test der auf Rangsummenbildung beruhende U-Test nach Mann und Whitney zum Vergleich zweier Mediane genutzt (Weiß, 2013e).

3.2.6 Mittelwertvergleiche bei mehr als zwei unverbundenen Stichproben

Zur Aufdeckung des Vorliegens signifikanter Unterschiede von Mittelwertdifferenzen der Variablen beim Vergleich von mehr als zwei Gruppen wurde bei gegebener Normalverteilung der Werte innerhalb der Stichproben die einfaktorielle Varianzanalyse (ANOVA) herangezogen (Janssen und Laatz, 2017d). Das Verfahren beruht auf der Zerlegung der Gesamtvarianz der abhängigen Variablen in die Varianz innerhalb und zwischen den Gruppen, die miteinander verglichen werden. Je mehr Varianz durch die Gruppenzugehörigkeit erklärt werden kann, desto größer die Varianz zwischen und desto kleiner die Varianz innerhalb der Gruppen. Bei signifikantem F-Test (bzw. Brown-Forsythe-Test für ungleich große Stichproben) erfolgte die Durchführung der Post-Hoc-

Mehrfachvergleiche mittels Bonferroni-Korrektur, durch die eine Inflation des Fehlers erster Art beim multiplen Testen vermieden wird (Janssen und Laatz, 2017e).

Ergab die Analyse der Datenlage bei einer metrisch skalierten Variablen Anlass zu der Vermutung, dass diese Variable in der Grundgesamtheit nicht normalverteilt war oder konnte keine Homogenität der Varianzen angenommen werden, wurde als Alternative zur Varianzanalyse der nichtparametrische Kruskal-Wallis H-Test durchgeführt. Dieses Verfahren prüft auf unterschiedliche zentrale Lage von Verteilungen, genauer auf unterschiedliche Lage des Medians. Dabei wird die Prüfgröße H umso größer, je stärker sich die durchschnittliche Rangziffer einer Gruppe vom gemeinsamen Durchschnitt aller unterscheidet (Janssen und Laatz, 2017f). Bei signifikantem Ergebnis für H schloss sich als Post-Hoc-Mehrfachvergleich ein Games-Howell-Test an (Janssen und Laatz, 2017g).

3.2.7 Logistische Regression

Als Variante der Regressionsanalyse gehört die logistische Regression zu den strukturprüfenden Verfahren zur Untersuchung der Auswirkung von kategorial oder metrisch skalierten unabhängigen Variablen auf eine kategoriale abhängige Variable. Als binäre logistische Regression findet sie Anwendung bei einer abhängigen Variablen mit genau zwei möglichen Merkmalsausprägungen, als multinomiale logistische Regression bei mehr als zwei möglichen Merkmalsausprägungen der abhängigen Variablen (Backhaus et al., 2018a).

Bei der Analyse des für diese Arbeit zur Verfügung stehenden Datenmaterials war von Interesse, ob ein bestimmter durchflusszytometrisch erfasster Parameter oder auch eine Kombination von Parametern geeignet war, zwischen dem Vorliegen einer Sarkoidose und dem Nicht-Vorliegen einer Sarkoidose zu unterscheiden.

Zur Prüfung der Signifikanz der Gesamtmodelle wurde der Likelihood-Ratio-Test herangezogen (Backhaus et al., 2018b), die Güte der Prognosefunktion wurde anhand von ROC-Kurven beurteilt (Janssen und Laatz, 2017h).

Mit Hilfe der Rückwärtsselektion kann bei einer großen Anzahl von in die Analyse eingehenden Parametern ermittelt werden, welche dieser Parameter in die Wahrscheinlichkeitsgleichung aufgenommen werden sollten. Ausgehend von einem alle Parameter berücksichtigenden Modell werden Schritt für Schritt diejenigen unabhängigen Variablen entfernt, die die geringste Korrelation zur abhängigen Variablen aufweisen (Bühl, 2014b).

3.2.8 Diagnostischer Test und Gütekriterien

Vereinfachend kann ein diagnostischer Score als Test auf das Vorliegen einer Erkrankung betrachtet werden. Als Testgüteeigenschaften gelten die Reliabilität (Reproduzierbarkeit) und die Validität. Letztere wird durch Sensitivität und Spezifität bestimmt. Die Sensitivität gibt an, bei welchem Prozentsatz Erkrankter durch die Anwendung des Testes das Vorliegen der Erkrankung richtigerweise erkannt wird. Bei der Spezifität handelt es sich um den Prozentsatz Nichterkrankter, die der Test richtigerweise als gesund erkennt. Bei einem idealen Test betragen sowohl die Sensitivität als auch die Spezifität 100% (Weiß, 2013f). Darüber hinaus können bei jedem diagnostischen Test Vorhersagewahrscheinlichkeiten angegeben werden. Der positive prädiktive Wert (PPW) gibt den Anteil der richtig positiv Getesteten an allen positiv Getesteten an, während der negative prädiktive Wert (NPW) den Anteil der richtig negativ Getesteten an allen negativ Getesteten beschreibt. Die prädiktiven Werte geben somit die Wahrscheinlichkeit an, dass das Testergebnis tatsächlich den richtigen Krankheitsstatus anzeigt und sind daher für die Praxis wichtiger als Sensitivität und Spezifität (Weiß, 2013g). Allerdings hängen die prädiktiven Werte von den Testgüteeigenschaften sowie der Prävalenz, der Häufigkeit einer Erkrankung in einer Bevölkerung zu einem bestimmten Zeitpunkt, ab (Weiß, 2013h). Bei Durchführung eines diagnostischen Testes in zwei Populationen mit unterschiedlicher Prävalenz einer Erkrankung bleiben die Sensitivität und die Spezifität gleich, während die prädiktiven Werte Setting-abhängig sind. Bei niedriger Prävalenz einer Erkrankung in der Bevölkerung ist auch der PPW niedrig, weil insgesamt sehr viel mehr gesunde als kranke Personen getestet werden. Allerdings ist innerhalb besonderer Risikogruppen für eine Erkrankung die Prävalenz höher als in der Allgemeinbevölkerung und die Aussagekraft eines diagnostischen Testes auf diese Erkrankung höher (Weiß, 2013i). Der NPW verhält sich immer gegensätzlich zu Prävalenz und PPW, dennoch gilt, dass der NPW in allen Populationen ungefähr 100% ist. Bei einem negativen Testergebnis ist das Vorliegen einer Erkrankung daher quasi ausgeschlossen, während ein positives Testergebnis schwieriger zu interpretieren ist. Ein optimaler Schwellenwert für das Testergebnis unterliegt nicht nur wahrscheinlichkeitstheoretischen, sondern auch medizinischen, ökonomischen und ethischen Überlegungen (Weiß, 2013j). Beispielsweise sollte ein diagnostischer Test eine hohe Sensitivität aufweisen, wenn die Erkrankung schwerwiegende Folgen nach sich ziehen kann und eine erfolversprechende Therapie existiert. Die Erhöhung der Sensitivität kann durch eine Absenkung des Trennwertes erreicht werden, dafür kommt es zum vermehrten Auftreten falsch positiver Befunde. Eine hohe Spezifität eines Testes mit einem hohen Trennwert wäre bei fehlenden Therapiemaßnahmen oder Therapieoptionen mit schweren

unerwünschten Wirkungen vorzuziehen, da falsch positive Befunde in diesem Fall gravierende Konsequenzen hätten (Weiß, 2013k).

3.2.9 ROC-Kurve und Youden-Index

Mit Hilfe der ROC-Kurve kann die Bewertung eines diagnostischen Tests erfolgen (Janssen und Laatz, 2017i). Zur Erstellung der Kurve wird zunächst für jeden möglichen Trennwert oder Cut-Off-Wert des Testes die zugehörige Sensitivität gegen 1-Spezifität aufgetragen. Als Verbindung aller so ermittelten Punkte beinhaltet die ROC-Kurve also alle möglichen Cut-Off-Werte des diagnostischen Tests (Weiß, 2013l). Die AUC (area under the curve) der ROC-Kurve gilt als Maß für die Güte der Klassifizierungsfähigkeit eines Modelles, in diesem Fall der Fähigkeit des diagnostischen Testes, das Vorliegen einer Erkrankung vorherzusagen. Eine AUC kleiner als 0,7 wird bei einem Test mit ungenügender, eine AUC zwischen 0,7 und kleiner 0,8 bei einem Test mit akzeptabler, eine AUC zwischen 0,8 und kleiner 0,9 bei einem Test mit exzellenter Klassifizierungsfähigkeit erreicht. Eine AUC von mindestens 0,9 gilt als außerordentlich (Backhaus et al., 2018c).

Eine Bestimmung des Cut-Off-Wertes mit der zugehörigen Kombination aus größtmöglicher Sensitivität und Spezifität ist mit Hilfe des Youden-Index J möglich. Dieser wird als zusammenfassendes Maß für die Sensitivität und Spezifität eines Cut-Offs mit der Formel $J = \text{Sensitivität} + \text{Spezifität} - 1$ errechnet (Kreienbrock et al., 2012).

4. Ergebnisse

4.1 Gruppen Sarkoidose und SLD

Zunächst erfolgte die Auswertung der vorliegenden Daten der Krankheitsgruppen Sarkoidose und SLD.

4.1.1 Epidemiologische Maßzahlen und Zusammenhänge

Die 97 Personen der Sarkoidosegruppe waren zum Zeitpunkt ihrer jeweiligen Bronchoskopie mit BAL im Durchschnitt $49,5 \pm 13,8$ Jahre alt. Das Geschlechterverhältnis stellte sich ausgewogen dar (Tab. 6). In drei Fällen war die Manifestation der Erkrankung in einer ihrer akuten Verlaufsformen als Löfgren-Syndrom dokumentiert. Die Gruppe der SLD präsentierte sich mit einem Altersdurchschnitt bei Bronchoskopie mit BAL von $54,6 \pm 12,7$ Jahren. Etwa drei Viertel der 67 Personen waren Frauen.

In beiden Gruppen gab die überwiegende Anzahl der Patientinnen und Patienten an, nicht zu rauchen (Tab. 7).

Tab. 6: Geschlechterverteilung der Personen mit Sarkoidose, SLD

	S	SLD
Frauen	48 (49,5%)	49 (73,1%)
Männer	49 (50,5%)	18 (26,9%)

S=Sarkoidose, SLD = Sarkoidosis-like Disease

Tab. 7: Angaben zum Nikotinkonsum der Personen mit Sarkoidose, SLD

	S	SLD
Nikotinkonsum	16 (16,5%)	4 (6%)
kein Nikotinkonsum	75 (77,3%)	63 (94%)
keine Angabe	6 (6%)	0 (0%)

S=Sarkoidose, SLD = Sarkoidosis-like Disease

4.1.2 Verteilung bildgebender und histologischer Befunde bei Sarkoidose

Bei 72% der Personen mit Sarkoidose konnten sowohl Krankheitshinweise in der Lungenbildgebung als auch epitheloidzellige Granulome in der Histologie erfasst werden. Bei 16% gelang trotz positiver Bildgebung keine histologische Sicherung der Erkrankung, bei 11% der Patientinnen und Patienten konnte die Erkrankung histologisch, aber nicht bildgebend gesichert werden (Abb. 4). Bei vier Personen war sowohl ein pulmonaler als auch ein extrapulmonaler Nachweis von Granulomen dokumentiert, bei sieben Personen ein ausschließlich extrapulmonaler Nachweis. Betroffene extrapulmonale Organe waren dabei Kehlkopf, Tonsille, Parotis, Trachea, Leber und Haut. Auf eine Gegenüberstellung der beiden Gruppen mittels t-Test wurde aufgrund der geringen Fallzahl in der Gruppe der auch extrapulmonal Betroffenen verzichtet.

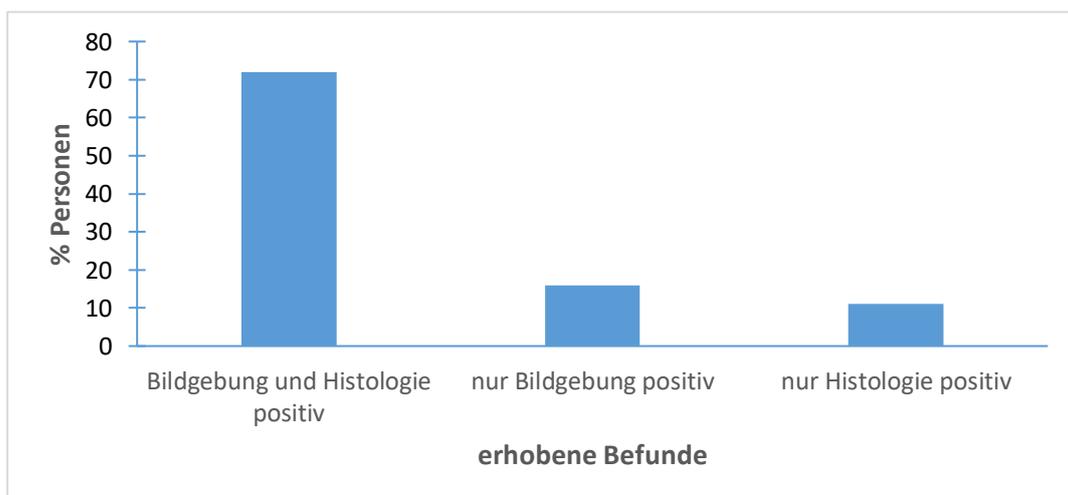


Abb. 4 Diagramm zur Verteilung bildgebender und histologischer Befunde bei Sarkoidose

4.1.3 Zytologische und durchflusszytometrische Parameter der BAL-Flüssigkeit

Eine Lymphozytose, also ein Anteil von mindestens 15% Lymphozyten an Leukozyten in der mikroskopischen Zellauszählung der Zellen der BALF, lag bei 75,3% der Personen mit Sarkoidose und 77,6% der Personen mit SLD vor. Dabei lag der durchschnittliche Anteil der Lymphozyten an den Leukozyten in der Sarkoidosegruppe mit 28% ($\pm 17\%$, Median 25%) höher als in der SLD-Gruppe, in der dieser Anteil bei durchschnittlich 24% ($\pm 11\%$, Median 23,5%) lag. Die CD4+/CD8+-Ratio betrug in der Sarkoidosegruppe im Mittel $5,8 \pm 4,8$ im Vergleich zur SLD-Gruppe mit einer durchschnittlichen Ratio von $4,9 \pm 2,7$. Der Median der Ratio lag bei den Personen mit SLD mit 4,2 über dem der Personen mit Sarkoidose, bei denen die Hälfte eine Ratio von kleiner oder gleich 3,3 aufwies (Abb. 5). Die weiteren durchflusszytometrisch erhobenen Parameter betreffend zeigte sich in der Sarkoidosegruppe im Vergleich zu SLD im Mittel ein höherer Anteil von CD8+-, CD16+-, CD4+8+- und HLA-DR+-T-Zellen an allen T-Zellen. In der SLD-Gruppe dagegen waren daher durchschnittlich mehr NK-Zellen (in % der Lymphozyten) und CD4+-T-Zellen (in % der T-Zellen) anzutreffen. In etwa gleich stellten sich die Mittelwerte von B- und T-Zellen (in % der Lymphozyten) und CD57+-T-Zellen (in % der T-Zellen) dar. Für die neutrophilen und eosinophilen Granulozyten und auch die Mastzellen ließen sich keine Unterschiede zwischen den Krankheitsgruppen feststellen. Dabei war keiner der die Zellanteile betreffenden Mittelwertunterschiede statistisch signifikant (Tab. 8, 9 und 10 im Anhang).

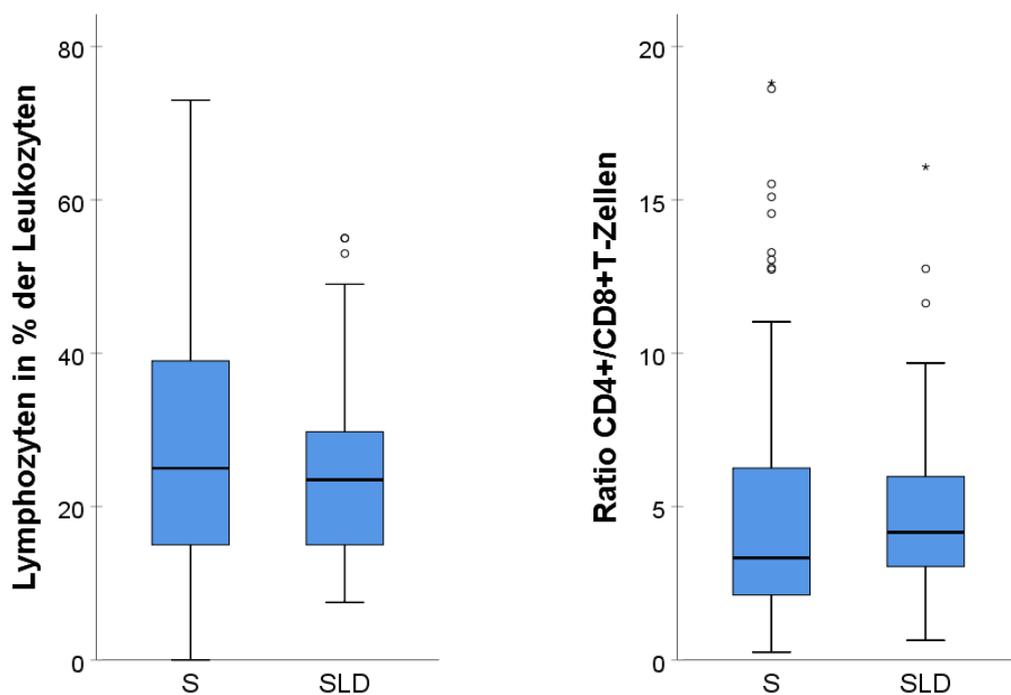


Abb. 5: Box-Plots zur Verteilung von Lymphozyten und Ratio CD4+/CD8+-T-Zellen bei Sarkoidose, SLD

Eine Gruppe mit hohen Werten für den Seneszenzmarker CD57 (Anteil CD57+-T-Zellen an T-Zellen $\geq 23\%$) wurde von einer Gruppe mit niedrigen Werten für CD57 abgegrenzt (Anteil CD57+-T-Zellen an T-Zellen $\leq 20\%$). Ungefähr die Hälfte der Personen waren dabei der Gruppe mit niedrigem Wert für CD57 zuzuordnen (Tab. 11).

Tab. 11: Einteilung nach Seneszenzmarker CD57 bei S, SLD; Anzahl (%) Personen

Anteil CD57+-T-Zellen an T-Zellen	S	SLD
$\leq 20\%$	49 (50,5%)	37 (55,2%)
$\geq 23\%$	34 (35,1%)	24 (35,8%)

S=Sarkoidose, SLD=Sarkoidosis-like Disease

Für die meisten metrischen Variablen ergab sich im Vergleich der zentralen Tendenzen der beiden Lymphozytenaktivitätsgruppen kein signifikanter Unterschied. Im statistisch signifikanten Bereich ließen sich in der Gruppe der Personen mit CD57+-T-Zellen an T-Zellen $\leq 20\%$ in der Sarkoidosegruppe ein niedrigeres Durchschnittsalter und ein niedrigerer Anteil von Lymphozyten an Leukozyten und damit übereinstimmend ein höherer Anteil von Makropagen an Leukozyten sowie eine bessere Vitalkapazität in der Lungenfunktion nachweisen. In der SLD-Gruppe ergab sich in der Gruppe der geringeren CD57-Expression ein signifikant niedrigerer Anteil von eosinophilen Granulozyten an Leukozyten (Tab. 12 im Anhang). Weiterhin erfolgte die Untersuchung der Zusammenhänge zwischen den metrischen Variablen der Durchflusszytometrie und mikroskopischen Zellauszählung als abhängigen und den kategorialen Variablen Geschlecht und Nikotinkonsum als unabhängigen Variablen. Der durch Eta^2 angezeigte Anteil an der Varianz der abhängigen Variablen, der durch die unabhängige Variable erklärt wird, blieb im einstelligen bis niedrigen zweistelligen Bereich.

4.1.4 Lungenfunktionsparameter

Die bodyplethysmografisch erfassten Lungenfunktionsparameter totale Lungenkapazität (TLC) und Vitalkapazität (VC) waren in der Sarkoidosegruppe signifikant niedriger als bei Personen mit SLD (Tab. 9 im Anhang).

Bei Frauen war die Lungenfunktion dabei im Durchschnitt in beiden Krankheitsgruppen signifikant besser als die von Männern (Tab. 13 im Anhang und Abb. 6).

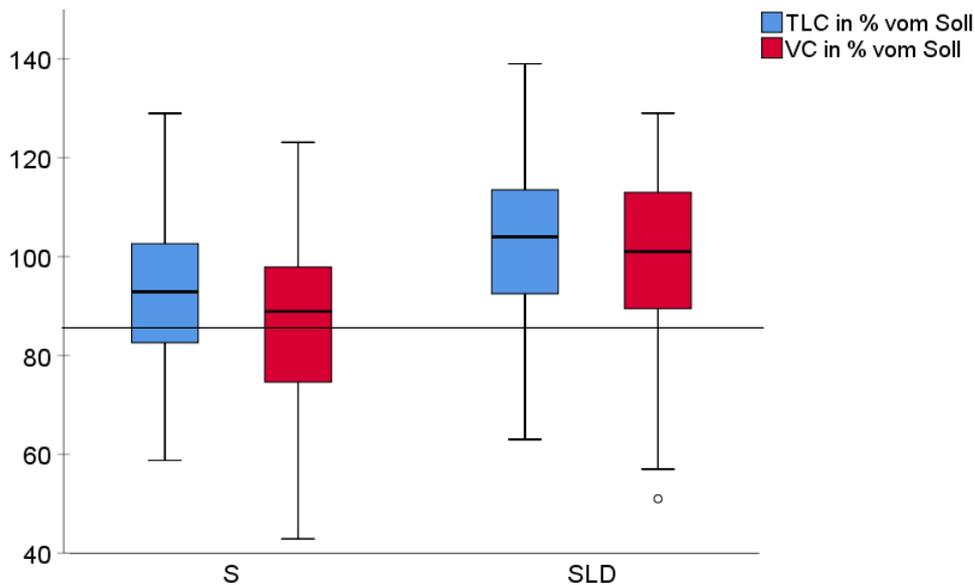


Abb. 6: Box-Plots zur Verteilung von TLC (totale Lungenkapazität) und VC (Vitalkapazität) bei Sarkoidose, SLD; schwarze Linie markiert 85%-Grenze der TLC/VC, unterhalb derer eine Einschränkung vorliegt

4.1.5 Fatiguescore

Das Ausmaß der Beeinträchtigung des täglichen Lebens durch chronische Müdigkeit wurde mit der Modified Fatigue Impact Scale (MFIS) erfasst. Je höher die erreichte Punktzahl, desto stärker die Beeinträchtigung durch die Fatiguesymptomatik. Dabei zeigte sich, dass Personen mit Sarkoidose eine geringere Belastung durch Fatigue angaben. Dieser Unterschied konnte auch statistisch abgesichert werden (MW 23,0 ± 22,3 bei Sarkoidose und MW 38,7 ± 21,2 bei SLD). Um das Ausmaß der Beeinträchtigung übersichtlicher zu veranschaulichen, erfolgte die Zuordnung der Patientinnen und Patienten zu einer von drei Gruppen anhand der auf der MFIS erreichten Punktzahl (Tab. 14).

Tab. 14: Einteilung der Belastung durch Fatigue in Schweregrade

Punktzahl Fatiguescore	Ausmaß der Beeinträchtigung	Gruppe Schweregrad
0-24	gering	1
25-38	mittelgradig	2
> 38	stark	3

Ein Vergleich der Anzahl der zu den Gruppen zugeordneten Personen zeigte, dass die Mehrzahl der Patientinnen und Patienten mit Sarkoidose in ihrem Alltag durch die Fatigue nur gering beeinträchtigt waren, während sich die Mehrzahl der Personen mit SLD stark beeinträchtigt fühlte (Abb. 7).

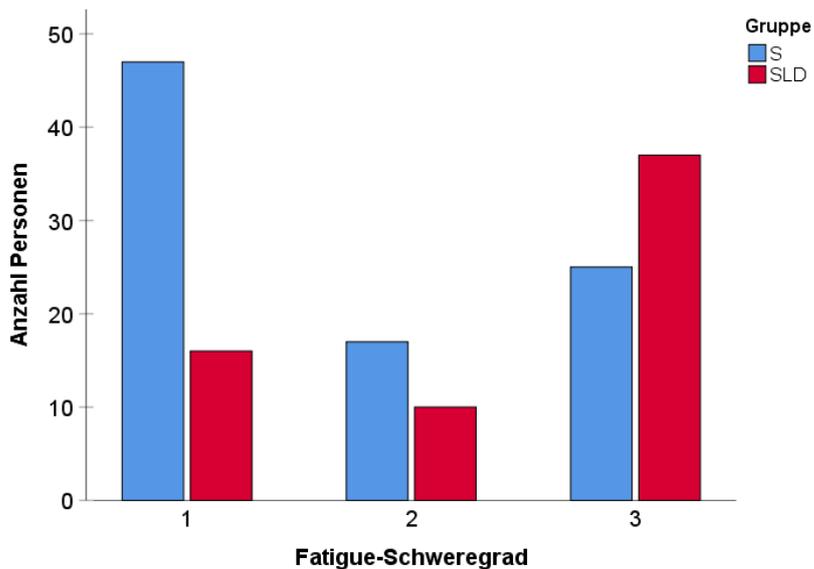


Abb. 7: Diagramm Anzahl Personen je Fatigue-Schweregrad bei Sarkoidose, SLD

In der Gruppe der SLD zeigte sich eine schwache Korrelation zwischen dem Alter und der Höhe der Punktzahl im signifikanten Bereich, der Korrelationskoeffizient nach Spearman betrug -0,290.

Ein geschlechtergetrennter Vergleich der im Fatiguescore erreichten Werte mittels t-Test ergab für beide Krankheitsgruppen, dass sich bei der Befragung von Frauen im Durchschnitt eine höhere Punktzahl ergab als bei der Befragung von Männern (Abb. 8). In der Sarkoidosegruppe war diese Beobachtung auch statistisch signifikant (Tab. 13 im Anhang).

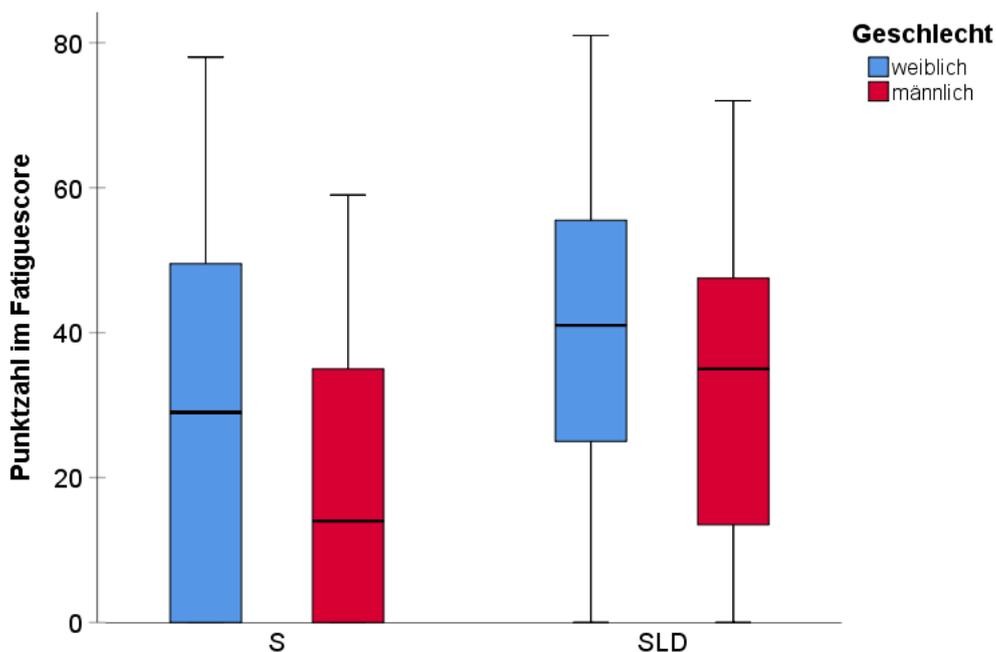


Abb. 8: Box-Plots zur Verteilung der Punktzahl im Fatiguescore nach Geschlecht bei Sarkoidose, SLD

4.1.6 Therapie und Therapieansprechen

Im Rahmen der Arbeit wurde erfasst, ob eine Person in Folge der Diagnosestellung eine Glucokortikoidtherapie erhalten hatte und wenn ja, ob ein Therapieansprechen zu verzeichnen war (Tab. 15).

Tab. 15: Gruppen Therapieansprechen bei Sarkoidose, SLD Anzahl (%) Personen

	Sarkoidose	SLD
Glucokortikoid, Ansprechen	31 (32%)	26 (38,8%)
Glucokortikoid, kein Ansprechen	13 (13,4%)	23 (34,3%)
Glucokortikoid, keine Information	7 (7,2%)	1 (1,5%)
kein Glucokortikoid	46 (47,4%)	17 (25,4%)

In der Sarkoidosegruppe wurde dabei bei ungefähr der Hälfte der Patientinnen und Patienten auf die Durchführung einer Glucokortikoidtherapie verzichtet, bei den behandelten Personen mit Information zur Reaktion auf das Medikament sprach eine Mehrheit von 70% auf die Therapie an.

In der Gruppe der SLD erhielt nur ein Viertel der Patientinnen und Patienten kein Medikament, die meisten Personen wurden behandelt. Allerdings wurde nur bei 53% der behandelten Personen eine Besserung erreicht, bei 47% gelang dies nicht (Abb. 9).

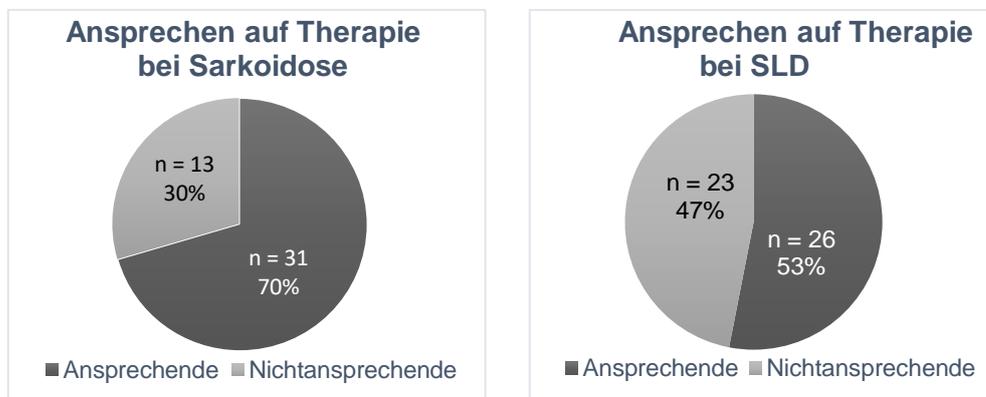


Abb. 9: Kreisdiagramme zur Reaktion auf Therapie bei Sarkoidose, SLD (Anzahl Personen/Prozentwerte bzgl. behandelter Personen mit Information auf Reaktion)

In der Sarkoidosegruppe sprach sowohl bei den Frauen als auch bei den Männern die Mehrheit der Personen auf die Glucokortikoidtherapie an. In der SLD-Gruppe sprachen genauso viele Frauen auf die Therapie an, wie es Frauen gab, bei denen das Medikament nicht zur Besserung führte, bei den Männern zeigte sich ein überwiegendes Ansprechen auf die Therapie. Ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen Therapieansprechen und Geschlecht bestand nicht ($p = 0,199$ für S, $p = 0,532$ für SLD im exakten Test nach Fisher).

Auch zwischen der Variable Nikotinkonsum und Ansprechen oder Nichtansprechen auf Therapie ergab sich in keiner der beiden Krankheitsgruppen ein signifikanter

Zusammenhang ($p = 0,055$ für S, $p = 0,491$ für SLD im exakten Test nach Fisher). In der Sarkoidosegruppe ließ sich jedoch tendenziell ein besseres Ansprechen auf Therapie bei Nikotinkarenz vermuten.

Zuletzt erfolgte die Betrachtung der Reaktion auf eine Glucokortikoidtherapie in Abhängigkeit von der vor Beginn der Therapie erfolgten Einordnung in die den Schweregrad der Betroffenheit durch Fatigue anzeigenden Gruppe. In der Sarkoidosegruppe konnte veranschaulicht werden, dass in jeder den Schweregrad anzeigenden Fatigurescoregruppe der Anteil der auf die Glucokortikoidtherapie ansprechenden Personen den Anteil der nicht ansprechenden Personen deutlich überwog. Im Gegensatz dazu zeigte sich in der SLD-Gruppe, dass mit steigendem Schweregrad der Betroffenheit durch Fatigue der Anteil der nicht auf das Medikament ansprechenden Personen auch anstieg und in Gruppe drei höher war als der Anteil der Ansprechenden (Abb. 10, Abb. 11). Statistisch abgesichert werden konnte diese Beobachtung nicht ($p = 0,732$ für S, $p = 0,181$ für SLD im exakten Test nach Fisher). Die durchschnittlich im Fatigurescore erreichte Punktzahl war in der Gruppe der SLD bei den Ansprechenden mit $38,1 \pm 20,8$ signifikant niedriger als bei den Nichtansprechenden mit $49,3 \pm 16,3$ (Tab. 16 im Anhang).

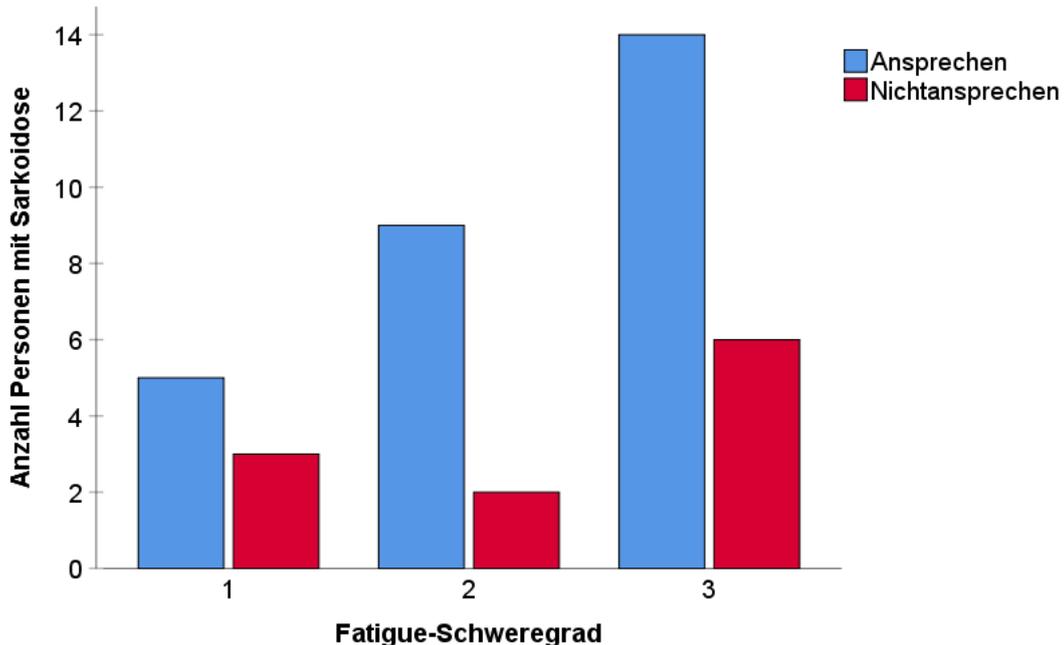


Abb. 10: Diagramm zur Anzahl Personen je Schweregrad im Fatigurescore abh. vom Therapieansprechen bei Sarkoidose

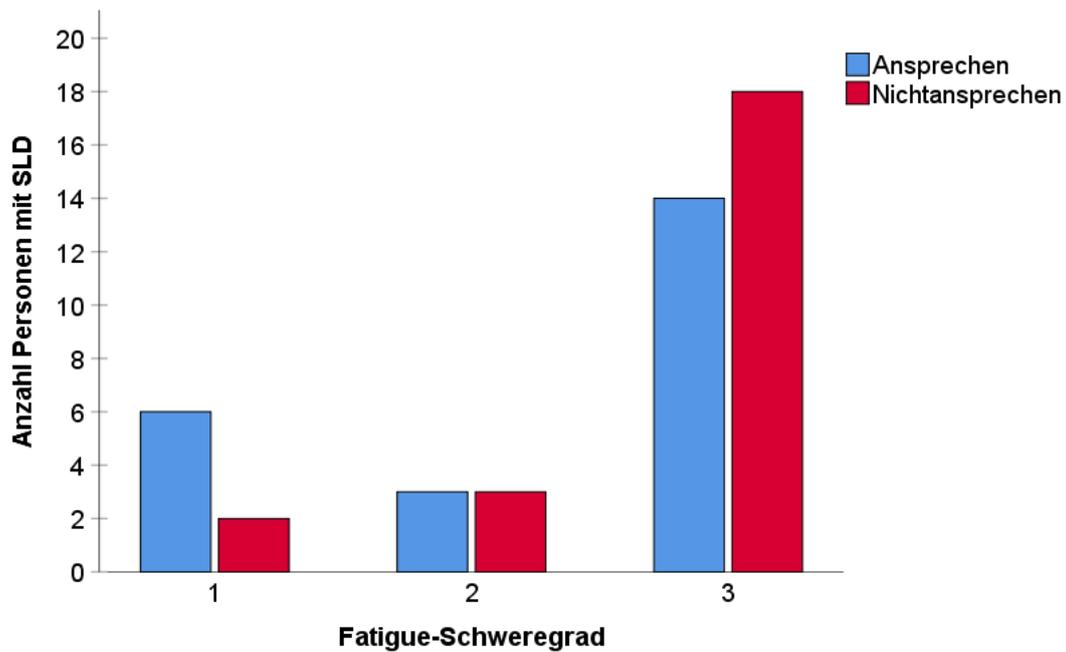


Abb. 11: Diagramm zur Anzahl Personen je Schweregrad im Fatiguescore abh. vom Therapieansprechen bei SLD

4.1.7 Weitere Ergebnisse untersuchter Untergruppen

Bei Personen mit SLD ging das Therapieansprechen mit einer geringeren Lymphozytenzahl einher (Tab. 16 im Anhang).

Bei der Gegenüberstellung der metrischen Parameter der Frauen und Männer ergaben sich einige statistisch abgesicherte Unterschiede. In der Sarkoidosegruppe lag der Anteil der CD8+-T-Zellen an T-Zellen bei den Frauen durchschnittlich niedriger als bei den Männern. In der Gruppe SLD lag der Anteil der doppelt positiven T-Zellen, der CD16+-T-Zellen und der CD57+-T-Zellen bei Frauen durchschnittlich niedriger als bei Männern (Tab. 13 im Anhang).

4.2 Gruppe der exogen allergischen Alveolitis

4.2.1 Epidemiologische Maßzahlen und Zusammenhänge

Die 25 der Gruppe EAA zugeordneten Personen waren zum Zeitpunkt der ausgewerteten Bronchoskopie mit BAL im Durchschnitt $47,5 \pm 15,7$ Jahre alt. Bei Betrachtung des Geschlechterverhältnisses zeigte sich ein leichtes Überwiegen des Frauenanteils (Tab. 17). Wie in den Gruppen Sarkoidose und SLD waren mehr Nichtraucher als Raucher zu verzeichnen (Tab. 18). Die Gruppe der rauchenden Personen bestand dabei ausschließlich aus Männern.

Tab.17: Geschlechterverteilung in der Gruppe EAA, Anzahl (%) Personen

	EAA
Frauen	14 (56%)
Männer	11 (44%)

Tab. 18: Angaben zum Nikotinkonsum in der Gruppe EAA, Anzahl (%) Personen

	EAA
Nikotinkonsum	3 (12%)
kein Nikotinkonsum	21 (84%)
keine Angabe	1 (4%)

4.2.2 Auswertung bildgebender Befunde

In neun Fällen zeigten sich in der bildgebenden Untersuchung der Lunge Hinweise auf eine interstitielle Lungenparenchymerkrankung, in sieben Fällen waren keine Hinweise zu finden. Bei neun Personen waren im Rahmen der Recherche keine Informationen zu bildgebenden Untersuchungen gefunden worden.

4.2.3 Zytologische und durchflusszytometrische Parameter der BAL-Flüssigkeit

Eine Lymphozytose lag bei 88% und damit 22 der 25 Personen mit EAA vor, im Mittel betrug der Lymphozytenanteil an Leukozyten $36,6\% \pm 18,2\%$. Die durchschnittliche CD4+/CD8+-Ratio lag bei $0,84 \pm 0,82$ mit einem Median von 0,61. Damit war die Ratio der Gruppe EAA signifikant niedriger als die aller Vergleichsgruppen (Abb. 12).

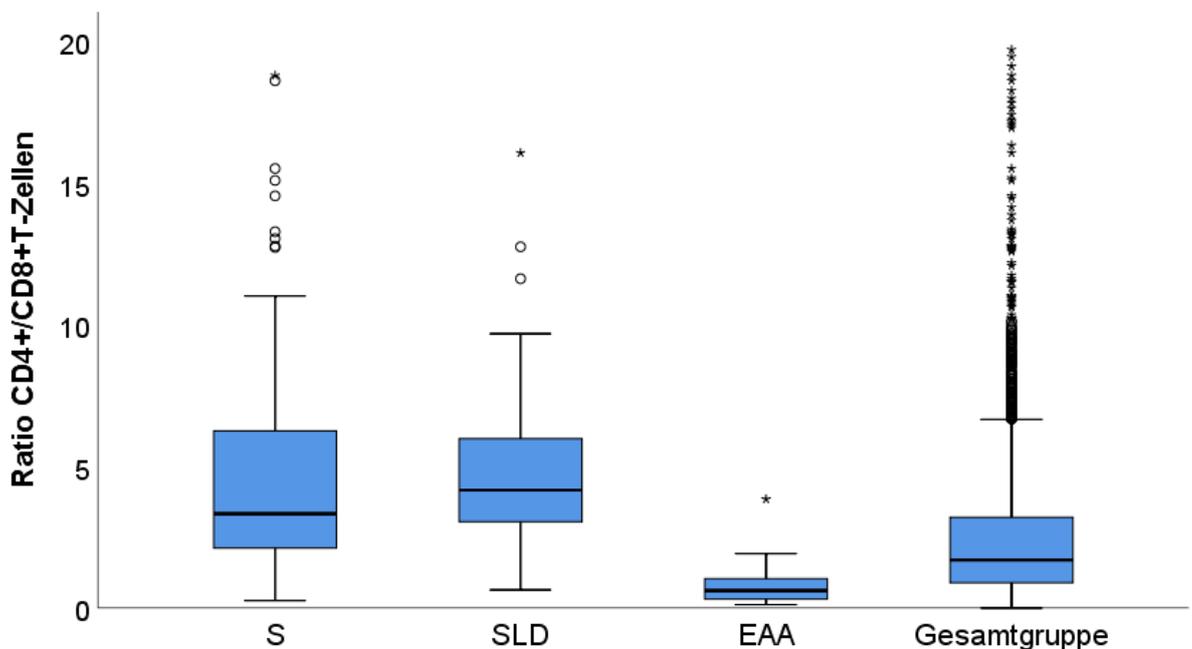


Abb. 12: Box-Plots zur Verteilung der Ratio CD4+/CD8+-T-Zellen bei Sarkoidose, SLD, EAA, Gesamtgruppe

Beim Vergleich der zentralen Tendenzen bezüglich der CD16+-T-Zellen stellte sich bei EAA ein signifikant höherer Wert als bei SLD heraus. Für die restlichen Untergruppen von T-Zellen, also die doppelt positiven T-Zellen, CD57+- und HLA-DR+-T-Zellen waren keine Unterschiede zwischen den Gruppen EAA, Sarkoidose und SLD im signifikanten Bereich nachweisbar. Gleiches galt für die Lymphozytenhauptgruppen der B-, T- und NK-Zellen sowie die mikroskopisch ausgezählten Anteile von Makrophagen, neutrophilen und eosinophilen Granulozyten, Mastzellen und Lymphozyten an Leukozyten (Tab. 8,9 und 10 im Anhang).

4.2.4 Lungenfunktionsparameter

Patientinnen und Patienten mit EAA erreichten in der Lungenfunktionsuntersuchung niedrigere Werte der TLC und VC als Personen mit Sarkoidose oder SLD, zwischen SLD und EAA war dieser Unterschied auch statistisch signifikant (Abb. 13).

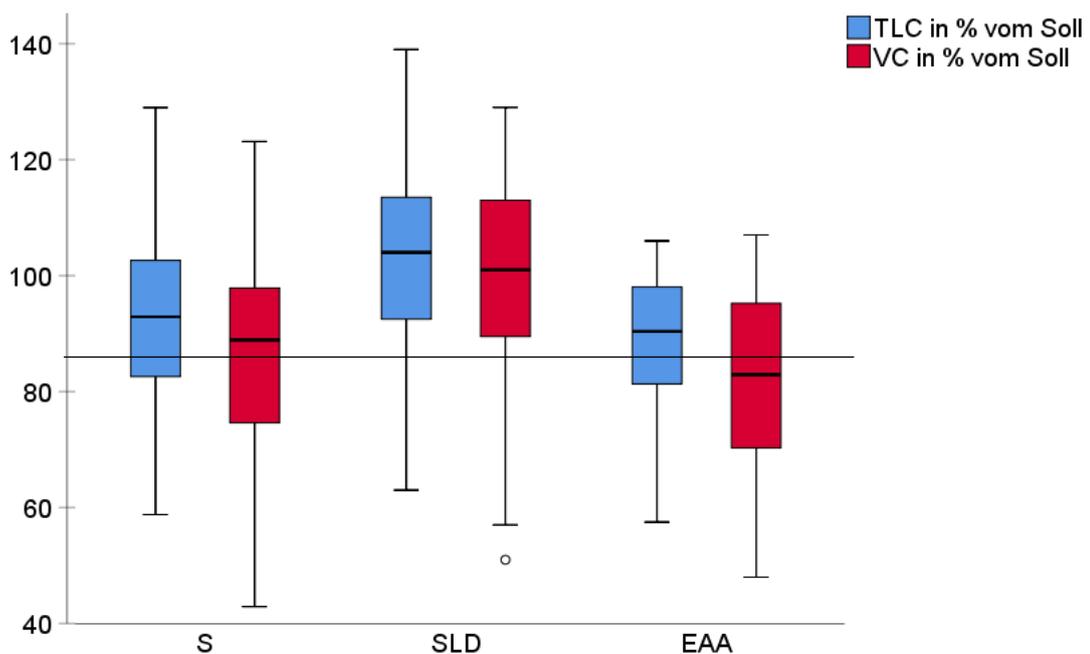


Abb. 13: Box-Plots zur Verteilung von TLC und VC bei Sarkoidose, SLD, EAA; schwarze Linie repräsentiert die 85%-Grenze der TLC/VC, unterhalb derer eine Einschränkung vorliegt

4.2.5 Therapie und Therapieansprechen

Auch bei Personen mit EAA wurde erfasst, ob eine Glucokortikoidtherapie für sinnvoll erachtet worden war und ob bei Behandelten ein Ansprechen auf das Medikament zu verzeichnen war (Tab. 19).

Tab. 19: Therapie/Therapieansprechen in der Gruppe EAA, Anzahl (%)

	EAA
Glucokortikoid, Ansprechen	6 (24%)
Glucokortikoid, kein Ansprechen	3 (12%)
Glucokortikoid, keine Information	8 (32%)
kein Glucokortikoid	8 (32%)

17 der 25 Personen hatten eine Glucokortikoidtherapie erhalten, allerdings war bei acht der behandelten Personen keine Information zum weiteren Krankheitsverlauf verzeichnet. Bei sechs der übrigen neun Personen hatte das Medikament eine Besserung der Beschwerden erbracht. Ein signifikanter Zusammenhang zwischen den kategorialen Variablen Geschlecht und Therapieansprechen oder Nikotinkonsum und Therapieansprechen ließ sich bei kleiner Untersuchungsgruppe nicht nachweisen.

4.3 Gesamtgruppe lungenerkrankter Personen

4.3.1 Epidemiologische Maßzahlen und Zusammenhänge

Das durchschnittliche Alter der 2903 Personen der in dieser Arbeit analysierten Gesamtgruppe bei Bronchoskopie mit BAL betrug $55,4 \pm 15,2$ Jahre und war damit signifikant höher als das Durchschnittsalter in der Sarkoidosegruppe. Bei leichtem Überwiegen des Frauenanteils stellte sich das Geschlechterverhältnis überwiegend ausgewogen dar (Tab. 20). Die Mehrheit der Lungenerkrankten verzichtete auf einen Nikotinkonsum (Tab. 21).

Tab. 20: Geschlechterverteilung in der Gesamtgruppe, Anzahl (%) Personen

	Gesamtgruppe
Frauen	1553 (53,5%)
Männer	1350 (46,5%)

Tab. 21: Angaben zum Nikotinkonsum in der Gesamtgruppe, Anzahl (%) Personen

	Gesamtgruppe
Nicotinkonsum	554 (19,1%)
kein Nicotinkonsum	1966 (67,7%)
keine Angabe	383 (13,2%)

Im Chi²-Test nach Pearson ergab sich für die beiden kategorialen Variablen Geschlecht und Nikotinkonsum ein signifikanter Zusammenhang ($p = 0,000$), demzufolge Männer häufiger rauchen als Frauen. Unter Vernachlässigung der fehlenden Angaben betrug der Anteil der rauchenden Männer an allen Männern 28,2% im Vergleich zum Anteil der rauchenden Frauen an allen Frauen von 16,7%.

4.3.2 Zytologische und durchflusszytometrische Parameter der BAL-Flüssigkeit

Bei 42,2% der Lungenerkrankten lag eine Lymphozytose vor. Mit einem Mittelwert von $16,5\% \pm 14,5\%$ und einem Median von 12% war der Anteil der Lymphozyten an Leukozyten in der Gesamtgruppe damit signifikant niedriger als in den Gruppen Sarkoidose, SLD und EAA (Abb. 14).

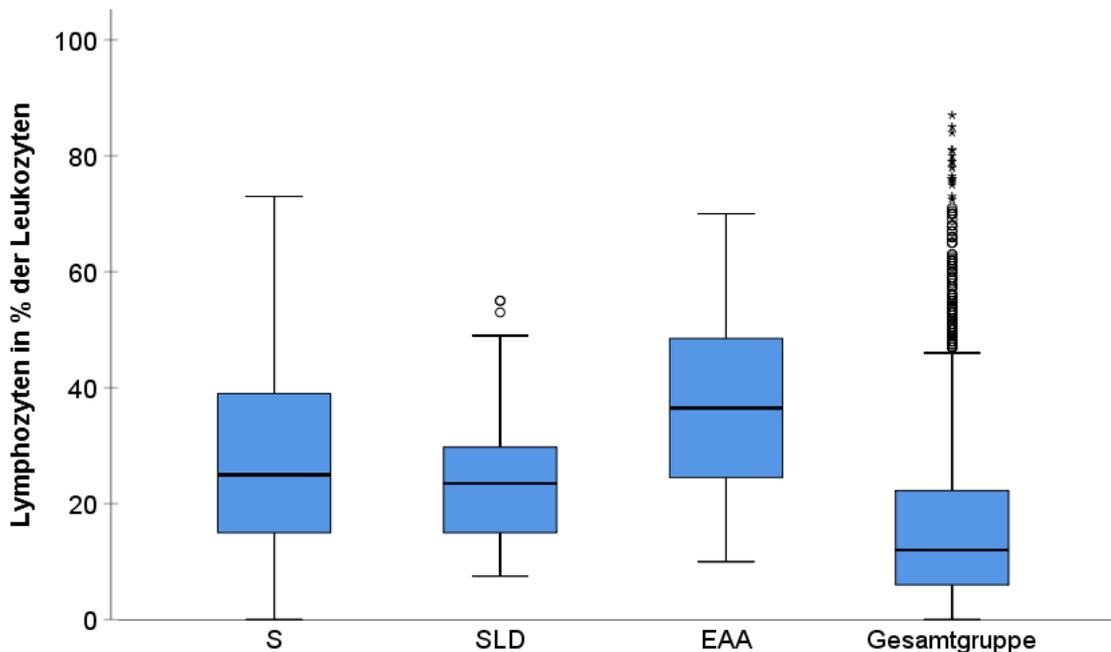


Abb. 14: Box-Plots zur Verteilung der Lymphozyten bei Sarkoidose, SLD, EAA, Gesamtgruppe

Beim Vergleich der zentralen Tendenzen der durchflusszytometrischen Parameter zeigten sich weiterhin für alle Lymphozytenhauptgruppen signifikante Unterschiede zwischen Gesamtgruppe und Sarkoidosegruppe. Bei den B-Zellen und NK-Zellen lagen Mittelwert und Median der Gesamtgruppe höher, bei den T-Zellen in der Sarkoidosegruppe. Dies ist durch die immunologischen Vorgänge ausgelöste vermehrte T-Zell-Einwanderung bei Sarkoidose erklärbar.

Alle vier untersuchten Gruppen unterschieden sich signifikant bezüglich des Anteils von CD4+-T-Zellen und CD8+-T-Zellen an T-Zellen und der CD4+/CD8+-Ratio. Dabei lagen die Werte der Gesamtgruppe jeweils zwischen denen der Gruppen Sarkoidose und SLD einerseits und EAA andererseits (Abb. 15).

In der Gesamtgruppe waren mehr CD16+-T-Zellen an T-Zellen als in der Sarkoidose- und SLD-Gruppe und weniger HLA-DR+-T-Zellen als in der Sarkoidosegruppe nachzuweisen. Keine Unterschiede zeigten sich beim Vergleich der Anteile von CD4+8+-T-Zellen und CD57+-T-Zellen an T-Zellen.

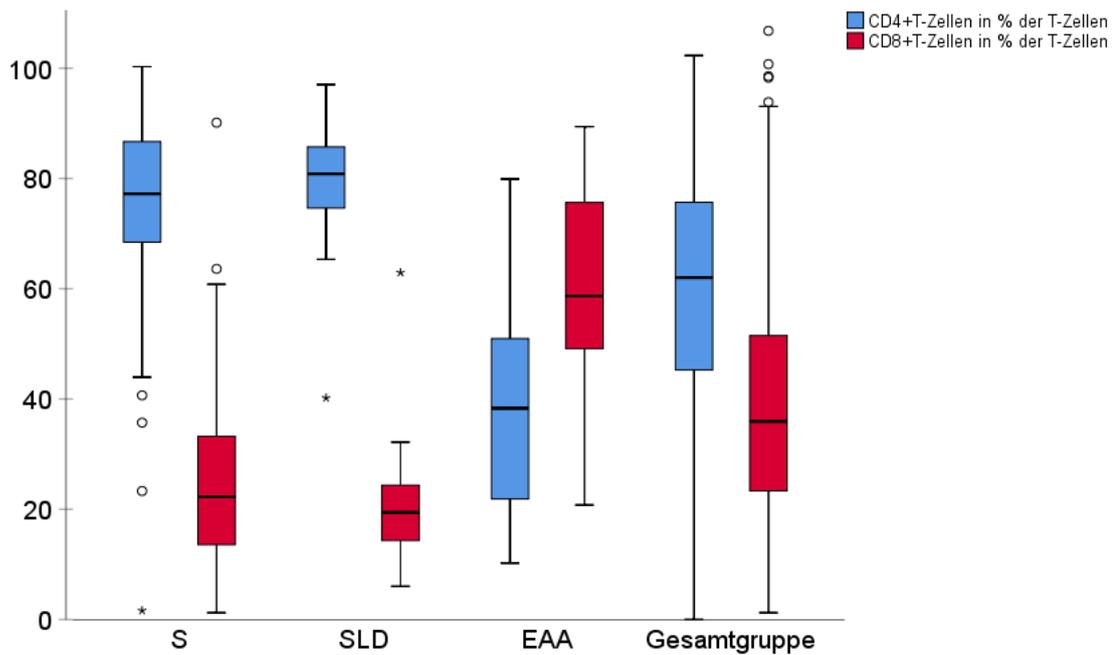


Abb. 15: Box-Plots zur Verteilung der CD4+- und CD8+-T-Zellen bei Sarkoidose, SLD, EAA, Gesamtgruppe

4.4 Vergleich der Lymphozytosefraktionen innerhalb der Gruppen Sarkoidose, SLD, EAA und der Gesamtgruppe

4.4.1 Epidemiologische Maßzahlen und Zusammenhänge

Es folgte der Vergleich der Personen der Gruppen Sarkoidose, SLD, EAA und der Gesamtgruppe, bei denen die Auswertung der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit eine Lymphozytose ergeben hatte (Tab. 22).

Tab. 22: Anzahl (%) Personen in den Hauptgruppen mit Lymphozytose

	Anzahl Personen / % Personen der Gruppe
Sarkoidose	73 (75,3%)
SLD	52 (77,6%)
EAA	22 (88,0%)
Gesamtgruppe	1227 (42,2%)

In den Krankheitsgruppen Sarkoidose, SLD und EAA war im Gegensatz zur Gesamtgruppe Lungenerkrankter bei der Mehrheit der Personen eine Lymphozytose festzustellen.

Die Geschlechterverteilung innerhalb der Lymphozytosefraktionen (Tab. 23) der vier Hauptgruppen entsprach in etwa der in den jeweiligen Kapiteln aufgeführten Geschlechterverteilung in den gesamten Gruppen und wie in den gesamten Gruppen überwogen auch innerhalb der Lymphozytosefraktionen die nichtrauchenden Personen (Tab. 24).

Tab. 23: Geschlechterverteilung in den Lymphozytosefraktionen, Anzahl (%) Personen

	S	SLD	EAA	G
Frauen	36 (49,3%)	40 (76,9%)	12 (54,5%)	686 (55,9%)
Männer	37 (50,7%)	12 (23,1%)	10 (45,5%)	541 (44,1%)

G = Gesamtgruppe

Tab. 24: Angaben Nikotinkonsum in den Lymphozytosefraktionen, Anzahl (%) Personen

	S	SLD	EAA	G
Nikotinkonsum	6 (8,2%)	4 (7,7%)	2 (9,1%)	67 (5,5%)
kein Nikotinkonsum	62 (84,9%)	48 (92,3%)	19 (86,4%)	1016 (82,8%)
keine Angabe	5 (6,8%)	0 (0,0%)	1 (4,5%)	144 (11,7%)

G = Gesamtgruppe

4.4.2 Zytologische und durchflusszytometrische Parameter der BAL-Flüssigkeit

Aus dem Vergleich der durchflusszytometrisch und zytologisch ermittelten Parameter der BAL der Lymphozytosefraktionen der vier Hauptgruppen resultierten ähnliche Ergebnisse wie beim Vergleich der vier Gesamtgruppen (Tab. 25 im Anhang).

Bezüglich der B-, T- und NK-Zellen zeigten sich jedoch keine signifikanten Unterschiede mehr, genausowenig wie beim Vergleich der Anteile von HLA-DR+-T-Zellen an T-Zellen. Zusätzlich zu den bereits ermittelten Unterschieden die jeweilige Zellfraktion betreffend lag in der Sarkoidosegruppe ein niedrigerer Anteil von CD16+-T-Zellen an T-Zellen als bei EAA vor und bei SLD ein niedrigerer Anteil von Lymphozyten an Leukozyten als bei EAA (Tab. 26 und 27 im Anhang).

4.4.3 Lungenfunktionsparameter

Der Ausschluss von Personen ohne Lymphozytose in der BAL aus den Krankheitsgruppen Sarkoidose, SLD und EAA änderte an den beim Mittelwertvergleich der Gesamtgruppen ermittelten Unterschieden bezüglich der TLC und VC nichts (Tab. 26 im Anhang). Die Befunde der Bodyplethysmographie waren in der Gruppe SLD weiterhin signifikant besser als in den Gruppen Sarkoidose und EAA.

4.4.4 Fatiguescore

Das Vorliegen einer Lymphozytose hatte ebenfalls keinen Einfluss auf die Tatsache, dass Personen der Sarkoidosegruppe weniger an Fatigue litten als Personen der Gruppe SLD (Tab. 26 im Anhang). Der Mittelwert der erreichten Punktzahl in der Sarkoidosegruppe lag bei $22,8 \pm 22,4$, Median 21,0 im Vergleich zu durchschnittlich $40,2 \pm 20,6$ Punkten, Median 42,0 bei SLD.

4.5 Analyse der Diskriminationsfähigkeit von BAL-Parametern für die Diagnostik der Sarkoidose

Beim Vergleich der durchflusszytometrisch und zytologisch erfassten Parameter der BALF hatten sich einige statistisch signifikante Unterschiede zwischen der Sarkoidosegruppe und der Gesamtgruppe lungenerkrankter Personen gezeigt. Von Interesse war nun zunächst, ob anhand der betreffenden Parameter eine Trennung der Personen mit Sarkoidose von den Personen mit der Vielfalt der übrigen Erkrankungen gelingen konnte. Dazu erfolgte die Analyse der Daten mit Hilfe der binären logistischen Regression. Bewies die untersuchte Variable einen signifikanten Einfluss auf die Zuordnung zu den beiden möglichen Gruppen Sarkoidose und Nichtsarkoidose, wurde die Güte der Prognosefunktion des Modells durch das Erstellen einer ROC-Kurve und Betrachtung der AUC beurteilt.

Als mögliche Trennvariablen wurden zunächst die CD4+/CD8+-Ratio, der Lymphozytenanteil an den Leukozyten sowie die Anteile von CD16+-T- und HLA-DR+-T-Zellen an T-Zellen der statistischen Analyse unterzogen.

4.5.1 CD4+/CD8+-Ratio als mögliche Trennvariable

Die Betrachtung der Ratio ergab in der binären logistischen Regression ein hochsignifikantes Gesamtmodell. Für die AUC ergab sich ein Wert von 0,725 (KI 95%: 0,676-0,774; Abb. 16). Der aus den Koordinatenpunkten der ROC-Kurve ermittelte maximale Youden-Index betrug 0,379. Das beste Verhältnis von Sensitivität und Spezifität mit einer Sensitivität von 74,2% und einer Spezifität von 63,6% wurde bei einer Ratio von mindestens 2,2 als Cut-Off-Wert erreicht. Der Zustand „Testergebnis positiv“ lag somit bei einer CD4+/CD8+-Ratio von $\geq 2,2$ vor. Von den 97 Personen mit gesicherter Sarkoidose konnte der Test 72 richtig als erkrankt identifizieren, von den 2805 Personen ohne Sarkoidose 1784 richtig als gesund (Tab. 28) Mit der Ratio als Trennvariablen konnten ein positiver prädikativer Wert (PPW) von 6,6% und ein negativer prädikativer Wert (NPW) von 98,6% erreicht werden.

Tab. 28: Klassifizierungstabelle Trennvariable Ratio, Cut-Off $\geq 2,2$

	Test positiv	Test negativ
Sarkoidose	72	25
Nichtsarkoidose	1021	1748

4.5.2 Lymphozytenanteil als mögliche Trennvariable

Auch für den Anteil der Lymphozyten an Leukozyten zeigte sich in der logistischen Regression ein hochsignifikantes Gesamtmodell. Die AUC der ROC-Kurve betrug 0,723 (KI 95%: 0,672-0,774; Abb. 16). Bei einem maximalen Youden-Index von 0,386 ließen

sich $\geq 18,3\%$ Lymphozyten als Cut-Off-Wert mit einer zugehörigen Sensitivität von 70,1% und Spezifität von 68,5% ermitteln. Als richtig positiv erkannte der Test somit 68 der 97 Personen mit Sarkoidose und als richtig negativ 1922 von 2806 Personen ohne Sarkoidose (Tab. 29). Der PPW lag bei 7,1%, der NPW bei 98,5%.

Tab. 29: Klassifizierungstabelle Trennvariable Lymphozyten, Cut-Off $\geq 18,3\%$

	Test positiv	Test negativ
Sarkoidose	68	29
Nichtsarkoidose	884	1922

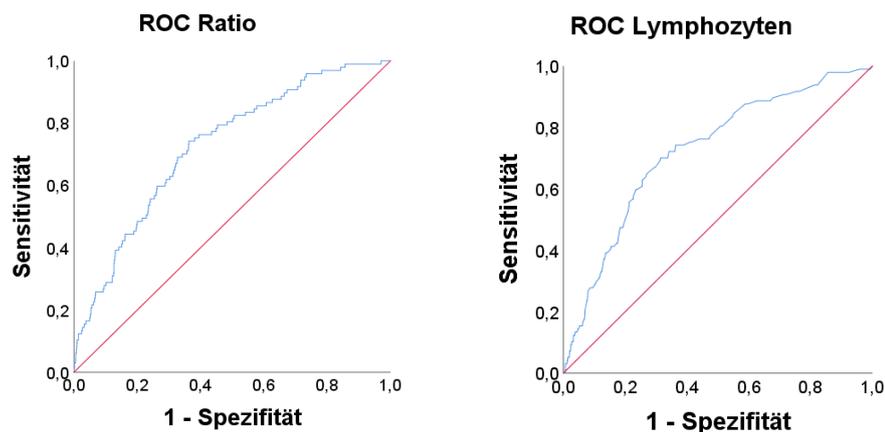


Abb. 16: ROC-Kurven für Ratio CD4+/CD8+-T-Zellen und Lymphozytenanteil als Trennvariablen

4.5.3 CD16+-T-Zellen als mögliche Trennvariable

Bei signifikantem Gesamtmodell wurde für die AUC der ROC-Kurve ein Wert von 0,612 (KI 95% 0,555-0,668; Abb. 17) ausgegeben. Für den maximalen Youden-Index ergab sich als Trennwert mit günstigstem Verhältnis zwischen Sensitivität und Spezifität ein Anteil von CD16+-T-Zellen an T-Zellen von $\leq 6,2\%$. Die Sensitivität betrug 74,0%, die Spezifität 44,1%. Richtig positiv erkannt wurden so 71 von 96 Sarkoidosepatientinnen und -patienten und richtig negativ erkannt 1210 von 2743 der nicht an Sarkoidose Erkrankten (Tab. 30). Daraus ergaben sich ein PPW von 4,4% und ein NPW von 98,0%.

Tab. 30: Klassifizierungstabelle Trennvariable CD16+T-Zellen, Cut-Off $\leq 6,2\%$

	Test positiv	Test negativ
Sarkoidose	71	25
Nichtsarkoidose	1533	1210

4.5.4 HLA-DR+-T-Zellen als mögliche Trennvariable

Bei statistisch signifikantem Gesamtmodell betrug für die HLA-DR+-T-Zellen die AUC der ROC-Kurve 0,623 (KI 95% 0,566-0,681; Abb. 17). Cut-Off Wert für ein optimales Verhältnis zwischen Sensitivität und Spezifität des Testes war bei einem maximalen

Youden-Index von 0,250 ein Anteil von mindestens 49,6% HLA-DR+-T-Zellen an T-Zellen. Mit diesem Trennwert konnte der Test 51 von 96 Personen mit Sarkoidose und 1975 von 2840 ohne Sarkoidose korrekt identifizieren (Tab. 31). Als Sensitivität wurden somit 53,1%, als Spezifität 71,9% erreicht, als PPW 6,2% und als NPW 97,8%.

Tab. 31: Klassifizierungstabelle Trennvariable HLA-DR+T-Zellen, Cut-Off $\geq 49,6\%$

	Test positiv	Test negativ
Sarkoidose	51	45
Nichtsarkoidose	772	1975

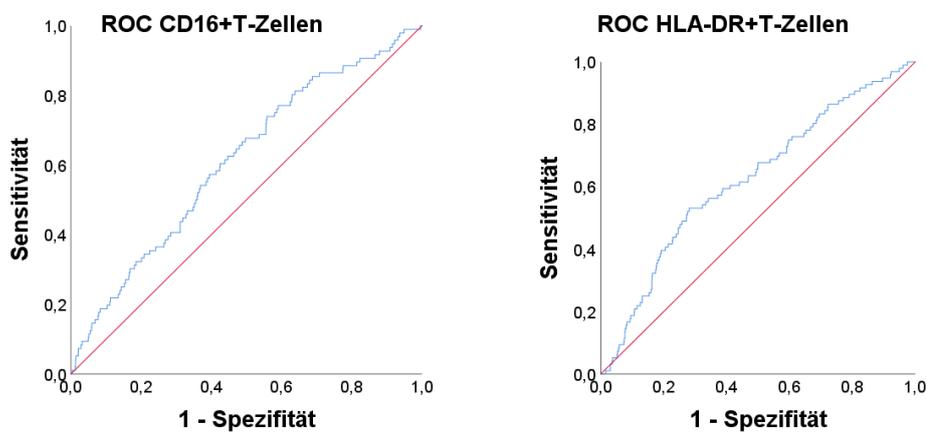


Abb. 17: ROC-Kurven für CD16+-T- und HLA-DR+-T-Zellen als Trennvariablen

4.5.5 Kombination von Trennvariablen: Versuch der Entwicklung eines diagnostischen Scores für Sarkoidose

Zunächst erfolgte die Kombination der beiden Parameter CD4+/CD8+-Ratio und Lymphozytenanteil. Diese hatten einzeln als Trennvariablen im Vergleich zu den CD16+-T- und HLA-DR+-T-Zellen die größeren Werte für die AUC der jeweiligen ROC-Kurven erbracht.

Die Vergabe von null Punkten für einen Wert der Variablen unterhalb des jeweiligen ermittelten Cut-Off-Wertes und von einem Punkt für einen Wert der Variablen ab dem jeweiligen Cut-Off-Wert ergab sich für die Kombination der Variablen Ratio CD4+/CD8+ und Lymphozyten eine AUC der ROC-Kurve von 0,694 (KI 95% 0,644-0,744). Im Vergleich zu den AUC der Variablen für sich genommen ergab sich somit keine Verbesserung der Klassifikationsfähigkeit zwischen den Personen mit Sarkoidose und den Personen mit anderen Erkrankungen (Tab. 32).

Tab. 32: Score 1 Sarkoidose

Variable	Wert	vergebene Punkte	ROC
Ratio CD4+/CD8+	$\leq 2,1$	0	AUC = 0,694

	$\geq 2,2$	1	KI 95% 0,644-0,744
Lymphozytenanteil	$\leq 18,2$	0	
	$\geq 18,3$	1	

Eine Verbesserung der Klassifikationsfähigkeit mit einer AUC der ROC-Kurve von 0,758 (KI 95% 0,711-0,805) ließ sich durch eine Modifikation des Punktevergabemodus für die Variablenwerte erreichen (Tab. 33).

Tab. 33: Score 2 Sarkoidose

Variable	Wert	vergebene Punkte	ROC
Ratio CD4+/CD8+	$\leq 2,1$	0	AUC = 0,758 KI 95% 0,711 – 0,805
	2,2 – 3,4	1	
	3,5 – 5,9	2	
	≥ 6	3	
Lymphozytenanteil	$\leq 18,2$	0	
	18,3 – 35,0	1	
	$\geq 35,1$	2	

Mit Score 2 konnten eine Sensitivität von 89,5% und eine Spezifität von 50,1% erreicht werden. Von 95 Personen mit Sarkoidose erkannte der Test somit 85 als richtig als erkrankt, von 2710 nicht an Sarkoidose erkrankten Personen 1358 richtig als nicht erkrankt (Tab. 34). Der PPW lag bei 5,9 %, der NPW bei 99,3%.

Tab. 34: Klassifizierungstabelle Score 2 Sarkoidose, Cut-Off $\geq 1,4$ Punkte

	Test positiv	Test negativ
Sarkoidose	85	10
Nichtsarkoidose	1352	1385

Unter Beibehaltung dieses Punktevergabemodus für die Variablen Ratio und Lymphozyten erweiterten wir den zweiten Versuch der Entwicklung eines Scores für Sarkoidose um die restlichen im Vorfeld als einzelne Trennvariablen geprüften Variablen (Tab. 35). Es ergab sich die bislang größte AUC von 0,772 (KI 95% 0,723-0,821) für die zugehörige ROC-Kurve (Abb. 18).

Tab. 35: Score 3 Sarkoidose

Variable	Wert	vergebene Punkte	ROC
Ratio CD4+/CD8+	$\leq 2,1$	0	AUC = 0,772 KI 95% 0,723 – 0,821
	2,2 – 3,4	1	
	3,5 – 5,9	2	
	≥ 6	3	
Lymphozytenanteil	$\leq 18,2$	0	
	18,3 – 35,0	1	
	$\geq 35,1$	2	
Neutrophilenanteil	$\leq 4,3$	1	

	> 4,3	0	
CD16+T	≤ 6,2	1	
	> 6,2	0	
HLA-DR+-T	< 49,6	0	
	≥ 49,6	1	

Als Cut-Off-Wert für diesen dritten erprobten Score ergab sich unter Berücksichtigung des maximalen Youden-Index eine Punktzahl von $\geq 3,5$. Die Sensitivität lag bei 71,4%, die Spezifität bei 72,7% (Tab. 36). Somit konnte der Score 65 von 91 Personen mit Sarkoidose korrekt als erkrankt und 1954 von 2688 Personen ohne Sarkoidose korrekt als nicht erkrankt identifizieren. Als positiver prädikativer Wert ergaben sich 26%, als negativer prädikativer Wert 98,7%.

Tab. 36: Klassifizierungstabelle Score 3 Sarkoidose, Cut-Off $\geq 3,5$ Punkte

	Test positiv	Test negativ
Sarkoidose	65	26
Nichtsarkoidose	734	1954

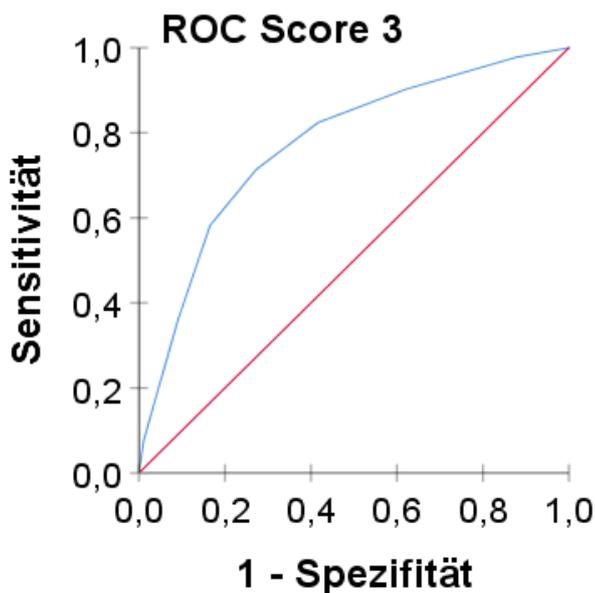


Abb. 18: ROC-Kurve für Score 3 als Trenninstrument

Ausgehend von diesem Score mit einer Sensitivität und Spezifität von jeweils etwa 70% untersuchten wir die Veränderung dieser Testgütekriterien bei Zufügen weiterer einzelner Trennvariablen wie oben beschrieben (Tab. 37).

Tab. 37: Erweiterung Score 3 um Einzelvariablen

Erweiterung Score 3 um	Wert	vergebene Punkte	ROC
CD57+-T	< 20,2	0	AUC 0,772 KI 95%: 0,722-0,822
	≥ 20,2	1	
Lymphozyten absolut	< 1,1	0	AUC: 0,774

	≥ 1,1	1	KI 95%: 0,723-0,825
Mastzellanteil	> 0,6	0	AUC: 0,776
	≤ 0,6	1	KI 95%: 0,728-0,824
Eosinophilenanteil	> 1,25	0	AUC: 0,774
	≤ 1,25	1	KI 95%: 0,724-0,832

Bei Einschluss der CD57+-T-Zellen in Score 3 stieg die Sensitivität auf 78%, die Spezifität sank auf 67,2%, Cut-Off waren mindestens 3,5 Punkte.

Bei Einschluss der absoluten Lymphozyten in Score 3 stieg die Sensitivität auf 75,6%, die Spezifität sank auf 68,8%, Cut-Off waren mindestens 3,5 Punkte.

Erweiterung von Score 3 um die Mastzellen erhöhte die Spezifität auf 75%, senkte aber die Sensitivität auf 67% bei einem Cut-Off von mindestens 4,5 Punkten.

Bei Hinzufügen der eosinophilen Granulozyten lag die Sensitivität bei 70,3% und die Spezifität bei 74,3%, Cut-Off waren ebenfalls mindestens 4,5 Punkte.

Bei Erweiterung von Score 3 um alle diese zusätzlichen Trennvariablen mit Punktabgabemodus wie in Tabelle 38 beschrieben ergab sich ein Cut-Off-Wert des neuen Score 4 von mindestens 6,5 Punkten. Mit einer Sensitivität von 66,7% und einer Spezifität von 76,5% konnte mit dieser Kombination der größtmögliche Wert für die Spezifität erreicht werden (Tab. 38). Für die AUC der ROC-Kurve ergab sich ein Wert von 0,777 (KI 95%: 0,726-0,827). Der positive prädiktive Wert lag bei 8,8%, der negative prädiktive Wert bei 98,5%.

Tab. 38: Klassifizierungstabelle Score 4 Sarkoidose, Cut-Off ≥ 6,5 Punkte

	Test positiv	Test negativ
Sarkoidose	60	30
Nichtsarkoidose	618	2012

Im letzten Schritt erfolgte die binäre logistische Regression mit Rückwärtsselektion für alle neun bisher analysierten Variablen.

Dabei blieben die vier Variablen CD4+/CD8+-Ratio, Lymphozytenanteil an Leukozyten, Neutrophilenanteil an Leukozyten und HLA-DR+-T-Zellen an T-Zellen als relevante Trennvariablen übrig (Tab. 39). Die AUC der ROC-Kurve betrug 0,782 (KI 95%: 0,737-0,827). Über den maximalen Youden-Index ließ sich ein Cut-Off-Wert von mindestens 2,5 Punkten ermitteln. Für den die optimale Modellsparsamkeit berücksichtigenden abschließend ermittelten Score 5 ergaben sich eine Sensitivität von 76,6% und eine Spezifität von 69,4%. Von 94 Sarkoidoseerkrankten erkannte der Test somit 72 richtig als erkrankt, von 2707 Nichterkrankten 1879 richtig als nicht erkrankt (Tab. 40). Der PPW lag bei 8%, der NPW bei 98,8%.

Tab. 39: Score 5 Sarkoidose

Variable	Wert	vergebene Punkte	ROC
Ratio CD4+/CD8+	≤ 2,1	0	AUC = 0,782 KI 95% 0,737-0,827
	2,2 – 3,4	1	
	3,5 – 5,9	2	
	≥ 6	3	
Lymphozytenanteil	≤ 18,2	0	
	18,3 – 35,0	1	
	≥ 35,1	2	
Neutrophilenanteil	≤ 4,3	1	
	> 4,3	0	
HLA-DR+-T	< 49,6	0	
	≥ 49,6	1	

Tab. 40: Klassifizierungstabelle Score 5 Sarkoidose, Cut-Off ≥ 2,5 Punkte

	Test positiv	Test negativ
Sarkoidose	72	22
Nichtsarkoidose	828	1879

4.5.6 Zusammenfassung der Diskriminierungsfähigkeit der untersuchten Trennvariablen und Diagnosescores

Die Güte der Klassifizierungsfähigkeit der Einzelparameter CD4+/CD8+-Ratio, Lymphozytenanteil, Anteil HLA-DR-positiver und CD16-positiver T-Zellen erwies sich unter Berücksichtigung der unteren Grenze des 95%-KI für die AUC als ungenügend (Tab. 41).

Die Güte der Klassifizierungsfähigkeit der erstellten Scoresysteme lag überwiegend im akzeptablen bis exzellenten Bereich (Tab. 42).

Tab. 41: Güte der Klassifizierungsfähigkeit der Einzelvariablen (nach Backhaus et al., 2018c)

Variable	AUC (KI 95%)	Klassifizierungsfähigkeit
Ratio CD4+/CD8+	0,725 (0,676 - 0,774)	ungenügend - akzeptabel
Lymphozytenanteil	0,723 (0,672 - 0,774)	ungenügend - akzeptabel
CD16+-T	0,612 (0,555 - 0,668)	ungenügend
HLA-DR+-T	0,623 (0,566 - 0,681)	Ungenügend

Tab. 42: Güte der Klassifizierungsfähigkeit der Scores (nach Backhaus et al, 2018c)

Score	AUC (KI 95%)	Klassifizierungsfähigkeit
1	0,694 (0,644 - 0,744)	ungenügend - akzeptabel
2	0,758 (0,711 - 0,805)	akzeptabel - exzellent
3	0,772 (0,723 - 0,821)	akzeptabel - exzellent

4	0,777 (0,726 - 0,827)	akzeptabel-exzellente
5	0,782 (0,737 - 0,827)	akzeptabel-exzellente

5. Diskussion

5.1 Einordnung der epidemiologischen Charakteristika der Krankheitsgruppen

5.1.1 Sarkoidose

In der vorliegenden Arbeit wurden 97 Datensätze von Personen mit Lungensarkoidose, der häufigsten Manifestation der Erkrankung, untersucht. Die Diagnose war, wie empfohlen, in jedem Fall in Zusammenschau verschiedener Befunde gestellt worden (ATS et al. 1999). Für Mitteleuropa werden in der Literatur keine wesentlichen Geschlechtsunterschiede für die Erkrankung angegeben (Kirsten, 2016f), was sich auch an der untersuchten Gruppe von Patientinnen und Patienten beobachten ließ: bei 48 Frauen und 49 Männern ergab sich ein Verhältnis von etwa einer erkrankten Frau zu einem erkrankten Mann. Sarkoidose tritt in der Regel vor dem 50. Lebensjahr auf, der Gipfel liegt zwischen 20 und 40 Jahren (Herold, 2014b). Mit einem durchschnittlichen Alter von 49,5 Jahren und einem medianen Alter von 48 Jahren lagen die untersuchten Personen somit eher an der oberen Grenze der Altersspannweite bei Ersterkrankung. Allerdings wurden die Angaben zum Alter der Personen auf Basis des Alters bei der in der statistischen Analyse verwendeten BAL-Untersuchung der Personen berechnet. Ob der Zeitpunkt dieser BAL-Untersuchung und der Zeitpunkt der Erstdiagnose der Erkrankung identisch waren, wurde für diese Arbeit nicht berücksichtigt. Wie aus epidemiologischen Studien bekannt (Valeyre et al., 2014), waren auch in der untersuchten Sarkoidosegruppe weit mehr Nichtraucher als Raucher zu verzeichnen. Somit ist die in dieser Arbeit betrachtete Gruppe von Patientinnen und Patienten mit der Diagnose Sarkoidose als repräsentatives Kollektiv zu bewerten.

5.1.2 Sarkoidose-ähnliche Erkrankung/SLD

Die Erstbeschreibung der SLD gelang an einem Personenkollektiv, das im MVZ Pneumologie des Krankenhauses Martha Maria in Halle-Dölau vorstellig war (Hofer, 2015). Die in der vorliegenden Dissertation untersuchten Datensätze stammen ebenfalls von im MVZ Pneumologie oder im stationären Umfeld des Krankenhauses Martha Maria untersuchten Personen. Daher waren ähnliche Ergebnisse bezüglich der Gruppe der SLD zu erwarten.

Während Hofer jedoch vor allem die typische Symptomtrias aus Husten, Dyspnoe und Fatigue identifizierte und zu dem Ergebnis kam, dass die SLD mit einer erhöhten

CD4+/CD8+-Ratio und einer Lymphozytose in der BAL bei Fehlen radiologisch oder histologisch nachweisbarer Lungenveränderungen vergesellschaftet sei, erfolgte in dieser Arbeit die Analyse weiterer BAL-Parameter über den Lymphozytenanteil und die CD4+/CD8+-Ratio hinaus sowie die Prüfung der Daten auf das Vorliegen von statistisch signifikanten Unterschieden zwischen den beiden Erkrankungen Sarkoidose und SLD.

5.1.3 Exogen allergische Alveolitis/EAA

Mit nur 25 Personen war die Gruppe der Personen mit EAA die kleinste der untersuchten Krankheitsgruppen. Männer sollen häufiger erkranken als Frauen, in der untersuchten EAA-Gruppe ließ sich dagegen ein leichter Frauenüberhang feststellen. Übereinstimmend mit den in der Literatur zu findenden Angaben waren mehr Nichtraucher als Raucher unter den Erkrankten zu finden. In den Krankenakten ließ sich in vielen Fällen der Nachweis von gegen Vogelantigene oder Schimmelpilzantigene gerichteten IgGs nachvollziehen, was die häufigen Erkrankungsformen der Vogelhalter- und Befeuchterlunge abdeckt. Das Durchschnittsalter der Gruppe lag bei 47,5 Jahren, was gut zum beschriebenen Altersgipfel der Neuerkrankungen zwischen 40 und 50 Jahren passt (Costabel, 2014c). Die 25 Personen umfassende, im Rahmen dieser Arbeit ausgewertete Gruppe der EAA ist insgesamt als repräsentativ für die Erkrankung zu werten.

5.1.4 Gesamtgruppe Lungenerkrankter

Die Personen, bei denen die Erkrankungen Sarkoidose, SLD und EAA diagnostiziert worden waren, waren im Rahmen der Datensatzaufbereitung gezielt aus der Gesamtgruppe Lungenerkrankter herausgesucht worden. Für die 2714 restlichen Personen war zunächst auch die Zuordnung der letztendlich gestellten Diagnose angedacht gewesen. Die große Diversität an gestellten Diagnosen und auch die Tatsache, dass zum Zeitpunkt der Krankenaktendurchsicht die Diagnosestellung nicht in jedem Falle abgeschlossen war, ließen die ursprüngliche Absicht in den Hintergrund treten. Daher konnten für die Gesamtgruppe der Lungenerkrankten keine Aussagen aus dieser Arbeit abgeleitet werden. Die vorliegenden Bedingungen spiegelten aber die „Laborrealität“ wieder, in der es keine Vergleichsgruppe gesunder Personen gibt, da bei diesen keine Indikation zur Bronchoskopie vorliegt. Dies geht auch zu Lasten des Umstandes, dass eine retrospektive Datenanalyse durchgeführt wurde.

5.2. Methodische Limitationen

5.2.1 Statistische Tests

Die Spannweite der meisten BAL-Parameter erstreckte sich von sehr kleinen bis hin zu sehr großen Werten. Die optische Analyse der Histogramme zeigte für diese Parameter keine symmetrische Verteilung, sondern, mit Ausnahme der T-Zellen, eine linksgipflige, rechtsschiefe Verteilung. Durch Logarithmieren der Daten konnte für diese Parameter, wiederum mit Ausnahme der T-Zellen, optisch eine Normalverteilung erreicht werden. Nichtparametrische Ausweichverfahren haben zwar eine geringere Power als die parametrischen Verfahren, die Interpretierbarkeit von Testergebnissen im Rahmen dieser Arbeit schien aber nur auf dem Boden jeweils korrekt erfüllter Testbedingungen sinnvoll. In der Literatur ist die Tatsache, dass BAL-Parameter keiner Normalverteilung folgen, bereits beschrieben. Die Autoren empfahlen daher den Einsatz nichtparametrischer Analyseverfahren beim Vergleich von Zellanteilen zwischen verschiedenen Gruppen (Merchant et al., 1992).

Das Verfahren der logistischen Regression wurde genutzt, um einen Diagnosescore für die Erkrankung Sarkoidose anhand von Parametern der BAL zu erstellen. Große Unterschiede bezüglich der Größe der analysierten Gruppen stellen hierbei keinen limitierenden Faktor dar. Je mehr unabhängige Variablen als mögliche Einflussfaktoren auf das Vorliegen eines Zustandes genutzt werden, desto mehr Personen muss eine Gruppe aber beinhalten. Als Faustregel gilt, dass mindestens zehn Fälle pro Variable vorhanden sein müssen (Backhaus et al., 2018d). Diese Vorgabe war bei der Nutzung des vorliegenden Datenmaterials umsetzbar. Allerdings ist die Trefferquote für einen Zustand immer überhöht, wenn sie auf Basis der Stichprobe errechnet wird, die auch für die Schätzung der logistischen Regressionsfunktion genutzt wird. Bei Anwendung auf eine andere Stichprobe wird die Trefferquote dann niedriger. Dieser sogenannte Stichprobeneffekt wird mit zunehmendem Stichprobenumfang kleiner und mit zunehmender Variablenzahl im Modell größer (Backhaus et al., 2018e).

Diese Überlegungen zu den Limitationen sind bei der Ergebnisanalyse der durchgeführten Tests zu berücksichtigen.

5.2.2 BAL und Durchflusszytometrie

Die Qualität der BAL ist von verschiedenen Faktoren abhängig. Zunächst beeinflussen Erfahrung und Prozedursicherheit der lavagierenden Person die Qualität der gewonnenen Probe. Die Kontamination der BALF mit extraalveolärem Material, wie zilienträgenden Zellen oder Schleim, senkt die gemessene CD4+/CD8+-Ratio bei Sarkoidose (Reichenberger et al., 2007). Darüber hinaus hängt die Qualität der BAL von der Nutzung geeigneter Probengefäße und den Transportbedingungen zum Labor, der

Zeit, die bis zur tatsächlichen Analyse im Durchflusszytometer vergeht sowie der korrekten Aufbereitung des Zellmaterials ab. Standardisierte Bedingungen und Vorgaben in all diesen Bereichen sollen Qualitätseinschränkungen der BAL minimieren und deren Einhaltung wurde für die in dieser Arbeit analysierten Proben auch grundsätzlich angenommen. Im Nachhinein war ein korrekter Ablauf aber nicht in jedem Fall sicher nachvollziehbar. Da die Zellen in der Flüssigkeit größtenteils vital sind und angeregte Zellen weiter Mediatoren freisetzen oder sich teilen können, sind bei großer Zeitspanne zwischen Entnahme und Analyse der Probe beispielsweise die Erhöhung von Anteilen aktivierter Zellen oder der Anteile von Zellen, die mehrere Zellzyklen durchlaufen haben, möglich. Bei zu großer Zeitspanne können auch bereits viele Zellen abgestorben sein, wenn die Probe untersucht wird. In beiden Fällen stimmen die nachgewiesenen Zellverhältnisse mit den im Gewebe vorliegenden nicht mehr überein. Probleme bei der Immunphänotypisierung im Durchflusszytometer können unspezifische Färbungen durch zu hohe Konzentrationen beigefügter fluoreszenzmarkierter Antikörper, die nichtquantitative Erfassung vorhandener Epitope durch zu geringe Konzentration der Antikörper oder eine hohe Autofluoreszenz von Zellen sein. Bestimmte Waschschriffe können einen selektiven Zellverlust bewirken. Diesen und anderen Schwierigkeiten soll durch interne und externe Qualitätskontrollen begegnet werden (Rothe et al., 2012d) . Auch deren korrekte Durchführung wurde für das Gerät, dessen Ergebnisse in der vorliegenden Arbeit ausgewertet wurden, angenommen. Gleiches galt für die manuell unter dem Mikroskop ausgezählten Zellanteile.

5.3 Interstitielle Lungenerkrankungen/ILD und Stellenwert der BAL

Akute oder chronische parenchymale Lungenerkrankungen mit unterschiedlichem Ausmaß von Gewebsinfiltration und Fibrose bei Immunkompetenten ohne Nachweis einer Neoplasie oder Infektion werden als ILD bezeichnet (King, 2005). Pneumokoniosen oder die EAA zählen dabei zu den ILDs mit bekannter Ursache, während Sarkoidose eine ILD unbekannter Ursache ist (Meyer et al., 2012). Betroffene leiden unter Belastungsdyspnoe, oft sind bilaterale Lungeninfiltrate im Thoraxröntgenbild und eine krankhaft veränderte Lungenphysiologie nachweisbar (Meyer et al., 2012). Im Lungengewebe finden sich inflammatorische und Immuneffektorzellen, es kommt zur Veränderung der extrazellulären Matrix der distalen Atemwege (Meyer et al., 2012). Die Entwicklung von ILDs kann sich über Monate bis Jahre erstrecken. Diagnostik und Therapie sind in der Regel sehr kompliziert und eine interdisziplinäre Diskussion der Befunde wird als Goldstandard für die Diagnosestellung betrachtet (Meyer et al., 2012). Die Bronchoskopie mit BAL wird im Rahmen der Diagnostik bei Verdacht auf eine ILD

eingesetzt. Eine Infektion als Ursache der Beschwerden kann so ausgeschlossen werden. ILD können mit verschiedenen Zellmustern in der BAL einhergehen. In wenigen Fällen sind die Befunde pathognomonisch für eine bestimmte Erkrankung, Beispiele sind die pulmonale Langerhanszellhistiozytose oder idiopathische akute eosinophile Pneumonien. Als Ursache eines Lymphozytenanteils von über 15% in der BAL kommen neben der Sarkoidose auch Kollagenosen, lymphoproliferative Erkrankungen, strahlentherapieinduzierte oder medikamentöse Pneumonitiden oder andere Formen der Pneumonie wie die unspezifische interstitielle Pneumonie oder die kryptogen organisierende Pneumonie in Frage. Ein Lymphozytenanteil von über 25% in der BAL kann Hinweis auf das Vorliegen einer granulomatösen Erkrankung sein, dazu zählt neben der Sarkoidose auch die EAA. Ein Lymphozytenanteil von über 50% in der BAL kann ebenfalls bei EAA, aber auch bei der unspezifischen interstitiellen Pneumonie beobachtet werden (Meyer et al., 2012). In der Regel ist das Ergebnis der Untersuchung der BALF nur in Kombination mit den restlichen Befunden für die Diagnosestellung oder den Ausschluss von Differentialdiagnosen hilfreich (Kebbe und Abdo, 2017).

Die ATS empfiehlt bei Verdacht auf eine ILD zunächst die Durchführung einer hochauflösenden Computertomografie (HRCT). Zeigen deren Auswertung parenchymale Veränderungen in einem bestimmten Bereich der Lunge, sollte innerhalb von sechs Wochen die BAL dieses Bereiches durchgeführt werden (Meyer et al., 2012).

5.4 Einordnung der BAL-Ergebnisse der Sarkoidosegruppe

5.4.1 Lymphozytenanteil und CD4+/CD8+-Ratio

Typisch für Sarkoidose ist das Vorliegen einer T-Zell-dominierten Lymphozytose bei normalen prozentualen Anteilen von neutrophilen und eosinophilen Granulozyten in der BAL. Die CD4+/CD8+-Ratio ist dabei häufig über die obere Grenze des Normwertes von 3,5 erhöht (Wessendorf et al., 2015). Bei einem durchschnittlichen Lymphozytenanteil von 28% in der Differentialzytologie und einer durchschnittlichen Ratio von 5,8 ließ sich diese Beobachtung auch für die in dieser Arbeit untersuchte Sarkoidosegruppe bestätigen. Der diagnostische Wert der CD4+/CD8+-Ratio zur Abgrenzung von anderen ILD wurde in der Vergangenheit oft untersucht. So stellten Costabel et al. fest, dass in einer Gruppe von 117 Personen mit histologisch gesicherter Sarkoidose und Vorliegen einer Lymphozytose eine Ratio von mindestens 3,5 mit einer Sensitivität von 52% und einer Spezifität von 94% vergesellschaftet war (Costabel, 1997; Kantrow et al., 1997). Zu einem ähnlichen Ergebnis kamen auch Winterbauer et al., die eine Ratio von mindestens 4,0 mit einer Sensitivität von 59% und einer Spezifität von 94% für die Abgrenzung einer Sarkoidose beschrieben (Winterbauer et al., 1993). Kantrow et. al argumentierten gegen einen diagnostischen Nutzen der Lymphozytensubsetanalyse bei

der Entscheidung für oder gegen die Diagnose Sarkoidose (Kantrow et al., 1997). In der beschriebenen Gruppe von Personen mit biopsiegesicherter Sarkoidose lag die Ratio in 42% bei einem Wert größer als 4,0. Diesen Anteil, der der Sensitivität der Ratio als Trennvariable entspricht, werteten die Autoren als zu niedrig, um zur Diagnosefindung sinnvoll beizutragen.

Auch für die Lymphozytosefraktionen der in dieser Arbeit untersuchten Krankheitsgruppen wurde die Ratio als mögliche Trennvariable zwischen Sarkoidose und anderen Lungenerkrankungen untersucht. Bei einer Ratio von mindestens 3,5 ergab sich dabei eine Sensitivität von 56,2% und bei einer Ratio von 4,0 eine Sensitivität von 52,1%. Diese Ergebnisse waren mit den von Costabel und Winterbauer beobachteten Sensitivitätsangaben vergleichbar. Für die Spezifität ergaben sich jedoch für die Ratio als Trennvariable in der hier untersuchten Lymphozytosepopulation deutlich niedrigere Werte: Bei einer Ratio von mindestens 3,5 lag die Spezifität bei 64,9%, bei einer Ratio von mindestens 4,0 bei 71,3% (jeweils im Vergleich zu einer Spezifität von 94% bei Costabel und Winterbauer). Allerdings wurde in den erwähnten Publikationen die Ratio CD4+/CD8+ genutzt, um Personen mit Sarkoidose von Personen mit anderen ILD abzugrenzen. In der vorliegenden Arbeit wurde die Ratio jedoch als Trennparameter zwischen Sarkoidoseerkrankten und der Gesamtheit der übrigen Lungenerkrankten erwogen. Diese umfasste neben der EAA als von Sarkoidose abzugrenzende ILD auch andere Krankheitsbilder, deren Diagnostik eine BAL beinhaltete. Winterbauer et al. beschrieben weiterhin für eine Ratio von mindestens 4,0 einen positiven prädiktiven Wert von 50% und für eine Ratio von kleiner 1,0 einen negativen prädiktiven Wert von 100% beim Vergleich von Sarkoidoseerkrankten mit einer Gruppe von Personen mit verschiedenen anderen Krankheitsbildern. Darunter waren neben Personen mit anderen ILDs auch Personen mit Infektionen, Neoplasien oder bronchialer Hyperreagibilität. Diese Voraussetzungen entsprachen damit mehr den in dieser Arbeit vorliegenden Bedingungen die untersuchten Gruppen betreffend. Für eine Ratio kleiner 1,0 ergab sich ein ähnlich hoher negativer prädiktiver Wert von 98%. Der positive prädiktive Wert für eine Ratio von mindestens 4,0 blieb mit 10,3% aber deutlich unter den von Winterbauer et al. erreichten 50%. Limitierend für den Vergleich könnte sein, dass die der Gruppe SLD zugeordneten Personen Teil der Gesamtgruppe waren, von der Sarkoidose durch den Marker Ratio abgegrenzt werden sollte. Diese Personen wiesen in der Regel, wie im Ergebnisteil dargelegt, ebenfalls eine erhöhte CD4+/CD8+-Ratio auf. Somit wären sie der Gruppe der durch eine hohe Ratio als „falsch positiv“ identifizierten Personen zuzuordnen, die bei der Berechnung des positiven prädiktiven Wertes im Nenner steht und somit den errechneten Wert verringern könnte. Allerdings ist fraglich, ob die 67 Personen mit SLD unter den über 1000 Personen der gesamten Restgruppe dabei stark

ins Gewicht fallen. Generell gilt, dass Studien zum prädiktiven Wert von BAL-Parametern für ILD größtenteils aus der Zeit stammen, als die Nutzung der HRCT zur Identifikation des optimalen, weil sicher von Parenchymveränderungen betroffenen Lungenbereiches noch nicht Teil des empfohlenen diagnostischen Prozederes war (Kebbe und Abdo, 2017). Am vorliegenden Datenmaterial war nicht eindeutig nachvollziehbar, ob, wenn ein HRCT bei Verdacht auf eine ILD erfolgt war, die BAL auch aus einem Lungenlappen mit Parenchymveränderungen gewonnen worden war. Für zukünftige Untersuchungen von BAL-Parametern als Marker für ILDs sollten deshalb im Rahmen einheitlicher diagnostischer Vorgehensweisen gewonnene Proben die Grundlage darstellen.

5.4.2 Weitere BAL-Parameter bei Sarkoidose

Die vermehrte Expression von Aktivierungsmarkern auf T-Lymphozyten der BAL bei ILD ist in der Literatur beschrieben und weist auf verlängerte Antigenstimulation und chronische T-Zell-Aktivierung hin (Heron et al., 2010). In diesem Sinne ist auch der Nachweis von HLA-DR⁺-T-Lymphozyten bei der untersuchten Sarkoidosegruppe zu werten, deren Anteil signifikant höher war als bei der Gesamtgruppe Lungenerkrankter. Im Vergleich zu Lungengesunden ist der Anteil von CD57⁺-T-Zellen bei Sarkoidose in der BAL stark erhöht (Wahlström et al., 1999). Dabei handelt es sich um oligoklonal vermehrte, endgültig differenzierte, funktional kompetente Gedächtnis- oder Effektor-T-Zellen, die viele Zellzyklusrunden durchlebt haben. Die funktionell heterogene Population besteht aus verschiedenen Subtypen, wobei die dominierende Sorte über den Einfluss auf die Immunantwort entscheidet. Bei Sarkoidose kommt es zur Expansion der CD57⁺-T-Zellen, die in die T_H1-Zytokin-Produktion involviert sind (Kurumagawa et al., 2003). Die Akkumulation dieses Zelltyps wurde mit einer reduzierten Immunkompetenz bei Älteren sowie verschiedenen Erkrankungen mit chronisch ablaufender Immunantwort assoziiert. Darunter fallen sowohl Krebserkrankungen als auch chronische Lungenerkrankungen wie Asthma oder COPD (Kurumagawa et al., 2003). In der Sarkoidosegruppe erfolgte der Vergleich von Personen, bei denen sich mindestens 23% CD57⁺-T-Zellen in der BAL nachweisen ließen mit den Personen mit einem Anteil von höchstens 20% CD57⁺-T-Zellen. Letztere Gruppe wies ein signifikant niedrigeres Durchschnittsalter sowie einen geringeren Lymphozytenanteil in der Zellauszählung auf. Initial war der Vergleich unter der Annahme erfolgt, dass bei Personen mit einem höheren Anteil CD57⁺-T-Zellen die Immunantwort schon über einen längeren Zeitraum in Gang sein müsse, da CD57 erst bei anhaltender Antigenstimulation mit Durchlaufen etlicher Zellzyklen auf der T-Zell-Oberfläche erscheint. Allerdings ist zu berücksichtigen, dass physiologischerweise aus der Peripherie auch Lymphozyten in die Lunge einwandern, die noch kein CD57 exprimieren und somit den relativen Anteil der

CD57⁺-T-Zellen minimieren. Eine hohe CD57-Expression könnte zudem also auch auf das krankheitsbedingte Fehlen einer Neueinwanderung von Lymphozyten hindeuten. Auch die NKT- und NKT-like-Zellen stellen eine sehr heterogene Lymphozytensubgruppe dar. Ihre Funktion besteht in der Prägung und Regulation der Immunantwort (Rijavec et al., 2011). Charakterisiert werden sie über das Vorhandensein eines T-Zell-Rezeptors sowie von NK-Zell-Oberflächenmarkern wie CD16 oder CD56, weshalb ihnen eine Brückenfunktion zwischen erworbenem und angeborenem Immunsystem zugeschrieben wird (Rijavec et al., 2011). Während die Subgruppen der NKT-Zellen in Anhängigkeit von der Antigenpräsentation durch CD1d definiert werden, werden NKT-like-Zellen als CD1d-unabhängige T-Zellen beschrieben. Die Aktivierung erfolgt über MHC-I- oder MHC-II-Moleküle. Auch innerhalb der Gruppe der NKT-like-Zellen herrscht eine große phänotypische und funktionelle Diversität (Rijavec et al., 2011). Bei vielen Lungenerkrankungen wurden numerische und/oder funktionelle Einschränkungen der beschriebenen Zellgruppen beobachtet. Bei Sarkoidose wurde ein Beitrag von T-Zell-Rezeptor-invarianten NKT-Zellen zu vermehrter und verlängerter T-Zell-Aktivierung vermutet (Rijavec et al., 2011). Diese Beobachtung ließ sich am hier untersuchten Sarkoidosekollektiv nicht nachvollziehen, weil eine Charakterisierung von CD1d-exprimierenden NKT über die Durchflusszytometrie nicht erfolgt war. Allerdings zeigte sich, dass, wie in der Literatur beschrieben, in der Sarkoidosegruppe ein geringerer Anteil an durch CD3 und CD16 charakterisierten NKT-like-Zellen in der BAL vorlag als bei EAA (Tøndell et al., 2014). Die genaue Rolle von NKT und NKT-like-Zellen in der Pathogenese der ILD bleibt dabei vorerst unklar.

5.5 Einordnung der Ergebnisse der Gruppe SLD im Vergleich zu Sarkoidose

5.5.1 BAL-Parameter

Da die SLD als Erkrankung mit einer alveolären Lymphozytose und einer erhöhten CD4⁺/CD8⁺-Ratio in der BAL beschrieben wurde (Hofer, 2015), war die Feststellung von Unterschieden dieser Parameter im Vergleich zur Sarkoidose von vorneherein nicht zu erwarten. Auch die übrigen Parameter der BAL bei Personen mit SLD unterschieden sich nicht signifikant von den Ergebnissen der Personen mit Sarkoidose. Unter Annahme der SLD als von Sarkoidose abzugrenzender Erkrankung könnte der Ablauf ähnlicher (aber fulminanterer) immunologischer Vorgänge im Lungengewebe, die sich in Form der in der BAL nachzuweisenden Zellanteile widerspiegeln, vermutet werden.

5.5.2 Lungenfunktionsparameter

Die forcierte VC gilt als sicherster Parameter, um den Einfluss der Lungenbeteiligung bei Sarkoidose zu erfassen. In dieser Arbeit wurde lediglich die inspiratorische VC in die

Untersuchung einbezogen. Um Vergleichbarkeit zu gewährleisten, wurde, wie in der „Erstbeschreibung einer sarkoidoseähnlichen Erkrankung“ (Hofer, 2015) eine VC von mindestens 85% vom Soll noch als normwertig angenommen. Obwohl die Mittelwerte und Medianwerte der VC der beiden Gruppen Sarkoidose und SLD im Normbereich lagen, ergaben sich signifikant bessere Werte für die Personen mit SLD. In der Sarkoidosegruppe lag die VC in 39,2% der Fälle unter dem Grenzwert, in der SLD-Gruppe nur in 19,4% der Fälle. Personen mit SLD hatten definitionsgemäß keine Veränderungen der Lungenbildgebung oder Lungenhistologie, während bei allen Personen mit Sarkoidose Lungenveränderungen nachgewiesen worden waren. Es ist bekannt, dass die Ergebnisse der Lungenfunktionsuntersuchung bei Sarkoidose mit dem Krankheitsprozess korrelieren, der durch die Lungenbiopsie erfasst wird (Valeyre und Bernaudin, 2014). In diesem Sinne sind die Beobachtungen zur VC in dieser Arbeit zu werten.

5.5.3 Belastung durch Fatigue

Bis zu 70% der Patientinnen und Patienten mit Sarkoidose leiden unter Fatigue. Zur Erfassung der Symptomatik existieren verschiedene Fragebögen, validiert ist die „Fatigue Assessment Scale“ (Vries et al., 2004). Die in dieser Arbeit analysierten Personen wurden mittels der „Modified Fatigue Impact Scale“ befragt, die ursprünglich für an multipler Sklerose Erkrankte entwickelt wurde. Cut-Off für ein Vorliegen von Fatigue ist bei diesem Fragebogen ein Wert von mindestens 38 Punkten. In Anlehnung an die Einteilung der Fatigue bei Sarkoidose nach De Kleijn in die drei Stufen mild, intermittierend und ganztägig (De Kleijn et al., 2011) erstellten wir in Abhängigkeit von der im MFIS erreichten Punktzahl die Gruppen der leichten, mittelgradigen und schweren Fatigue. In der Sarkoidosegruppe überwog die Anzahl der Personen mit leichter und mittelgradiger Fatigue die der Personen mit schwerer Fatigue. In der SLD-Gruppe zeigten sich umgekehrte Verhältnisse, die Anzahl der Personen mit schwerer Fatigue überwog die Gesamtzahl der Personen mit leichten und mittelgradigen Beschwerden. Da die SLD-Gruppe hauptsächlich aus Frauen bestand und in der Literatur beschrieben ist, dass Frauen häufiger Fatigue angeben als Männer (Fleischer et al., 2014), lässt sich diese Tatsache zumindest teilweise durch die Geschlechterverteilung der Gruppen erklären. Darüber hinaus ist die Fatigue ein Symptom, dessen Ursache nicht restlos geklärt ist. Ein multifaktorielles Geschehen wird angenommen, mögliche Einflussfaktoren sind Verteilung des Organbefalles und inflammatorische Krankheitsaktivität, Ausmaß der medikamentösen Therapie sowie Art und Umfang von Komorbiditäten (Fleischer et al., 2014). Bezüglich der Komorbiditäten lag bei Auswertung der Datensätze in dieser Dissertation keine Information vor, möglicherweise

waren Personen mit SLD schwerer betroffen als Personen mit Sarkoidose. Auch Unterschiede im Ausmaß der Inflammation bei Sarkoidose und SLD sind möglich und könnten zu unterschiedlich starker Fatiguesymptomatik beitragen

5.5.4 Therapieansprechen

Als Therapie wurde die Applikation von Glucokortikoiden gewertet, als Ansprechen ein Rückgang der Krankheitssymptome. Frustrane Reduktionsversuche oder Erweiterung der medikamentösen Therapie um andere immunsuppressive Medikamente galten in dieser Arbeit als Nichtansprechen. In der Sarkoidosegruppe war nur in etwa der Hälfte der Fälle eine Therapie notwendig, mit der bei der Mehrheit ein Ansprechen erreicht werden konnte. In der Gruppe der SLD mussten sich deutlich mehr Personen einer Therapie unterziehen, nur die Hälfte dieser Personen sprach auf die Therapie an. Mit steigendem Schweregrad der Fatigue stieg bei SLD auch der Anteil der nicht Ansprechenden. Hofer wertete das Ansprechen auf eine medikamentöse Therapie ebenfalls aus, allerdings wurden auch kombinierte Optionen aus Glucokortikoiden, Methotrexat und TNF α -Antagonisten oder Mycophenolat untersucht. Hierbei zeigten sich in über 80% der Fälle ein Therapieerfolg (Hofer, 2015). Diese Tatsache unterstützt die Hypothese, dass die bei SLD ablaufenden inflammatorischen Prozesse fulminanter sind als bei Sarkoidose. Inflammation trägt zur Entstehung von Fatigue bei, bei starker Inflammation reicht die Glucokortikoidmonotherapie möglicherweise nicht aus und muss um weitere immunsuppressive Medikamente ergänzt werden.

5.5.5 „Sarkoidose“ als Sammelbegriff

Wie bereits unter 1.1.2 erwähnt, wird Sarkoidose als Erkrankung verstanden, für die viele prädisponierende Gene existieren und die viele unterschiedliche Auslöser haben kann. Die Kombination prädisponierender Gene kann die Art der Manifestation und den Verlauf der Erkrankung beeinflussen, Umweltfaktoren spielen ebenfalls eine wichtige Rolle. Vor diesem Hintergrund bietet es sich an, die Bezeichnung „Sarkoidose“ als Überbegriff für eine heterogene Gruppe von Entitäten mit typischen Symptomen wie trockenem Reizhusten, Dyspnoe, Fatigue oder Thoraxschmerzen zu nutzen. Die SLD wäre somit als ein Krankheitsbild innerhalb der Gruppe Sarkoidose zu verstehen. Ursachen für die deutlich schwerere Beeinträchtigung durch Fatigue bei SLD und das Überwiegen des Frauenanteils unter den Betroffenen sollten in Zukunft genauer erforscht werden. Interessant wäre ein Vergleich der Chitotriosidasekonzentrationen bei symptomatischen Personen mit und ohne Nachweis verkäsender Granulome. Auf das Auftreten von Granulomen bei Patientinnen und Patienten mit SLD im Krankheitsverlauf sollte ebenfalls Augenmerk gelegt werden.

5.6 Einordnung der Ergebnisse der Gruppe EAA

5.6.1 BAL

Das Vorliegen einer lymphozytären Alveolitis ist (nach Ablauf der ersten 48 Stunden) typisch für eine akute EAA und es wird im Vergleich zu anderen ILDs die stärkste Lymphozytose erreicht (Koschel, 2016g). In der untersuchten Gruppe von Patientinnen und Patienten mit EAA lag in 88% der Fälle eine Lymphozytose vor, der Lymphozytenanteil lag mit durchschnittlich 36,6% höher als der Lymphozytenanteil der anderen untersuchten Krankheitsgruppen. Obwohl bei der Datenerhebung nicht zwischen akuter und chronischer EAA unterschieden worden war, sprachen die Ergebnisse somit dafür, dass die in die Untersuchung eingeschlossenen Patientinnen und Patienten mehrheitlich an der akuten Verlaufsform litten. Die durchschnittliche CD4+/CD8+-Ratio von 0,84 war signifikant niedriger als die der anderen Gruppen, was die Diagnose EAA ebenfalls unterstützte.

Wie bereits erwähnt, zeigt die Expression von HLA-DR auf T-Zellen deren Aktivierung an, HLA-DR gilt als „später“ Aktivierungsmarker, der im Verlauf der T_H1-Antwort auf der Zelloberfläche erscheint. Bei EAA wurden bereits höhere Anteile von CD8+-positiven HLA-DR-T-Zellen als bei Sarkoidose nachgewiesen (Heron et al., 2010). Diese Beobachtung lässt sich in dieser Arbeit nicht nachvollziehen, weil lediglich der Anteil von HLA-DR+-T-Zellen an allen T-Zellen, nicht aber deren Anteil innerhalb der T-Zell-Subgruppen erfasst wurde. Der Anteil an HLA-DR+-T-Zellen lag aber sowohl in der Sarkoidosegruppe als auch in der Gruppe EAA bei über 40% und unterstreicht die chronische Aktivierung der Zellen im Rahmen der ablaufenden Krankheitsprozesse.

CD16-positive NKT-like Zellen induzieren eine T_H1-typische Immunantwort und sind zur NK-Zell- und T-Zell-ähnlichen Zytolyse fähig. Bei EAA wurden im Vergleich zu anderen ILD hohe Anteile dieser Zellgruppe nachgewiesen (Rijavec et al., 2011). Auch in dieser Arbeit ließ sich der höchste Anteil an NKT-like-Zellen bei der Gruppe EAA nachweisen.

5.6.2 Lungenfunktion und Therapie

Bei der akuten Verlaufsform der EAA kommt es zu restriktiven Ventilationsstörungen. Eine Restriktion ist als Einschränkung der TLC in Kombination mit einer reduzierten inspiratorischen VC bei normwertigem Tiffeneau-Index definiert. Der Tiffeneau-Index ist der Quotient aus forcierter Einsekundenkapazität (FEV₁) und der Vitalkapazität (Herold, 2014c). Die FEV₁ wird im Rahmen einer Bodyplethysmographie zwar prinzipiell erfasst, im Rahmen dieser Dissertation fanden jedoch nur die TLC und iVC Berücksichtigung bei der Datenerfassung. Daher konnte der Frage nach einer restriktiven Ventilationsstörung in der Gruppe EAA nur mit der Einschränkung nachgegangen werden, den Tiffeneau-Index nicht zu kennen. In 20 der 25 Fälle wurde eine Lungenfunktionsuntersuchung

durchgeführt, davon traf nur in zwei Fällen die Definition einer Restriktion zu. Die TLC und VC der Personen mit EAA waren jedoch signifikant niedriger als die bei Personen mit SLD, bei denen definitionsgemäß keine strukturellen Lungenveränderungen vorlagen.

Die Mehrheit der an EAA Erkrankten war mit Glucokortikoiden behandelt worden, im Gegensatz zu Personen mit Sarkoidose und SLD jedoch überwiegend in inhalativer Form. Nur bei neun von siebzehn behandelten Personen konnte der Krankheitsverlauf weiter nachvollzogen werden, sechs der neun Personen sprachen auf die Therapie an. Allerdings blieb dabei unklar, ob zusätzlich zu der medikamentösen Therapie auch eine Allergenkarenz vollzogen wurde. De Sadeleer et al. konnten zeigen, dass sich bei Patientinnen und Patienten mit EAA durch Glucokortikoidtherapie und Allergenkarenz kein Überlebensvorteil ergab, unabhängig davon, ob fibrotische Veränderungen der Lunge vorlagen oder nicht. Bei Personen mit EAA ohne Lungenfibrose konnte jedoch ein therapeutischer Effekt der Glucokortikoidtherapie in Form einer Verbesserung der gemessenen Lungenfunktionsparameter nachgewiesen werden (De Sadeleer et al., 2018).

5.7 Vergleich der Sarkoidosescores

Ein Ziel dieser Arbeit war es, herauszufinden, ob die Entwicklung eines auf durchflusszytometrisch und zytologisch erfassten Parametern der BALF basierenden diagnostischen Scores für die Vorhersage der Diagnose Sarkoidose gelingen konnte. Grundlegendes statistisches Verfahren zur Analyse dieser Fragestellung war die binäre logistische Regression. Zuerst wurde für einzelne unabhängige Variablen, nämlich die CD4+/CD8+-Ratio, den Lymphozytenanteil sowie den Anteil CD16- und HLA-DR-positiver T-Zellen, untersucht, ob sie das Vorliegen des Zustandes „Sarkoidose“ vorhersagen konnten und wenn ja, welcher Wert dieser unabhängigen Variablen jeweils den Cut-Off-Wert bildete, oberhalb (oder unterhalb) dessen das Vorliegen einer Sarkoidose angenommen werden konnte. Im einfachen Punktevergabemodus wurde für einen Variablenwert unterhalb des Cut-Off-Wertes kein Punkt vergeben, für einen Variablenwert ab dem Cut-Off-Wert ein Punkt. In einem nächsten Schritt wurde untersucht, ob eine Verfeinerung dieses Punktevergabemodus in Form einer weiteren Abstufung der vergebenen Punkte in Abhängigkeit von der Variablenwertgröße die Vorhersagefähigkeit für das Vorliegen einer Sarkoidose verbessern konnte. Letztendlich wurde auch die Vorhersagefähigkeit für verschiedene Variablenkombinationen untersucht. Dafür wurden den in der BAL für die einzelnen Parameter erhobenen Werte die entsprechenden im Vorfeld ermittelten Punktzahlen zugeordnet und diese wurden addiert. So entstanden verschiedene Modelle eines

diagnostischen Scoresystemes für das Vorliegen der Erkrankung Sarkoidose, die wiederum mittels logistischer Regression und ROC-Analyse auf ihre Vorhersagefähigkeit geprüft wurden, es wurden dann auch für die Scores Cut-Off-Werte ermittelt.

Zentrum der Überlegungen bezüglich der klinischen Tauglichkeit der Diagnosescores war die Frage, wie im Falle der Diagnose Sarkoidose die Testgütekriterien optimalerweise gewählt werden sollten. Varianten, deren Konfidenzintervall für die AUC den als akzeptabel gewerteten Bereich unterschritten, wurden nicht berücksichtigt (Score 1).

Unter der Annahme der Sarkoidose als einer Erkrankung, die bei asymptomatischen Patientinnen keiner medikamentösen Therapie bedarf und für die bei Therapiebedürftigkeit gute Ansprechraten beschrieben sind, lag es nahe, einen diagnostischen Test mit hoher Sensitivität einem Test mit hoher Spezifität vorzuziehen. Mit Hilfe des Youden-Index war für jeden Scoreentwurf zunächst der Cut-Off-Wert ermittelt worden, anhand dessen das bestmögliche Verhältnis zwischen Sensitivität und Spezifität erreicht wurde. Auf Basis der so ermittelten Testgütekriterien erfolgten dann Überlegungen zur Auswahl des für die Sarkoidosediagnostik am besten geeigneten Scoreentwurfes.

Score 4 mit einer Spezifität von 86,6% bei einer Sensitivität von 56,7% sowie einer großen Anzahl zu berücksichtigender Einzelparameter erschien für den Einsatz im Rahmen der Sarkoidosediagnostik ungeeignet.

Score 2 mit nur zwei berücksichtigten Parametern (Lymphozytenanteil, Ratio) erreichte die höchste Sensitivität von etwa 90% bei einer Spezifität von etwa 50%, der PPW lag bei etwa 6%. Eine Berücksichtigung beider Parameter ist daher der ausschließlichen Orientierung an der CD4+/CD8+-Ratio vorzuziehen.

Mit einer Sensitivität und Spezifität von etwa 70% wies Score 3 den höchsten erreichten PPW von 26% auf. Score 5 mit einer Sensitivität von etwa 77% und einer Spezifität von etwa 70% erreichte einen PPW von 8% und stellte somit einen „Mittelweg“ zwischen Score 2 und Score 3 dar. Alle drei Scores haben mit ihren jeweiligen Eigenschaften eine Berechtigung, als mögliche diagnostische Wegweiser im Rahmen der Sarkoidosediagnostik in Betracht gezogen zu werden.

Ein bereits durch die WASOG erarbeitetes Instrument zur Evaluation der Wahrscheinlichkeit einer Organbeteiligung durch Sarkoidose bei bestimmten klinischen Symptomen oder diagnostischen Auffälligkeiten (Judson et al., 2014) wurde von Bickett et al. von der Sarkoidoseklinik der Universität Cincinnati zu zwei Versionen eines diagnostischen Scoresystems (Sarcoidosis Diagnostic Score/SDS) erweitert. Die erste Version umfasst neben bestimmten klinischen Parametern, die eine Organbeteiligung

nahelegen, auch den Nachweis epitheloidzelliger Granulome in mindestens einem weiteren Organ. Dieser SDS-Biopsie erreichte bei einer AUC von 1,000 eine Sensitivität von 99,3% und eine Spezifität von 100%. In der zweiten Version wurden lediglich die Wahrscheinlichkeiten einer Sarkoidosemanifestation bei Auftreten bestimmter Organveränderungen in verschiedenen Abstufungen (höchst wahrscheinlich, wahrscheinlich und möglich) berücksichtigt. Für diesen SDS-Klinik wurden eine Sensitivität von 89,8% und eine Spezifität von 88,0% ermittelt, die AUC betrug 0,954. Für beide Versionen betrug der positive prädiktive Wert über 90%. Diese exzellenten Ergebnisse konnten unter anderem durch Beurteilung der klinischen Symptome und Veränderungen durch zwei im Umgang mit Sarkoidosepatienten sehr erfahrene Ärzte erreicht werden. Eine Anwendung der Scoresysteme außerhalb von krankheitsspezifischen Zentren durch weniger geschultes ärztliches Personal könnte zu niedrigeren Werten für Sensitivität und Spezifität führen. Mehr als die Hälfte der für die Entwicklung der Scores genutzten Daten stammten von Patientinnen und Patienten mit gesicherter Sarkoidose, woraus die hohen PPW resultieren (Bickett et al., 2018).

Bei den in dieser Dissertation erarbeiteten, nur auf BAL-Parametern beruhenden diagnostischen Scores lagen derartige die Testgütekriterien begünstigenden Umstände nicht vor. Der Anteil von Personen mit gesicherter Sarkoidose an allen untersuchten Personen lag nur bei 3,3% im Vergleich zu über 50% bei Bickett et al. Dies erklärt die deutlich niedrigeren, überwiegend im einstelligen Bereich liegenden PPW.

In Zukunft sollte die Anwendung der in dieser Arbeit entwickelten Scoresysteme 2, 3 und 5 auf die Parameter von BALF im Rahmen der Diagnostik bei Sarkoidoseverdacht erprobt werden. Eine Erweiterung um zusätzliche diagnostische Befunde (Biomarker wie Chitotriosidase oder ACE, bildgebende Befunde, histologische Befunde, Ergebnisse von HLA-Typisierungen etc.) und klinische, Organbeteiligung anzeigende Merkmale (Lupus pernio, Retinitis, Arthralgien etc.) sollte Gegenstand zukünftiger Forschungen zur Sarkoidosedagnostik sein.

6. Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Dissertation wurden Datensätze von 2903 lungenerkrankten Personen mit Hilfe verschiedener statistischer Verfahren ausgewertet.

Den Schwerpunkt bildeten die zytologischen und durchflusszytometrischen Analysen von BALF. Diese Daten wurden um epidemiologische und klinische Angaben ergänzt. Aus der Gesamtgruppe Lungenerkrankter wurden Personen mit den zur Gruppe der ILD zählenden Krankheitsbildern Sarkoidose und EAA isoliert. Eine weitere untersuchte Krankheitsgruppe bildete die in der Literatur als eigenständige Erkrankung beschriebene SLD.

Ein Ziel der Arbeit war die genauere Charakterisierung der BALF bei Patientinnen und Patienten mit SLD und damit die Ermittlung von Unterschieden und Gemeinsamkeiten in Bezug auf Sarkoidose. Bei beiden Krankheitsgruppen wurden, wie im Vorfeld beschrieben, eine Lymphozytosekonstellation mit erhöhter CD4+/CD8+-Ratio nachgewiesen. Bei Personen mit Sarkoidose wurden höhere Anteile von CD8+T-, CD4+8+T-, CD16+T- und HLA-DR+T-Zellen ermittelt, statistisch absichern ließen sich die Ergebnisse jedoch nicht. Beim Vergleich der epidemiologischen Aspekte imponierte ein Überwiegen des Frauenanteils in der SLD-Gruppe, während das Geschlechterverhältnis in der Sarkoidosegruppe ausgeglichen war. Patientinnen und Patienten mit SLD erreichten bei bodyplethysmografischen Untersuchungen signifikant bessere Werte für die Lungenfunktion, es ergab sich zudem eine signifikant stärkere Beeinträchtigung im Alltag durch die die Erkrankung begleitende Fatiguesymptomatik. Eine Glucokortikoidmonotherapie war hier in vielen Fällen, im Gegensatz zur Sarkoidosegruppe, nicht ausreichend. Ursachen von Fatigue sind noch Gegenstand der Forschung, Frauen geben das Symptom häufiger an als Männer. Die Annahme einer in stärkerem Ausmaß ablaufenden immunologischen Reaktion bei SLD könnte die Entwicklung der ausgeprägten Fatiguesymptomatik sowie die Notwendigkeit der Ergänzung der Glucokortikoidtherapie um weitere Immunsuppressiva mit erklären. Mittels der analysierten BALF-Parameter gelang der Nachweis abweichender immunologischer Vorgänge nicht, in Zukunft sollten diesbezüglich weiterführende Untersuchungen angestellt werden. Aufgrund der Vielzahl an prädisponierenden Genen und möglichen Auslösern für Sarkoidose, die Schwere und Art der Krankheitsmanifestation beeinflussen, erscheint es sinnvoll, die SLD nicht als eigenständige Erkrankung zu betrachten, sondern als eine mögliche Variante der Ausprägung einer Sarkoidose.

Für die Gruppe EAA konnten die höchsten Lymphozytenanteile an Leukozyten im Vergleich zu allen anderen Krankheitsgruppen sowie eine signifikant niedrigere CD4+/CD8+-Ratio nachgewiesen werden. Die Lungenfunktionsparameter zeigten sich

deutlich eingeschränkt im Vergleich zu Sarkoidose und SLD. Diese Ergebnisse deckten sich mit in der Literatur zu findenden Angaben.

Ein weiteres Ziel der Dissertation war es, mittels der zytologischen und durchflusszytometrischen BALF-Parameter einen Score für die Diagnosestellung der Sarkoidose zu entwickeln. Verschiedene Systeme wurden erarbeitet, die anhand des Konfidenzintervalles für die AUC ermittelte Klassifikationsfähigkeit lag überwiegend im akzeptablen bis exzellenten Bereich. Unter Berücksichtigung der Tatsache, dass bei Organmanifestation mit Einschränkung der Organfunktion ein gutes Therapieansprechen erreicht wird, lag es nahe, einen Test mit hoher Sensitivität zu bevorzugen. Die höchste Sensitivität von etwa 90% (bei jedoch niedriger Spezifität von etwa 50%) konnte für ein Scoresystem mit den Variablen Lymphozytenanteil an Leukozyten und CD4+/CD8+-Ratio erreicht werden. Eine Sensitivität und Spezifität von etwa 70% wurden mit einem Scoreentwurf, der um die Variablen neutrophile Granulozyten an Leukozyten sowie die Anteile von CD16+ und HLA-DR+T-Zellen an T-Zellen erweitert worden war, erzielt. Ein weiterer Entwurf beinhaltete die vier Variablen CD4+/CD8+-Ratio, Lymphozytenanteil, Neutrophilenanteil und HLA-DR+T-Zellen und erreichte eine Sensitivität von etwa 77% bei einer Spezifität von etwa 70%.

Die Diagnosestellung der Erkrankung Sarkoidose erfolgt immer in Zusammenschau verschiedener Befunde. Bei der Analyse von BALF wurde bislang das Hauptaugenmerk auf den Lymphozytenanteil an Leukozyten und die CD4+/CD8+-Ratio gelegt. In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass auch weitere Parameter berücksichtigt werden sollten, um die Diagnosestellung zu erleichtern. Eine Anwendung der erarbeiteten Scoresysteme im klinischen Alltag sollte im Rahmen zukünftiger Studien erprobt werden. Auch die Möglichkeit der Erweiterung um klinische, bildgebende, histologische und andere Befunde zur Verbesserung der Testgütekriterien und damit der diagnostischen Sicherheit sollte ergründet werden.

7. Literaturverzeichnis

- Akashi T, Takemura T, Ando N, Eishi Y, Kitagawa M, Takizawa T, Koike M, Ohtani Y, Miyazaki Y, Inase N, Yoshizawa Y (2009) Histopathologic analysis of sixteen autopsy cases of chronic hypersensitivity pneumonitis and comparison with idiopathic pulmonary fibrosis/usual interstitial pneumonia. *Am J Clin Pathol* 131:405–415.
- ATS, ERS, WASOG (1999) Statement on Sarcoidosis. *Am J Respir Crit Care Med* 160: 736–755.
- Backhaus K, Erichson B, Plinke W, Weiber R: *Multivariate Analysemethoden; Eine anwendungsorientierte Einführung*. 15. Aufl. Springer Gabler-Verlag, Berlin-Heidelberg, 2018, S. 268 (a), S. 327 (c & d), S. 284 (c), e S. 299 (e).
- Bargagli E, Bennett D, Maggiorelli C, Di Sipio P, Margollicci M, Bianchi N, Rottoli P (2013) Human chitotriosidase: A sensitive biomarker of sarcoidosis. *J Clin Immunol* 33:264–270.
- Baughman RP, Nunes H, Sweiss NJ, Lower EE (2013) Established and experimental medical therapy of pulmonary sarcoidosis. *Eur Respir J* 41:1424–1438.
- Bickett AN, Lower EE, Baughman RP (2018) Sarcoidosis Diagnostic Score: A Systematic Evaluation to Enhance the Diagnosis of Sarcoidosis. *Chest* 154:1052–1060.
- Bühl A: *SPSS 22. Einführung in die moderne Datenanalyse*. 14. Aufl. Pearson Deutschland GmbH Hallbergmoos, 2014, S.277 (a), S.465 (b).
- Camarena A, Juárez A, Mejía M, Estrada A, Carrillo G, Falfán R, Zuñiga J, Navarro C, Granados J, Selman M (2001) Major histocompatibility complex and tumor necrosis factor- α polymorphisms in pigeon breeder's disease. *Am J Respir Crit Care Med* 163:1528–1533.
- Chen ES, Moller DR (2014) Etiologic role of infectious agents. *Sem Respir Crit Care Med* 35:285–295.
- Coleman A, Colby TV (1988) Histologic diagnosis of extrinsic allergic alveolitis. *Am J Surg Pathol* 12:514–518.
- Costabel U (1997) CD4/CD8 ratios in bronchoalveolar lavage fluid: of value for diagnosing sarcoidosis? *Eur Respir J* 10:2699–2700.
- Costabel U: Sarkoidose. In: Kroegel C, Costabel U (Hrsg.): *Klinische Pneumologie*. 1. Aufl. Thieme, Stuttgart, 2014, S. 371 (a).
- Costabel U: Exogen allergische Alveolitis. In: Kroegel C, Costabel U (Hrsg.): *Klinische Pneumologie*. 1. Aufl. Thieme, Stuttgart, 2014, S. 367 (b), S. 368 (c).
- Darlington P, Haugom-Olsen H, Sivers K von, Wahlström J, Runold M, Svjatoha V, Porwit A, Eklund A, Grunewald J (2012) T-cell phenotypes in bronchoalveolar lavage fluid, blood and lymph nodes in pulmonary sarcoidosis--indication for an airborne antigen as the triggering factor in sarcoidosis. *J Intern Med* 272:465–471.

Facco M, Cabrelle A, Teramo A, Olivieri V, Gnoato M, Teolato S, Ave E, Gattazzo C, Fadini GP, Calabrese F, Semenzato G, Agostini C (2011) Sarcoidosis is a Th1/Th17 multisystem disorder. *Thorax* 66:144–150.

Fenoglio C-M, Reboux G, Sudre B, Mercier M, Roussel S, Cordier J-F, Piarroux R, Dalphin J-C (2007) Diagnostic value of serum precipitins to mould antigens in active hypersensitivity pneumonitis. *Eur Respir J* 29:706–712.

Fischer A, Zissel G, Nebel A, Müller-Quernheim J (2013) Genetisches Risikoprofil der Sarkoidose. *Internist* 55:135–140.

Fleischer M, Hinz A, Brähler E, Wirtz H, Bosse-Henck A (2014) Factors associated with fatigue in sarcoidosis. *Respir Care* 59:1086–1094.

Górski W, Piotrowski WJ (2016) Fatigue syndrome in sarcoidosis. *Pneumonol Alergol Pol* 84:244–250.

Göttlinger C, Mechthold B, Radbruch A: Operation of a Flow Cytometer. In: Radbruch A (Hrsg.) *Flow cytometry and cell sorting*. 2nd edition Springer LabManual, Berlin, 2000, p. 7.

Grutters JC, Fellrath J-M, Mulder L, Janssen R, van den Bosch JMM, van Velzen-Blad H (2003) Serum soluble interleukin-2 receptor measurement in patients with sarcoidosis: a clinical evaluation. *Chest* 124:186–195.

Grutters JC, van den Bosch JMM (2006) Corticosteroid treatment in sarcoidosis. *The Eur Respir J* 28:627–636.

Hanak V, Golbin JM, Hartman TE, Ryu JH (2008) High-resolution CT findings of parenchymal fibrosis correlate with prognosis in hypersensitivity pneumonitis. *Chest* 134:133–138.

Hapke EJ, Seal RM, Thomas GO, Hayes M, Meek JC (1968) Farmer's lung. A clinical, radiographic, functional, and serological correlation of acute and chronic stages. *Thorax* 23:451–468.

Herold G: *Innere Medizin. Eine vorlesungsorientierte Darstellung*. Ausgabe 2014, Köln, 2014 S. 421-432 (a & b), S. 332 (c).

Heron M, Claessen AME, Grutters JC, van den Bosch JMM (2010) T-cell activation profiles in different granulomatous interstitial lung diseases--a role for CD8+CD28(null) cells? *Clin Exp Immunol* 160:256–265.

Hodgson MJ, Parkinson DK, Karpf M (1989) Chest X-rays in hypersensitivity pneumonitis: a metaanalysis of secular trend. *Am J Ind Med* 16:45–53.

Hofer M. 2015. *Erstbeschreibung einer sarkoidoseähnlichen Erkrankung (Dissertation)*. Halle: Universität.

Hofmann S, Franke A, Fischer A, Jacobs G, Nothnagel M, Gaede KI, Schürmann M, Müller-Quernheim J, Krawczak M, Rosenstiel P, Schreiber S (2008) Genome-wide

association study identifies ANXA11 as a new susceptibility locus for sarcoidosis. *Nat Genet* 40:1103–1106.

<http://www.laborvolkmann.de/analysenspektrum/PDF/bronchoalveolaere-lavage.pdf>, 09.07.2018, 14:54 Uhr.

[https://www.nationalmssociety.org/For-Professionals/Researchers/Resources-for-Researchers/Clinical-Study-Measures/Modified-Fatigue-Impact-Scale-\(MFIS\)](https://www.nationalmssociety.org/For-Professionals/Researchers/Resources-for-Researchers/Clinical-Study-Measures/Modified-Fatigue-Impact-Scale-(MFIS)), 14.06.2019, 15:10 Uhr.

Janssen J, Laatz W: *Statistische Datenanalyse mit SPSS. Eine anwendungsorientierte Einführung in das Basissystem und das Modul Exakte Tests*. 9. Aufl. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg, 2016, S. 239 (a), S. 279 (b), S. 280 (c), S. 345 (d), S. 349-360 (e), S. 666 (f), S. 357(g), S. 750 (g,h).

Judson MA, Costabel U, Drent M, Wells A, Maier L, Koth L, Shigemitsu H, Culver DA, Gelfand J, Valeyre D, Sweiss N, Crouser E, Morgenthau AS, Lower EE, Azuma A, Ishihara M, Morimoto S-I, Tetsuo Yamaguchi T, Shijubo N, Grutters JC, Rosenbach M, Li H-P, Rottoli P, Inoue Y, Prasse A, Baughman RP, Organ Assessment Instrument Investigators TWS (2014) The WASOG Sarcoidosis Organ Assessment Instrument: An update of a previous clinical tool. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis* 31(1):19–27.

Kantrow SP, Meyer KC, Kidd P, Raghu G (1997) The CD4/CD8 ratio in BAL fluid is highly variable in sarcoidosis. *Eur Respir J* 10:2716–2721.

Kebbe J, Abdo T (2017) Interstitial lung disease: the diagnostic role of bronchoscopy. *J Thorac Dis* 9:S996-S1010.

King TE (2005) Clinical advances in the diagnosis and therapy of the interstitial lung diseases. *Am J Respir Crit Care Med* 172:268–279.

Kirsten D: Sarkoidose. In: Kreuter M, Costabel U, Herth F, Kirsten D (Hrsg.): *Seltene Lungenerkrankungen*. 1. Aufl. Springer, Berlin-Heidelberg, 2016, S. 171 (a & b), S. 176 (c), S. 173 (d), S. 173 (e), S.178 (f).

Kleijn WPE de, Drent M, Vermunt JK, Shigemitsu H, Vries J de (2011) Types of fatigue in sarcoidosis patients. *J Psychosom Res* 71:416–422.

Kokkarinen JI, Tukiainen HO, Terho EO (1992) Effect of corticosteroid treatment on the recovery of pulmonary function in farmer's lung. *Am Rev Respir Dis* 145:3–5.

Koschel D: Exogen-allergische Alveolitis. In: Kreuter M, Costabel U, Herth F, Kirsten D (Hrsg.): *Seltene Lungenerkrankungen*. 1. Aufl. Springer, Berlin-Heidelberg, 2016, S. 186 (a), S. 187 (b), S. 188 (c), S. 192 (d & g), S. 189-190 (e), S. 195 (f).

Kreienbrock L, Pigeot I, Ahrens W: *Epidemiologische Methoden*. 5. Aufl. Spektrum Akademischer Verlag, 2012, S. 171.

Kruit A, Grutters JC, Gerritsen WBM, Kos S, Wodzig WKWH, van den Bosch JMM, Ruven HJT (2007) ACE I/D-corrected Z-scores to identify normal and elevated ACE activity in sarcoidosis. *Respir Med* 101:510–515.

Kurumagawa T, Seki S, Kobayashi H, Koike Y, Kanoh S, Hiraide H, Motoyoshi K (2003) Characterization of bronchoalveolar lavage T cell subsets in sarcoidosis on the basis of CD57, CD4 and CD8. *Clin Exp Immunol* 133:438–447.

Lacasse Y, Selman M, Costabel U, Dalphin J-C, Ando M, Morell F, Erkinjuntti-Pekkanen R, Muller N, Colby TV, Schuyler M, Cormier Y (2003) Clinical diagnosis of hypersensitivity pneumonitis. *Am J Respir Crit Care Med* 168:952–958.

Ma Y, Gal A, Koss MN (2007) The pathology of pulmonary sarcoidosis: update. *Semin Diagn Pathol* 24:150–161.

Merchant RK, Schwartz DA, Helmers RA, Dayton CS, Hunninghake GW (1992) Bronchoalveolar lavage cellularity. The distribution in normal volunteers. *Am Rev Respir Dis* 146:448–453.

Meyer KC, Raghu G, Baughman RP, Brown KK, Costabel U, Du Bois RM, Drent M, Haslam PL, Kim DS, Nagai S, Rottoli P, Saltini C, Selman M, Strange C, Wood B (2012) An official American Thoracic Society clinical practice guideline: the clinical utility of bronchoalveolar lavage cellular analysis in interstitial lung disease. *Am J Respir Crit Care Med* 185:1004–1014.

Murphy KP, Travers P, Walport M: *Janeway Immunologie*. 7. Aufl. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, 2009, S. 954 (a,b,c), S. 983 (d & e), S. 985 (f & h), S. 989 (g).

Müller-Quernheim J: Bronchoalveoläre Lavage. In: Thomas L (Hrsg.): *Labor und Diagnose Band 2*, 8. Aufl. Th-Books Verlags-Gesellschaft, Frankfurt/Main, 2012, S. 2191 (a & b).

Ohtani Y, Saiki S, Sumi Y, Inase N, Miyake S, Costabel U, Yoshizawa Y (2003) Clinical features of recurrent and insidious chronic bird fancier's lung. *Ann Allergy Asthma Immunol* 90:604–610.

Patel AS, Siegert RJ, Creamer D, Larkin G, Maher TM, Renzoni EA, Wells AU, Higginson IJ, Biring SS (2013) The development and validation of the King's Sarcoidosis Questionnaire for the assessment of health status. *Thorax* 68:57–65.

Patterson KC, Streck ME (2013) Pulmonary fibrosis in sarcoidosis. Clinical features and outcomes. *Ann Am Thorac Soc* 10:362–370.

Patterson KC, Hogarth K, Husain AN, Sperling AI, Niewold TB (2012) The clinical and immunologic features of pulmonary fibrosis in sarcoidosis. *Transl Res* 160:321–331.

Prasse A (2016) *The Diagnosis, Differential Diagnosis, and Treatment of Sarcoidosis*. *Dtsch Arztebl Int* 113:565–574.

Rappl G, Pabst S, Riemann D, Schmidt A, Wickenhauser C, Schütte W, Hombach AA, Seliger B, Grohé C, Abken H (2011) Regulatory T cells with reduced repressor capacities are extensively amplified in pulmonary sarcoid lesions and sustain granuloma formation. *Clin Immunol* 140:71–83.

Reichenberger F, Kleiber B, Baschiera B, Bubendorf L, Brutsche M, Dalquen P, Tamm M (2007) Bronchoalveolar lavage quality influences the T4/T8 ratio in sarcoidosis. *Respir Med* 101:2025–2030.

Riario Sforza GG, Marinou A (2017) Hypersensitivity pneumonitis: a complex lung disease. *Clin Mol Allergy* 15:6.

Rijavec M, Volarevic S, Osolnik K, Kosnik M, Korosec P (2011) Natural killer T cells in pulmonary disorders. *Respir Med* 105 S1:20-25.

Rink L, Kruse A, Haase H: Immunologie für Einsteiger. 1. Aufl. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, 2012, S. 78 (a), S. 288 (b).

Rothe G, Barlage S, Orsy E, Schmitz G: Durchflusszytometrie in der klinischen Labordiagnostik. In: Thomas L (Hrsg.): Labor und Diagnose Band 2, 8. Aufl. Th-Books Verlags-Gesellschaft, Frankfurt/Main, 2012, S. 2247 (a & b), S. 2248 (c), S. 2256-2257 (d).

Sadeleer LJ de, Hermans F, Dycker E de, Yserbyt J, Verschakelen JA, Verbeken EK, Verleden GM, Wuyts WA (2018) Effects of Corticosteroid Treatment and Antigen Avoidance in a Large Hypersensitivity Pneumonitis Cohort: A Single-Centre Cohort Study. *J Clin Med* 8 (1).

Schuyler M, Gott K, Cherne A (2000) Mediators of hypersensitivity pneumonitis. *The J Lab Clin Med* 136:29–38.

Sharma OP (1972) Cutaneous sarcoidosis; Clinical features and management. *Chest* 61:320–325.

Skelton HG, Smith KJ, Johnson FB, Cooper CR, Tyler WF, Lupton GP (1993) Zirconium granuloma resulting from an aluminum zirconium complex; A previously unrecognized agent in the development of hypersensitivity granulomas. *J Am Acad Dermatol* 28:874–876.

Solaymani-Dodaran M, West J, Smith C, Hubbard R (2007) Extrinsic allergic alveolitis; Incidence and mortality in the general population. *QJM* 100:233–237.

Strioga M, Pasukoniene V, Characiejus D (2011) CD8+ CD28- and CD8+ CD57+ T cells and their role in health and disease. *Immunology* 134:17–32.

Tøndell A, Rø AD, Åsberg A, Børset M, Moen T, Sue-Chu M (2014) Activated CD8(+) T cells and NKT cells in BAL fluid improve diagnostic accuracy in sarcoidosis. *Lung* 192:133–140.

Valentonyte R, Hampe J, Huse K, Rosenstiel P, Albrecht M, Stenzel A, Nagy M, Gaede KI, Franke A, Haesler R, Koch A, Lengauer T, Seegert D, Reiling N, Ehlers S, Schwinger E, Platzer M, Krawczak M, Müller-Quernheim J, Schürmann M, Schreiber S (2005) Sarcoidosis is associated with a truncating splice site mutation in BTNL2. *Nat Genet* 37:357–364.

Valeyre D, Bernaudin J-F (2014) Clinical Presentation of Sarcoidosis and Diagnostic Work-Up. *Semin Respir Crit Care Med* 35(3):336–351.

Valeyre D, Prasse A, Nunes H, Uzunhan Y, Brillet P-Y, Müller-Quernheim J (2014) Sarcoidosis. *The Lancet* 383:1155–1167.

Vries J de, Michielsen H, van Heck GL, Drent M (2004) Measuring fatigue in sarcoidosis: the Fatigue Assessment Scale (FAS). *Br J Health Psychol* 9:279–291.

Vuyst P de, Dumortier P, Schandené L, Estenne M, Verhest A, Yernault JC (1987) Sarcoidlike lung granulomatosis induced by aluminum dusts. *Am Rev Respir Dis* 135:493-497.

Wahlström J, Berlin M, Sköld CM, Wigzell H, Eklund A, Grunewald J (1999) Phenotypic analysis of lymphocytes and monocytes/macrophages in peripheral blood and bronchoalveolar lavage fluid from patients with pulmonary sarcoidosis. *Thorax* 54: 339-346.

Wei J, Rahman S, Ayaub EA, Dickhout JG, Ask K (2013) Protein misfolding and endoplasmic reticulum stress in chronic lung disease. *Chest* 143:1098–1105.

Weiß C: Basiswissen Medizinische Statistik. 6. Aufl. Springer-Verlag, Berlin, 2013, S.85-86 (a), S. 200&213 (b), S. 68-69 (c), S. 182-183 (d), S. 190-191 (e), S. 260 (f), S. 262 (g,h), S. 263 (i), S. 264-266 (j), S. 266 (k), S. 264 (l).

Welker L, Jörres RA, Costabel U, Magnussen H (2004) Predictive value of BAL cell differentials in the diagnosis of interstitial lung diseases. *Eur Respir J* 24:1000–1006.

Wessendorf TE, Bonella F, Costabel U (2015) Diagnosis of Sarcoidosis. *Clin Rev Allergy Immunol* 49:54–62.

Winterbauer RH, Lammert J, Selland M, Wu R, Corley D, Springmeyer SC (1993) Bronchoalveolar lavage cell populations in the diagnostic of sarcoidosis. *Chest* 104: 352-361.

Wurm K (1960) The significance of stage classification of sarcoidosis (Boeck's disease). *Dtsch Med Wochenschr* 85:1541–1548.

Zaiss AW, Costabel U, Wagner DJ, Baur R, Rühle KH, Matthys H (1988) T4/T8-Quotient der bronchoalveolären Lavage; Sensitivität und Spezifität für die Sarkoidosediagnostik. *Prax Klin Pneumol* 42(1):233–234.

Zissel G (2014) Cellular activation in the immune response of sarcoidosis. *Semin Respir Crit Care Med* 35:307–315.

Zissel G, Prasse A, Müller-Quernheim J (2010) Immunologic response of sarcoidosis. *Semin Respir Crit Care Med* 31:390–403.

8. Tabellenanhang

Tab. 4: Überblick über die metrischen Variablen

Art der Datengewinnung	Variable	Einheit
Durchflusszytometrie	T-Zellen	% der Lymphozyten
	B-Zellen	
	NK-Zellen	
	CD4+-T-Zellen	% der T-Zellen
	CD8+-T-Zellen	
	CD4+CD8+-T-Zellen	
	CD16+-T-Zellen	
	CD57+-T-Zellen	
	HLA-DR+-T-Zellen	
	Ratio CD4+/CD8+-T-Zellen	
mikroskopische Zellauszählung	Makrophagen	% der Leukozyten
	neutrophile Granulozyten	
	eosinophile Granulozyten	
	Mastzellen	
	Lymphozyten	
Bodyplethysmografie	TLC	% vom Soll
	VC	
weitere	Punktzahl MFIS	
	Alter bei BAL	Jahre

Tab. 5: Überblick über die kategorialen Variablen

Name Variable	Erklärung	Ausprägungen
Gruppe	Gruppeneinteilung der Daten	1 = Sarkoidose
		2 = SLD
		3 = EAA
		4 = Gesamtgruppe
Geschlecht		1 = weiblich
		2 = männlich
Nikotinkonsum		1 = nein
		2 = ja
Histologie	epitheloidzellige Granulome in der Lungenhistologie	1 = ja
		2 = nein
Bildgebung	Sarkoidosehinweis in Thoraxröntgen oder -CT	1 = ja
		2 = nein
Therapieform und -ansprechen		1 = Glucokortikoid, Ansprechen
		2 = Glucokortikoid, kein Ansprechen
		3 = Glucokortikoid, keine weitere Information
		4 = kein Glucokortikoid

Tab. 8: Gegenüberstellung metrischer Parameter/Immunzellen der Hauptgruppen

			analysierte Gruppen				
			S	SLD	EAA	G	
	Alter bei BAL	MW±SD	49,5 ± 13,8	54,6 ± 12,7	47,5 ± 15,7	55,4 ± 15,2	
		Median	48	55	47	56	
		Spanne	22 – 83	21 – 80	24 – 74	14 – 91	
		Anzahl	97	67	25	2903	
% der Lymphozyten	B-Zellen	MW±SD	1,2 ± 2,4	1,2 ± 1,3	1,0 ± 1,1	2,1 ± 4,9	
		Median	0,5	0,8	0,8	0,9	
		Spanne	0,0 - 22,2	0,1 - 8,2	0,1 – 5,1	0,0 – 86,4	
		Anzahl	97	67	25	2902	
	NK-Zellen	MW±SD	3,8 ± 4,9	4,5 ± 4,9	5,1 ± 8,0	5,1 ± 5,9	
		Median	2,3	3,2	2,6	3,4	
		Spanne	0,4 – 36,3	0,5 – 36,1	0,2 – 38,4	0,0 – 74,1	
		Anzahl	97	67	25	2902	
	T-Zellen	MW±SD	95,0 ± 6,0	94,3 ± 5,1	93,9 ± 8,5	92,8 ± 7,7	
Median		96,7	95,8	97,0	95,1		
Spanne		62,3 – 99,5	63,1 – 99,4	60,2 – 99,7	11,3 – 100,0		
Anzahl		97	67	25	2902		
% der T-Zellen	CD4+-T	MW±SD	74,1 ± 16,7	80,1 ± 8,7	38,5 ± 20,5	59,7 ± 20,1	
		Median	77,2	80,8	38,3	62,0	
		Spanne	1,6 – 100,3	40,2 – 97	10,2 – 79,9	0,0 – 127,9	
		Anzahl	97	67	25	2902	
	CD8+-T	MW±SD	25,1 ± 15,7	19,9 ± 8,5	61,0 ± 18,9	38,5 ± 18,9	
		Median	22,2	19,4	58,7	36,0	
		Spanne	1,3 – 90,1	6,0 – 62,9	20,8 – 89,4	1,3 – 106,8	
% der T-Zellen	CD4+/CD8+-Ratio	MW±SD	5,8 ± 4,8	4,9 ± 2,7	0,8 ± 0,8	2,5 ± 2,7	
		Median	3,3	4,2	0,6	1,7	
		Spanne	0,3 – 30,1	0,6 – 16,1	0,1 – 3,0	0,0 – 30,7	
		Anzahl	97	67	25	2902	
	CD4+CD8+-T	MW±SD	2,1 ± 1,6	1,8 ± 1,4	1,8 ± 1,3	2,7 ± 3,3	
		Median	1,5	1,5	1,5	1,9	
		Spanne	0,2 – 11,1	0,1 – 6,7	0,3 – 5,9	0,0 – 45,8	
% der T-Zellen	CD16+-T	MW±SD	5,9 ± 6,7	3,8 ± 3,2	8,2 ± 6,9	7,9 ± 7,7	
		Median	4,1	2,9	6,7	5,5	
		Spanne	0,5 – 50,0	0,8	1,3 – 28,5	0,0 – 73,0	
		Anzahl	96	67	25	2839	
	CD57+-T	MW±SD	19,8 ± 10,2	19,2 ± 8,7	23,8 ± 17,0	17,7 ± 10,8	
		Median	18,6	18,1	17,7	15,6	
		Spanne	1,6 – 44,3	5,0 – 42,3	3,9 – 51,1	2,3 – 74,1	
% der T-Zellen	HLA-DR+-T	MW±SD	47,5 ± 15,6	42,4 ± 14,0	44,1 ± 17,8	41,2 ± 16,2	
		Median	50,1	40,7	44,5	40,4	
		Spanne	13,6 – 79,5	17,6 – 70,9	8,7 – 78,2	2,3 – 100,2	
		Anzahl	96	67	25	2840	
	% der Leukozyten	Makrophagen	MW±SD	66,0 ± 18,2	69,0 ± 14,5	53,5 ± 18,7	66,5 ± 25,7
			Median	68,0	70,0	56,0	74,0
			Spanne	0,0 – 98,0	7,0 – 89,5	19,0 – 84,0	0,0 – 99,5
Anzahl			97	67	25	2903	
% der Leukozyten		Neutrophile	MW±SD	4,0 ± 6,7	4,0 ± 6,5	8,5 ± 11,4	14,0 ± 23,8
	Median		1,5	2,5	4,0	3,0	
	Spanne		0,0 – 32,0	0,0 – 37,0	0,0 – 51,0	0,0 – 99,0	
	Anzahl		97	67	25	2903	
	% der Leukozyten	Eosinophile	MW±SD	1,0 ± 1,7	0,5 ± 1,0	1,0 ± 1,5	1,0 ± 4,0
Median			0,0	0,0	0,0	0,0	
Spanne			0,0 – 8,0	0,0 – 6,0	0,0 – 5,0	0,0 – 66,0	
Anzahl			97	67	25	2903	
% der Leukozyten		Mastzellen	MW±SD	0,5 ± 0,7	0,5 ± 0,6	0,5 ± 0,8	0,5 ± 1,4
	Median		0,0	0,0	0,0	0,0	
	Spanne		0,0 – 3,5	0,0 – 2,5	0,0 – 3,0	0,0 – 36,0	
	Anzahl		97	67	25	2903	
	% der Leukozyten	Lymphozyten	MW±SD	28,0 ± 17,0	24,0 ± 11,2	36,5 ± 18,2	16,5 ± 14,5
Median			25,0	23,5	36,5	12,0	
Spanne			0,0 – 73,0	7,5 – 55,0	10,0 – 70,0	0,0 – 87,0	
Anzahl			97	67	25	2903	
% vom Soll		TLC	MW±SD	92,9 ± 16,3	102,7 ± 17,5	87,1 ± 17,8	
	Median		92,9	104,0	90,4		
Spanne	58,8 – 170,0		63,0 – 162,0	33,0 – 106,0			
Anzahl	94		67	18			
% vom Soll	VC	MW±SD	87,6 ± 17,6	100,3 ± 18,3	78,5 ± 20,8		
		Median	88,9	101,0	78,9		
		Spanne	42,9 – 123,1	51,0 – 152,0	29,0 – 107,0		

		Anzahl	96	67	19	
	Punktzahl MFIS	MW±SD	23,0 ± 22,3	38,7 ± 21,2		
		Median	21,0	41,0		
		Spanne	0,0 – 78,0	0,0 – 81,0		
		Anzahl	89	63		

Tab. 9: Mittelwertvergleich der Hauptgruppen mit einfaktorieller Varianzanalyse

Parameter	Brown-Forsythe-Test	Differenzen
Alter	p < 0,001	S/G
HLA-DR+-T an T-Zellen	p < 0,001	S/G
Eosinophile in % der Leukozyten	n.s.	Keine
TLC in % vom Soll	p < 0,001	S/SLD SLD/EAA
VC in % vom Soll	p < 0,001	S/SLD SLD/EAA
Punktzahl Fatiguescore	p < 0,001	S/SLD

Tab. 10: Vergleich der zentralen Tendenz der Hauptgruppen mit Kruskal-Wallis-Test

	Parameter	Kruskal-Wallis-Test	Differenzen
% der Lymphozyten	B- Zellen	p < 0,001	S/G
	T-Zellen	p < 0,001	S/G
	NK-Zellen	p < 0,001	S/G
% der T-Zellen	CD4+-T-Zellen	p < 0,001	S/EAA, S/G, SLD/EAA, SLD/G, EAA/G
	CD8+-T-Zellen	p < 0,001	S/EAA, S/G, SLD/EAA, SLD/G, EAA/G
	CD4+/CD8+-Ratio	p < 0,001	S/EAA, S/G, SLD/EAA, SLD/G, EAA/G

% der T-Zellen	CD4+CD8+-T-Zellen	n.s.	
	CD16+-T-Zellen	p < 0,001	S/G, SLD/EAA, SLD/G
	CD57+-T-Zellen	n.s.	
% der Leukozyten	Makrophagen	p < 0,001	EAA/G
	Neutrophile	p < 0,001	S/G
	Mastzellen	n.s.	
	Lymphozyten	p < 0,001	S/G, SLD/G, EAA/G

Tab. 12: Gegenüberstellung metrischer Parameter der Gruppen nach Dauer der Lymphozytenaktivität

	Parameter		Anzahl n	MW± SD	Median	t-Test	U-Test			
Jahre	Alter	S	1	49	44,9 ± 12,1	45,0	p < 0,001			
			2	34	55,8 ± 14,7	58,0				
		SLD	1	37	53,3 ± 11,8	52,0	n.s.			
			2	24	57,9 ± 12,5	58,0				
%Lymphozyten	B-Zellen	S	1	49	1,0 ± 1,0	0,7		n.s.		
			2	34	0,9 ± 1,3	0,5				
		SLD	1	37	1,5 ± 1,5	1,1				p = 0,004
			2	24	0,8 ± 0,9	0,6				
	T-Zellen	S	1	49	95,6 ± 4,3	96,5		n.s.		
			2	34	94,3 ± 6,6	96,6				
		SLD	1	37	93,7 ± 6,3	95,3				n.s.
			2	24	95,5 ± 3,1	96,2				
	NK-Zellen	S	1	49	3,4 ± 3,9	2,2		n.s.		
			2	34	4,8 ± 6,3	2,7				
		SLD	1	37	4,9 ± 6,1	3,0				n.s.
			2	24	3,8 ± 2,8	2,9				
%T-Zellen	CD4+-T	S	1	49	72,7 ± 19,3	77,2		n.s.		
			2	34	77,2 ± 12,9	77,8				
		SLD	1	37	79,1 ± 7,9	78,1				n.s.
			2	24	81,6 ± 10,4	82,4				
	CD8+-T	S	1	49	24,8 ± 17,5	20,6		n.s.		
			2	34	24,0 ± 12,8	21,9				
		SLD	1	37	20,9 ± 7,3	20,5				n.s.
			2	24	18,7 ± 10,9	16,8				
CD4+/CD8+-Ratio	S	1	49	5,3 ± 5,6	3,5		n.s.			
		2	34	4,9 ± 4,1	3,7					
	SLD	1	37	4,6 ± 2,8	3,9				p = 0,048	
		2	24	5,5 ± 2,8	5,0					
%T-Zellen	CD4+8+-T	S	1	49	1,8 ± 1,3	1,4		n.s.		
			2	34	2,6 ± 2,1	1,7				
		SLD	1	37	1,9 ± 1,6	1,5				n.s.
			2	24	1,8 ± 1,2	1,7				
	CD16+-T	S	1	49	6,7 ± 8,2	4,4		n.s.		
			2	34	5,4 ± 5,1	3,7				
		SLD	1	37	4,0 ± 3,6	2,8				n.s.
			2	24						

	HLA-DR++T	S	2	24	3,3 ± 2,4	2,7	n.s.	
			1	49	46,1 ± 16,2	45,4		
		SLD	2	34	50,1 ± 15,3	54,6	n.s.	
			1	37	42,7 ± 13,1	41,2		
%Leukozyten	Makrophagen	S	1	49	70,8 ± 17,2	76,0	p = 0,045	
			2	34	63,1 ± 16,3	65,5		
		SLD	1	37	70,1 ± 12,5	71,0	n.s.	
			2	24	66,6 ± 17,4	70,0		
	Neutrophile	S	1	49	4,4 ± 7,2	2,0		n.s.
			2	34	2,2 ± 3,2	1,3		
		SLD	1	37	4,6 ± 5,8	2,5		n.s.
			2	24	3,1 ± 3,2	1,8		
	Eosinophile	S	1	49	0,5 ± 1,4	0,0		n.s.
			2	34	1,0 ± 1,8	0,0		
		SLD	1	37	0,5 ± 0,6	0,0		p = 0,024
			2	24	1,0 ± 1,5	0,0		
	Mastzellen	S	1	49	0,5 ± 0,8	0,0		n.s.
			2	34	0,5 ± 0,6	0,0		
		SLD	1	37	0,5 ± 0,6	0,0		n.s.
			2	24	0,5 ± 0,6	0,0		
	Lymphozyten	S	1	49	23,7 ± 17,1	20,0	p = 0,013	
			2	34	33,2 ± 16,3	32,0		
		SLD	1	37	24,3 ± 10,9	21,5	n.s.	
			2	24	26,3 ± 11,5	25,5		
%vom Soll	TLC	S	1	47	96,0 ± 14,5	95,1	n.s.	
			2	33	89,1 ± 20,1	90,0		
		SLD	1	37	104,3 ± 16,0	105,0	n.s.	
			2	24	99,6 ± 20,5	95,5		
	VC	S	1	49	90,7 ± 18,5	92,2	p = 0,048	
			2	33	82,5 ± 17,6	81,1		
SLD		1	37	101,8 ± 19,4	104,0	n.s.		
		2	24	96,5 ± 15,0	97,0			
Punktzahl Fatiguescore	S	1	43	24,5 ± 23,3	25,0	n.s.		
		2	32	22,1 ± 19,9	21,0			
	SLD	1	35	38,2 ± 19,5	39,0	n.s.		
		2	23	40,7 ± 23,4	45,0			

CD57+T ≤ 20% (1=kürzer andauernde Aktivität); CD57+T ≥ 23%(2=länger andauernde Aktivität)

Tab. 13: Gegenüberstellung metrischer Variablen nach Geschlecht in den Krankheitsgruppen

	Parameter			Anzahl n	MW ± SD	Median	t-Test	U-Test
Jahre	Alter	S	w	48	49,8 ± 14,1	50,5	n.s.	
			m	49	49,3 ± 13,6	49,1		
		SLD	w	49	52,9 ± 12,8	52,0	n.s.	
			m	18	58,9 ± 11,5	59,0		
		EAA	w	14	44,9 ± 16,6	40,5	n.s.	
			m	11	50,9 ± 14,4	52,0		
% der Lymphozyten	B-Zellen	S	w	48	1,0 ± 0,9	0,8		n.s.
			m	49	1,3 ± 3,3	0,5		
		SLD	w	49	1,4 ± 1,4	1,2		p = 0,036
			m	18	0,9 ± 1,0	0,6		
		EAA	w	14	0,9 ± 0,9	0,8	n.s.	
			m	11	1,1 ± 1,4	0,8		
	T-Zellen	S	w	48	94,6 ± 6,4	96,4		n.s.

		SLD	m	49	95,4 ± 5,7	96,9			
			w	49	94,4 ± 5,4	95,9			
		EAA	w	14	94,4 ± 5,9	96,1		n.s.	
			m	11	93,3 ± 11,2	97,1			
		NK-Zellen	S	w	48	4,4 ± 6,3	2,3		n.s.
				m	49	3,3 ± 2,8	2,2		
	SLD		w	49	4,3 ± 5,1	3,0		n.s.	
			m	18	5,0 ± 4,0	3,5			
	EAA		w	14	4,7 ± 5,2	3,6		n.s.	
			m	11	5,6 ± 11,0	2,1			
	% der T-Zellen	CD4+-T	S	w	48	77,0 ± 16,9	78,4	n.s.	
				m	49	71,4 ± 16,2	75,8		
SLD			w	49	81,3 ± 7,3	82,3	n.s.		
			m	18	76,8 ± 11,2	78,2			
EAA			w	14	35,2 ± 19,3	33,6	n.s.		
			m	11	42,8 ± 22,1	45,2			
CD8+-T		S	w	48	21,2 ± 12,6	19,4	p = 0,014		
			m	49	29,0 ± 17,4	23,6			
		SLD	w	49	18,7 ± 6,3	18,1	n.s.		
			m	18	23,3 ± 12,4	20,6			
		EAA	w	14	65,9 ± 17,0	64,6	n.s.		
			m	11	54,8 ± 20,2	54,6			
CD4+/CD8+- Ratio	S	w	48	6,1 ± 5,8	3,9	n.s.			
		m	49	3,9 ± 3,2	3,2				
	SLD	w	49	5,1 ± 2,7	4,5	n.s.			
		m	18	4,4 ± 2,8	3,9				
	EAA	w	14	0,6 ± 0,5	0,5	n.s.			
		m	11	1,1 ± 1,1	0,8				
% der T-Zellen	CD4+8+-T	S	w	48	1,9 ± 1,3	1,4	n.s.		
			m	49	2,3 ± 1,9	1,7			
		SLD	w	49	1,7 ± 1,3	1,3	p = 0,006		
			m	18	2,4 ± 1,3	2,2			
		EAA	w	14	1,9 ± 1,4	1,6	n.s.		
			m	11	1,8 ± 1,3	1,4			
	CD16+-T	S	w	48	5,6 ± 5,2	3,8	n.s.		
			m	48	6,2 ± 7,9	4,3			
		SLD	w	49	3,2 ± 2,9	2,5	p = 0,012		
			m	18	5,5 ± 3,5	4,0			
		EAA	w	14	7,6 ± 7,1	5,5	n.s.		
			m	11	9,0 ± 6,9	7,3			
	CD57+-T	S	w	48	17,9 ± 9,5	16,1	n.s.		
			m	48	21,7 ± 10,7	21,4			
		SLD	w	49	17,1 ± 7,0	17,1	p = 0,001		
			m	18	24,8 ± 10,4	24,6			
		EAA	w	14	20,9 ± 18,5	10,6	n.s.		
			m	11	27,5 ± 15,0	31,8			

	HLA-DR+-T	S	w	48	46,8 ± 14,4	47,2	n.s.	
			m	48	48,2 ± 16,8	52,4		
		SLD	w	49	43,3 ± 13,6	42,2	n.s.	
			m	18	40,1 ± 15,3	35,2		
		EAA	w	14	41,9 ± 17,3	40,5	n.s.	
			m	11	46,9 ± 18,9	51,9		
% der Leukozyten	Makrophagen	S	w	48	64,7 ± 17,3	66,0	n.s.	
			m	49	67,3 ± 19,1	70,0		
		SLD	w	49	69,0 ± 12,5	70,0	n.s.	
			m	18	69,8 ± 19,4	72,5		
		EAA	w	14	53,8 ± 20,9	57,8	n.s.	
			m	11	52,9 ± 16,6	54,0		
	Neutrophile	S	w	48	3,8 ± 6,8	1,5		n.s.
			m	49	3,8 ± 6,7	2,0		
		SLD	w	49	4,7 ± 7,1	2,0		n.s.
			m	18	4,0 ± 3,8	4,0		
		EAA	w	14	8,3 ± 13,1	3,0		n.s.
			m	11	8,2 ± 9,3	5,0		
	Eosinophile	S	w	48	1,0 ± 2,1	0,0		n.s.
			m	49	0,5 ± 1,1	0,0		
		SLD	w	49	0,5 ± 1,2	0,0		n.s.
			m	18	0,5 ± 0,7	0,0		
		EAA	w	14	1,0 ± 1,5	0,0		n.s.
			m	11	1,0 ± 1,7	0,0		
	Mastzellen	S	w	48	0,5 ± 0,8	0,0		n.s.
			m	49	0,5 ± 0,5	0,0		
		SLD	w	49	0,5 ± 0,7	0,0		n.s.
			m	18	0,0 ± 0,3	0,0		
		EAA	w	14	0,5 ± 0,9	0,0		n.s.
			m	11	0,5 ± 0,5	0,0		
Lymphozyten	S	w	48	30,1 ± 17,8	27,5	n.s.		
		m	49	25,6 ± 16,0	23,0			
	SLD	w	49	25,2 ± 11,0	24,0	n.s.		
		m	18	21,5 ± 11,1	20,5			
	EAA	w	14	35,8 ± 19,9	33,5	n.s.		
		m	11	37,6 ± 16,6	38,0			
% vom Soll	TLC	S	w	46	98,9 ± 17,7	99,0	p < 0,001	
			m	48	87,1 ± 12,6	87,6		
		SLD	w	49	107,1 ± 16,1	106,0	p < 0,001	
			m	18	90,8 ± 15,7	89,5		
	EAA	w	8	91,2 ± 15,7	94,0			
		m	10	83,9 ± 19,5	88,8			
	VC	S	w	48	93,6 ± 18,1	96,0	p = 0,001	
			m	48	81,6 ± 15,1	82,8		
		SLD	w	49	104,2 ± 17,5	104,0	p = 0,003	
			m	18	89,6 ± 16,5	89,0		

		EAA	w	9	82,2 ± 19,1	87,7		
			m	10	75,1 ± 22,7	78,4		
Punktzahl Fatiguescore		S	w	44	20,1 ± 24,4	29	p = 0,011	
			m	45	17,1 ± 18,5	14		
		SLD	w	47	40,6 ± 20,4	41	n.s.	
			m	16	32,9 ± 23,1	35		

Tab. 16: Gegenüberstellung metrischer Variablen bei Ansprechenden (A)-Nichtansprechenden (NA)

	Parameter			Anzahl n	MW ± SD	Median	t-Test	U-Test	
Jahre	Alter	S	A	31	53,1 ± 13,1	51,0	p = 0,012		
			N	13	42,2 ± 11,2	39,0			
		SLD	A	26	54,4 ± 15,7	58,5	n.s.		
			NA	23	52,8 ± 10,4	52,0			
		EAA	A	6	66,3 ± 7,2	66,5			
			NA	3	40,0 ± 13,9	47,0			
% der Lymphozyten	B-Zellen	S	A	31	0,9 ± 0,9	0,5		n.s.	
			NA	13	1,7 ± 1,4	1,6			
		SLD	A	26	1,5 ± 1,7	0,8		n.s.	
			NA	23	1,0 ± 1,0	0,6			
		EAA	A	6	1,6 ± 1,8	0,9			
			NA	3	0,9 ± 0,5	1,0			
	T-Zellen	S	A	31	95,3 ± 5,0	96,6		n.s.	
			NA	13	94,9 ± 3,0	95,8			
		SLD	A	26	93,0 ± 7,3	95,6		n.s.	
			NA	23	95,5 ± 3,0	96,3			
		EAA	A	6	90,0 ± 14,8	96,7			
			NA	3	97,3 ± 2,0	98,4			
	NK-Zellen	S	A	31	3,8 ± 4,8	2,4		n.s.	
			NA	13	3,4 ± 2,2	2,2			
		SLD	A	26	5,5 ± 7,2	3,0		n.s.	
			NA	23	3,5 ± 2,5	2,5			
		EAA	A	6	8,5 ± 14,7	2,7			
			NA	3	1,8 ± 1,9	1,1			
	% der T-Zellen	CD4+-T	S	A	31	74,9 ± 21,3	80,7	n.s.	
				NA	13	70,6 ± 11,3	69,9		
			SLD	A	26	78,8 ± 10,5	80,2	n.s.	
				NA	23	81,3 ± 6,5	81,4		
			EAA	A	6	49,3 ± 20,0	44,2		
				NA	3	53,5 ± 16,0	60,2		
CD8+-T		S	A	31	22,5 ± 16,1	19,3	n.s.		
			NA	13	30,2 ± 13,1	30,0			
		SLD	A	26	21,4 ± 10,4	20,1	n.s.		
			NA	23	19,4 ± 7,2	19,5			
		EAA	A	6	50,1 ± 19,1	52,9			
			NA	3	46,2 ± 13,2	44,7			
CD4+/CD8+- Ratio	S	A	31	6,1 ± 6,3	4,2		n.s.		
		NA	13	3,1 ± 2,1	2,4				

		SLD	A	26	4,5 ± 2,3	4,0		n.s.		
			NA	23	5,0 ± 2,7	4,2				
		EAA	A	6	1,4 ± 1,3	0,8				
			NA	3	1,3 ± 0,7	1,4				
		% der T-Zellen	CD4+8+-T	S	A	31	2,9 ± 1,5	2,1		n.s.
					NA	13	2,7 ± 2,8	1,7		
SLD	A			26	2,0 ± 1,5	1,7		n.s.		
	NA			23	2,1 ± 1,4	1,7				
EAA	A			6	2,1 ± 1,0	1,8				
	NA			3	1,6 ± 0,7	1,7				
CD16+-T	S		A	30	4,7 ± 4,7	3,5		p = 0,017		
			NA	13	7,8 ± 5,8	6,6				
	SLD		A	26	4,9 ± 4,0	3,6		p = 0,017		
			NA	23	3,0 ± 2,4	2,1				
	EAA		A	6	6,4 ± 3,3	5,8				
			NA	3	15,4 ± 13,3	15,9				
CD57+-T	S		A	30	19,3 ± 11,5	17,0	n.s.			
			NA	13	15,7 ± 6,9	16,5				
	SLD		A	26	20,3 ± 9,0	20,8	n.s.			
			NA	23	19,9 ± 7,9	18,3				
	EAA		A	6	30,8 ± 15,1	27,1				
			NA	3	34,0 ± 20,9	42,9				
HLA-DR+-T	S		A	30	49,0 ± 16,5	54,5	n.s.			
			NA	13	48,0 ± 13,8	46,6				
	SLD		A	26	39,3 ± 11,2	37,9	n.s.			
			NA	23	43,7 ± 14,6	42,6				
	EAA		A	6	61,5 ± 8,7	65,4				
			NA	3	44,7 ± 10,1	50,4				
% der Leukozyten	Makrophagen	S	A	31	60,0 ± 21,3	65,0	n.s.			
			NA	13	71,5 ± 16,7	73,0				
		SLD	A	26	73,3 ± 8,8	74,5	p = 0,042			
			NA	23	64,8 ± 18,6	68,0				
		EAA	A	6	40,3 ± 13,2	43,5				
			NA	3	56,0 ± 28,0	56,0				
	Neutrophile	S	A	31	3,5 ± 5,9	1,0		n.s.		
			NA	13	6,0 ± 9,7	2,0				
		SLD	A	26	5,5 ± 7,7	3,0		n.s.		
			NA	23	3,5 ± 3,3	2,5				
		EAA	A	6	4,5 ± 3,7	4,3				
			NA	3	7,0 ± 9,5	3,0				
	Eosinophile	S	A	31	1,0 ± 1,6	0,0		n.s.		
			NA	13	0,5 ± 0,6	0,0				
		SLD	A	26	1,0 ± 1,0	0,0		n.s.		
			NA	23	1,0 ± 1,4	0,0				
		EAA	A	6	1,0 ± 2,0	0,0				
			NA	3						

	Mastzellen	S	NA	3	2,0 ± 2,9	0,0		n.s.
			A	31	0,5 ± 0,7	0,0		
		SLD	A	26	0,5 ± 0,7	0,0		n.s.
			NA	23	0,5 ± 0,6	0,0		
		EAA	A	6	1,0 ± 1,3	0,5		
			NA	3	0,5 ± 0,5	0,5		
	Lymphozyten	S	A	31	32,2 ± 20,1	32,0	n.s.	
			NA	13	22,1 ± 14,6	23,3		
		SLD	A	26	20,0 ± 6,1	21,3	p = 0,020	
			NA	23	27,7 ± 13,7	27,5		
		EAA	A	6	51,8 ± 13,2	49,3		
			NA	3	34,3 ± 19,5	43,0		
% vom Soll	TLC	S	A	31	91,5 ± 13,5	90,9	n.s.	
			NA	13	96,1 ± 12,4	94,5		
		SLD	A	26	102,6 ± 21,1	103,5	n.s.	
			NA	23	103,9 ± 12,1	103,5		
		EAA	A	6	82,7 ± 13,2	86,0		
			NA	3	65,5 ± 46,0	65,5		
	VC	S	A	31	86,5 ± 19,6	86,0	n.s.	
			NA	13	91,1 ± 15,6	90,4		
		SLD	A	26	98,3 ± 19,7	98,5	n.s.	
			NA	23	100,0 ± 12,9	98,0		
		EAA	A	6	69,6 ± 8,6	70,9		
			NA	3	59,8 ± 33,3	55,3		
Punktzahl Fatiguescore	S	A	28	38,4 ± 20,3	38,5	n.s.		
		NA	11	36,6 ± 21,7	39,0			
	SLD	A	23	38,1 ± 20,8	40,0	p = 0,048		
		NA	23	49,3 ± 16,3	51,0			

Tab. 25: Gegenüberstellung metrischer Parameter der Lymphozytosefraktionen der Gruppen Sarkoidose, SLD, EAA und Gesamtgruppe

			analysierte Gruppen			
			S	SLD	EAA	G
% der Lymphozyten	Alter bei BAL	MW±SD	51,1 ± 14,4	55,6 ± 11,9	48,7 ± 15,6	57,1 ± 14,8
		Median	51	56	48	58
		Spanne	22,0 - 83,0	25,0 - 80,0	26,0 - 74,0	15,0 - 91,0
		Anzahl	73	52	22	1226
	B-Zellen	MW±SD	1,2 ± 2,7	1,2 ± 1,4	1,1 ± 1,2	1,5 ± 4,5
		Median	0,5	0,8	0,8	0,7
		Spanne	0,0 - 22,2	0,1 - 8,2	0,1 - 5,1	0,0 - 86,4
		Anzahl	73	52	22	1226
	NK-Zellen	MW±SD	3,9 ± 5,4	3,5 ± 2,4	5,5 ± 8,5	4,1 ± 5,1
		Median	2,3	2,7	2,9	2,8
		Spanne	0,4 - 36,3	0,5 - 10,2	0,2 - 38,4	0,0 - 74,1
		Anzahl	73	52	22	1226
	T-Zellen	MW±SD	94,9 ± 6,8	95,3 ± 2,9	93,5 ± 8,9	94,3 ± 6,9
Median		97,0	96,2	96,7	96,1	
Spanne		62,3 - 99,5	88,7 - 99,4	60,2 - 99,7	12,0 - 100,0	
Anzahl		73	52	22	1226	
CD4+-T	MW±SD	77,7 ± 13,0	81,0 ± 9,0	39,5 ± 21,4	67,1 ± 19,5	
	Median	78,2	82,2	40,8	71,5	
	Spanne	44,0 - 100,3	40,2 - 97,0	10,2 - 79,9	6,1 - 127,9	
	Anzahl	73	52	22	1226	

% der T-Zellen	CD8+-T	MW±SD Median Spanne Anzahl	22,5 ± 13,3 19,5 3,3 – 56,1 73	19,1 ± 8,7 18,1 6,0 – 62,9 52	61,6 ± 20,1 60,7 20,8 – 89,4 22	32,7 ± 19,0 28,4 3,1 – 98,5 1226
	CD4+/CD8+-Ratio	MW±SD Median Spanne Anzahl	5,7 ± 5,2 4,2 0,8 – 30,1 73	5,2 ± 2,7 4,4 0,6 – 16,1 52	0,9 ± 0,9 0,7 0,1 – 3,8 22	3,5 ± 3,4 2,5 0,1 – 30,7 1226
	CD4 +CD8+-T	MW±SD Median Spanne Anzahl	2,0 ± 1,7 1,5 0,2 – 11,1 73	1,7 ± 1,3 1,4 0,3 – 6,2 52	1,9 ± 1,4 1,6 0,5 – 5,9 22	2,2 ± 2,1 1,6 0,0 – 24,2 1226
	CD16+-T	MW±SD Median Spanne Anzahl	4,5 ± 4,1 3,6 0,5 – 19,5 73	3,2 ± 2,5 2,6 0,8 – 11,9 52	7,8 ± 6,3 6,1 1,3 – 28,5 22	5,2 ± 5,1 3,8 0,2 – 69,5 1224
	CD57+-T	MW±SD Median Spanne Anzahl	21,3 ± 10,2 21,1 1,6 – 44,3 73	19,4 ± 9,2 18,0 6,9 – 42,3 52	26,1 ± 16,9 22,2 3,9 – 51,5 22	20,8 ± 12,0 18,7 0,3 – 74,11 1224
	HLA-DR+-T	MW±SD Median Spanne Anzahl	48,8 ± 15,1 51,0 13,6 – 79,5 73	43,2 ± 14,8 40,9 17,6 – 70,9 52	46,1 ± 15,9 49,9 8,7 – 78,2 22	46,8 ± 15,9 45,4 5,7 – 91,7 1226
% der Leukozyten	Makrophagen	MW±SD Median Spanne Anzahl	61,3 ± 14,6 65,0 23,0 – 84,0 73	65,8 ± 13,8 68,5 7,0 – 82,0 52	51,1 ± 18,3 52,5 19,0 – 80,0 22	61,4 ± 18,0 66,5 0,0 – 87,0 1226
	Neutrophile	MW±SD Median Spanne Anzahl	3,2 ± 5,5 1,5 0,0 – 29,7 73	4,1 ± 5,3 2,0 0,0 – 27,0 52	7,3 ± 11,1 3,5 0,0 – 51,0 22	7,0 ± 11,9 2,4 0,0 – 75 1226
	Eosinophile	MW±SD Median Spanne Anzahl	1,0 ± 1,6 0,0 0,0 – 8,0 73	0,5 ± 1,2 0,0 0,0 – 6,0 52	1,0 ± 1,6 0,0 0,0 – 39,0 22	1,0 ± 3,2 0,0 0,0 – 39,0 1226
	Mastzellen	MW±SD Median Spanne Anzahl	0,5 ± 0,5 0,0 0,0 – 2,0 73	0,5 ± 0,6 0,0 0,0 – 2,5 52	0,5 ± 0,8 0,0 0,0 – 3,0 22	0,5 ± 1,1 0,0 0,0 – 17,0 1226
	Lymphozyten	MW±SD Median Spanne Anzahl	34,3 ± 14,3 31,0 15,0 – 73,0 73	27,8 ± 9,9 26,0 15,0 – 55,0 52	40,1 ± 16,5 38,5 16,0 – 70,0 22	29,3 ± 13,7 25,0 15,0 – 87,0 1226
% vom Soll	TLC	MW±SD Median Spanne Anzahl	92,0 ± 16,1 92,0 58,8 – 170,0 71	102,6 ± 15,8 103,0 63,0 – 139,0 52	85,8 ± 18,5 88,5 33,0 – 106,0 16	
	VC	MW±SD Median Spanne Anzahl	87,9 ± 16,8 88,5 44,9 – 123,1 72	101,8 ± 17,9 102,0 51,0 – 152,0 52	76,3 ± 21,0 78,7 29,9 – 107,0 17	
	MFIS	MW±SD Median Spanne Anzahl	22,8 ± 22,4 21,0 0,0 – 78,0 68	40,2 ± 20,6 42,0 0,0 – 81,0 50		

Tab. 26: Mittelwertvergleiche der Personen mit Lymphozytose aller Gruppen mit Varianzanalyse

	Parameter	Brown-Forsythe-Test	Differenzen
	Alter	p < 0,001	S/G EAA/G
% der Lymphozyten	B- Zellen	n.s.	
	T-Zellen	n.s.	
	NK-Zellen	n.s.	

% der T-Zellen	CD4+8+-T-Zellen	n.s.	
	HLA-DR+-T-Zellen	n.s.	
	Eosinophile in % der Leukozyten	n.s.	
% vom Soll	TLC in % vom Soll	p < 0,001	S/SLD SLD/EAA
	VC in % vom Soll	p < 0,001	S/SLD SLD/EAA
	Punktzahl Fatiguescore	p < 0,001	S/SLD

Tab 27: Vergleich der zentralen Tendenz in den Lymphozytosefraktionen

	Parameter	Kruskal-Wallis-Test	Differenzen
% der T-Zellen	CD4+-T-Zellen	p < 0,001	S/EAA, S/G SLD/EAA, SLD/G EAA/G
	CD8+-T-Zellen	p < 0,001	S/EAA, S/G SLD/EAA, SLD/G EAA/G
	Ratio CD4+/CD8+-T-Zellen	p < 0,001	S/EAA, S/G SLD/EAA, SLD/G EAA/G
% der T-Zellen	CD16+-T-Zellen	p < 0,001	S/EAA, S/G SLD/EAA, SLD/G
	CD57+-T-Zellen	n.s.	
% der Leukozyten	Makrophagen	p < 0,001	SLD/EAA EAA/G
	Neutrophile	p < 0,001	S/G
	Mastzellen	n.s.	
	Lymphozyten	p < 0,001	S/G SLD/EAA, SLD/G EAA/G

9. Thesen

1. Bei für Sarkoidose genetisch suszeptiblen Personen und spezifischer Antigenexposition kommt es zum Ablaufen immunologischer Prozesse mit Erwerb einer T-Zell-Immunität und Bildung von Granulomen, bei Lungensarkoidose kommt es zur Akkumulation aktivierter T-Lymphozyten in Lungenparenchym und den Alveolen.
2. Die Untersuchung von Zellen aus dem Alveolarbereich ist durch Gewinnung von BALF möglich, Zytologie und Immunphänotypisierung mittels Durchflusszytometrie erlauben eine genaue Charakterisierung des Zellbildes. Bei Sarkoidose werden typischerweise ein hoher Lymphozytenanteil und eine erhöhte CD4+/CD8+-Ratio beobachtet.
3. Es wurden 2903 Datensätze Lungenerkrankter mit zytologischen und durchflusszytometrischen Parametern der BALF sowie epidemiologischen und klinischen Angaben untersucht, darunter 97 Datensätze von Personen mit Sarkoidose und 67 Datensätze von Personen mit der als eigenständiger Erkrankung postulierten Sarkoidose-ähnlichen Erkrankung (SLD). Bei Nachweis einer Lymphozytose und erhöhten CD4+/CD8+-Ratio fehlt bei SLD der Nachweis bildgebender oder histologischer Veränderungen in Form von Granulomen.
4. Bei SLD wurde eine signifikant stärkere Beeinträchtigung durch eine Fatiguesymptomatik sowie die Notwendigkeit der Erweiterung der immunsuppressiven Glucokortikoidmonotherapie für das Erreichen einer Symptomlinderung beobachtet.
5. Die Annahme einer bei SLD intensiver ablaufenden Immunreaktion bei Antigenexposition war anhand der analysierten BAL-Parameter nicht belegbar.
6. Für die Gruppe EAA konnten die höchsten Lymphozytenanteile im Vergleich zu allen anderen Krankheitsgruppen sowie eine signifikant niedrigere CD4+/CD8+-Ratio nachgewiesen werden. Die Lungenfunktionsparameter zeigten sich deutlich eingeschränkt im Vergleich zu Sarkoidose und SLD.
7. Bei der Erarbeitung von auf BAL-Parametern basierenden diagnostischen Scoresystemen für die Erkrankung Sarkoidose wurden Klassifizierungsfähigkeiten im akzeptablen bis exzellenten Bereich erreicht. Aufgrund des guten Therapieansprechens bei Organbeteiligung wurde eine hohe Sensitivität präferiert. Ein Scoresystem bestehend aus den Variablen Lymphozytenanteil und CD4+/CD8+-Ratio erreichte eine Sensitivität von 89,5% und eine Spezifität von 50,1%.
8. Die Erweiterung des Scoresystemes um die Variablen Neutrophilenanteil, CD16+T- und HLA-DR+-T-Zellen führte zum Erreichen einer Sensibilität von 71,4% und einer Spezifität von 72,7%.
9. Das die optimale Modellsparsamkeit berücksichtigende Scoresystem mit den Variablen Lymphozytenanteil, CD4+/CD8+-Ratio, Neutrophilenanteil und Anteil der HLA-DR+-T-Zellen erreichte eine Sensitivität von 76,6% und Spezifität von 69,4%.

IV. Curriculum vitae

V. Selbstständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich an Eides statt, dass ich die der Medizinischen Fakultät der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg vorgelegte Dissertation mit dem Titel

„Durchflusszytometrische Analysen von Lungenspülflüssigkeit“

selbstständig und ohne fremde Hilfe angefertigt habe sowie keine anderen als die in der Arbeit angegebenen Hilfsmittel in Anspruch genommen habe. Alle Regeln der guten wissenschaftlichen Praxis wurden eingehalten; die den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen wurden als solche kenntlich gemacht.

Halle/Saale, den

Ines Adelman

VI. Erklärung über frühere Promotionsversuche

Ich erkläre, dass ich mich an keiner anderen Hochschule einem Promotionsverfahren unterzogen habe und an keiner anderen Hochschule eine Promotion begonnen habe.

Halle/Saale, den

Ines Adelmann

VII. Danksagung

Ich danke ganz besonders meiner Betreuerin Frau PD Dr. med. Dagmar Riemann. Ihre stetige Bereitschaft, sich meinen Anliegen umgehend und fachkundig zu widmen, hat zum Gelingen dieser Arbeit maßgeblich beigetragen. Ihre sachliche und freundliche Art hat mich das Interesse an meinem Themengebiet nie verlieren lassen.

Ebenfalls bedanken möchte ich mich bei Frau Steffi Turzer, die mir die labortechnischen Abläufe der Durchflusszytometrie nähergebracht und mir bei Fragen zum Datenmaterial immer gerne mit Rat und Tat zur Seite gestanden ist.

Frau Prof. Dr. med. Barbara Seliger danke ich für die Überlassung des Themas.

Herrn Prof. Dr. med. Wolfgang Schütte danke ich für die Ansätze zur inhaltlichen Gestaltung der Dissertation sowie für die Möglichkeit, klinische und epidemiologische Daten von Patientinnen und Patienten ermitteln zu dürfen. In dieser Hinsicht bin ich auch den Mitarbeiterinnen des MVZ Pneumologie im Krankenhaus Martha-Maria Halle-Dörlau unter der Leitung von Frau Odett Stutzmann zu Dank verpflichtet.

Zu guter Letzt bedanke ich mich bei allen, die mir immer wieder ihre Zuversicht für das Gelingen meiner Doktorarbeit versichert haben.