

# **Biochemische Analyse bronchoalveolärer Lavagen von Patienten mit pulmonaler Alveolarproteinose**

**ASLI PAMIR**

Aus der Kinderklinik und Kinderpoliklinik  
im Dr. von Haunerschen Kinderspital  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Direktor: Professor Dr. med. D. Reinhardt

## **Biochemische Analyse bronchoalveolärer Lavagen von Patienten mit pulmonaler Alveolarproteinose**



**Dissertation**  
zum Erwerb des Doktorgrades der Humanbiologie  
an der Medizinischen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

ASLI PAMIR

aus

München

2008

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Matthias Griese

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Dennis Nowak  
Prof. Dr. Fritz Krombach

Mitbetreuung durch den  
promovierten Mitarbeiter:

Dekan: Professor Dr. med. D. Reinhardt

Tag der mündlichen Prüfung: 24.09.2008

	<b>Seite</b>
Abkürzungsverzeichnis.....	9
<b>I EINLEITUNG .....</b>	<b>11</b>
I.A Surfactant.....	11
I.B Lipide.....	11
I.C Proteine .....	12
I.C.1 SP-A.....	13
I.C.2 SP-D.....	14
I.C.3 SP-B.....	15
I.C.3 SP-C.....	16
I.D Surfactantmetabolismus .....	18
I.E Pulmonale Alveolarproteinose.....	20
I.E.1 Primäre pulmonale Alveolarproteinose.....	20
I.E.1 Sekundäre pulmonale Alveolarproteinose .....	22
I.F Zielsetzung .....	23
<b>II MATERIAL UND METHODEN .....</b>	<b>25</b>
II.A Patienten und Kontrollgruppen .....	25
II.B Probengewinnung mittels einer bronchoalveolären Lavage (BAL).....	25
II.C Klinik.....	28
II.C.1 PAP juvenil .....	28
II.C.2 PAP adult .....	29
II.C.3 Bronchitis.....	30
II.C.4 Gesunde Kontrollen.....	31
II.D Methoden .....	32
II.D.1 Quantitative Proteinbestimmung nach Bradford .....	32
II.D.2 Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA).....	33
II.D.2.1 Quantitative SP-A Bestimmung .....	34
II.D.2.2 Quantitative SP-D Bestimmung.....	37
II.D.3 GM-CSF Assay .....	39
II.D.4 1D Gelelektrophorese und Westernblotanalyse .....	42
II.D.5 Phospholipidbestimmung mittels Massenspektrometrie.....	47
II.D.6 Isolation von Fibrillen aus der BALF .....	49
II.E Statistik.....	51
<b>III ERGEBNISSE .....</b>	<b>52</b>
<b>III.A Biochemische Analyse einer Probe je Patient.....</b>	<b>52</b>
III.A.1 Material .....	52
III.A.2 Gesamtprotein.....	57
III.A.2.1 Konzentration .....	57
III.A.2.2 Proteinkonzentration/ kg Körpergewicht.....	58
III.A.3 GM-CSF Autoantikörper .....	58
III.A.3.1 Konzentration in der BALF .....	58
III.A.3.1.1 PAP juvenil.....	59
III.A.3.1.2 PAP adult .....	59
III.A.3.1.3 Bronchitis.....	60

III.A.3.2	Konzentration im Serum.....	60
III.A.3.2.1	PAP juvenil.....	61
III.A.3.2.2	PAP adult.....	61
III.A.3.3	Korrelation BALF zu Serum, PAP juvenil und adult.....	62
III.A.4	SP-A.....	63
III.A.4.1	Konzentration.....	63
III.A.4.2	SP-A / kg Körpergewicht.....	64
III.A.4.3	SP-A / Gesamtprotein.....	64
III.A.5	SP-B.....	65
III.A.5.1	Konzentration.....	65
III.A.5.2	SP-B / kg Körpergewicht.....	66
III.A.5.3	SP-B / Gesamtprotein.....	66
III.A.6	SP-C.....	67
III.A.6.1	Konzentration.....	67
III.A.6.2	SP-C / kg Körpergewicht.....	68
III.A.6.3	SP-C / Gesamtprotein.....	68
III.A.7	SP-D.....	69
III.A.7.1	Konzentration.....	69
III.A.7.2	SP-D / kg Körpergewicht.....	70
III.A.7.3	SP-D / Gesamtprotein.....	70
III.A.8	Korrelation.....	71
III.A.9	Charakterisierung des Surfactantproteine B und C mittels 1-D Gelelektrophorese.....	72
III.A.9.1	SP-B.....	72
III.A.9.1.1	Gesamtkonzentration.....	73
III.A.9.1.1.1	PAP juvenil.....	73
III.A.9.1.1.2	PAP adult.....	74
III.A.9.1.1.3	Bronchitis.....	75
III.A.9.1.2	SP-B Multimere SP-B.....	75
III.A.9.1.2.1	PAP juvenil.....	76
III.A.9.1.2.2	PAP adult.....	76
III.A.9.1.2.3	Bronchitis.....	77
III.A.9.2	SP-C.....	78
III.A.9.2.1	Gesamtkonzentration.....	79
III.A.9.2.1.1	PAP juvenil.....	79
III.A.9.2.1.2	PAP adult.....	80
III.A.9.2.1.3	Bronchitis.....	81
III.A.9.2.2	SP-C Multimere.....	81
III.A.9.2.2.1	PAP juvenil.....	81
III.A.9.2.2.2	PAP adult.....	82
III.A.9.2.2.3	Bronchitis.....	83
<b>III.B</b>	<b>Auswaschkinetik.....</b>	<b>84</b>
III.B.1	Summenstatistik der ausgewaschenen Komponenten.....	87
III.B.2	Gesamtprotein.....	89
III.B.2.1	Konzentration.....	90
III.B.2.1.1	PAP juvenil.....	90
III.B.2.1.2	PAP adult.....	91
III.B.2.1.3	Gesunde Kontrollen.....	91
III.B.2.1.4	Lipidpneumonitis.....	92
III.B.2.2	Absolute Auswaschmenge je Spülportion.....	93

III.B.2.2.1	PAP juvenil .....	93
III.B.2.2.2	PAP adult .....	94
III.B.2.2.3	Gesunde Kontrollen.....	94
III.B.2.2.4	Lipidpneumonitis .....	95
III.B.2.3	Proteinkonzentration /kg Körpergewicht .....	96
III.B.2.3.1	PAP juvenil .....	96
III.B.2.3.2	PAP adult .....	97
III.B.2.3.3	Gesunde Kontrollen.....	97
III.B.2.3.4	Lipidpneumonitis .....	98
III.B.3	SP-A.....	99
III.B.3.1	Konzentration .....	99
III.B.3.1.1	PAP juvenil .....	99
III.B.3.1.2	PAP adult .....	100
III.B.3.1.3	Gesunde Kontrollen.....	100
III.B.3.1.4	Lipidpneumonitis .....	101
III.B.3.2	Absolute Auswaschmenge je Spülportion .....	102
III.B.3.2.1	PAP juvenil .....	102
III.B.3.2.2	PAP adult .....	103
III.B.3.2.3	Gesunde Kontrollen.....	103
III.B.3.2.4	Lipidpneumonitis .....	104
III.B.3.3	SP-A/ kg Körpergewicht .....	105
III.B.3.3.1	PAP juvenil .....	105
III.B.3.3.2	PAP adult .....	106
III.B.3.3.3	Gesunde Kontrollen.....	106
III.B.3.3.4	Lipidpneumonitis .....	107
III.B.4	SP-B.....	108
III.B.4.1	Konzentration .....	108
III.B.4.1.1	PAP juvenil .....	108
III.B.4.1.2	PAP adult .....	109
III.B.4.1.3	Gesunde Kontrollen.....	109
III.B.4.1.4	Lipidpneumonitis .....	110
III.B.4.2	Absolute Auswaschmenge je Spülportion .....	111
III.B.4.2.1	PAP juvenil .....	111
III.B.4.2.2	PAP adult .....	112
III.B.4.2.3	Gesunde Kontrollen.....	112
III.B.4.2.4	Lipidpneumonitis .....	113
III.B.4.3	SP-B/ kg Körpergewicht .....	114
III.B.4.3.1	PAP juvenil .....	114
III.B.4.3.2	PAP adult .....	115
III.B.4.3.3	Gesunde Kontrollen.....	115
III.B.4.3.4	Lipidpneumonitis .....	116
III.B.5	SP-C.....	117
III.B.5.1	Konzentration .....	117
III.B.5.1.1	PAP juvenil .....	117
III.B.5.1.2	PAP adult .....	118
III.B.5.1.3	Gesunde Kontrollen.....	118
III.B.5.1.4	Lipidpneumonitis .....	119
III.B.5.2	Absolute Auswaschmenge pro Spülportion .....	120
III.B.5.2.1	PAP juvenil .....	120
III.B.5.2.2	PAP adult .....	121
III.B.5.2.3	Gesunde Kontrollen.....	121

III.B.5.2.4	Lipidpneumonitis .....	122
III.B.5.3	SP-C/ kg Körpergewicht .....	123
III.B.5.3.1	PAP juvenil .....	123
III.B.5.3.2	PAP adult .....	124
III.B.5.3.3	Gesunde Kontrollen .....	124
III.B.5.3.4	Lipidpneumonitis .....	125
III.B.6	SP-D .....	126
III.B.6.1	Konzentration .....	126
III.B.6.1.1	PAP juvenil .....	126
III.B.6.1.2	PAP adult .....	127
III.B.6.1.3	Gesunde Kontrollen .....	127
III.B.6.1.4	Lipidpneumonitis .....	128
III.B.6.2	Absolute Auswaschmenge pro Spülportion .....	129
III.B.6.2.1	PAP juvenil .....	129
III.B.6.2.2	PAP adult .....	130
III.B.6.2.3	Gesunde Kontrollen .....	130
III.B.6.2.4	Lipidpneumonitis .....	131
III.B.6.3	SP-D/ kg Körpergewicht .....	132
III.B.6.3.1	PAP juvenil .....	132
III.B.6.3.2	PAP adult .....	133
III.B.6.3.3	Gesunde Kontrollen .....	133
III.B.6.3.3	Lipidpneumonitis .....	134
III.B.7	Korrelation zwischen dBALF_Pool und tBALF_1.Flasche .....	135
<b>III.C</b>	<b>Analyse der Lipidfraktion der bronchoalveolären Lavage- flüssigkeit</b> .....	136
III.C.1	Untersuchung von einer BALF-Probe je Patient .....	136
III.C.1.1	Lipid-Fraktion gesamt .....	137
III.C.1.2	Glycerol-Phospholipide .....	137
III.C.1.2.1	Phosphatidylcholin (PC) .....	138
III.C.1.2.2	Lysophosphatidylcholin (LPC) .....	141
III.C.1.2.3	Phosphatidylethanolamin (PE) .....	143
III.C.1.2.4	Phosphatidylinositol (PI) .....	146
III.C.1.2.5	Phosphatidylserin (PS) .....	148
III.C.1.2.6	Phosphatidylglycerol (PG) .....	151
III.C.1.3	Sphingolipide .....	153
III.C.1.3.1	Sphingomyelin (SPM) .....	154
III.C.1.4	Ceramide (Cer) .....	158
III.C.1.5	Cholesterol (Chol) .....	163
III.C.1.5	Alkyl-Phosphatidylethanolamin (Alkyl PE) .....	167
III.C.2	Validierung der PL Bestimmung .....	170
III.C.2.1	Phosphatidylcholin .....	171
III.C.2.2	Phosphatidylethanolamin .....	173
III.C.2.3	Phosphatidylserin .....	175
III.C.2.4	Sphingomyelin .....	177
III.C.2.5	Lysophosphatidylcholin .....	179
III.C.2.6	Cholesterol .....	181
III.C.2.7	Ceramide .....	183
<b>III.D</b>	<b>Analyse von fibrillären SP-C Aggregaten in der BALF</b> .....	185
III.D.1	Einzelanalyse einer BALF-Probe des Patienten Pj01 .....	185

III.D.2	Analyse von BALF-Proben verschiedener Patienten.....	190
III.D.3	Vergleich von Überstand und Pellet der BALF-Proben von zwei juvenilen PAP Patienten.....	195
III.D.4	Analyse der SP-C Konzentration im Überstand.....	197
<b>IV</b>	<b>DISKUSSION .....</b>	<b>200</b>
IV.1	Biochemische Analyse einer Probe je Patient.....	200
IV.1.1	Gesamtprotein.....	200
IV.1.2	GM-CSF .....	200
IV.1.3	SP-A.....	201
IV.1.4	SP-B.....	201
IV.1.5	SP-C.....	202
IV.1.6	SP-D.....	203
IV.1.7	Korrelation.....	203
IV.2	Auswaschkinetik.....	203
IV.3	Analyse der Lipidfraktion der bronchoalveolären Lavage- flüssigkeit.....	205
IV.4	Analyse von fibrillären SP-C Aggregaten in der Lunge .....	206
<b>V</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>208</b>
<b>VI</b>	<b>ANHANG.....</b>	<b>210</b>
VI.1	Literaturverzeichnis .....	210
VI.2	Tabellen .....	217
VI.3	Danksagung .....	264
VI.4	Lebenslauf.....	265

## Abkürzungsverzeichnis

°C	Grad Celsius
1D SDS Page	Eindimensionale Natriumdocecylsulfat Polyacrylamidgelelektrophorese
ABTS	2,2-Azino-di-[3-ethylbenzthiazolinesulfonate(6)] diammoniumsalz
BAL	Bronchoalveoläre Lavage
BALF	Bronchoalveoläre Lavageflüssigkeit
BSA	Bovines Serumalbumin
Ca	Calcium
CRD	Carbohydrate Recognition Domain
DPPC	Dipalmitoylphosphatidylcholine
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ELISA	Enzyme linked immunosorbent assay
GM-CSF	Granulozyten Makrophagen - Kolonien stimulierende Faktoren
HPLC	High Pressure Liquid Chromatography
IgG	Immunglobulin G
IL3	Interleukin 3
IL5	Interleukin 5
i.m.	intramuskulär
kDa	Kilodalton
LA	Large Aggregates
LDS	Lithiumdodecylsulfat
LPC	Lysophosphatidylcholin
mA	Milliamper
MES	2-Morpholino-ethansulfonsäure
min	Minuten
MOPS	3-Morpholino-propansulfonsäure
MS	Massenspektrometrie
OD	optische Dichte
PAP	Pulmonale Alveolarproteinose

---

PBS	Phosphate buffered saline
PC	Phosphatidylcholin
PE	Phosphatidylethanolamin
PG	Phosphatidylglycerol
PI	Phosphatidylinositol
p.o.	peroral
PS	Phosphatidylserin
SA	Small Aggregates
SDS	Sodiumdodecylsulfat
SP-A	Surfactantprotein A
SP-B	Surfactantprotein B
SP-C	Surfactantprotein C
SP-D	Surfactantprotein D
SPM	Sphingomyelin
UV	Ultraviolett
TBS	Tris buffered saline
V	Volt

## I Einleitung

### I.A Surfactant

Pulmonales Surfactant (Surface active agent) ist ein oberflächenaktives Gemisch aus Lipiden und Proteinen, das den gesamten Alveolarraum der Lunge auskleidet<sup>28;70</sup>. Seine physiologische Funktion ist in erster Linie eine Reduktion der Oberflächenspannung an der Luft/ Wasser Grenzfläche der Alveolen. Auf diese Weise verhindert das Surfactant einen Kollaps der Alveolen, vor allem in der Endexpirationsphase und ermöglicht somit die Atmung bei normalen thorakalen Druckverhältnissen<sup>14</sup>.

Durch die Analyse der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit (BALF) erhält man Aufschluß über die genaue Zusammensetzung des Surfactant.

### I.B Lipide

Anders als die Surfactantproteinsynthese läuft die Surfactantlipidsynthese ausschließlich in den Typ-II Pneumozyten ab<sup>5</sup>. Eine qualitative oder quantitative Veränderung des Lipidmusters kann somit ein Ausdruck spezieller metabolischer Veränderungen sein und pathologische Symptome verursachen. Der Lipidanteil des Surfactant beträgt ca. 90 %, die genauere prozentuale Zusammensetzung ist in Tabelle I.B.1 dargestellt.<sup>1;14</sup>

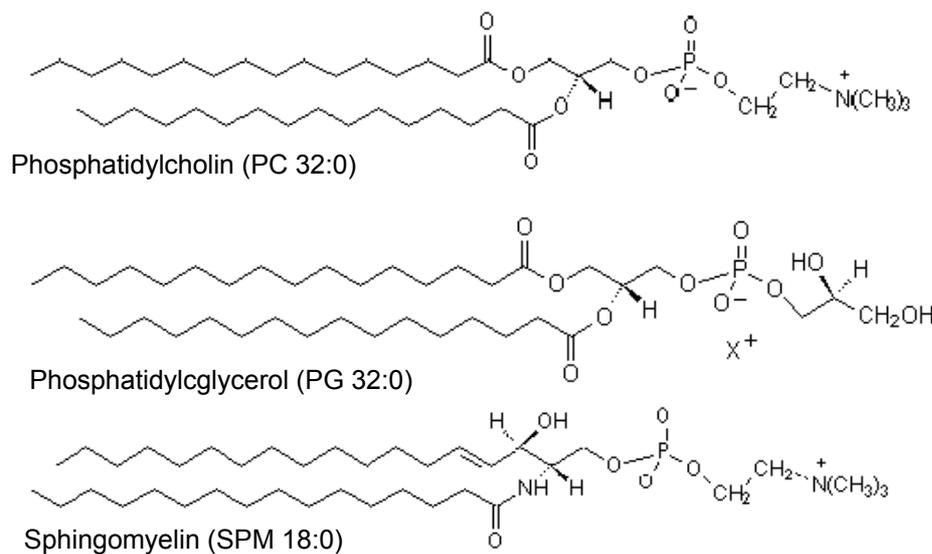
**Tabelle I.B.1:** Lipidanteil des Surfactants in %

Lipide	90 %
Phospholipide (PL)	83 %
Dipalmitoylphosphatidylcholin (DPPC)	36 %
Ungesättigtes Phosphatidylcholin (PC)	32 %
Phosphatidylglycerol (PG)	8 %
Phosphatidylethanolamin (PE)	
Phosphatidylinositol (PI)	
Sphingomyelin (SPM)	
Phosphatidylserin (PS)	
Ceramid (Cer)	
Cholesterol (Chol)	15 %
Neutrallipide	2 %

Die charakteristische Struktur der Phospholipide bildet ein Glycerolgrundkörper mit einer polaren Kopfgruppe am C3-Atom, die meist über einen Phosphatrest gebunden ist und zwei apolaren Fettsäureresten an den beiden anderen Kohlenstoffatomen. Auf Grund dieser amphiphilen Eigenschaften können sie in wässriger Umgebung Mizellen bilden oder sich in Lipidbilayer einlagern.

Das Phosphatidylcholin (PC) bildet ca. 80 % des Phospholipidanteils. Die Phosphatidylcholin-Fraktion besteht zu ca. 50 % aus Dipalmitoylphosphatidylcholin (DPPC), das mit zwei Palmitinsäuren verestert ist und als polare Kopfgruppe ein über Phosphat verbundenes Cholin enthält. Das mengenmäßig zweithäufigste Phospholipid ist Phosphatidylglycerol (PG) das hauptsächlich mit Ölsäure (ca. 35 %) oder Palmitinsäure (ca. 25 %) verestert ist. Die Phospholipide Phosphatidylethanolamin (PE), Phosphatidylinositol (PI), Phosphatidylserin (PS) mit jeweils ca. 2 % und Lysophosphatidylcholin (LPC) und Sphingomyelin (SPM) mit einem Anteil von unter 2 % bilden den restlichen Anteil der Phospholipidfraktion.

**Abbildung.I.B.1:** Strukturformeln von Phosphatidylcholin, Phosphatidylglycerol, Sphingomyelin



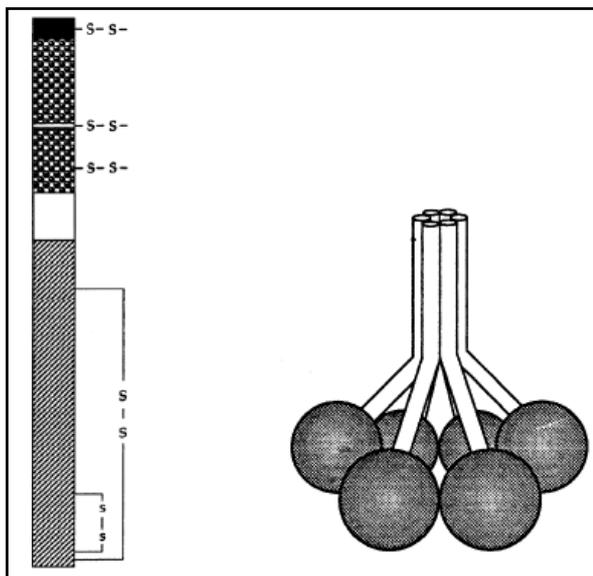
## I.C Proteine

Der Proteinanteil des Surfactant beträgt ca. 10 % und setzt sich zu etwa gleichen Teilen aus unspezifischen Plasmaproteinen und den Apoproteinen SP-A, SP-B, SP-C und SP-D zusammen<sup>28;30;60;70;80</sup>.

### I.C.1 SP-A

Das hydrophile Surfactantprotein A (SP-A) ist das grösste Surfactantprotein und wird von Typ-II Pneumozyten und Clarazellen gebildet<sup>3;14</sup>. Es wird von zwei verschiedenen Genen auf Chromosom 10 kodiert und durch verschiedene posttranslationale Vorgänge, wie proteolytische Spaltung, Acetylierung, Sulfonierung und Carboxylierung modifiziert, was auch die relativ weite Grössenverteilung von 28-36 kDa erklärt<sup>33;79</sup>. Die Primärstruktur des SP-A umfasst eine aminotermale und eine lektinähnliche oder CR (carbohydrate recognition) Domäne, zwischen denen sich eine kollagenähnliche Region, die auch als „neck“-Domäne bezeichnet wird befindet<sup>26;29</sup>. Über das Cystein des Aminosäurerests der „neck“-Domäne können sich zwischen den Monomeren Disulfidbrücken bilden, die wahrscheinlich zur Ausbildung einer Tripelhelix führen. Sechs dieser Trimerstrukturen lagern sich zu einem Oligomer zusammen, welches durch einen Knick in der Kollagendomäne die typische blumenstraussartige Struktur bildet.

**Abbildung I.C.1.1:** Struktur des Surfactantprotein A (nach<sup>14</sup>)

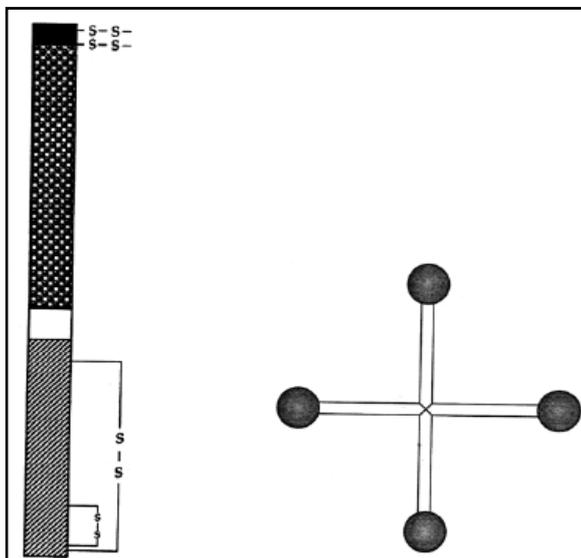


SP-A beeinflusst zusammen mit SP-B den Surfactantmetabolismus indem es für die Bildung des tubulären Myelins, aus welchem der eigentliche Surfactantfilm an der Luft / Wasser Grenzschicht hervorgeht verantwortlich ist<sup>61;71</sup>. Außerdem erhöht SP-A die oberflächenaktiven Eigenschaften des Surfactant und trägt durch die Aktivierung von Makrophagen zur Immunantwort bei<sup>37</sup>.

## I.C.2 SP-D

Das Surfactantprotein D, das zweite hydrophile Glykoprotein zeigt in der Primärstruktur eine hohe Ähnlichkeit zu SP-A. Es besteht ebenfalls aus einer Kollagendomäne, einer „neck“-Region und einer Lectindomäne, wobei die Kollagendomäne grösser und die Verbindungsdomäne deutlich kleiner als im SP-A ist. Über die sich der Kollagendomäne anschließende disulfidreiche aminoternale Region bildet SP-D aus vier Trimeren ein kreuzartiges Oligomer aus<sup>12;13</sup>. Diese Formation trägt vor allem zu den immunologischen Funktionen bei. SP-D kann an Oberflächenstrukturen von Bakterien binden und damit die Erkennung durch Alveolarmakrophagen fördern und unabhängig von der CRD-Region, über einen speziellen Rezeptor an Alveolarmakrophagen binden und deren Produktion sowie die Freisetzung von Sauerstoffradikalen aus den Alveolen fördern<sup>77</sup>. Außerdem können Mikroorganismen agglutiniert werden und so durch die mukoziliäre Clearance besser beseitigt werden. Über seine biophysikalischen Funktionen ist wenig bekannt, die einzig bekannte Wechselwirkung zwischen SP-D und den Phospholipiden besteht in einer Bindung an Phosphatidylinositol, deren Bedeutung aber noch unklar ist<sup>36;54</sup>.

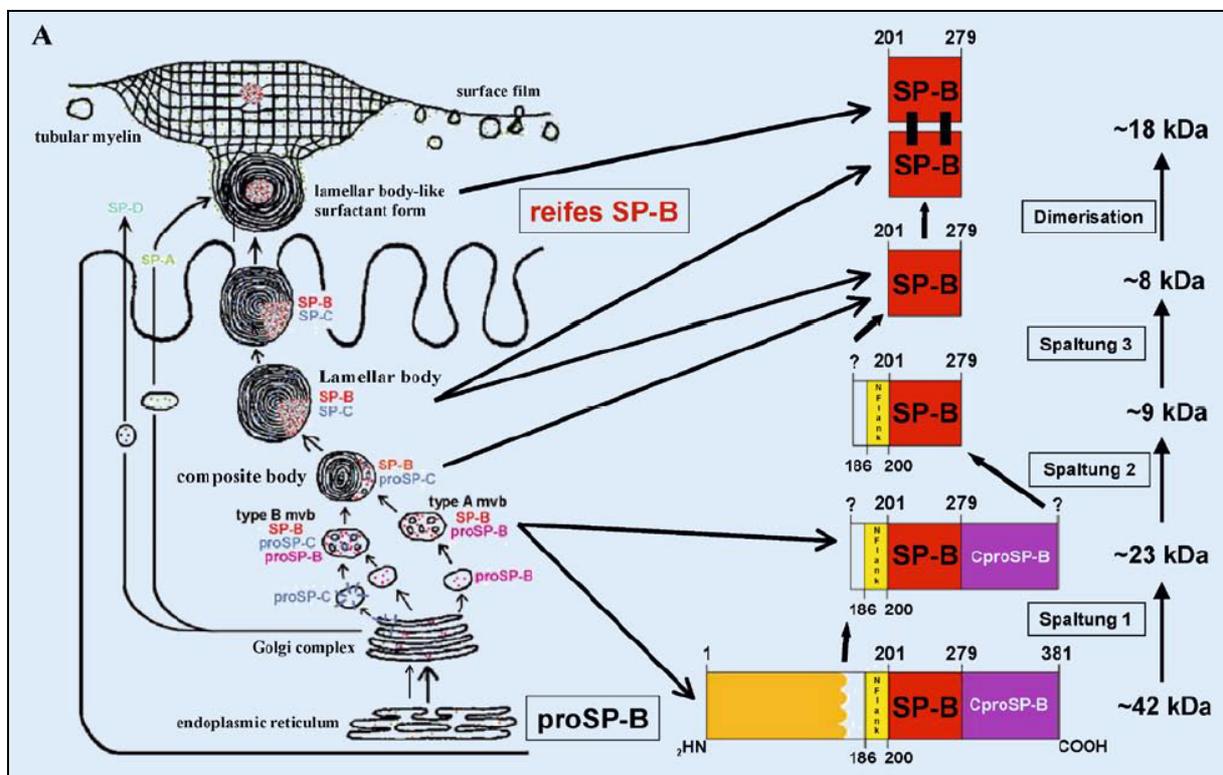
Abbildung I.C.2.1: Struktur des SP-D (nach<sup>14</sup>)



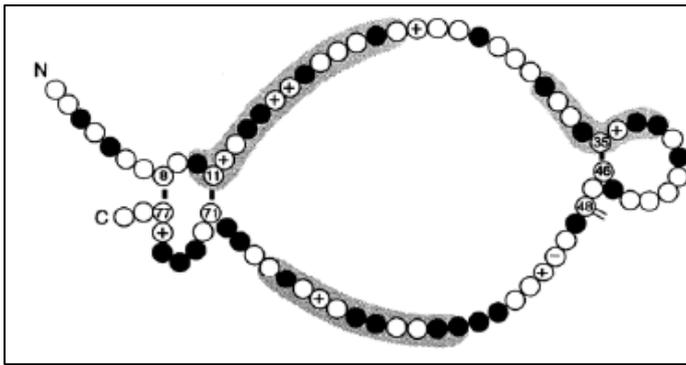
### I.C.3 SP-B

Surfactantprotein B gehört zu den stark hydrophoben Apoproteinen, das in Typ-II Pneumozyten und Clarazellen produziert wird und zusammen mit SP-C ca. 2 % der Surfactantmasse ausmacht<sup>31;59</sup>. Das Gen für das humane SP-B ist auf dem kurzen Arm von Chromosom 2 lokalisiert und als primäres Translationsprodukt wird das Pro SP-B mit einem Molekulargewicht von ca. 42 kDa gebildet. Durch eine Abspaltung des N-terminus entsteht ein Zwischenprodukt von 25 kDa, aus dem durch die Abspaltung des C-terminalen Endes das ca. 8 kDa grosse und aus 79 Aminosäuren bestehende, reife SP-B entsteht<sup>23;34</sup>.

Abbildung I.C.3.1: Prozessierung des SP-B (nach <sup>11</sup>)



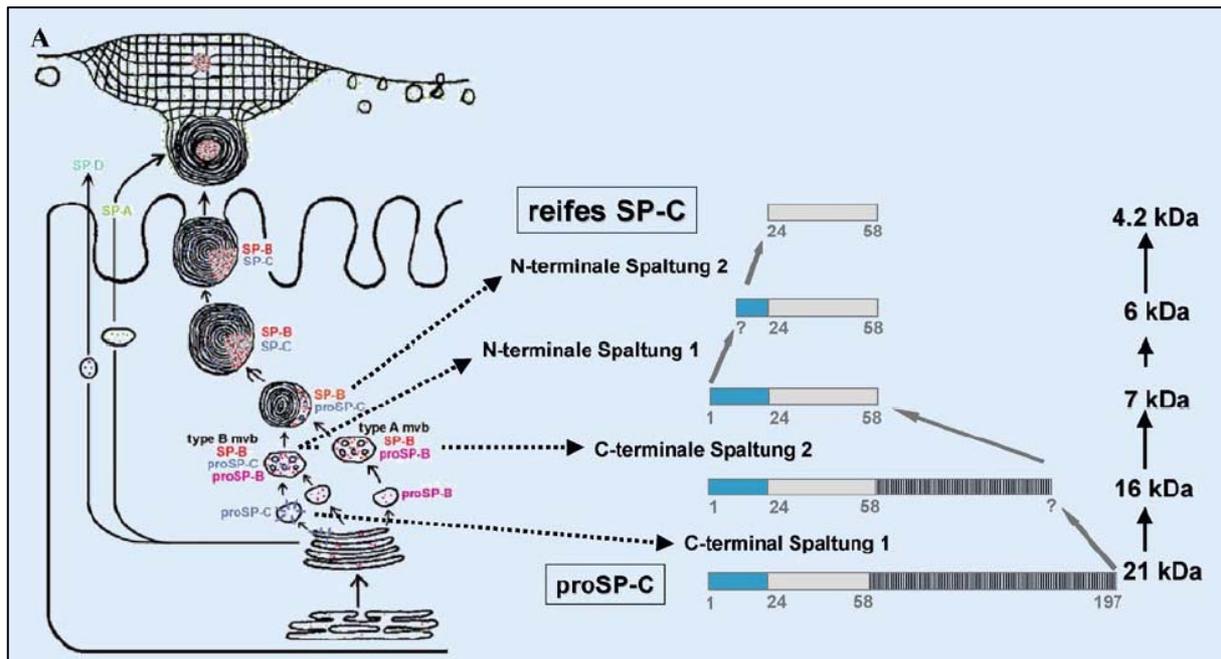
Die Monomere besitzen  $\alpha$ -helikale Struktur und bilden drei intramolekulare Disulfidbrücken welche zur Ausbildung der typischen "Kringelstruktur" führen. Das aktive Protein kommt im Alveolarraum hauptsächlich als Dimer vor<sup>2;42</sup>, das über eine intermolekulare Disulfidbindung verknüpft ist.

**Abbildung I.C.3.2:** Struktur des SP-B (nach<sup>41</sup>)

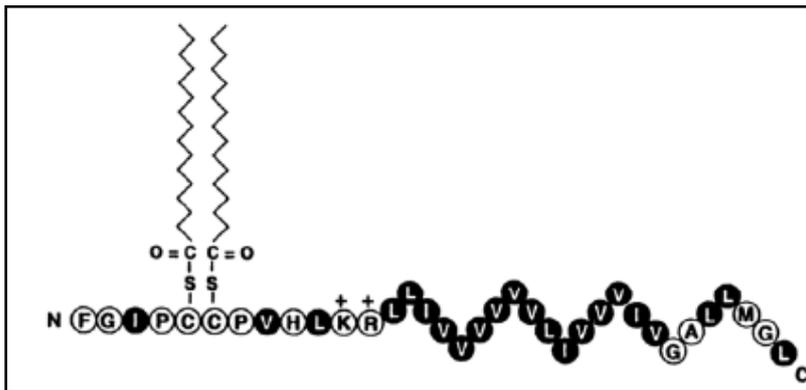
Die Hauptfunktion des SP-B besteht darin, die Formierung eines oberflächenaktiven Filmes zu beschleunigen, indem es die Adsorption der Lipide an die Grenzschicht um den Faktor  $>150$  erhöht. Darüber hinaus spielt SP-B eine große Rolle bei der Bildung und Speicherung des Surfactants. Unter anderem ist es für die korrekte Lagerung der Phospholipide in Form von konzentrischen Lamellen in den Lammellarkörperchen verantwortlich.

#### **I.C.4 SP-C**

Surfactantprotein C ist das am stärksten hydrophobe Apoprotein, das zusammen mit SP-B ca. 2 % der Surfactantmasse ausmacht und ausschließlich von Typ II Pneumozyten produziert wird. Das Gen für SP-C ist auf dem kurzen Arm des Chromosom 2 lokalisiert. Von dem 22 kDa grossen primär translatierten Pro SP-C ausgehend, entsteht durch Abspaltung des C-Terminus zunächst eine 6 kDa grosse Zwischenform, die durch Abspaltung des N-Terminus zum reifen, aus 35 Aminosäuren bestehenden, 4,2 kDa grossen SP-C prozessiert wird<sup>72</sup>, zusätzlich können Zwischenprodukte mit 7 und 16 kDa nachgewiesen werden<sup>71</sup>.

Abbildung I.C.4.1: Prozessierung des SP-C (nach<sup>11</sup>)

Der stark hydrophobe Charakter des SP-C kommt durch eine Palmitoylierung über eine Thioesterbindung der beiden Cystein-Reste an Position 5 und 6 des Amino-Terminus und den aus 23 hydrophoben Aminosäuren bestehenden Carboxyterminus zustande, in dem 6 Valin-Reste aufeinanderfolgenden<sup>18;70</sup>. Dieser bildet eine  $\alpha$ -Helix, die die Phospholipidbilayer durchspannt und sich somit parallel zu den Fettsäureketten anordnet<sup>78</sup>. Diese  $\alpha$ -Helix ist in Lipidbilayern oder Mizellen stabil, nimmt sie jedoch eine nichthelikale Formation an, kann sie sich nicht reorganisieren und bildet  $\beta$ -Faltblatt Strukturen<sup>39;40</sup>. Die Umstrukturierung in eine  $\beta$ -Faltblatt Form führt zur Bildung von fibrillären Aggregaten<sup>38;40</sup> und kann durch zwei Mechanismen verursacht werden: die Entfernung von SP-C aus den Lipidbilayern oder eine Konzentrationserhöhung von SP-C in der flüssigen Phase<sup>80</sup>. In vitro konnte zusätzlich eine Bedeutung der Fettsäureketten für die Faltung nachgewiesen werden, da eine Entfernung einer oder beider Fettsäureketten zu einer beschleunigten Fibrillenbildung führte<sup>24</sup>. Diese fibrillären Aggregate können aus den BALF-Proben von PAP Patienten, nicht aber bei gesunden Kontrollen isoliert werden<sup>25</sup>. Ob diese Fibrillenbildung eine Folge des veränderten Surfactantmetabolismus, oder an der Ätiologie der pulmonalen Alveolarproteinose beteiligt ist, ist noch nicht bekannt<sup>43</sup>.

**Abbildung I.C.4.2:** Struktur des SP-C (nach<sup>16</sup>)

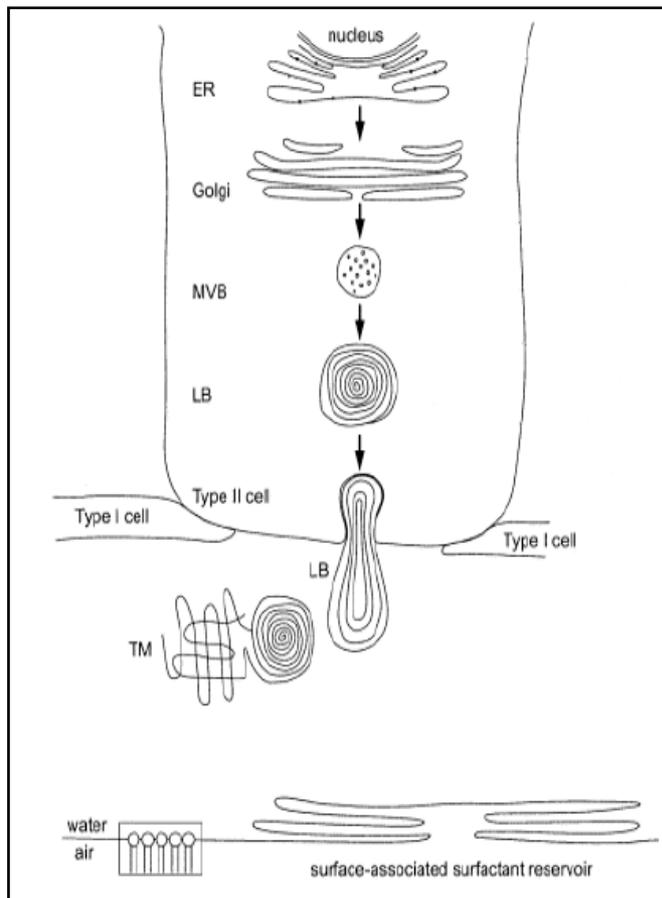
Wie auch SP-B stabilisiert SP-C die Oberflächenaktivität des Surfactantfilms während der Atmung und beschleunigt die Phospholipidadsorption an die Luft / Wassergrenzschicht<sup>56;58</sup>.

## I.D Surfactantmetabolismus

Die einzelnen Surfactantkomponenten werden hauptsächlich in den Typ-II Pneumozyten gebildet<sup>5;16</sup>, die auch der Ort der Surfactanthomöostase sind. Neben den auf den Gasaustausch spezialisierten, flachen, weit ausgedehnten Typ-I Zellen, kleiden die eher runden Typ-II Zellen etwa 10 % der Oberfläche der Alveolen aus, wobei sie sich vorzugsweise in den Ecken der Alveolarwände befinden. Die Bestandteile des Surfactant werden im endoplasmatischen Reticulum (ER) gebildet und anschließend über den Golgi-Apparat und die multivesikulären Körperchen (MVB) in die sogenannten Lamellarkörperchen (Ib) transportiert, den Speicherorganellen des Surfactant. Die Phospholipide liegen in den Lamellarkörperchen in Form von konzentrisch, um den Zellkern formierten, dicht gepackten Membranen vor<sup>28</sup>. Durch Exocytose wird das Surfactantmaterial in die Hypophase, die den Alveolarraum auskleidet abgegeben und bildet das sogenannte tubulären Myelin (TM). Hier liegen die Phospholipide in einer Art gitterförmigen, röhrenartigen Struktur aus sich regelmäßig kreuzenden Doppelmembranen vor, für deren Bildung die Anwesenheit von SP-A, SP-B und Ca-Ionen notwendig ist. Das tubuläre Myelin bildet den direkten Vorläufer des Surfactantfilms und kann sehr schnell eine monomolekulare Schicht an der Luft/ Wassergrenzfläche ausbilden<sup>27;60;76</sup>. In diesem Surfactantfilm richten sich die Phospholipide entsprechend ihres amphiphilen

Charakter mit den hydrophoben Fettsäureresten Richtung Luft und mit ihren polaren Köpfen Richtung Hypophase. DPPC, als Hauptbestandteil dieser Grenzschicht, liegt im festen Aggregatzustand vor und widersteht so den starken Kompressionskräften während der Expiration. Mono- und multivesikuläres Surfactant liegt gelöst in der wässrigen Hypophase vor. Bei Kompression während der Atmung wird DPPC aus der Grenzschicht gedrückt (squeeze out), um die Oberflächenspannung noch mehr zu reduzieren<sup>28;76</sup>.

**Abbildung I.D.1:** Surfactantmetabolismus (nach<sup>71</sup>)



Der Abbau des in den Alveolarraum sezernierten Surfactant geschieht über drei verschiedene Wege: Surfactant wird entweder von Alveolarmakrophagen phagozytiert oder die Typ-II-Pneumozyten nehmen das als kleine Vesikel vorliegende Surfactant wieder auf. Diese Wiederaufnahme wird durch sämtliche Surfactantproteine und Calcium gefördert. Nach der Wiederaufnahme in die Typ-II-Pneumozyten wird das Surfactant entweder abgebaut und dessen Bestandteile zur Resynthese genutzt, oder die Phospholipide werden bis zur erneuten

Sezernierung in den Lamellenkörperchen gespeichert. Ein kleiner Teil von verbrauchtem Surfactant wird über die Atemwege nach oben und anschließend in den Magen-Darm-Trakt abtransportiert.<sup>81</sup>

## **I.E Pulmonale Alveolarproteinose**

Bei der pulmonalen Alveolarproteinose (PAP) handelt es sich um eine seltene diffuse Lungenerkrankung, die erstmals von Rosen et al. im Jahr 1958 beschrieben wurde<sup>64</sup>. Durch die pathogenetische Ursache der Krankheit, einer Störung der Surfactanthomöostase kommt es zu einer Imbalance zwischen Surfactantsekretion und -abbau. Dies führt zu einer Anhäufung großer Mengen phospholipid- und proteinhaltiger Materialien in den Alveolen der Lungen. Dieses Ungleichgewicht kann Folge vieler unterschiedlichen Pathomechanismen sein, was die große klinische Variabilität verständlich macht und erklärt, dass die PAP eher als klinischer Phänotyp aufzufassen ist<sup>21</sup>.

PAP ist mit einer Prävalenz von 1 zu 2 Mio. den seltenen Lungenerkrankungen zuzurechnen<sup>69</sup>. Ätiologisch lässt sich die PAP in primäre und sekundäre Formen unterteilen.

### **I.E.1 Primäre pulmonale Alveolarproteinose**

Für die Praxis hat sich eine weitere Unterteilung der primären PAP in Abhängigkeit vom Lebensalter bewährt:

Die neonatale, d.h. kongenitale Form (Typ I) der PAP zeichnet sich aus durch eine SP-B Defizienz und das Vorhandensein von SP-C-Proformen aus<sup>52</sup>. Immunhistochemisch kann bei allen Patienten mit einer PAP eine abnorme intraalveoläre SP-A Akkumulation unabhängig vom Lebensalter bei Erkrankungsbeginn und klinischem Verlauf nachweisen<sup>11</sup>. Das klinische Bild zeigt bei dieser Form der PAP ein sich innerhalb der ersten Lebensstunden entwickelndes Atemnotsyndrom, welches sich auch durch verschiedenste Therapieansätze (SP-B Substitution, ECMO, Dexamethason, etc.) nicht bessert. Die erkrankten Neugeborenen versterben innerhalb der ersten Lebenswochen oder -monate an einer respiratorischen Insuffizienz. Als molekulare Grundlage dieses hereditären SP-B Mangels gilt die Mutation des auf Chromosom 2 gelegenen und 11 Introns enthaltenden SP-B Gens. Bislang wurden 35 Mutationen beschrieben, welche zu einer kongenitalen SP-B Defizienz führen<sup>53;74</sup>. Die mit etwa 50-60 % häufigste Mutation 121ins2 substituiert 3 Basen (GAA) für ein einzelnes Nukleotid Cytosin, was zur Zerstörung von Exon 121

führt<sup>21</sup>. Da reifes intrazelluläres SP-B pathophysiologisch eine entscheidende Rolle bei der Prozessierung von Pro SP-C zu reifem SP-C spielt, führt fehlendes SP-B zu einer Anhäufung von aberranten SP-C Formen im Alveolarraum. Die einzige therapeutische Option bei Patienten mit hereditärem SP-B Mangel ist die Lungentransplantation.

Zu der Gruppe der kindlichen Form der PAP (Typ II) liegen kaum molekulare Befunde vor. Die Kinder fallen meist in den ersten Lebensmonaten durch Gedeihstörungen, Atemnot, Husten, reduzierte Belastbarkeit und Hepatosplenomegalie auf. Sie umfasst Kinder mit mäßig ausgeprägter SP-B-Defizienz und Anreicherung des inkomplett prozessierten Pro SP-B im Alveolarraum, Defekten der gemeinsamen  $\beta$ -Kette des GM-CSF/IL3/IL5-Rezeptors oder Mutationen im SP-C Gen<sup>73</sup>. Die Typ-II-Alveolarproteinose weist ferner eine mäßige intraalveoläre SP-D Akkumulation auf. Als Therapie der Wahl existiert bis heute nur die therapeutischen Lungenlavage<sup>22</sup>.

Die Pathogenese adulten PAP (Typ III), die sich meist im 3.-4. Lebensjahrzehnt manifestiert ist noch ungeklärt. Auch hier werden die Patienten durch Husten, Dyspnoe, Gewichtsverlust, später auch Zyanose und Trommelschlegelfingern auffällig. Viele Befunde weisen blockierende Autoantikörper gegen GM-CSF nach. Auch wurde eine intraalveoläre Akkumulation eines inkomplett prozessierten Pro SP-B und eine mäßige intraalveoläre SP-D Akkumulation beobachtet. Als Therapie der Wahl gilt die therapeutische Ganzlungenlavage, die meist sehr gut anspricht.

**Tabelle I.E.1.1:** Differenzierung der primären pulmonalen Alveolarproteinose (nach <sup>11</sup>)

	<b><u>TYP I</u></b>	<b><u>TYP II</u></b>	<b><u>TYP III</u></b>
	<b>Neonatale Form</b>	<b>Kindliche Form</b>	<b>Erwachsene Form</b>
<b>Erkrankungsbeginn</b>	Neugeborenenalter	Neugeborenen und Säuglingsalter	Säuglings-, Kindes- und Erwachsenenalter
<b>Immunhistochemische Befunde</b>	Intraalveoläre SP-A-Akkumulation		
	Kongenitaler <b>SP-B</b> Mangel und intraalveoläre Akkumulation eines partiell prozessierten <b>pro SP-C</b>	Intraalveoläre Akkumulation eines partiell prozessierten <b>proSP-B</b>	
<b>Ursache</b>	121 ins2, 122delT, weitere SFTPB Mutationen	Mutation / GM-CSF Autoantikörper	
<b>Klinischer Verlauf</b>	letal		nicht letal

## **I.E.2 Sekundäre pulmonale Alveolarproteinose**

Die sekundäre PAP ähnelt in ihren Symptomen der PAP des Erwachsenenalters. Es sind erworbene Formen, die durch verschiedene Grunderkrankungen, wie z.B. Infektionen der Lunge, HIV Infektionen, malignen lymphatischen oder hämatologischen Erkrankungen entstehen können. Die Inhalation von chemischen Substanzen, Rauchgas, Mineral-oder Metallsalzstäuben kann ebenfalls Ursache einer sekundären PAP sein<sup>13;15;46;48;65</sup>.

## I.F Zielsetzung

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit der Charakterisierung der verschiedenen Proteine und Lipide in der bronchoalveolären Lavage von juvenilen und adulten Patienten mit pulmonaler Alveolarproteinose. Sie gliedert sich in folgende vier Teilbereiche:

### A Biochemische Analyse einer Probe je Patient:

Es soll anhand einer definierten, repräsentativen und gut vergleichbaren BALF-Probe, die bei möglichst vielen Patienten verfügbar ist, ein möglichst großes Patientenkollektiv mit juveniler und adulter PAP mit Kontrollgruppen untersucht werden. Es werden Gesamtproteingehalt, GM-CSF Autoantikörpertiter und die Surfactantproteine A, B, C und D verglichen. Die Proteine SP-B und SP-C werden zusätzlich auf die Verteilung auf ihre verschiedenen Formen (Monomer, Dimer, Trimer und Tetramer) untersucht.

### B Auswaschkinetik:

Von BALF Proben einer ausgewählten Gruppe von juvenilen und adulten PAP Patienten soll die Auswaschkinetik der Gesamtproteins und der Surfactantproteine untersucht werden. Die BALF Proben eines Patienten mit Lipidpneumonitis konnten als Kontrolle verwendet werden. Dieser Patient wurde unter der histologischen Diagnose einer PAP einer Ganzlungenlavage unterzogen. Es sollen Unterschiede in den Konzentrationen pro ml Auswaschflüssigkeit, bezogen auf das Körpergewicht und den Proteingehalt, sowie in den absoluten Auswaschmengen pro Flasche der einzelnen Auswaschportionen untersucht werden.

### C Analyse der Phospholipide:

In je einer ausgewählten BALF Probe eines möglichst grossen Patientenkollektivs wurde die Lipidfraktion genauer analysiert. Es wurden Unterschiede in den Konzentrationen der einzelnen Lipidspezies zwischen den juvenilen und adulten PAP Patienten und einer Kontrollgruppe mit chronischer Bronchitis und einer gesunden Kontrollgruppe analysiert.

D Isolation von fibrillären Aggregaten aus der BAL:

Es sollen fibrilläre Aggregate aus SP-C aus bronchoalveolären Lavagen verschiedener PAP Patienten isoliert werden. Die Aggregate sollen mit immunhistochemischen und zytologischen Verfahren dargestellt werden und ihre Eigenschaften charakterisiert werden.

## **II Material und Methoden**

### **II.A Patienten-und Kontrollgruppen**

Das Patientenkollektiv konnte zum größten Teil für alle analytischen Untersuchungen verwendet werden. Bei den Kontrollgruppen war es auf Grund der Materialmenge nicht möglich jede analytische Untersuchung mit Proben aller Patienten durchzuführen. Insgesamt bestand das Patientenkollektiv aus 20 Patienten mit juveniler pulmonaler Alveolarproteinose (Pj01-Pj20) und 17 Patienten mit adulter pulmonaler Alveolarproteinose (Pa01-Pa17).

Die Kontrollgruppe setzte sich aus 16 Patienten mit chronischer Bronchitis (B01-B16) und 26 gesunden Kindern (C01-C26) zusammen. Bei den Kontrollgruppen wurden keine therapeutischen Ganzlungenlavagen (tBAL), sondern nur diagnostische Lavagen (dBAL) durchgeführt.

Da für die verschiedenen Fragestellungen der Arbeit unterschiedliche Patientenkollektive verwendet wurden, sind diese zu Beginn der jeweiligen Ergebnisteile aufgeführt und genauer erläutert. Klinikdaten aller verwendeten Patientenproben sind in den Tabellen in Kapitel II.C.1 bis II.C.4 zusammengestellt.

### **II.B Probengewinnung mittels einer bronchoalveolären Lavage (BAL)**

Die jüngeren juvenilen Patienten mit PAP wurden auf Grund der kleineren Verhältnisse durch einen Pulmonalarterienkatheter, der im rechten bzw. linken Stammbronchus fixiert wurde, lavagiert. Zuerst wurde eine diagnostische Lavage (dBAL) durchgeführt. Es wurde viermal ein Volumen von 1 ml/kg Körpergewicht einer auf Körpertemperatur vorgewärmten 0,9 % Kochsalzlösung instilliert und sofort wieder abgesaugt. Der wiedergewonnene erste Teil der Spülflüssigkeit wurde separat von den übrigen 3 Spülportionen als erste Fraktion (dBALF\_1.Frkt.) aufgefangen und mikrobiologisch untersucht. Die restlichen drei Volumina wurden zu einer Poolfraktion (dBALF\_Pool) zusammengefasst. Die anschließende therapeutische Lavage (tBAL) wurde mit jeweils 50 ml 0,9 % Kochsalzlösung durchgeführt, bis die abgesaugte BAL Flüssigkeit (tBALF) nach visueller Prüfung

ausreichend klar erschien. Die zurückerhaltenen Volumina wurden in ca. 500 ml große Portionen abgeteilt und mit fortlaufenden Nummern beschriftet (tBALF\_Fl.1, usw.).

Bei den größeren juvenilen Patienten und einigen adulten Patienten wurde die Lavage mittels einem im Segmentbronchus fixierten (wedged) Bronchoskop durchgeführt. Es wurde eine Poolfraktion gewonnen, indem ein Volumen von ca. 3 ml/kg Körpergewicht instilliert und sofort wieder abgesaugt wurde. Anschließend wurde eine therapeutische Lavage (tBAL) durchgeführt. Dafür wurde eine Lungenseite mit einem Doppellumentubus beatmet, während die andere Seite mit auf Körpertemperatur vorgewärmter 0,9 % Kochsalzlösung solange gespült wurde, bis die abgesaugte Flüssigkeit ausreichend klar war. Die gewonnene Spülflüssigkeit wurde in 1000 ml Portionen gesammelt, welche mit fortlaufenden Nummern beschriftet wurden (tBALF-Fl.1, usw.). Bei einigen adulten PAP Patienten wurde die Spülflüssigkeit der therapeutischen Lavage zusammen gesammelt, diese Proben werden als tBALF\_Pool bezeichnet.

Die Patienten mit chronischer Bronchitis wurden über ein in wedge-position eingebrachtes Bronchoskop lavagiert, wie in Tabelle II.B.I für die dBALF dargestellt ist. Analog wurde die gesunde Kontrollgruppe unmittelbar nach der Intubation über den liegenden Tubus über ein in wedge-position befindlichen Absaugkatheter mit Endloch lavagiert. Dazu wurde der Kopf des Kindes auf die linke Seite gelegt, um den rechten Unterlappen zu lavagieren oder umgekehrt. Es wurde nur eine diagnostische Lavage durchgeführt, indem viermal eine auf Körpertemperatur vorgewärmte 0,9 % Kochsalzlösung instilliert und sofort wieder abgesaugt wurde. Das Volumen betrug jeweils 1 ml/kg Körpergewicht. Die erste Spülportion der diagnostischen Lavage wurde getrennt als 1. Fraktion (dBALF\_1.Frkt.) gesammelt, die Fraktionen 2-4 wurden als Pool zusammengefasst (dBALF\_Pool).

**Tabelle II.B.1:** Übersicht der verschiedenen BALF

Kategorie	Kurzbezeichnung	Definition	Kommentar
<b>dBALF</b>	dBALF_1.Frkt.	1.Fraktion = 1ml/kg KG	
	dBALF_Pool	2.-4. Fraktion = 3x 1ml/kg KG	
<b>tBALF</b>	tBALF_Fl.X	Flasche (Kinder) = 500ml Flasche (Erwachsene) = 1000ml	wenn bekannt, wurden genaue Auswaschvolumina verwendet
	tBALF_Pool	Alle tBALF_Fl. wurden gepoolt und davon ein Aliquot verwendet	
dBALF tBALF KG	diagnostische bronchoalveoläre Lavageflüssigkeit therapeutische bronchoalveoläre Lavageflüssigkeit Körpergewicht		

## II.C Klinik

### II.C.1 PAP juvenil

Tabelle II.C.1.1: Klinik PAP juvenil

Code	Geschlecht	Geburtsdatum	Gewicht (kg)	Alter bei Diagnosestellung (Monate)	Bronchitis	Entwicklungsstörungen	Methode der Diagnosestellung	Arzneimittelgabe für Lunge	Konsanguinität
Pj01	w	20.04.1998	14,5	21	J	J	OLB+BAL, CT	keine	N
Pj02	w	29.07.2002	4,5	3,96	N	J	OLB+BAL, CT	Fortecortin, Furosemid	
Pj03	m	20.10.2000	4,3	0,96	N	J	OLB+BAL, CT	Fortecortin, Furosemid	N
Pj04	w	17.12.1995	30	109	N	J	TBB+BAL, CT	keine	N
Pj05	m	01.10.2002	4,2	4	N	J	OLB+BAL, CT	keine	N
Pj06	m	25.06.1996	25,8	87	N	J	OLB+BAL, CT	keine	N
Pj07	m	25.11.1997	11,7	35	N	J	OLB+BAL, CT	keine	N
Pj08	m	18.05.1998	8,2	16	N	N	BAL, CT	keine	N
Pj09	m	30.01.1997	7	20	J	J	OLB+BAL, CT	Methylprednisolon	N
Pj10	m	21.03.2000	3,77	4	J	J	BAL, CT	keine	N
Pj11	m	17.04.2001	11	28	J	J	BAL, CT	keine	N
Pj12	m	20.02.2002	9	16	N	J	BAL, CT	keine	N
Pj13	w	20.09.2001	3	5	N	J	BAL, CT	keine	J
Pj14	m	18.02.1995	13,4	45	N	J	OLB+BAL, CT	keine	J
Pj15	w	14.03.1994	13,6	16	J	J	BAL, CT	keine	N
Pj16	w	16.12.1998	4,7	10	N	J	BAL, CT	keine	N
Pj17	w	20.06.1998	6,7	9	n.b.	J	OLB+BAL, CT	keine	N
Pj18	m	11.01.1991	7	4	N	J	OLB+BAL, CT	keine	N
Pj19	m	16.06.1992	10,6	3	J	J	TBB+BAL, CT	keine	N
Pj20	m	01.07.1997	5,9	3	N	J	BAL, CT	Clarithromycin	N

w weiblich  
m männlich  
J Ja  
N Nein  
OLB Offene Lungenbiopsie  
BAL Bronchoalveoläre Lavage  
Ct Computertomographie  
TBB Transbronchiale Biopsie

## II.C.2 PAP adult

Tabelle II.C.2.1: Klinik PAP adult

Code	Geschlecht	Geburtsdatum	Gewicht (kg)	Alter bei Diagnosestellung (Jahre)	Bronchitis	Methode der Diagnosestellung	Arzneimittelgabe für Lunge
Pa01	w	08.09.1961	70*	39,51	J	TBB	keine
Pa02	w	03.03.1962	56	38,96	J	TBB, BAL	keine
Pa03	w	17.04.1953	68	49,02	N	TBB	keine
Pa04	w	10.12.1964	56	39,73	N	BAL	keine
Pa05	m	14.01.1952	80*	51,31	J	BAL, CT	Triamcinolon i.m.
Pa06	m	18.06.1960	91	43,29	N	OLB, BAL, CT	keine
Pa07	w	22.02.1971	70*	33,60	n.bek.	n.bek.	keine
Pa08	m	15.02.1961	80*	42,89	J	OLB, BAL	keine
Pa09	w	12.04.1938	70*	66,23	N	BAL	keine
Pa10	m	11.10.1951	72	52,47	J	n.b	keine
Pa11	m	04.10.1971	112	32,35	N	n.b	keine
Pa12	m	10.08.1960	110	44,04	N	BAL	keine
Pa13	m	21.04.1958	80*	44,84	N	BAL	keine
Pa14	m	n.bek.	59	n.bek.	n.bek.	n.bek.	n.bek.
Pa15	m	09.12.1953	80	52,09	n.bek.	n.bek.	n.bek.
Pa16	w	22.12.1973	68	32,03	N	TBB, BAL	Kortikoide
w weiblich m männlich J JA N Nein OLB Offene Lungenbiopsie BAL Bronchoalveoläre Lavage Ct Computertomographie TBB Transbronchiale Biopsie							

## II.C.3 Bronchitis

Tabelle II.C.3.1: Klinik Bronchitis

Code	Geschlecht	Geburtsdatum	Gewicht (kg)	Datum der BAL	Alter bei Diagnosestellung (Jahre)	Pneumonie	β-Mimetika inhalativ	Steroide inhalativ
B01	w	17.12.1998	31	15.04.1999	6,5	einige	N	N
B02	w	24.04.1994	22	13.11.1998	4,5	einige	N	N
B03	w	24.02.1982	54	16.11.1998	16	1	J	N
B04	w	06.10.2000	18	30.09.1994	2	>4	J	ja
B05	m	05.03.2004	8	18.11.2004	0,4	N	N	N
B06	w	15.07.1998	9	23.02.1999	seit Geburt	1	J	ja
B07	w	12.09.1996	14	30.07.1999	seit Geburt	N	J	N
B08	m	14.02.1998	6,2	07.10.1998	seit Geburt	N	J	J
B09	m	27.09.1994	18	10.12.1998	4	nein	J	N
B10	w	25.12.2000	17,8	11.02.2004	1,5	einige	J	ja, auch p.o.
B11	m	20.06.1995	11,8	05.06.1997	n.bek.	einige	n.bek.	n.bek.
B12	m	11.08.2003	8	16.04.2004	seit Geburt	N	N	N
B13	m	25.12.1999	12	21.01.2004	3	N	J	J
B14	m	07.07.2001	11	11.12.2003	n.bek.	N	J	J
B15	m	07.12.2002	10	22.03.2004	1	N	J	N
B16	w	16.07.2003	7,2	17.06.2004	0,5	J	N	N
m	männlich							
w	weiblich							
J	JA							
N	Nein							

## II.C.4 Gesunde Kontrollen

Tabelle II.C.4.1: Klinik, gesunde Kontrollen

Code	Geschlecht	Geburtsdatum	Gewicht (kg)	Datum der BAL	Asthma	Pneumonie	Immunsupprimiert
C01	w	21.04.1997	13	08.12.1998	N	N	N
C02	m	08.08.1993	20	17.12.1994	n.bek.	n.bek.	n.bek.
C03	m	23.04.1996	11,3	22.02.1999	N	N	N
C04	m	26.10.1994	11	26.01.1999	N	N	N
C05	w	09.09.1997	11	24.02.1999	N	N	N
C06	m	24.07.1998	8,5	25.02.1999	N	N	N
C07	w	31.08.1998	7	01.03.1999	N	N	N
C08	m	01.12.1997	10	02.03.1999	N	N	N
C09	m	09.07.1997	11	12.10.1999	N	N	N
C10	m	17.05.1990	36	07.12.2000	n.bek.	N	n.bek.
C11	m	15.09.1992	25	29.05.2001	N	N	N
C12	m	07.08.1997	17	07.06.2002	n.bek.	n.bek.	n.bek.
C13	w	01.01.1995	25	03.07.2001	N	N	N
C14	w	19.06.1997	17	18.07.2001	n.bek.	N	n.bek.
C15	m	05.05.1991	29	12.02.2002	N	N	N
C16	m	16.05.1992	35	20.07.2001	N	N	N
C17	w	19.07.1994	25,4	20.02.2002	n.bek.	n.bek.	n.bek.
C18	n.bek.	1978	n.bek.	2002	n.bek.	n.bek.	n.bek.
C19	n.bek.	1975	n.bek.	2002	n.bek.	n.bek.	n.bek.
C20	n.bek.	1979	n.bek.	2002	n.bek.	n.bek.	n.bek.
C21	n.bek.	1977	n.bek.	2002	n.bek.	n.bek.	n.bek.
C22	n.bek.	1978	n.bek.	2002	n.bek.	n.bek.	n.bek.
C23	n.bek.	1975	n.bek.	2002	n.bek.	n.bek.	n.bek.
C24	n.bek.	1977	n.bek.	2002	n.bek.	n.bek.	n.bek.
C25	n.bek.	n.bek.	n.bek.	2002	n.bek.	n.bek.	n.bek.
C26	n.bek.	n.bek.	n.bek.	2002	n.bek.	n.bek.	n.bek.
m	männlich						
w	weiblich						
J	JA						
N	Nein						

## II.D Methoden

### II.D.1 Quantitative Proteinbestimmung nach Bradford

#### Material:

- Bio Rad Proteinassay Farbstoffreagenz (Bio-Rad Laboratories GmbH)
- Mikrotiterplatten (Greiner, 96 Vertiefungen, niedrigaffin, transparent)
- BioRad Protein Assay (Nr. 500-0006)
- Anthos Ht III Mikrotiterplattenleser (Anthos Labtec Instruments, Typ 12600)
- BSA V (Paesel+Lorei, Nr. 4607/ 0433)
- BALF-Proben
- Wasser: Aqua ad inj. (Braun Melsungen AG, No. 3703452)
- PBS-Puffer:

Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,178 g
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1,56 g
NaCl	8,76 g
in 1l H <sub>2</sub> O lösen	auf pH 7,4 einstellen

#### Methode:

Der BioRad Protein Essay nach der Methode von Bradford wurde zur Bestimmung der Gesamtproteinkonzentration in der BAL verwendet.

Das BioRad Reagenz wird dabei 1:5 mit Aqua ad inj. verdünnt und filtriert, um Präzipitate abzutrennen. Anschließend wurde diese zu jeder Probe sowie zu der Standardreihe, bestehend aus abnehmenden BSA-Konzentrationen in PBS Puffer (5000 µg/ml, 2500 µg/ml, 625 µg/ml, 312,5 µg/ml, 78,15 µg/ml) hinzugegeben. Die Messung der Standards und der Proben erfolgte als Doppelbestimmung. Je 5 µl der Proben wurden mit 100 µl des BioRad Reagenzes (1:5 verdünnt) versetzt.

Im Mikrotiterplattenleser wurde anschließend die optische Dichte abzüglich des Leerwertes (Leerwert = BioRad Reagenz + PBS) ermittelt und mit Hilfe der Standardreihe in Proteinkonzentrationen umgerechnet.

## II.D.2 Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA)

### Material:

- Aqua ad injectabilia (Braun Melsungen AG, No. 3703452)
- Ethylendiamintetraessigsäure–Natrium (Merck 324503)
- Triton X-100 (Sigma No. 9002-93-1)
- Bovines Serum Albumin V, BSAV (Paesel+Lorei No. 42160223)
- 2,2-Azino-di-[3-ethyl-benzthiazolin-sulphonate-(6)] = ABTS (Boehringer Nr. 1112427)
- 2,2-Azino-di-[3-ethyl-benzthiazolin-sulphonate-(6)] Puffer= ABTS-Puffer (Boehringer No. 1112597)
- Wasserstoffperoxid 30% (Merck No. 107298)
- IPS Heizblock für Mikrotiterplatten (Sanofi)
- Anthos Ht III Mikrotiterplattenleser (Anthos Labtec Instruments, Typ 12600)
- Mikrotiterplatten (Nunc, Maxisorp C96)
- Ultraschallbad (Sonorex RX 100)
- Carbonatpuffer:

Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	15 mM
NaHCO <sub>3</sub>	35 mM
in H <sub>2</sub> O lösen	auf pH 9,6 einstellen

### SP-A:

- Festphasenantikörper PE-10, monoklonaler Maus Antikörper gegen humanes SP-A (Dr. Kuroki, International Reagents Corp., Kobe, Japan)
- „Sandwich“ Antikörper SP-A, polyklonaler Kaninchen Antikörper gegen humanes rekombinantes SP-A (ByK Gulden, Konstanz, Deutschland)
- Anti Kaninchen IgG von Ziege gekoppelt mit Meerrettichperoxidase (Dianova, Hamburg, #205-035-108)
- Standard Antigen A: humanes rekombinantes SP-A (rh-SP-A, SPA/00-02, Byk Gulden, Konstanz)
- TBS Puffer für SP-A:

Tris-HCl	10 mM
NaCl	140 mM
Triton-X 100	0,1 %
in H <sub>2</sub> O lösen	auf pH 7,4 einstellen

SP-D:

- Anti-Surfactant Protein D (humanes SP-D) HYB 245-02+246-08 (Antibodyshop, Gentofte, Dänemark)
- „Sandwich“ Antikörper SP-D, monoklonaler Maus-Antikörper gegen Ratten SP-D (BMA Biomedicals)
- Anti Kaninchen IgG von Ziege gekoppelt mit Meerrettichperoxidase (Dianova, #205-035-108, Hamburg Deutschland)
- Standard Antigen D: humanes rekombinantes SP-D (Dr. E. Crouch, St Louis, USA)
- TBS Puffer für SP-D:

Tris-HCl	10 mM
NaCl	140 mM
Triton-X 100	0,1 %
CaCl	5 mM
in H <sub>2</sub> O lösen	auf pH 7,4 einstellen

**II.D.2.1 Quantitative SP-A Bestimmung**

Coating: Der Festphasenantikörper PE-10 wurde in Carbonatpuffer gelöst und in einer Konzentration von 1 µg/ml und einem Volumen von 100 µl in die Wells einer Mikrotiterplatte pipettiert. Die Platte wurde mit Parafilm bedeckt und über Nacht bei 4°C inkubiert.

Blocking: Die Lösung und mit ihr der nicht gebundene Antikörper wurde dekantiert und verworfen. Um die Bindung der nachfolgend hinzugefügten Proteine an die Festphase zu verhindern, wurde die Platte eine Stunde bei 37°C mit 10 mg/ml BSA, gelöst in TBS Puffer, inkubiert. Es wurden jeweils 200 µl in jedes Well pipettiert.

Inkubation mit Antigen: Als Standard Antigen wurde SP-A in Verdünnungen von 100 ng/ml bis 1,56 ng/ml in Blockpuffer gelöst aufgetragen. Es wurden 2 Standardreihen erstellt, wobei durch zweifache Verdünnung über 7 Wells der Messbereich des Assays festgelegt wurde. Wells wurden für den Leerwert nur mit Blockpuffer gefüllt. Die Proben wurden mit einem 10 mM EDTA enthaltenen TBS Puffer fünffach verdünnt, im Ultraschallbad 1 Minute homogenisiert und mit Triton X 22 % ,gelöst in H<sub>2</sub>O, auf eine 5,5 fache Verdünnung eingestellt. Anschließend wurde

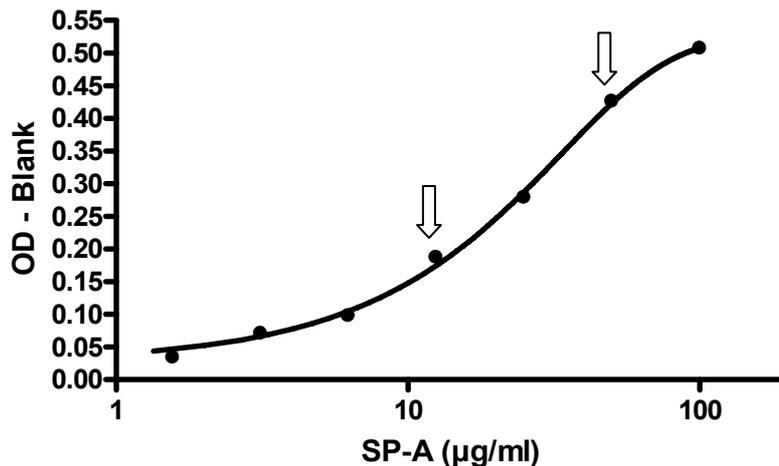
10 Minuten bei 10.000 g zentrifugiert. 100  $\mu$ l des Überstandes wurden auf der Platte sequenziell 1:1 mit Blockpuffer verdünnt. Die Platten wurden bei 37°C eine Stunde auf dem IPS Inkubator inkubiert.

Inkubation mit 2. Antikörper: Nun erfolgte die Entfernung aller ungebundenen Reagenzien, indem jedes Well dreimal mit Pufferlösung gefüllt und anschließend wieder abgesaugt wurde. Anschließend wurden 100  $\mu$ l des SP-A „Sandwich“ Antikörpers in einer zehntausendfachen Verdünnung in Blockpuffer (1 % BSA in TBS Puffer) aufgetragen und eine Stunde bei 37°C inkubiert.

Detektion des Intermediärkomplexes: Daraufhin wurde wieder mit Pufferlösung 3 mal gewaschen und dann der Intermediärkomplex detektiert, indem das anti-Kaninchen IgG, meerrettichperoxidasekonjugiert, 1:5000 verdünnt in TBS Puffer, einpipettiert wurde. Wiederum erfolgte eine Inkubation bei 37°C mit dreimaligen Waschen.

Substratreaktion: Als Substratreaktion wurde nun ABTS durch die Peroxidase des 2. Antikörpers in ein chromophores Produkt umgesetzt. Dazu wurde ABTS in einer Konzentration von 1 mg/ml im ABTS Puffer angesetzt, mit 30 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> versetzt (Endkonzentration 0,001 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) und jeweils 100  $\mu$ l davon aufgetragen. Die Platte wurde anschließend mit Aluminiumfolie bedeckt und 30–60 Minuten auf einem Schüttler inkubiert.

Detektion: Zur Quantifizierung der Färbung wurde die Absorption bei einer Wellenlänge von 405 nm gemessen. Die Berechnung der Standardkurve aus den zwei Standardreihen und dem Leerwert sowie die davon abhängige Berechnung der Messwerte erfolgte mit der speziellen Biolise Software. Als optimaler Messbereich wurde derjenige Abschnitt auf der Standardkurve festgelegt, welcher ein mindestens doppeltes Signal des Leerwertes aufwies und in dem eine ausreichende Steigung vorlag.



**Abbildung II.D.2.1.1:** Beispiel einer Standardkurve. Der Bereich zwischen den Pfeilen markiert den optimalen Messbereich von 0,15 bis 0,45 OD. Der Leerwert war OD 0,11.

Um die Zuverlässigkeit des Messverfahrens zu überprüfen, wurden die Intra- und die Inter-Assay-Variabilitäten der Standardkurven berechnet. Für die Intra-Assay-Variabilität wurden die Werte der Doppelbestimmung ( $n=2$ ) von 3 unterschiedlichen Standardkurven analysiert. Für die Inter-Assay-Variabilität wurden die Doppelbestimmungen von jeweils 2 Standardkurven in 3 verschiedenen Assays ( $n=6$ ) untersucht.

**Tabelle II.D.2.1.1:** Intra- und Inter-Assay-Variabilität (SP-A Standard)

Standard SP-A (µg/ml)	1,5625	3,125	6,24	12,5	25	50	100
<b>Inter-Assay Variabilität</b>							
Mittelwert (OD-Leerwert)	0,04	0,07	0,12	0,19	0,28	0,37	0,44
Standardabweichung	0,02	0,02	0,04	0,05	0,07	0,10	0,09
Variationskoeffizient	51.43%	35.16%	35.17%	25.23%	24.93%	26.49%	19.99%
<b>Intra-Assay Variabilität, Standardkurve 1</b>							
Mittelwert (OD-Leerwert)	0,02	0,04	0,08	0,14	0,20	0,25	0,33
Standardabweichung	0,00	0,01	0,01	0,00	0,00	0,01	0,01
Variationskoeffizient	0.00%	16.64%	7.21%	1.57%	2.45%	4.57%	2.78%
<b>Intra-Assay Variabilität, Standardkurve 2</b>							
Mittelwert (OD-Leerwert)	0,03	0,06	0,10	0,20	0,28	0,40	0,47
Standardabweichung	0,00	0,01	0,01	0,01	0,00	0,04	0,05
Variationskoeffizient	0.00%	14.25%	6.87%	7.52%	1.26%	10.14%	10.81%
<b>Intra-Assay Variabilität, Standardkurve 3</b>							
Mittelwert (OD-Leerwert)	0,06	0,09	0,16	0,24	0,36	0,45	0,51
Standardabweichung	0,02	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01	0,01
Variationskoeffizient	33.84%	13.91%	11.64%	4.70%	3.96%	1.40%	2.08%

## II.D.2.2 Quantitative SP-D Bestimmung

Coating: Der Festphasenantikörper HYB245-02+246-08 (1:1) wurde in Carbonatpuffer gelöst und in einer Konzentration von 1 µg/ml und einem Volumen von 100 µl in die Wells einer Mikrotiterplatte pipettiert. Die Platte wurde mit Parafilm bedeckt und über Nacht bei 4°C inkubiert.

Blocking: Die Lösung und mit ihr der nicht gebundene Antikörper wurde dekantiert und verworfen. Um die Bindung unspezifischer Proteine an die Festphase zu verhindern, wurde die Platte eine Stunde bei 37°C mit 10 mg/ml BSA, gelöst in TBS Puffer, inkubiert. Es wurden jeweils 200 µl in jedes Well pipettiert.

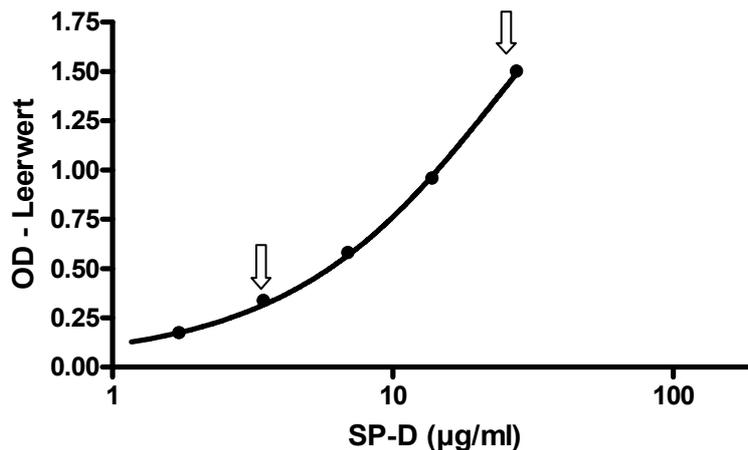
Inkubation mit Antigen: Als Standard Antigen wurde SP-D in Verdünnungen von 0,43 µg/ml bis 27,7 µg/ml in Blockpuffer gelöst aufgetragen. Es wurden 2 Standardreihen erstellt, wobei durch zweifache Verdünnung über 7 Wells der Messbereich des Assays festgelegt wurde. Wells wurden für den Leerwert nur mit Blockpuffer gefüllt. Die nativen Proben wurden zweifach in Blockpuffer verdünnt und auf der Platte wiederum sequenziell 1:1 mit Blockpuffer verdünnt und davon 100 µl in jedes Well aufgetragen. Die Platten wurden eine Stunde bei 37°C inkubiert.

Inkubation mit 2. Antikörper: Nun erfolgte die Entfernung aller ungebundenen Reagenzien, indem jedes Well dreimal mit Pufferlösung gefüllt, und anschließend wieder abgesaugt wurde. Anschließend wurde der SP-D „Sandwich“ Antikörper in einer Verdünnung von 1:40000 in Blockpuffer (1 % BSA in TBS Puffer) aufgetragen und eine Stunde bei 37°C inkubiert.

Detektion des Intermediärkomplexes: Daraufhin wurde wieder mit Pufferlösung 3 mal gewaschen und anschließend der Intermediärkomplex detektiert, indem das anti-Kaninchen IgG, Meerrettichperoxidase gekoppelt, 1:10000 verdünnt in TBS Puffer, einpipettiert wurde. Wiederum erfolgte eine Inkubation bei 37°C mit anschließendem dreimaligen Waschen.

Substratreaktion: Als Substratreaktion wurde nun ABTS durch die Peroxidase des 2. Antikörpers in ein chromophores Produkt umgesetzt. Dazu wurde ABTS in einer Konzentration von 1 mg/ml im ABTS Puffer angesetzt, mit 30 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> versetzt (Endkonzentration 0,001 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) und jeweils 100 µl davon aufgetragen. Die Platte wurde anschließend mit Aluminiumfolie bedeckt und 30–60 Minuten auf einem Schüttler inkubiert.

Detektion: Zur Quantifizierung der Färbung wurde die Absorption bei einer Wellenlänge von 405 nm gemessen. Die Berechnung der Standardkurve aus den zwei Standardreihen und dem Leerwert sowie die davon abhängige Berechnung der Messwerte erfolgte mit der speziellen Biolise Software. Als optimaler Messbereich wurde derjenige Abschnitt auf der Standardkurve festgelegt, welcher ein mindestens doppeltes Signal des Leerwertes aufwies und in dem eine ausreichende Steigung vorlag.



**Abbildung II.D.2.2.1:** Beispiel einer Standardkurve. Der Bereich zwischen den Pfeilen markiert den optimalen Messbereich von 0,25 bis 1,5 OD. Der Leerwert war OD 0,11.

Um die Zuverlässigkeit des Messverfahrens zu überprüfen, wurden die Intra- und die Inter-Assay-Variabilitäten der Standardkurven berechnet. Für die Intra-Assay-Variabilität wurden die Werte der Doppelbestimmung ( $n=2$ ) von 3 unterschiedlichen Standardkurven analysiert. Für die Inter-Assay-Variabilität wurden die Doppelbestimmungen von jeweils 2 Standardkurven in 3 verschiedenen Assays ( $n=6$ ) untersucht.

**Tabelle II.D.2.2.1:** Intra- und Inter-Assay-Variabilität (SP-D Standard)

Standard SP-D (µg/ml)	0,43	0,87	1,74	3,47	6,95	13,89	27,78
<b>Inter-Assay Variabilität</b>							
<b>Mittelwert (OD-Leerwert)</b>	0,10	0,15	0,27	0,48	0,79	1,27	1,79
<b>Standardabweichung</b>	0,04	0,06	0,10	0,13	0,18	0,30	0,32
<b>Variationskoeffizient</b>	42.62%	35.92%	38.50%	27.58%	23.02%	23.48%	18.02%
<b>Intra-Assay Variabilität, Standardkurve 1</b>							
<b>Mittelwert (OD-Leerwert)</b>	0,05	0,09	0,15	0,33	0,58	0,95	1,53
<b>Standardabweichung</b>	0,01	0,01	0,03	0,01	0,00	0,01	0,04
<b>Variationskoeffizient</b>	14.43%	16.07%	18.73%	2.80%	0.37%	0.97%	2.69%
<b>Intra-Assay Variabilität, Standardkurve 2</b>							
<b>Mittelwert (OD-Leerwert)</b>	0,13	0,21	0,29	0,49	0,81	1,26	1,63
<b>Standardabweichung</b>	0,03	0,01	0,03	0,02	0,00	0,01	0,01
<b>Variationskoeffizient</b>	26.83%	4.40%	10.60%	5.10%	0.44%	0.95%	0.56%
<b>Intra-Assay Variabilität, Standardkurve 3</b>							
<b>Mittelwert (OD-Leerwert)</b>	0,13	0,17	0,37	0,62	0,98	1,61	2,20
<b>Standardabweichung</b>	0,01	0,00	0,05	0,04	0,04	0,10	0,03
<b>Variationskoeffizient</b>	5.36%	2.14%	13.84%	6.63%	3.83%	6.46%	1.35%

### II.D.3 GM-CSF Assay

#### Material:

- Aqua ad injectabilia (Braun Melsungen AG, No. 3703452)
- GM-CSF Antigen (Novartis Pharma AG, Schweiz)
- Triton X-100 (Sigma No. 9002-93-1)
- Bovines Serum Albumin V, BSAV (Paesel+Lorei No. 42160223)
- 2,2-Azino-di-[3-ethyl-benzthiazolin-sulphonate-(6)] = ABTS (Boehringer Nr. 1112427)
- 2,2-Azino-di-[3-ethyl-benzthiazolin-sulphonate-(6)] Puffer = ABTS-Puffer (Boehringer No. 1112597)
- Wasserstoffperoxid 30% (Merck No. 107298)
- IPS Heizblock für Mikrotiterplatten (Sanofi)
- Anthos Ht III Mikrotiterplattenleser (Anthos Labtec Instruments, Typ 12600)
- Mikrotiterplatten (Nunc, Maxisorp C96)
- Ultraschallbad (Sonorex RX 100)
- TBS Puffer:

Tris-HCl	10 mM
NaCl	140 mM
Triton-X 100	0,1 %
in H <sub>2</sub> O lösen	auf pH 7,4 einstellen

## ▪ Carbonatpuffer:

Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	15 mM
NaHCO <sub>3</sub>	35 mM
in H <sub>2</sub> O lösen	auf pH 9,6 einstellen

Coating: Das Antigen GM-CSF wurde in Carbonatpuffer gelöst und in einer Konzentration von 1 µg/ml und einem Volumen von 100 µl in die Wells einer Mikrotiterplatte pipettiert. Die Platte wurde mit Parafilm bedeckt und eine Stunde bei 37°C inkubiert.

Blocking: Die Lösung und mit ihr das nicht gebundene Antigen wurde dekantiert und verworfen. Um die Bindung unspezifischer Proteine an die Festphase zu verhindern, wurde die Platte eine Stunde bei 37°C mit 10 mg/ml BSA, gelöst in TBS Puffer, inkubiert. Es wurden jeweils 200 µl in jedes Well pipettiert. Dann erfolgte die Entfernung aller ungebundenen Reagenzien, indem jedes Well dreimal mit Pufferlösung gefüllt, und anschließend wieder abgesaugt wurde.

Inkubation mit Autoantikörper: Als Positivkontrolle wurde das Serum bzw. die BALF eines PAP Patienten mit hohen GM-CSF Titern verwendet. Die Positivkontrolle und die Proben wurden bei Serumproben in den Verdünnungen 1:750, 1:1500, 1:3000, 1:14500, 1:6000 und 1:7500 aufgetragen. Bei BAL Proben wurden diese unverdünnt und in den Verdünnungen 1:4, 1:10, 1:100 und 1:500 aufgetragen. Wells wurden für den Leerwert nur mit Blockpuffer gefüllt. Alle Proben wurden als Doppelbestimmung aufgetragen und mit TBS verdünnt. Die Platten wurden eine Stunde bei 37°C inkubiert.

Inkubation mit Antikörper: Nun wurde die Platte ausgeschlagen und 100 µl des 1. Antikörpers in einer Verdünnung 1:6000 in Blockpuffer (1 % BSA in TBS Puffer) in jedes Well pipettiert. Die Platte wurde eine Stunde bei 37°C inkubiert.

Detektion / Substratreaktion: Daraufhin wurde wieder mit Pufferlösung 3-mal gewaschen. Als Substratreaktion wurde nun ABTS direkt durch den Antikörper in ein chromophores Produkt umgesetzt. Dazu wurde ABTS in einer Konzentration von 1 mg/ml im ABTS Puffer angesetzt, mit 30 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> versetzt (Endkonzentration 0,001 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) und jeweils 100 µl davon aufgetragen. Die Platte wurde anschließend mit Aluminiumfolie bedeckt und 15 Minuten auf einem Schüttler inkubiert.

Detektion: Zur Quantifizierung der Färbung wurde die Absorption bei einer Wellenlänge von 405 nm gemessen. Die Titer der GM-CSF Autoantikörper werden als Vielfache der optischen Dichte (OD) des Leerwerts angegeben.

Um die Zuverlässigkeit des Messverfahrens zu überprüfen, wurden die Intra- und die Inter-Assay-Variabilitäten der Standardkurven der GM-CSF Analyse in der BALF und im Serum berechnet. Für die Intra-Assay-Variabilität wurden jeweils die Werte der Doppelbestimmung (n=2) von 3 unterschiedlichen Standardkurven analysiert. Für die Inter-Assay-Variabilität wurden jeweils die Doppelbestimmungen von jeweils 2 Standardkurven in 3 verschiedenen Assays (n=6) untersucht.

**Tabelle II.D.3.1:** Intra- und Inter-Assay-Variabilität (GM-CSF, BALF)

Standard SP-D (BALF)	Blank	1:1000	1:500	1:100	1:20	1:10	1:4
<b>Inter-Assay Variabilität</b>							
<b>Mittelwert</b>	0,09	0,31	0,41	0,52	0,74	0,91	1,19
<b>Standardabweichung</b>	0,02	0,07	0,03	0,11	0,32	0,19	0,12
<b>Variationskoeffizient</b>	17.57%	22.70%	8.22%	21.69%	43.30%	20.81%	10.39%
<b>Intra-Assay Variabilität, Standardkurve 1</b>							
<b>Mittelwert</b>	0,10	0,22	0,45	0,67	1,15	1,08	1,34
<b>Standardabweichung</b>	0,02	0,001	0,02	0,02	0,03	0,31	0,02
<b>Variationskoeffizient</b>	16.85%	0.65%	5.06%	3.71%	2.70%	28.47%	1.63%
<b>Intra-Assay Variabilität, Standardkurve 2</b>							
<b>Mittelwert</b>	0,10	0,34	0,39	0,45	0,52	0,86	1,15
<b>Standardabweichung</b>	0,02	0,006	0,02	0,03	0,07	0,01	0,02
<b>Variationskoeffizient</b>	20.40%	1.87%	4.49%	5.67%	14.00%	1.16%	1.42%
<b>Intra-Assay Variabilität, Standardkurve 3</b>							
<b>Mittelwert</b>	0,08	0,36	0,38	0,45	0,56	0,80	1,08
<b>Standardabweichung</b>	0,0007	0,004	0,005	0,004	0,01	0,01	0,01
<b>Variationskoeffizient</b>	0.89%	0.98%	1.29%	0.94%	1.53%	1.24%	1.31%

**Tabelle II.D.3.2:** Intra- und Inter-Assay-Variabilität (GM-CSF, Serum)

Standard GM-CSF (Serum)	Blank	1:7500	1:6000	1:4500	1:3000	1:1500
<b>Inter-Assay Variabilität</b>						
<b>Mittelwert</b>	0,10	0,35	0,39	0,46	0,57	0,80
<b>Standardabweichung</b>	0,02	0,02	0,02	0,04	0,07	0,05
<b>Variationskoeffizient</b>	22.99%	4.42%	4.42%	7.68%	12.85%	5.73%
<b>Intra-Assay Variabilität, Standardkurve 1</b>						
<b>Mittelwert</b>	0,11	0,36	0,41	0,48	0,63	0,80
<b>Standardabweichung</b>	0,03	0,01	0,003	0,01	0,08	0,004
<b>Variationskoeffizient</b>	31.43%	2.96%	0.69%	2.78%	13.23%	0.44%
<b>Intra-Assay Variabilität, Standardkurve 2</b>						
<b>Mittelwert</b>	0,08	0,35	0,39	0,49	0,59	0,84
<b>Standardabweichung</b>	0,0	0,001	0,004	0,02	0,005	0,0007
<b>Variationskoeffizient</b>	0.00%	0.40%	0.90%	3.46%	0.84%	0.08%
<b>Intra-Assay Variabilität, Standardkurve 3</b>						
<b>Mittelwert</b>	0,11	0,33	0,37	0,42	0,49	0,75
<b>Standardabweichung</b>	0,02	0,02	0,01	0,004	0,02	0,04
<b>Variationskoeffizient</b>	17.60%	5.72%	3.97%	0.84%	4.03%	5.20%

## II.D.4 1D Gelelektrophorese und Westernblotanalyse

### Material:

### Elektrophorese:

- Microcon Zentrifugenfilter, Ausschlussgrenze 3000 Dalton (Millipore)
- NuPAGE MES Running Buffer (Invitrogen, NP0002)
- NuPAGE MOPS Running Buffer (Invitrogen, NP0001)
- NuPAGE LDS Sample Buffer (Invitrogen, NP0007)
- Aqua ad injectabilia (Braun Melsungen AG, No. 3703452)
- NuPAGE Reducing Agent (Invitrogen, NP0004)
- Probenpuffer mit Reducing Agent:

LDS Sample Buffer	25 %
Reducing Agent	10 %
H <sub>2</sub> O	65 %

- Probenpuffer ohne Reducing Agent:

LDS Sample Buffer	25 %
H <sub>2</sub> O	75 %

- NuPAGE Novex 10% Bis-Tris Gel (Invitrogen, NP0315)
- NuPAGE Antioxidant (Invitrogen, NP0005)
- MultiMark Multi-Colored Standard (Invitrogen, LC5725)
- Xcell SureLock Minicell Kammer (Invitrogen, EI 0001)
- PowerEase 500 Power Supply (Invitrogen, EI8700)
- Wasserbad (Paratherm S100 Julabo)

#### Westernblot:

- Xcell II Blot Module (Invitrogen, EI9051)
- NuPAGE Transfer Buffer (Invitrogen, NP0006)
- Nitrocellulosemembran (Millipore, Immobilon IPVH 00010)
- Transferpuffer:

NuPAGE Transfer Buffer	5 %
Methanol	20 %
H <sub>2</sub> O	75 %

#### Immunodetektion:

- Fischgelatine (Sigma G-7765)
- TBS-Puffer:

Tris-HCl	4 mM
NaCl	100 mM
Tween 20	0,05 %
in H <sub>2</sub> O lösen	auf pH 7,4 einstellen

- PBS-Puffer:

Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	12 mM
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> x H <sub>2</sub> O	3 mM
NaCl	150 mM
in H <sub>2</sub> O lösen	auf pH 7,4 einstellen

- Bovines Serum Albumin V, BSAV (Paesel No. 42160223)

- ECL Chemilumineszenzlösung (Amersham RPN2106)
- Diana III Chemiluminescence Detection System (Firma Raytest Isotopenmessgeräte GmbH)
- AIDA Advanced Image Data Analyzer Software, Version 4.04.032 (Firma Raytest Isotopenmessgeräte GmbH)

#### SP-B:

- rekombinanter SP-B Antikörper vom Kaninchen (Byk Gulden, #c329, Konstanz, Deutschland)
- Peroxidase konjugierter AffiniPure F(ab')<sub>2</sub> Fragment Goat Anti-Rabbit IgG (H+L), (Sigma, #A-8275, Deutschland)
- Standard Antigen B: humanes rekombinantes SP-B Dimer (Dr.Schmidt, Gießen, Deutschland)

#### SP-C:

- polyklonaler r-SP-C Antikörper vom Kaninchen (Byk Gulden, # 22/96, Konstanz, Deutschland)
- Peroxidase konjugierter AffiniPure F(ab')<sub>2</sub> Fragment Goat Anti-Rabbit IgG (H+L), (Sigma, #A-8275, Deutschland)
- Standard Antigen C: humanes rekombinantes SP-C (Byk Gulden, Konstanz, Deutschland)

#### Methode:

##### Gelelektrophorese:

Von den zu bestimmenden Proben wurde ein 10 µg Protein entsprechendes Aliquot lyophilisiert und anschließend in der entsprechenden Menge Probenpuffer resuspendiert und gevortext. Nach kurzer Zentrifugation (10.000 g, 20 sec.) wurden die Proben 10 min. bei 70°C im Wasserbad inkubiert, hierauf nochmals kurz gevortext und zentrifugiert.

Nun wurden die Proben zusammen mit dem Molekulargewichtsmarker MultiMark Multi-colored Standard und einem entsprechenden Standard in die Taschen des Gels pipettiert.

Für die Analyse von SP-B und SP-C und deren Proformen wurde MES-Laufpuffer verwendet, in die innere Kammer wurde 500 µl Antioxidanz zugesetzt.

Die Elektrophorese wurde unter den Standardbedingungen 200 V, 100 mA, 40 min. durchgeführt.

#### Westernblot:

Die Nitrocellulosemembranen wurden 1 min. in Methanol und anschließend 2 min. in destilliertem Wasser aktiviert. Anschließend wurden die Gele horizontal geblottet. Das Gel und die Membran, die unterhalb des Gels liegt, befinden sich zwischen einer Schicht von je 2 Filterpapieren, die vorher in Transfer Puffer getränkt wurden. Die Transferzeit betrug für SP-C und SP-B 2 Stunden bei 170 mA und 30 V.

#### Immunodetektion:

Die Membran wird 1 Stunden in 3 % Fischgelatine in PBS geschwenkt, um die unspezifischen Bindungsstellen zu blocken und anschließend 16 Stunden mit 20 ml des 1. Antikörpers inkubiert.

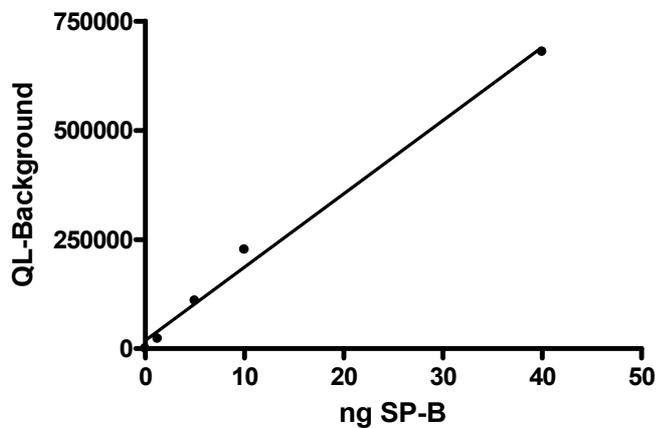
Hierauf werden die Membranen 4 mal 15 min. mit TBS gewaschen und mit dem 2. Antikörper 1:10000 in TBS für 2 Stunden inkubiert.

Die Membranen wurden erneut 4x mit TBS gewaschen und nach Aktivierung mit der ECL Chemolumineszenzlösung aktiviert.

Die Western Blots wurden mit Hilfe dem Chemilumineszenz Detektionssystem Diana III eingescannt und mit dem Softwareprogramm AIDA und quantitativ und qualitativ ausgewertet.

Das Analyseverfahren der 1D-Gelelektrophorese mit anschließender Western Blot Detektion bedingt eine hohe Inter-Assay-Variabilität bei der Quantifizierung von Proteinen. Aus diesem Grund wurden Standardkurven erstellt und diese hinsichtlich ihrer Linearität und Korrelation der auf das Gel aufgetragenen Menge an Standard und dem detektierten Messsignal (QL-Background) untersucht. Es wurden je drei Standardkurven für SP-B und SP-C erstellt und aus diesen je zwei Standardkonzentrationen (SP-B: 10 ng, 20 ng, SP-C: 10 ng, 25 ng) ausgewählt, die bei der routinemäßigen Quantifizierung von SP-B und SP-C in der BAL verwendet werden sollten.

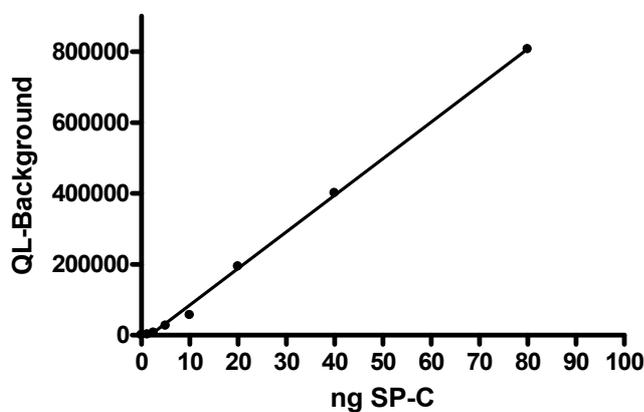
In Abbildung II.D.4.1 und 2 ist jeweils eine exemplarische Standardkurve dargestellt, in Tabelle II.D.4.1 und 2 sind die Einzelwerte und das Bestimmtheitsmaß  $r^2$  und der p-Wert angegeben.



**Abb. II.D.4.1:** Standardkurve zur Ermittlung des linearen Meßbereichs zur Quantifizierung von SP-B in nicht reduzierten BALF-Proben. Es wurde die Meßgröße (QL) abzüglich dem Hintergrund gegen die SP-B Menge in ng aufgetragen.

**Tabelle II.D.3.2:** Inter-Assay-Variabilität SP-B

Standard SP-B (ng)	0	1,25	5	10	40	r <sup>2</sup>	p (signifikant < 0,05)
Std-Kurve 1 (QL-Bkg)	0	16913	136635	273760	753880	0,9841	0,0009
Std-Kurve 2 (QL-Bkg)	0	16913	136634	273760	753880	0,9841	0,0009
Std-Kurve 3 (QL-Bkg)	0	22766	109690	226711	679920	0,9923	0,0003



**Abb. II.D.4.2:** Standardkurve zur Ermittlung des linearen Meßbereichs zur Quantifizierung von SP-C in nicht reduzierten BALF-Proben. Es wurde die Meßgröße (QL) abzüglich dem Hintergrund gegen die SP-C Menge in ng aufgetragen.

**Tabelle II.D.3.2:** Inter-Assay-Variabilität SP-C

SP-C (ng)	0	1,25	2,5	5	10	20	40	80	r <sup>2</sup>	p (signifikant < 0,05)
Std-Kurve 1 (QL-Bkg)	0	2233	6918	26324	56337	193953	401048	806308	0,9977	p<0,0001
Std-Kurve 2 (QL-Bkg)	0	506	1823	9006	25747	42376	97329	132155	0,9534	p<0,0001
Std-Kurve 3 (QL-Bkg)	0	838	2013	3270	11656	24164	38280	64448	0,9792	p<0,0001

## II.D.5 Phospholipidbestimmung mittels Massenspektrometrie

Es wurden verschiedenen Spezies (Phospholipide, Spingosine, Ceramide und Cholesterolverbindungen) der Lipidfraktion der BALF von juvenilen- und adulten PAP Patienten und von Kontrollen mit Bronchitis und gesunden Kontrollen bestimmt.

Die Messungen mittels Massenspektrometrie wurden freundlicherweise von Dr. Gerhard Liebisch am Institut für Klinische Chemie der Universität Regensburg durchgeführt.

### Methode:

Die Massenspektrometrie ist eine Methode zur Bestimmung freier Ionen im Hochvakuum. Ein Massenspektrometer (MS) besteht grundsätzlich immer aus einer Ionenquelle, einem Massenanalysator und einem Detektor. Da die BALF-Proben mittels der Elektronen Stoß Ionisation (ESI) analysiert wurden, wird dieses Analyseverfahren genauer erläutert.

Bei der ESI-MS werden die Proben, die in Lösung vorliegen, unter Hochspannung (1-8 kV), sowie meist eines Stickstoffstroms versprüht. Durch den Zusammenstoß der Elektronen mit den Molekülen wird Energie auf die Moleküle übertragen und es werden primäre positive Ionen erzeugt. Diese primären Ionen sind meistens sehr instabil und zerfallen ganz oder teilweise zu kleineren geladenen Massenfragmenten. Bei der Ionisation einer Substanz fragmentiert diese in ein vorhersehbares Ionen-Muster. Die ESI wurde im Positivionmodus betrieben, wobei es durch Anlagerung eines Wasserstoffatoms zur Bildung positiver Quasi-Moleküle kommt. Im Positivionmodus handelt es sich dabei meist um Natriumaddukte, die häufig eine höhere Intensität als die Quasi-Moleküle aufweisen. Da die ESI bei Atmosphärendruck abläuft,

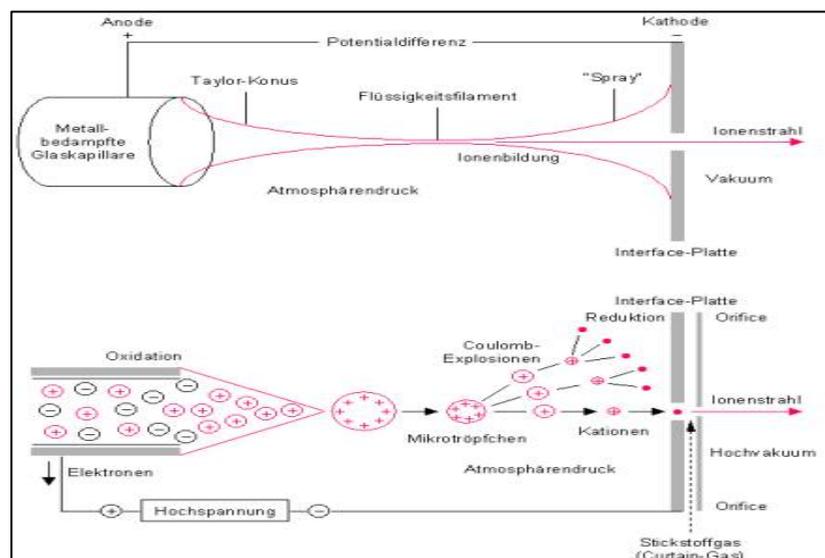


Abb. II.D.5.1: Schematische Darstellung der Elektrospray-Ionisation

muss für die anschließende Massenspektrometrie ein Übergang in ein Hochvakuum stattfinden. Auf die ESI Kapillare durch die die Probenlösung zugeführt wird, wird daher eine Hochspannung gelegt und eine Potentialdifferenz zum Interface gebildet. Hier wurde die ESI mit einem Triple Quadrupole-MS kombiniert, welche die Ionen nach ihren Masse/Ladungsverhältnissen ( $m/z$ ) sortiert. Ein Quadrupol besteht aus vier runden parallel ausgerichteten Metallstäben, die kreisförmig um die Flugachse der Ionen angeordnet sind und dient als Massenfilter, der bestimmte Ionen abfangen und andere durchlassen kann. Im Triple Quadrupole Massenanalysator wird im ersten Quadrupol (Q1) die Massenanalyse der Ionen durchgeführt, im zweiten Quadrupol (Q2) werden diese durch eine mit Argon gefüllte Kollisionskammer hindurch geleitet und im dritten Quadrupol (Q3) werden die Ionen wiederum gescannt. Durch diese Anordnung ist eine Tandem-MS möglich, bei der Moleküle in der Kollisionskammer gezielt fragmentiert, und anschließend getrennt analysiert werden können. Bei dem hier durchgeführten „parent ion scan“ wird mit dem Q1 der  $m/z$  Wert, der in die Kollisionskammer eingelassenen Ionen über den gewünschten  $m/z$  Bereich variiert, während der Q3 fest eingestellt ist, um eine erwartete Abgangsgruppe zu detektieren die dem „parent ion“ zugeordnet werden kann.

Phospholipide lassen sich gut durch eine ESI MS Analyse untersuchen, da sie sich einerseits in ihrer polaren Kopfgruppe und andererseits in ihren Fettsäureresten unterscheiden. Bei der ESI-MS im Positivmodus steigt die Ionenintensität in der Reihenfolge PS < PG < PE << PC. Die Kopfgruppen werden bei den unterschiedlichen Phospholipiden vollständig oder ohne Phosphat abgespalten<sup>44</sup>.

## II.D.6 Isolation von Fibrillen aus der BALF

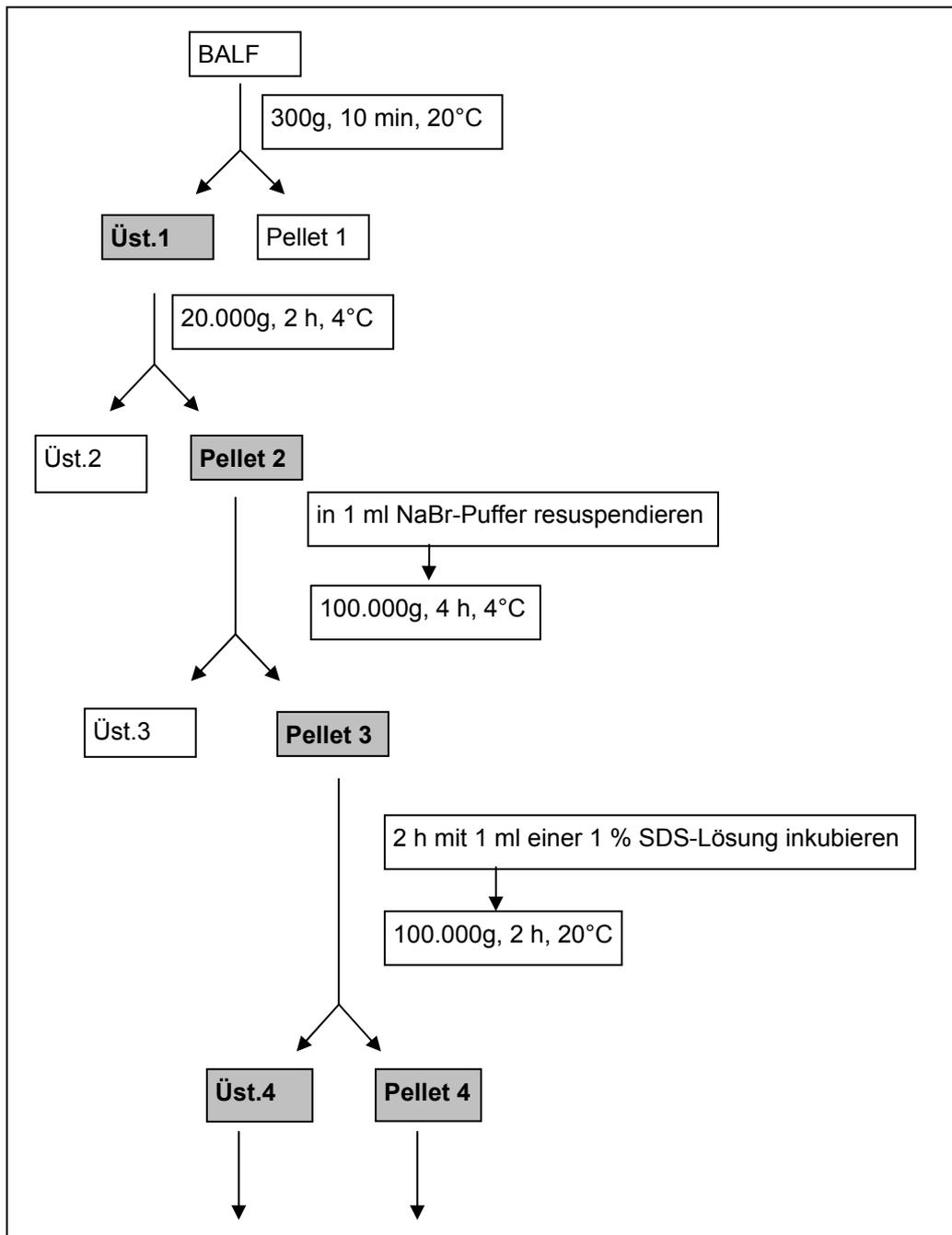
### Material:

- Aqua ad injectabilia (Braun Melsungen AG, No. 3703452)
- Natriumdodecylsulfat (SDS) (Pharmacia Biotech, No.17-1313-01)
- PBS Invitrogen (No.14190-094)
- Ultrazentrifuge Optima TLX (Beckmann)
- Zentrifuge Avanti J-30I (Beckmann)
- NaBr-Puffer:

Tris-HCl	5 mM
NaCl	100 mM
NaBr	1,64 M
in H <sub>2</sub> O lösen	auf pH 7,4 einstellen

### Methode:

Isolation der Fibrillen aus der BAL: Die entsprechende Menge der BALF Proben wird bei 300g 10 Minuten zentrifugiert, um Zellen und Zellschrott anzutrennen. Das Pellet (Pellet 1) wird nun verworfen und der Überstand (Überstand 1) 2 Stunden bei 20.000 g und 4°C zentrifugiert. Nun wird das entstandene Pellet (Pellet 2) in 1 ml des angegebenen NaBr-Puffers resuspendiert und 4 Stunden bei 100.000g und 4°C in der Ultrazentrifuge zentrifugiert. Das entstandene Pellet wird 2 Stunden mit 2 ml einer 1 % igen SDS Lösung leicht geschüttelt. Daraufhin wird erneut 2 Stunden bei 100.000 g in der Ultrazentrifuge zentrifugiert. Das entstandene Pellet (Pellet 4) und der Überstand (Überstand 4) kann nun für immunochemische und zytologische Analytik verwendet werden.

**Abb. II.D.6.1:** Schematische Darstellung der BALF Aufarbeitung

Zytologische Untersuchung: Aliquots der aufgereinigten Pellets wurden auf Objektträger aufgebracht und luftgetrocknet. Anschließend wurden die Kongorot-Färbung nach Puchtler<sup>62</sup> durchgeführt und die Proben im Lichtmikroskop beurteilt. Die Kongorotfärbung wurde freundlicherweise von Prof.Dr.R.P.Linke am Institut AmyMed in Martinsried bei München durchgeführt.

Gelelektrophorese und Western Blot: Alle verwendeten Reagenzien und Materialien entsprechen der Methode in Kapitel II.D.4 für die Gelelektrophorese und Western Blot Analyse. Die entstandenen Pellets (Pellet 4) wurden in 50 µl Probenpuffer aufgenommen. Ein Aliquot des Überstands, das 20 µg Protein entspricht wurde lyophilisiert und dann ebenfalls in 50 µl Probenpuffer aufgenommen. Nach einer 10 minütigen Inkubation auf dem Wasserbad bei 70°C wurden die Proben kurz gevortext und jeweils 25 µl abgetrennt. Zu einem der beiden Aliquots jeder Probe wurde nun 2,5 µl Reducing Agent zugegeben. Diese Probe wurde nun erneut 10 Minuten bei 70°C inkubiert. Anschließend wurde von den Proben eine 1-D Gelelektrophorese mit anschließendem Western Blot durchgeführt. Als Marker wurde MultiMark® Multi Colored Standard verwendet und als Standard 25 ng rekombinantes SP-C von Byk Gulden. Die Gelelektrophorese und der Western Blot wurden nun nach der unter II.D.4 beschriebenen Methode durchgeführt, es wurden die Primär- und Sekundärantikörper der SP-C Analytik verwendet.

## **II. E Statistik**

Die statistischen Auswertungen wurden mit der Software Microsoft Excel 2000 (San Francisco, CA, USA) und GraphPad Prism 4.01 (San Diego, CA, USA) durchgeführt. Zum paarweisen Vergleich der Gruppen wurde der additive Vergleichstest nach Tukey oder der Nachfogetest nach Dunn (Dunn post hoc Test) verwendet. Unterschiede in den parameterfreien Werten der verschiedenen Gruppen wurden mit dem Kruskal-Wallis-Test berechnet. Alle Ergebnisse, deren P-Wert  $p < 0,05$  war, wurden als signifikant bewertet.

Von Messwerten innerhalb einer Gruppe wurde der Mittelwert oder Median, die 25 % und 75 % Perzentilen, die Standardabweichung, der Standardfehler und das 95 % Konfidenzintervall berechnet.

Für Korrelationsanalysen wurde der zweiseitige Korrelationstest nach Pearson und Spearman verwendet.

### **III Ergebnisse**

#### **III.A Biochemische Analyse einer Probe je Patient**

##### **III.A.1 Material**

Es sollen verschiedene biochemische Parameter der verschiedenen Patienten-bzw. Kontrollgruppen analysiert und verglichen werden. Hierfür wurde je Patient eine Probe ausgewählt und analysiert. Bei den juvenilen PAP Patienten konnte bei 20 Patienten eine BAL Probe der 1. Flasche der therapeutischen Lavage untersucht werden. Bei 9 adulten Patienten stand die 1. Flasche der therapeutischen Lavageflüssigkeit zur Verfügung, bei 7 weiteren adulten PAP Patienten wurde die therapeutische Lavageflüssigkeit zusammen gesammelt (gepoolt) und daher der Pool der therapeutischen BAL (tBALF\_Pool) zur Analyse verwendet. Im Vorfeld wurden die Ergebnisse der untersuchten Parameter in den Proben der adulten PAP Patienten in den zwei getrennten Gruppen miteinander verglichen. Da sich keine signifikanten Unterschiede bei der Auswertung zeigten, wurden im Folgenden die adulten PAP Patienten als eine Gruppe ausgewertet

Als Kontrolle standen Proben von bronchoalveolaren Lavagen von Patienten mit chronischer Bronchitis und gesunden Kindern zu Verfügung. Bei allen Kontrollen wurde eine diagnostische, aber keine therapeutische Lavage durchgeführt und daher die diagnostische Poolfraktion (dBALF\_Pool) für die Analytik verwendet. Das Gesamtprotein wurde pro ml und pro kg Körpergewicht analysiert, die Surfactantproteine wurden zusätzlich pro Gesamtprotein ausgewertet. Ein Auswertung der absolut ausgewaschenen Mengen pro Spülportion wurde nicht als sinnvoll erachtet, da sich die Volumina der untersuchten Proben stark unterscheiden.

Die verwendeten Serumproben wurden am Tag des jeweiligen Lavagedatums abgenommen. In den Tabellen III.A.1-4 sind die verwendeten Proben und die untersuchten Parameter aufgeführt. In Tabelle III.A.5 sind die Ergebnisse, soweit bekannt der BAL-Befunde der verwendeten Proben dargestellt (Median, 25 / 75 % Perzentilen).

**Tabelle III.A.1.1:** Patientenkollektiv PAP juvenil: Proben und Parameter

Code	Gewicht (kg)	BAL Datum	Probe	Protein	GM-CSF Serum/ BAL	SP-A	SP-B	SP-C	SP-D
Pj01	14,5	27.06.2001	tBALF_FI.1 re	X	X/X	X	X	X	X
Pj02	4,5	04.12.2002	tBALF_FI.1 re	X	X/X	X	X	X	X
Pj03	4,3	19.12.2001	tBALF_FI.1 li	X	X/X	X	X	X	X
Pj04	30,0	01.02.2005	tBALF_FI.1 li	X	X/X	X	X	X	X
Pj05	4,2	03.07.2003	tBALF_FI.1	X	---/X	X	X	X	X
Pj06	25,8	30.10.2003	tBALF_FI.1	X	---/X	X	X	X	X
Pj07	11,7	29.11.2000	tBALF_FI.1	X	---/X	X	X	X	X
Pj08	8,2	27.09.1999	tBALF_FI.1	X	---/X	X	X	X	X
Pj09	7,0	19.10.1998	tBALF_FI.1	X	---/X	X	X	X	X
Pj10	3,77	n.bek.	tBALF_FI.1	X	---/X	X	X	X	X
Pj11	11,0	19.09.2003	tBALF_FI.1	X	---/X	X	X	X	X
Pj12	9,0	16.06.2003	tBALF_FI.1	X	---/X	X	X	X	X
Pj13	3,0	14.11.2002	tBALF_FI.1	X	---/X	X	X	X	X
Pj14	13,4	22.02.1999	tBALF_FI.1	X	---/X	X	X	X	X
Pj15	13,6	30.06.1999	tBALF_FI.1	X	---/X	X	X	X	X
Pj16	4,7	01.11.1999	tBALF_FI.1	X	---/X	X	X	X	X
Pj17	6,7	13.11.1999	tBALF_FI.1	X	---/X	X	X	X	X
Pj18	7,0	n.bek.	tBALF_FI.1	X	---/X	X	X	X	X
Pj19	10,6	n.bek.	tBALF_FI.1	X	---/X	X	X	X	X
Pj20	5,9	n.bek..	tBALF_FI.1	X	---/X	X	X	X	X

n.bek. = nicht bekannt  
X = Probe wurde analysiert  
--- = keine Probe vorhanden/ zu wenig Material zur Analyse vorhanden

**Tabelle III.A.1.2:** Patientenkollektiv PAP adult: Proben und Parameter

Code	Gewicht (kg)	BAL Datum	Probe	Protein	GM-CSF Serum/ BAL	SP-A	SP-B	SP-C	SP-D
Pa01	70*	12.03.2001	tBALF_Pool	X	X/ X	X	X	X	X
Pa02	56	19.02.2001	tBALF_Pool	X	X/ X	X	X	X	X
Pa03	68	23.04.2002	tBALF_Pool	X	X/ X	X	X	X	X
Pa04	56	31.08.2004	tBALF_FI.1	X	X/ X	X	X	X	X
Pa05	80*	05.05.2003	tBALF_FI.1	X	X/ X	X	X	X	X
Pa06	91	02.10.2003	tBALF_FI.1	X	X/ X	X	X	X	X
Pa07	70*	29.09.2004	tBALF_Pool	X	---/ X	X	X	X	X
Pa08	80*	06.01.2004	tBALF_FI.1	X	---/ X	X	X	X	X
Pa09	70*	06.07.2004	tBALF_FI.1	X	X/ X	X	X	X	X
Pa10	72	01.04.2004	tBALF_FI.1	X	X/ X	X	X	X	X
Pa11	112	10.02.2004	tBALF_FI.1	X	---/ X	X	X	X	X
Pa12	110	26.08.2004	tBALF_FI.1	X	---/ X	X	X	X	X
Pa13	80	24.02.2003	tBALF_Pool	X	X/ X	X	X	X	X
Pa14	59	04.08.2004	tBALF_Pool	X	X/ X	X	X	X	X
Pa15	80*	10.01.2006	dBALF_Pool	X	X/ X	X	X	X	X
Pa16	68	01.01.2006	dBALF_Pool	X	X/ X	X	X	X	X

X = Probe wurde analysiert  
--- = keine Probe vorhanden/ zu wenig Material zur Analyse vorhanden  
\* = Gemitteltes Gewicht

**Tabelle III.A.1.3:** Patientenkollektiv Bronchitis: Proben und Parameter

Code	Gewicht (kg)	BAL Datum	Probe	Protein	GM-CSF Serum/ BAL	SP-A	SP-B	SP-C	SP-D
B01	31,0	15.04.1999	dBALF_Pool	X	---/X	X	X	X	X
B02	22,0	13.11.1998	dBALF_Pool	X	---/X	X	X	X	X
B03	54,0	16.11.1998	dBALF_Pool	X	---/X	X	X	X	X
B04	18,0	06.10.2000	dBALF_Pool	X	---/X	X	X	X	X
B05	8,0	18.11.2004	dBALF_Pool	X	---/X	X	X	X	X
B06	9,0	23.02.1999	dBALF_Pool	X	---/---	X	X	X	X
B07	14,0	30.07.1999	dBALF_Pool	X	---/---	X	X	X	X
B08	6,2	07.10.1998	dBALF_Pool	X	---/---	X	X	X	X
B09	18,0	10.12.1998	dBALF_Pool	X	---/---	X	X	X	X
B10	17,8	11.02.2004	dBALF_Pool	X	---/---	X	X	X	X
B11	11,8	05.06.1997	dBALF_Pool	X	---/---	X	X	X	X
B12	8,0	16.04.2004	dBALF_Pool	X	---/---	X	X	X	X
B13	12,0	21.01.2004	dBALF_Pool	X	---/---	X	X	X	X
B14	11,0	11.12.2003	dBALF_Pool	X	---/---	X	X	X	X
B15	10,0	22.03.2004	dBALF_Pool	X	---/---	X	X	X	X

X = Probe wurde analysiert  
 --- = keine Probe vorhanden/ zu wenig Material zur Analyse vorhanden

**Tabelle III.A.1.4:** Patientenkollektiv gesunde Kontrollen: Proben und Parameter

Code	Gewicht (kg)	BAL Datum	Probe	Protein	GM-CSF Serum/ BAL	SP-A	SP-B	SP-C	SP-D
C01	13,0	08.12.1998	dBALF_Pool	X	---/---	X	X	X	X
C02	20,0	17.12.1994	dBALF_Pool	X	---/---	X	---	---	X
C03	11,3	22.02.1999	dBALF_Pool	X	---/---	X	X	X	X
C04	11,0	26.01.1999	dBALF_Pool	X	---/---	X	---	---	X
C05	11,0	24.02.1999	dBALF_Pool	X	---/---	X	X	X	X
C06	8,5	25.02.1999	dBALF_Pool	X	---/---	X	---	---	X
C07	7,0	01.03.1999	dBALF_Pool	X	---/---	X	X	X	X
C08	10,0	02.03.1999	dBALF_Pool	X	---/---	X	---	---	X
C09	11,0	12.10.1999	dBALF_Pool	X	---/---	X	---	---	X
C10	36,0	07.12.2000	dBALF_Pool	X	---/---	X	---	---	X
C11	25,0	29.05.2001	dBALF_Pool	X	---/---	---	X	X	---
C12	17,0	07.06.2002	dBALF_Pool	X	---/---	---	X	X	---
C13	25,0	03.07.2001	dBALF_Pool	X	---/---	---	X	X	---
C14	17,0	18.07.2001	dBALF_Pool	X	---/---	---	X	X	---
C15	29,0	12.02.2002	dBALF_Pool	X	---/---	---	X	X	---
C16	35,0	20.07.2001	dBALF_Pool	X	---/---	---	X	X	---

X = Probe wurde analysiert  
 --- = keine Probe vorhanden/ zu wenig Material zur Analyse vorhanden

**Tabelle III.A.1.5:** BAL Befunde

	Zellzahl (µl-1)	Makrophagen (%)	Lymphocyten (%)	Neutrophile (%)	Eosinophile (%)	Vitalität (%)	Recovery (%)	GM-CSF BALF (erhöht)	GM-CSF Serum (erhöht)
<b>PAP juv (n=20)</b>	170 (80; 540)	81 (35; 91)	7 (2; 19)	13 (5; 55)	0 (0;0)	89.5 (85; 92.5)	62	0 (n=20)	0 (n=4)
<b>PAP ad (n=16)</b>	125 (53; 178)	74 (40; 80)	18.5 (7.1; 29.5)	30.5 (4.5; 89)	1 (0.5; 3.3)	59	n.a.	4 (n=16)	10 (n=12)
<b>Bronchitis (n=15)</b>	185 (145; 265)	74 (67; 85)	12 (6; 18)	8 (3; 27)	1 (0; 2)	90 (82; 95)	58 (55; 68)	0 (n=5)	---
<b>Kontrollen (n=15)</b>	145 (76; 510)	90 (85; 93)	9.5 (6; 13.5)	1 (0; 2)	0 (0;0)	83 (74; 94.5)	47.5 (31; 380)	---	---

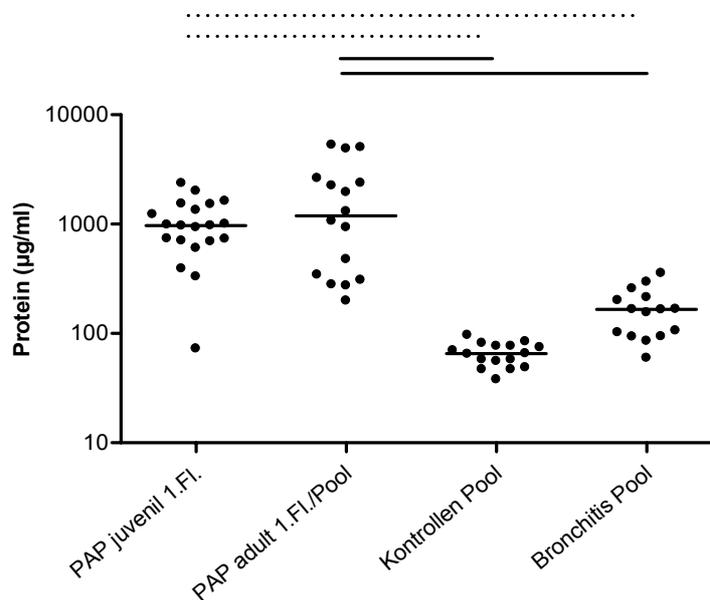
--- = nicht untersucht

Anmerkung: Die BAL Befunde der Patienten beinhalteten nicht in allen Fällen sämtliche Parameter. (n.a.)

## III.A.2 Gesamtprotein

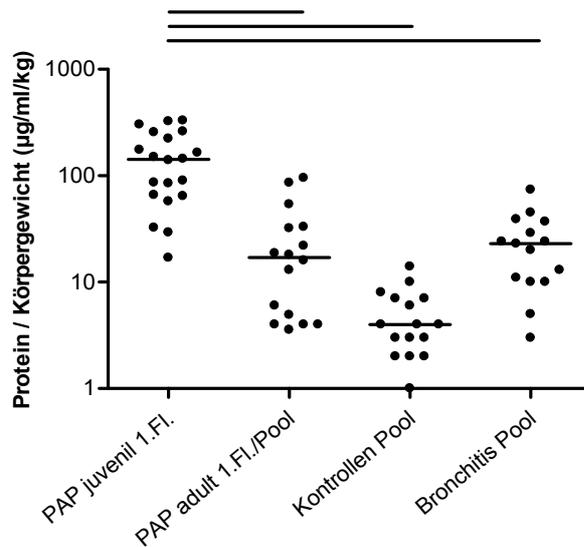
Es wurden die bronchoalveolären Lavagen von 20 juvenilen und 16 adulten PAP Patienten, hinsichtlich ihrer Gesamtproteinkonzentration und der Gesamtproteinkonzentration bezogen auf das Körpergewicht in der jeweils in Tabelle III.A.1.1-4 ausgewiesenen Probe untersucht und mit 15 Patienten mit chronischer Bronchitis und 16 gesunden Kontrollpatienten verglichen.

### III.A.2.1 Konzentration



**Abb. III.A.2.1.1:** Logarithmische Darstellung der Gesamtproteinkonzentration in den in Tabelle III.A.1.1-4 beschriebenen Proben der diagnostischen bzw. therapeutischen BALF der verschiedenen Patientengruppen. Ein Symbol entspricht der Gesamtproteinkonzentration in µg/ml in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben. One-way ANOVA Tukey Test: durchgehende Balken  $p < 0.001$ , gestrichelte Balken  $p < 0,01$ , gepunkteter Balken  $p < 0.05$ . Einzelwerte siehe Anhang.

### III.A.2.2 Konzentration/ kg Körpergewicht



**Abb. III.A.2.2.1:** Logarithmische Darstellung der Gesamtproteinkonzentration bezogen auf das Körpergewicht in den Tabelle III.A.1.1-4 beschriebenen Proben der BALF der verschiedenen Patientengruppen. Ein Symbol entspricht der Gesamtproteinkonzentration in µg/ml/kg Körpergewicht in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben. One-way ANOVA Tukey Test: durchgehende Balken  $p < 0.001$ , gestrichelte Balken  $p < 0,01$ , gepunkteter Balken  $p < 0.05$ . Einzelwerte siehe Anhang.

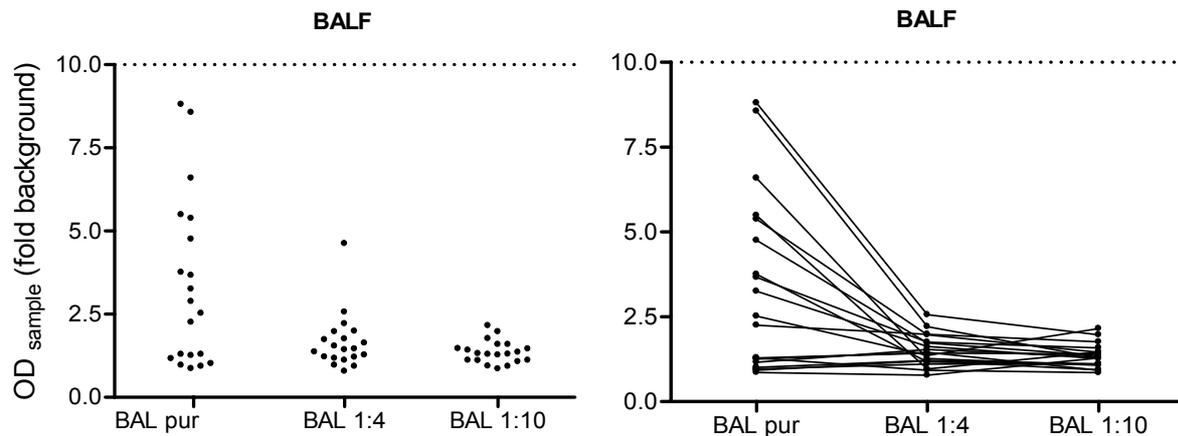
Die Proben der juvenilen und adulten PAP Patienten zeigen signifikant erhöhte Proteinkonzentrationen im Vergleich zu den beiden Kontrollgruppen. Pro kg Körpergewicht war die Proteinkonzentration der juvenilen PAP Patienten im Vergleich zu den Kontrollgruppen und auch zu den adulten PAP Patienten signifikant erhöht.

### III.A.3 GM-CSF Autoantikörper

#### III.A.3.1 Konzentration in der BALF

Es wurden die bronchoalveolären Lavagen von 20 juvenilen und 16 adulten PAP Patienten hinsichtlich des Titers von GM-CSF Autoantikörpern untersucht und mit 5 Kontrollpatienten mit chronischer Bronchitis verglichen.

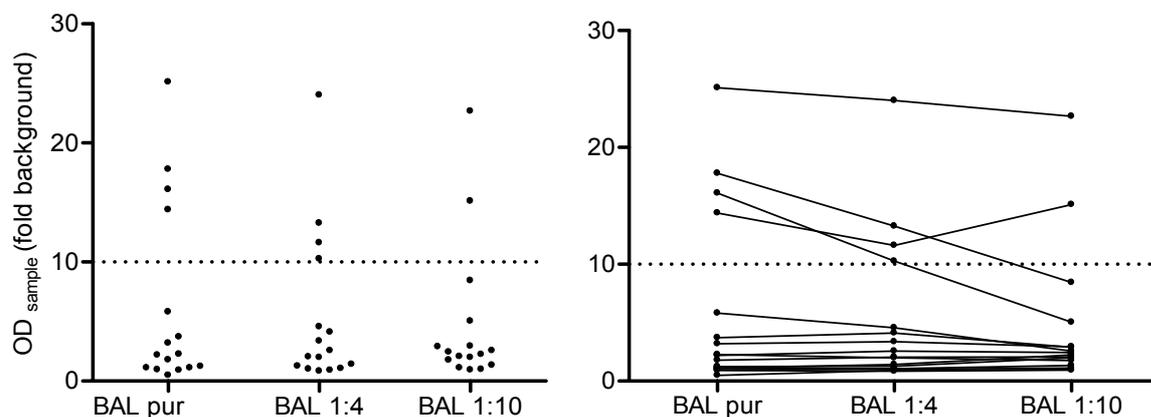
### III.A.3.1.1 PAP juvenil



**Abb. III.A.3.1.1.1:** Titer der GM-CSF Autoantikörper in der BALF der juvenilen PAP Patienten. Die Titer werden als Vielfache der optischen Dichte (OD) des Leerwerts dargestellt. Die BALF wurde unverdünnt und in den Verdünnungen 1:4 und 1:10 gemessen. Die gepunktete Linie bei OD=10 stellt den Grenzwert zur Diagnosestellung dar (nach Latzin et al.2005). Ein Symbol entspricht dem Messwert eines Patienten in der Probe, die unter III.A.1 beschrieben ist. Einzelwerte siehe Anhang.

Die GM-CSF Titer der 20 untersuchten BALF Proben der juvenilen PAP Patienten liegen unter dem Grenzwert von 10 OD, welcher in der BALF einen positiven GM-CSF Autoantikörpertiter definiert.

### III.A.3.1.2 PAP adult

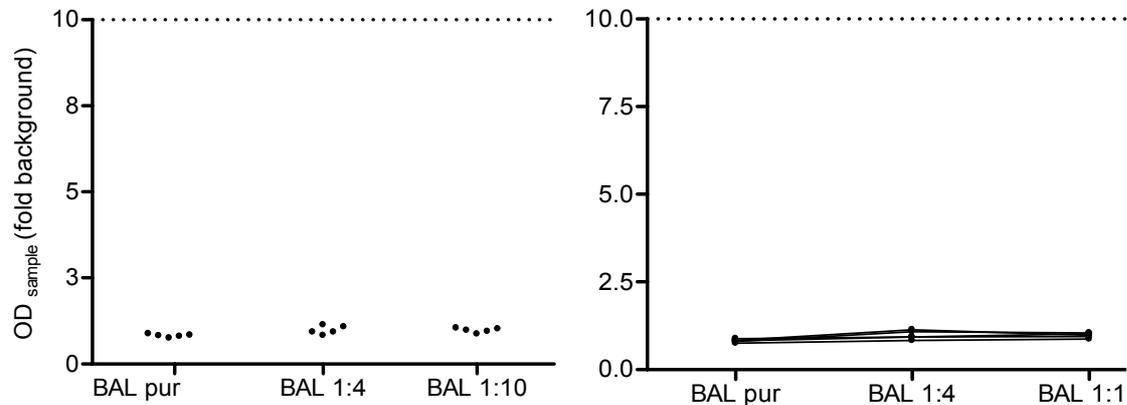


**Abb. III.A.3.1.2.1:** Titer der GM-CSF Autoantikörper in der BALF der adulten PAP Patienten. Die Titer werden als Vielfache der optischen Dichte (OD) des Leerwerts dargestellt. Die BALF wurde unverdünnt und in den Verdünnungen 1:4 und 1:10 gemessen. Ein Symbol entspricht dem Messwert eines Patienten in der Probe, die unter III.A.1 beschrieben ist. Einzelwerte siehe Anhang.

Die BALF Proben von 4 adulten PAP Patienten zeigen positive GM-CSF Autoantikörpertiter, die Titer der restlichen 12 untersuchten BALF Proben lagen unter

dem Grenzwert von 10 OD, welcher in der BALF einen positiven GM-CSF Autoantikörpertiter definiert.

### III.A.3.1.3 Bronchitis



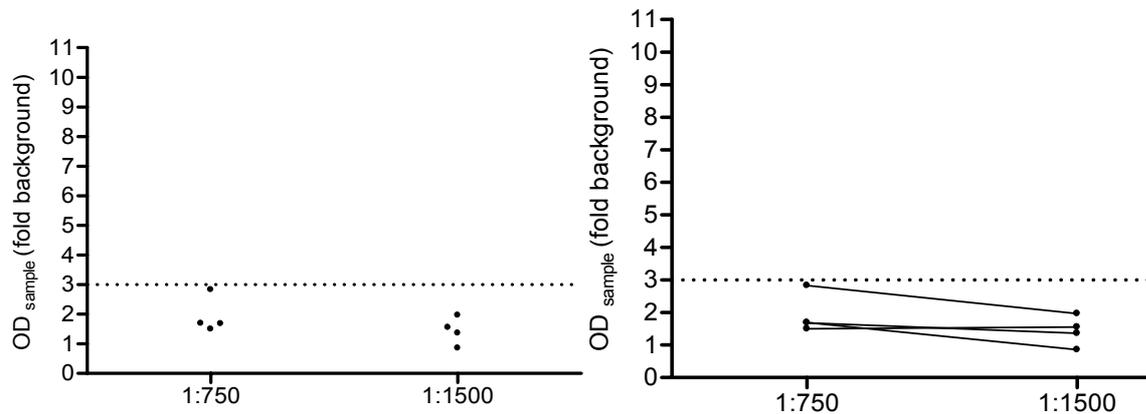
**Abb. III.A.3.1.3.1:** Titer der GM-CSF Autoantikörper in der BALF der Patienten mit chronischer Bronchitis. Die Titer werden als Vielfache der optischen Dichte (OD) des Leerwerts dargestellt. Die BAL wurde unverdünnt und in den Verdünnungen 1:4 und 1:10 gemessen. Ein Symbol entspricht dem Messwert eines Patienten in der Probe, die unter III.A.1 beschrieben ist. Einzelwerte siehe Anhang.

Die GM-CSF Titer der 5 untersuchten BALF Proben der Kontrollgruppe mit Bronchitis liegen unter dem Grenzwert von 10 OD, welcher einen positiven GM-CSF Autoantikörpertiter definiert.

### III.A.3.2 Konzentration im Serum

Es wurden die Seren von 4 juvenilen und 13 adulten PAP Patienten hinsichtlich der Konzentration an GM-CSF Antikörper untersucht. Von den restlichen Patienten stand kein Serum zur Analyse zur Verfügung.

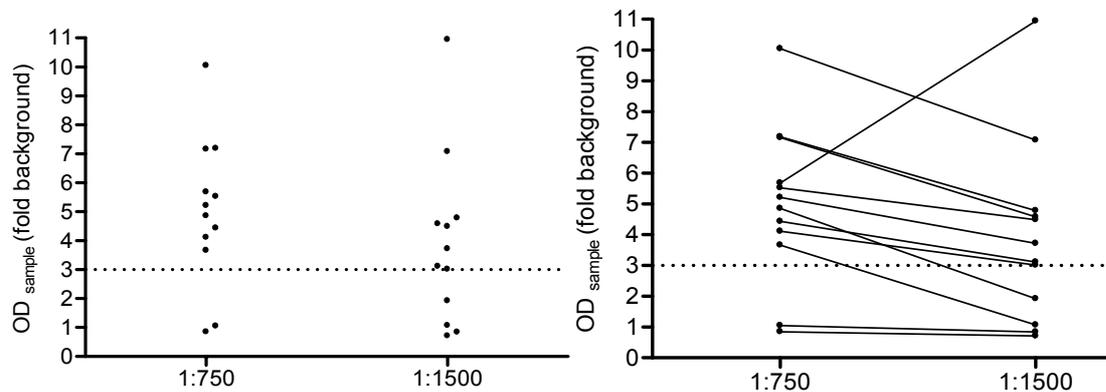
### III.A.3.2.1 PAP juvenil



**Abb. III.A.3.2.1.1:** Titer der GM-CSF Autoantikörper im Serum der juvenilen PAP Patienten. Die Titer werden als Vielfache der optischen Dichte (OD) des Leerwerts dargestellt. Die Seren wurden in den Verdünnungen 1:750 und 1:1500 gemessen. Einzelwerte siehe Anhang.

Die GM-CSF Titer der 4 untersuchten Serum Proben der juvenilen PAP Patienten liegen unter dem Grenzwert von 3 OD, welcher im Serum einen positiven GM-CSF Autoantikörpertiter definiert.

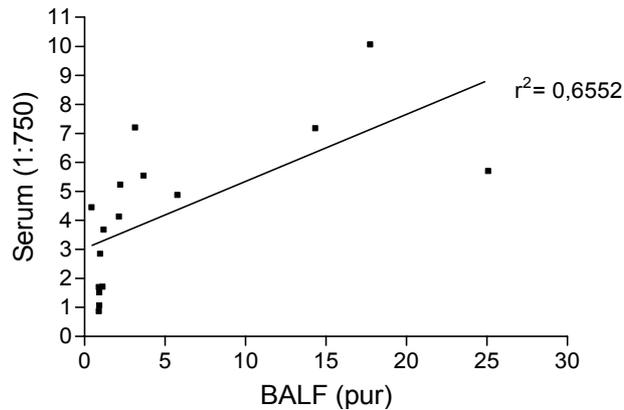
### III.A.3.2.2 PAP adult



**Abb. III.A.3.2.2.1:** Titer der GM-CSF Autoantikörper im Serum der adulten PAP Patienten. Die Titer werden als Vielfache der optischen Dichte (OD) des Leerwerts dargestellt. Die Seren wurden in den Verdünnungen 1:750 und 1:1500 gemessen. Einzelwerte siehe Anhang.

Die Serum Proben von 10 adulten PAP Patienten zeigen positive GM-CSF Autoantikörpertiter, die Titer von 2 untersuchten Serum Proben lagen unter dem Grenzwert von 3 OD, welcher im Serum einen positiven GM-CSF Autoantikörpertiter definiert.

### III.A.3.3 Korrelation BALF zu Serum, PAP juvenil und adult



**Abb. III.A.3.3.1:** Korrelation der Titer GM-CSF Autoantikörper der adulten PAP Patienten im Serum und in der BALF. Die Titer werden als Vielfache der optischen Dichte (OD) des Leerwerts dargestellt. Es wurden die Messwerte der unverdünnten BAL und der Verdünnung 1:750 des Serums gegenüber gestellt. Es wurden nur Patienten eingeschlossen von welchen BALF-und Serumwerte vorhanden waren.

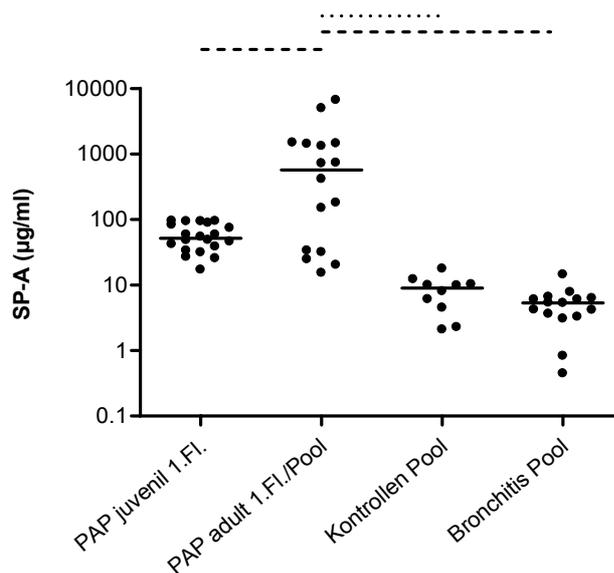
Die gemessenen GM-CSF Autoantikörpertiter in den BALF-und Serumproben der juvenilen und adulten PAP Patienten zeigen eine signifikante Korrelation ( $p=0,0059$ ).

### III.A.4 SP-A

Es wurden die bronchoalveolären Lavageflüssigkeiten von 20 juvenilen PAP Patienten und 16 adulten PAP Patienten untersucht und mit 15 Kontrollpatienten mit chronischer Bronchitis und 10 gesunden Kontrollpatienten verglichen.

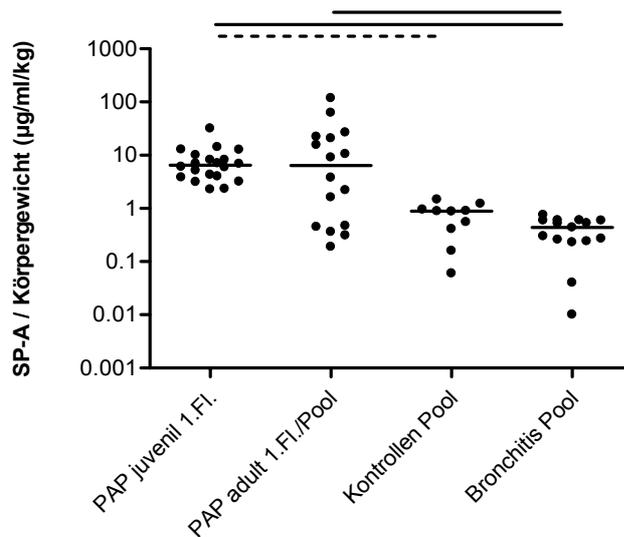
Es wurde die SP-A Konzentration, die SP-A Konzentration bezogen auf das Körpergewicht und bezogen auf die Proteinkonzentration untersucht.

#### III.A.4.1 Konzentration



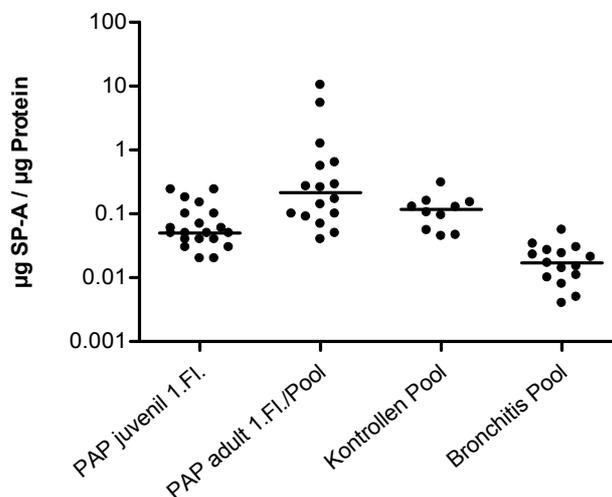
**Abb. III.A.4.1.1:** Logarithmische Darstellung der SP-A Konzentration in den Tabelle III.A.1.1-4 beschriebenen der BALF der verschiedenen Patientengruppen. Ein Symbol entspricht der SP-A Konzentration in µg/ml in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben. One-way ANOVA Tukey Test: durchgehende Balken  $p < 0.001$ , gestrichelte Balken  $p < 0,01$ . Einzelwerte siehe Anhang.

### III.A.4.2 SP-A / kg Körpergewicht



**Abb. III.A.4.2.1:** Logarithmische Darstellung der SP-A Konzentration bezogen auf das Körpergewicht in den Tabelle III.A.1.1-4 beschriebenen Proben der BALF der verschiedenen Patientengruppen. Ein Symbol entspricht der SP-A Konzentration in µg/ml/kg Körpergewicht in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben. One-way ANOVA Tukey Test: durchgehende Balken  $p < 0.001$ , gestrichelte Balken  $p < 0,01$ , gepunkteter Balken  $p < 0.05$ . Einzelwerte siehe Anhang.

### III.A.4.3 SP-A / Gesamtprotein



**Abb. III.A.4.3.1:** Logarithmische Darstellung der SP-A Konzentration bezogen auf die Gesamtproteinkonzentration in den Tabelle III.A.1.1-4 beschriebenen Proben der BALF der verschiedenen Patientengruppen. Ein Symbol entspricht der SP-A Konzentration/ Gesamtproteinkonzentration in µg/µg in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben. One-way ANOVA Tukey Test: durchgehende Balken  $p < 0.001$ , gestrichelte Balken  $p < 0,01$ , gepunkteter Balken  $p < 0.05$ . Einzelwerte siehe Anhang.

Die untersuchten SP-A Werte der adulten PAP Patienten sind im Vergleich zu den beiden Kontrollgruppen signifikant erhöht. Zu den den juvenilen PAP Patienten zeigten die adulten PAP Patienten nur bezogen auf die Konzentration pro ml

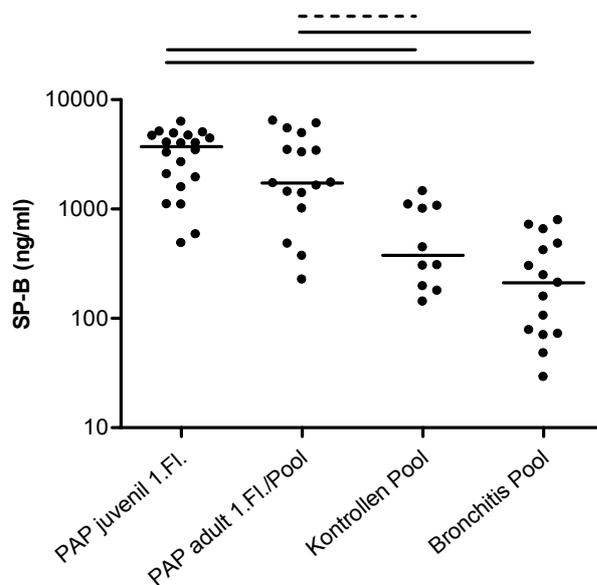
signifikant erhöhte Werte. Pro Gesamtprotein zeigten sich keine Unterschiede zwischen den Patienten- und Kontrollgruppen.

### III.A.5 SP-B

Es wurden die bronchoalveolären Lavageflüssigkeiten von 20 juvenilen PAP Patienten und 16 adulten PAP Patienten untersucht und mit 15 Kontrollpatienten mit chronischer Bronchitis und 10 gesunden Kontrollpatienten verglichen.

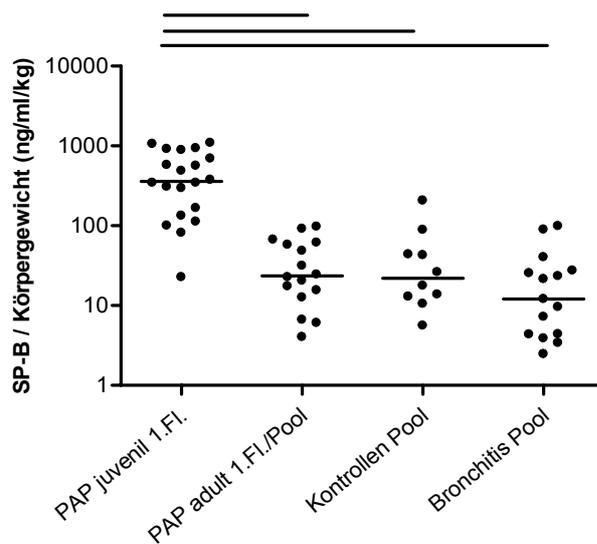
Es wurde die SP-B Konzentration, die SP-B Konzentration bezogen auf das Körpergewicht und bezogen auf die Proteinkonzentration analysiert.

#### III.A.5.1 Konzentration



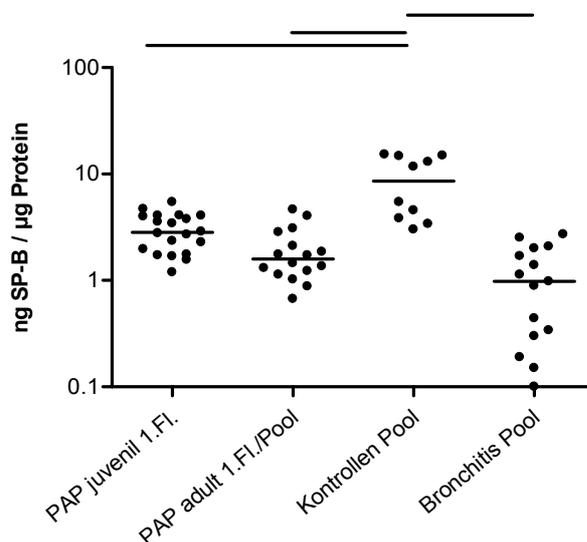
**Abb. III.A.5.1.1:** Logarithmische Darstellung der SP-B Konzentration in den Tabelle III.A.1.1-4 beschriebenen Proben der BALF der verschiedenen Patientengruppen. Ein Symbol entspricht der SP-B Konzentration in ng/ml in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben. One-way ANOVA Tukey Test: durchgehende Balken  $p < 0.001$ , gestrichelte Balken  $p < 0,01$ , gepunkteter Balken  $p < 0.05$ . Einzelwerte siehe Anhang.

### III.A.5.2 SP-B / kg Körpergewicht



**Abb. III.A.5.2.1:** Logarithmische Darstellung der SP-B Konzentration bezogen auf das Körpergewicht in den Tabelle III.A.1.1-4 beschriebenen Proben der BALF der verschiedenen Patientengruppen. Ein Symbol entspricht der SP-B Konzentration in ng/ml/kg Körpergewicht in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben. One-way ANOVA Tukey Test: durchgehende Balken  $p < 0.001$ , gestrichelte Balken  $p < 0,01$ , gepunkteter Balken  $p < 0.05$ . Einzelwerte siehe Anhang.

### III.A.5.3 SP-B / Gesamtprotein



**Abb. III.A.5.3.1:** Logarithmische Darstellung der SP-B Konzentration bezogen auf die Gesamtproteinkonzentration in den Tabelle III.A.1.1-4 beschriebenen Proben der BALF der verschiedenen Patientengruppen. Ein Symbol entspricht der SP-B Konzentration/ Gesamtproteinkonzentration in ng/µg in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben. One-way ANOVA Tukey Test: durchgehende Balken  $p < 0.001$ , gestrichelte Balken  $p < 0,01$ , gepunkteter Balken  $p < 0.05$ . Einzelwerte siehe Anhang.

Die juvenilen und adulten PAP Patienten zeigten signifikant erhöhte SP-B Konzentrationen pro ml im Vergleich zu den beiden Kontrollgruppen. Bezogen auf das Körpergewicht zeigten nur die juvenilen PAP Patienten signifikant höhere Werte

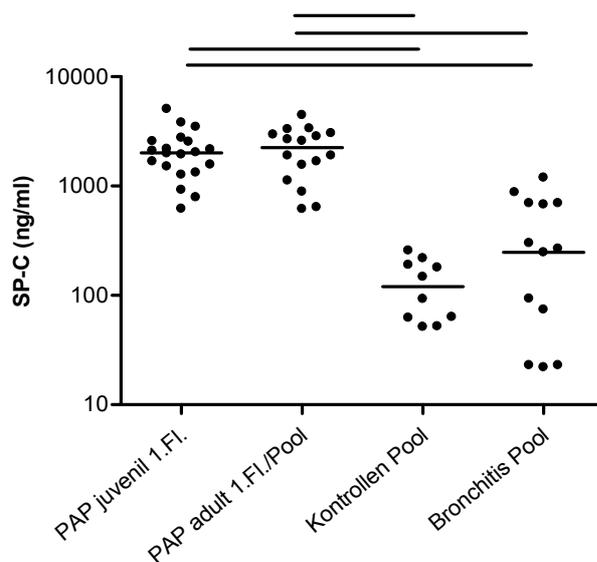
im Vergleich zu den beiden Kontrollgruppen, aber auch den adulten PAP Patienten. Pro Gesamtprotein zeigten die Proben der gesunden Kontrollgruppe die höchsten und zu den anderen drei untersuchten Gruppen signifikant erhöhten SP-B Werte.

### III.A.6 SP-C

Es wurden die bronchoalveolären Lavageflüssigkeiten von 20 Patienten mit juveniler PAP und 16 adulten PAP Patienten untersucht und mit 15 Kontrollpatienten mit chronischer Bronchitis und 10 gesunden Kontrollpatienten verglichen.

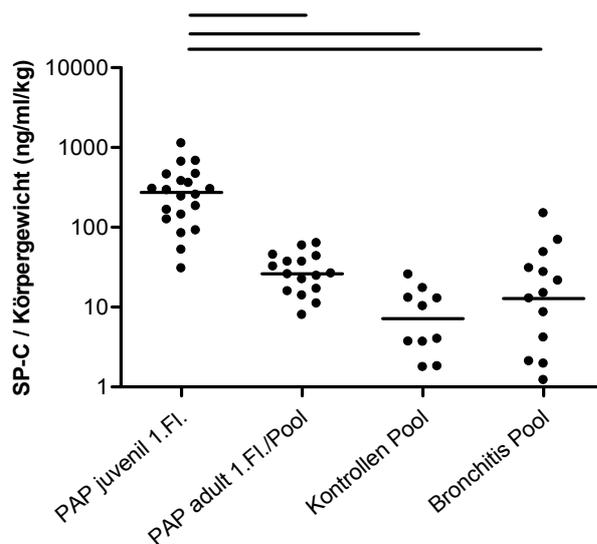
Es wurde die SP-C Konzentration, die SP-C Konzentration bezogen auf das Körpergewicht und bezogen auf die Proteinkonzentration analysiert.

#### III.A.6.1 Konzentration



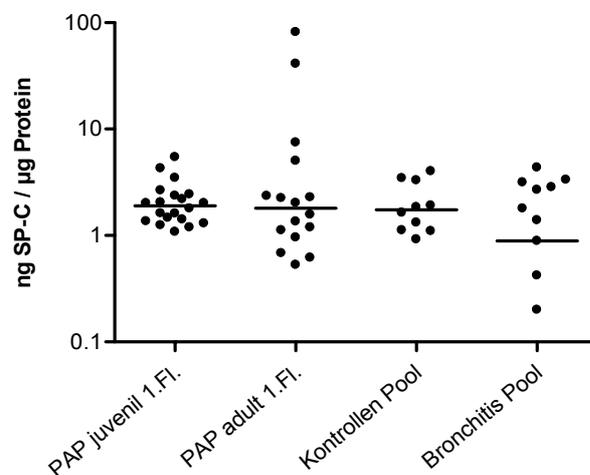
**Abb. III.A.6.1.1:** Logarithmische Darstellung der SP-C Konzentration in den Tabelle III.A.1.1-4 beschriebenen Proben der BALF der verschiedenen Patientengruppen. Ein Symbol entspricht der SP-C Konzentration in ng/ml in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben. One-way ANOVA Tukey Test: durchgehende Balken  $p < 0.001$ , gestrichelte Balken  $p < 0,01$ , gepunkteter Balken  $p < 0.05$ . Einzelwerte siehe Anhang.

### III.A.6.2 SP-C / kg Körpergewicht



**Abb. III.A.6.2.1:** Logarithmische Darstellung der SP-C Konzentration bezogen auf das Körpergewicht in den Tabelle III.A.1.1-4 beschriebenen Proben der BALF der verschiedenen Patientengruppen. Ein Symbol entspricht der SP-C Konzentration in ng/ml/kg Körpergewicht in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben. One-way ANOVA Tukey Test: durchgehende Balken  $p < 0.001$ , gestrichelte Balken  $p < 0,01$ , gepunkteter Balken  $p < 0.05$ . Einzelwerte siehe Anhang.

### III.A.6.3 SP-C / Gesamtprotein



**Abb. III.A.6.3.1:** Logarithmische Darstellung der SP-C Konzentration bezogen auf die Gesamtproteinkonzentration in den Tabelle III.A.1.1-4 beschriebenen Proben der BALF der verschiedenen Patientengruppen. Ein Symbol entspricht der SP-C Konzentration/ Gesamtproteinkonzentration in ng/µg in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben. One-way ANOVA Tukey Test: durchgehende Balken  $p < 0.001$ , gestrichelte Balken  $p < 0,01$ , gepunkteter Balken  $p < 0.05$ . Einzelwerte siehe Anhang.

Die beiden PAP Patientengruppen zeigten signifikant erhöhte SP-C Konzentrationen pro ml im Vergleich zu den beiden Kontrollgruppen. Pro kg Körpergewicht zeigten die juvenilen PAP Patienten im Vergleich zu den anderen drei untersuchten Gruppen

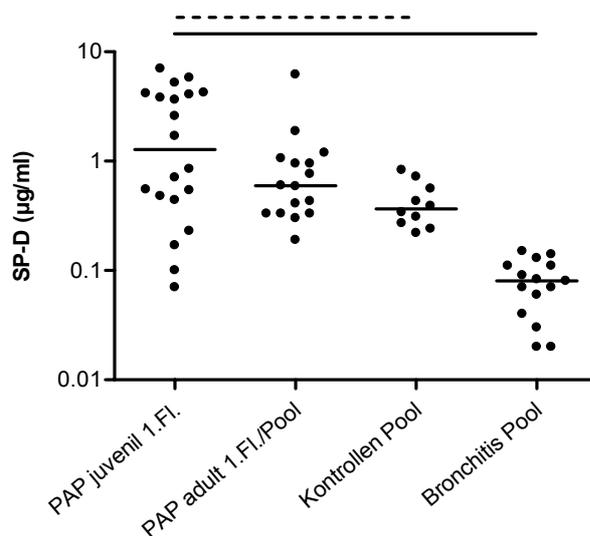
signifikant erhöhte SP-C Konzentrationen. Pro Gesamtprotein zeigten sich keine Unterschiede zwischen den Patienten- und Kontrollgruppen.

### III.A.7 SP-D

Es wurden die bronchoalveolären Lavageflüssigkeiten von 20 Patienten mit juveniler PAP und 16 adulten PAP Patienten untersucht und mit 15 Kontrollpatienten mit chronischer Bronchitis und 10 gesunden Kontrollpatienten verglichen.

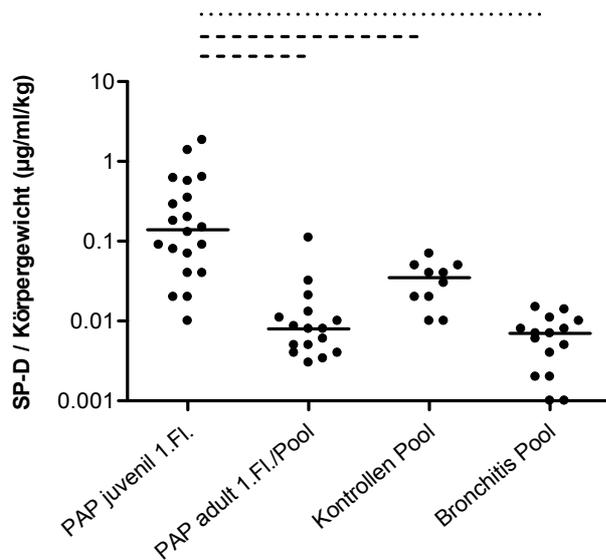
Es wurde die SP-D Konzentration, die SP-D Konzentration bezogen auf das Körpergewicht und bezogen auf die Proteinkonzentration analysiert.

#### III.A.7.1 Konzentration



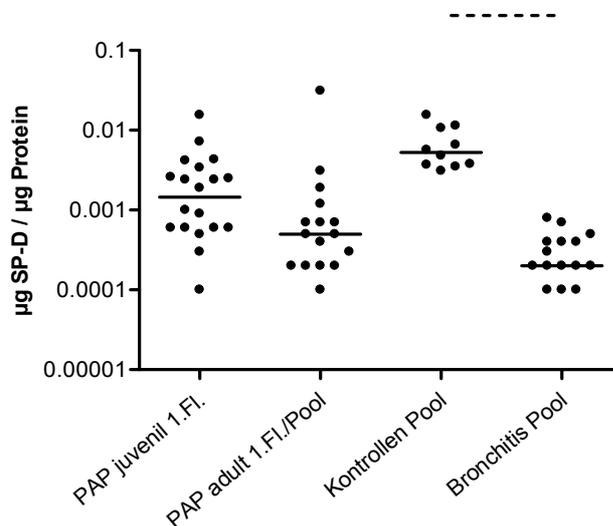
**Abb. III.A.7.1.1:** Logarithmische Darstellung der SP-D Konzentration in den Tabelle III.A.1.1-4 beschriebenen Proben der BALF der verschiedenen Patientengruppen. Ein Symbol entspricht der SP-D Konzentration in  $\mu\text{g/ml}$  in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben. One-way ANOVA Tukey Test: durchgehende Balken  $p < 0,001$ , gestrichelte Balken  $p < 0,01$ , gepunkteter Balken  $p < 0,05$ . Einzelwerte siehe Anhang.

### III.A.7.2 SP-D / kg Körpergewicht



**Abb. III.A.7.2.1:** Logarithmische Darstellung der SP-D Konzentration bezogen auf das Körpergewicht in den Tabelle III.A.1.1-4 beschriebenen Proben der BALF der verschiedenen Patientengruppen. Ein Symbol entspricht der SP-D Konzentration in µg/ml/kg Körpergewicht in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben. One-way ANOVA Tukey Test: durchgehende Balken  $p < 0.001$ , gestrichelte Balken  $p < 0,01$ , gepunkteter Balken  $p < 0.05$ . Einzelwerte siehe Anhang.

### III.A.7.3 SP-D / Gesamtprotein



**Abb. III.A.7.3.1:** Logarithmische Darstellung der SP-D Konzentration bezogen auf die Gesamtproteinkonzentration in den Tabelle III.A.1.1-4 beschriebenen Proben der BALF der verschiedenen Patientengruppen. Ein Symbol entspricht der SP-D Konzentration/ Gesamtproteinkonzentration in µg/µg in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben. One-way ANOVA Tukey Test: durchgehende Balken  $p < 0.001$ , gestrichelte Balken  $p < 0,01$ , gepunkteter Balken  $p < 0.05$ . Einzelwerte siehe Anhang.

Die Proben der juvenilen PAP Patienten zeigten im Vergleich zu den beiden Kontrollgruppen signifikant erhöhte SP-D Konzentrationen pro ml und pro kg

Körpergewicht. Die SP-D Konzentration pro kg Körpergewicht in den Proben der adulten PAP Patienten war signifikant niedriger als in den Proben der juvenilen PAP Patienten. Pro Gesamtprotein zeigten die Proben der gesunden Kontrollgruppe im Median die höchsten Werte.

### III.A.8 Korrelation

Im folgenden sollte untersucht werden, ob die Ergebnisse der hydrophilen Surfactantproteinkonzentration SP-A mit SP-D und die Ergebnisse der hydrophoben Surfactantproteinkonzentration SP-B mit SP-C korrelieren. Außerdem wurde die Korrelation der Gesamtphospholipidkonzentration (siehe Ergebnisteil C) mit der Gesamtproteinkonzentration und mit der Konzentration der einzelnen Surfactantproteine bestimmt.

**Tab. III.A.8.1:** Korrelation der Parameter Gesamtprotein, SP-A, SP-B, SP-C, SP-D und Phospholipid

Korrelation	Anzahl der Wertepaare (n)	P Wert (signifikant < 0,05)	R <sup>2</sup>	Korrelation signifikant ( $\alpha=0.05$ )
<b>SP-A zu SP-D</b>				
PAP juvenil	20	0,179	0,098	Nein
PAP adult	16	0,777	0,006	Nein
Bronchitis	15	0,154	0,150	Nein
gesunde Kontrollen	10	0,163	0,228	Nein
<b>SP-B zu SP-C</b>				
PAP juvenil	20	0,007	0,338	Ja
PAP adult	16	P<0.0001	0,761	Ja
Bronchitis	15	0,139	0,161	Nein
gesunde Kontrollen	10	0,249	0,162	Nein
<b>Gesamtprotein zu PL</b>				
PAP juvenil	19	0,216	0,089	Nein
PAP adult	15	0,002	0,549	Ja
Bronchitis	15	0,912	0,001	Nein
gesunde Kontrollen	7	0,604	0,058	Nein
<b>SP-A zu PL</b>				
PAP juvenil	19	0,312	0,060	Nein
PAP adult	15	0,564	0,026	Nein
Bronchitis	15	0,323	0,075	Nein
gesunde Kontrollen	2	n.a.	n.a.	n.a.
<b>SP-B zu PL</b>				
PAP juvenil	19	0,175	0,105	Nein
PAP adult	15	0,004	0,479	Ja
Bronchitis	15	0,609	0,021	Nein
gesunde Kontrollen	6	0,651	0,056	Nein
<b>SP-C zu PL</b>				
PAP juvenil	19	0,879	0,001	Nein
PAP adult	15	0,003	0,506	Ja
Bronchitis	15	0,486	0,038	Nein

Korrelation	Anzahl der Wertepaare (n)	P Wert (signifikant < 0,05)	R <sup>2</sup>	Korrelation signifikant ( $\alpha=0.05$ )
gesunde Kontrollen	6	0,598	0,076	Nein
<b>SP-D zu PL</b>				
PAP juvenil	19	0,939	0,000	Nein
PAP adult	15	0,814	0,004	Nein
Bronchitis	15	0,353	0,067	Nein
gesunde Kontrollen	2	n.a.	n.a.	n.a.
n.a. nicht anwendbar, da zu wenig Wertepaare				

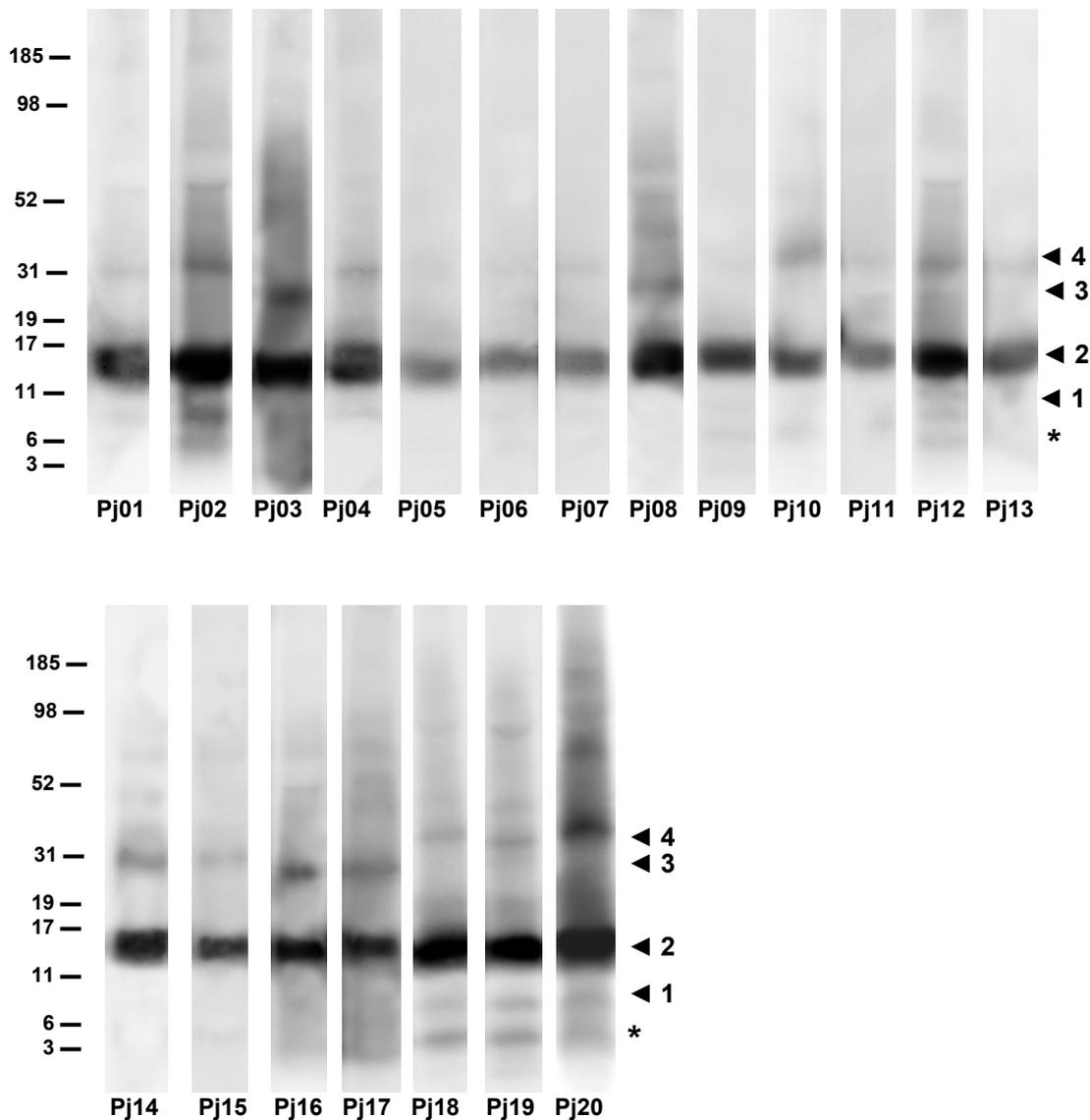
Die Konzentrationen der hydrophoben Surfactantproteine SP-B und SP-C korrelieren signifikant in den BALF-Proben der PAP Patienten. Die untersuchten Parameter zeigten keine Korrelationen in den BALF-Proben der beiden Kontrollgruppen. Die Parameter Gesamtprotein, SP-B und SP-C korrelieren in der adulten PAP Patientengruppe jeweils mit den Phospholipidwerten.

### III.A.9 Charakterisierung des Surfactantproteine B und C mittels 1-D Gelelektrophorese

#### III.A.9.1 SP-B

Zur Beurteilung der SP-B Konzentrationen in der BALF wurden die Proben mit einer eindimensionalen Gelelektrophorese aufgetrennt und anschließend mittels Western Blot detektiert und quantifiziert. Es wurden 10 µg Gesamtprotein nativer Lavage auf einem NuPAGE<sup>®</sup> Bis-Tris 10 % Gel aufgetrennt. Die Proben wurden vorher denaturiert und anschließend nicht reduziert aufgetragen. Als Molekulargewichtsmarker wurde MultiMark<sup>®</sup> Multi-Colored Standard verwendet. Nach dem Blotten wurde die Membran zuerst mit polyklonalem SP-B Antikörper vom Kaninchen von J. A. Whitsett inkubiert. Als zweiter Antikörper wurde Peroxidase konjugierter AffiniPure F(ab')<sub>2</sub> Fragment Goat Anti-Rabbit IgG (H+L) verwendet. Die Inkubation der Western Blot Membran mit SP-B Antikörper erfolgte als 1. Inkubation.

### III.A.9.1.1 Gesamtkonzentration III.A.9.1.1.1 PAP juvenil

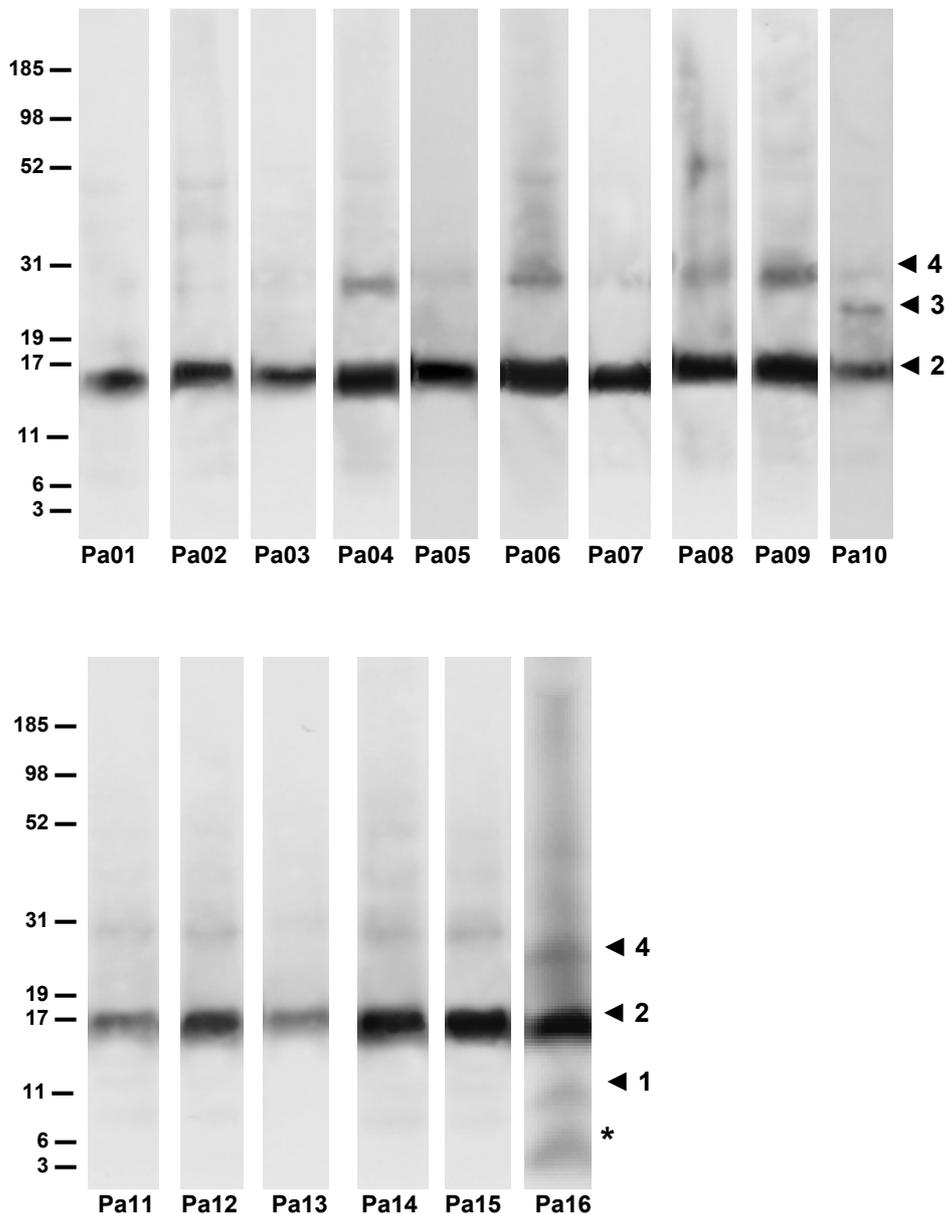


**Abb. III.A.9.1.1.1.1:** Western Blots der nicht reduzierten Lavageproben der juvenilen PAP Patienten. 1. Inkubation der Membran mit SP-B Antikörper (◀ 1: SP-B Monomer, ◀ 2: SP-B Dimer, ◀ 3: SP-B Trimer, ◀ 4: SP-B Tetramer, \*: Bande bei 4 kDa).

Bei allen juvenilen PAP Patienten ist die Bande für das SP-B Dimer bei ca. 16 kDa vorhanden. Die Bande für das SP-B Tetramer bei ca. 31 kDa ist bei Patient Pj01, Pj02, Pj04, Pj07, Pj10, Pj12 bis Pj15 und Pj18 bis Pj21 zu sehen. Bei Patient Pj03, Pj08, Pj16 und Pj17 ist zusätzlich eine Bande bei 31 kDa für das SP-B Tetramer vorhanden. Bei Patient Pj02 und Pj18 bis Pj20 ist eine Bande für das SP-B Monomer

bei ca. 8 kDa zu erkennen. Eine unerklärte Bande bei 4 kDa wurde bei Patient Pj12 und Pj18 bis Pj20 detektiert.

### III.A.9.1.1.2 PAP adult

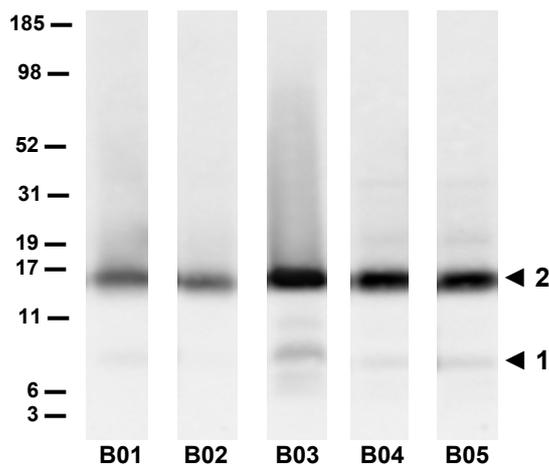


**Abb. III.A.9.1.1.2.1:** Western Blots der nicht reduzierten Lavageproben der adulten PAP Patienten. 1. Inkubation der Membran mit SP-B Antikörper (◀ 1: SP-B Monomer, ◀ 2: SP-B Dimer, ◀ 3: SP-B Trimer, ◀ 4: SP-B Tetramer, \*: Bande bei 4 kDa).

SP-B liegt in der reifen Form als Dimer vor. Diese Bande ist bei allen adulten PAP Patienten bei ca. 16 kDa vorhanden. Bei Patient Pa04, Pa06, Pa08 bis Pa12 und

Pa14 bis Pa16 ist zusätzlich die Bande für das SP-B Tetramer, bei Patient Pa10 eine Bande für das Trimer bei ca. 24 kDa vorhanden. Bei Patient Pa16 wurden 2 zusätzliche Banden bei 4 und 8 kDa detektiert, wobei es sich bei der Bande bei ca. 8 kDa um das SP-B Monomer handelt und die Bande bei 4 kDa ungeklärt ist.

### III.A.9.1.1.3 Bronchitis



**Abb. III.A.9.1.1.3.1:** Western Blots der nicht reduzierten Lavageproben der Patienten mit Bronchitis. 1. Inkubation der Membran mit SP-B Antikörper (◀ 1: SP-B Monomer, ▶ 2: SP-B Dimer).

Bei den 5 Kontrollpatienten ist das reife SP-B als Bande bei ca. 16 kDa vorhanden. Bei Patient B03, B04 und B05 wurde zusätzlich eine Bande für das SP-B Monomer bei ca. 8 kDa detektiert.

### III.A.9.1.2 SP-B Multimere

Zusätzlich sollen die Anteile der Monomer-, Dimer-, Trimer- und Tetramerbanden als Anteil an der Gesamtkonzentration SP-B und als prozentualer Anteil der SP-B Konzentration graphisch dargestellt werden.

### III.A.9.1.2.1 PAP juvenil

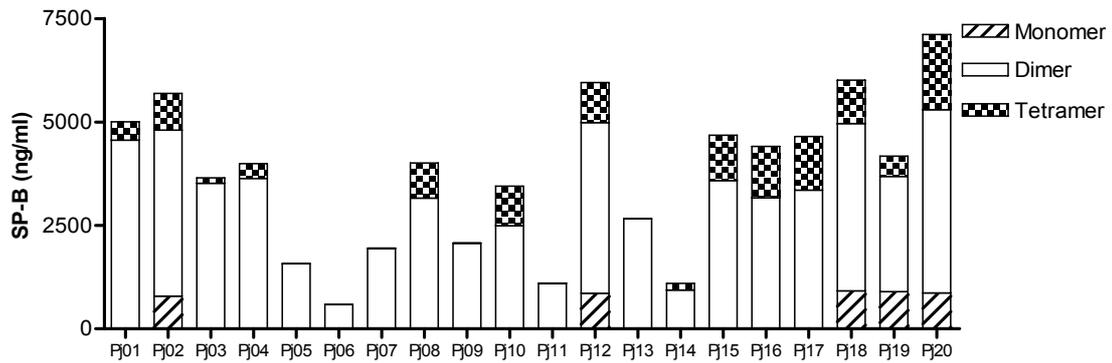


Abb. III.A.9.1.2.1: SP-B Konzentration in ng/ml aufgetrennt nach Anteil Monomer, Dimer und Tetramer an der Gesamtkonzentration.

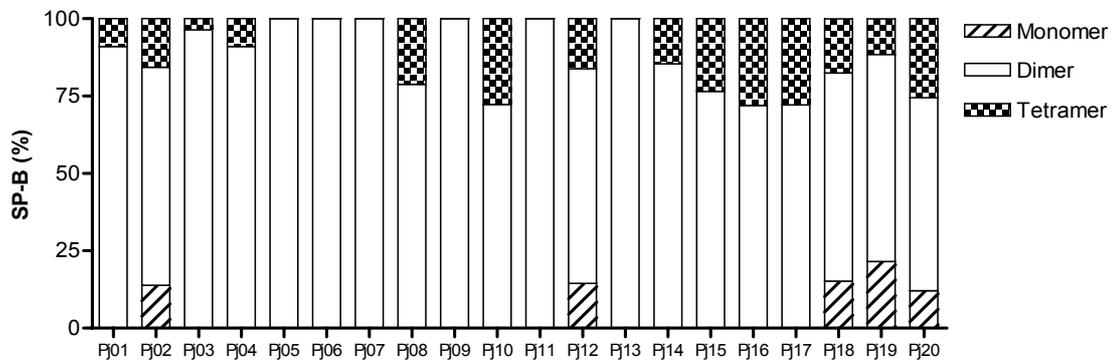


Abb. III.A.9.1.2.2: Anteil SP-B Monomer, Dimer und Tetramer an der Gesamtkonzentration, dargestellt in %.

### III.A.9.1.2.2 PAP adult

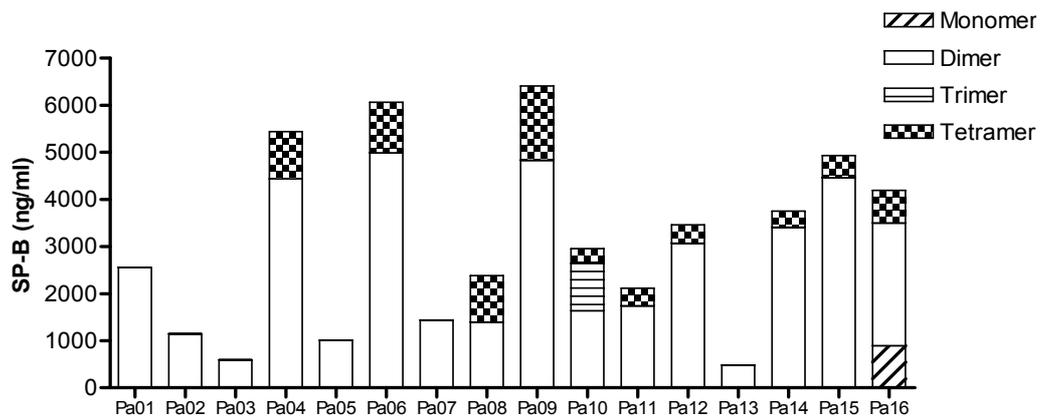
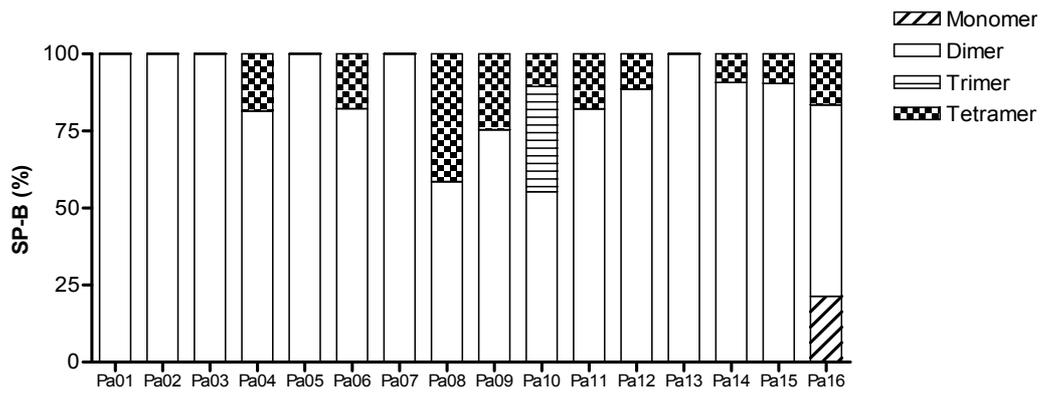
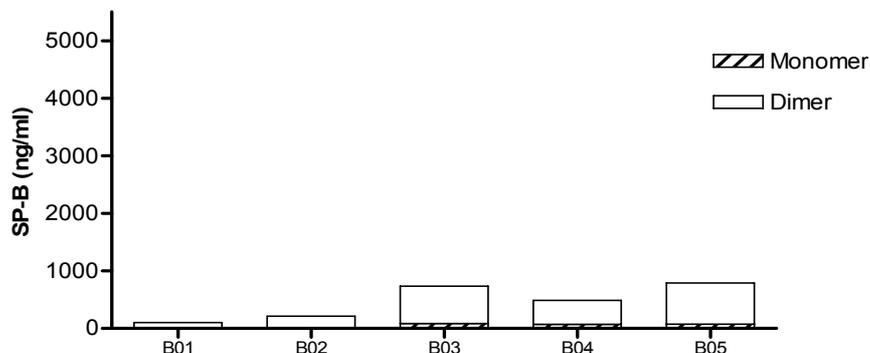


Abb. III.A.9.1.2.2.1: SP-B Konzentration in ng/ml aufgetrennt nach Anteil Monomer, Dimer, Trimer und Tetramer an der Gesamtkonzentration.

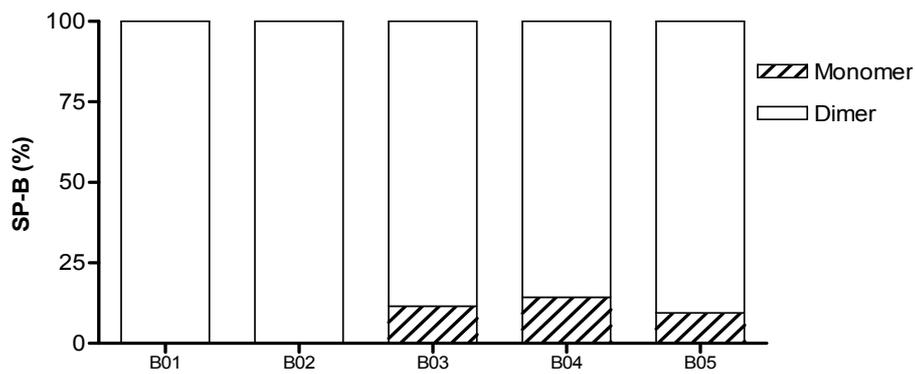


**Abb. III.A.9.1.2.2.2:** Anteil SP-B Monomer, Dimer, Trimer und Tetramer an der Gesamtkonzentration, dargestellt in %.

### III.A.9.1.2.3 Bronchitis



**Abb. III.A.9.1.2.3.1:** SP-B Konzentration in ng/ml aufgetrennt nach Anteil Monomer und Dimer an der Gesamtkonzentration.

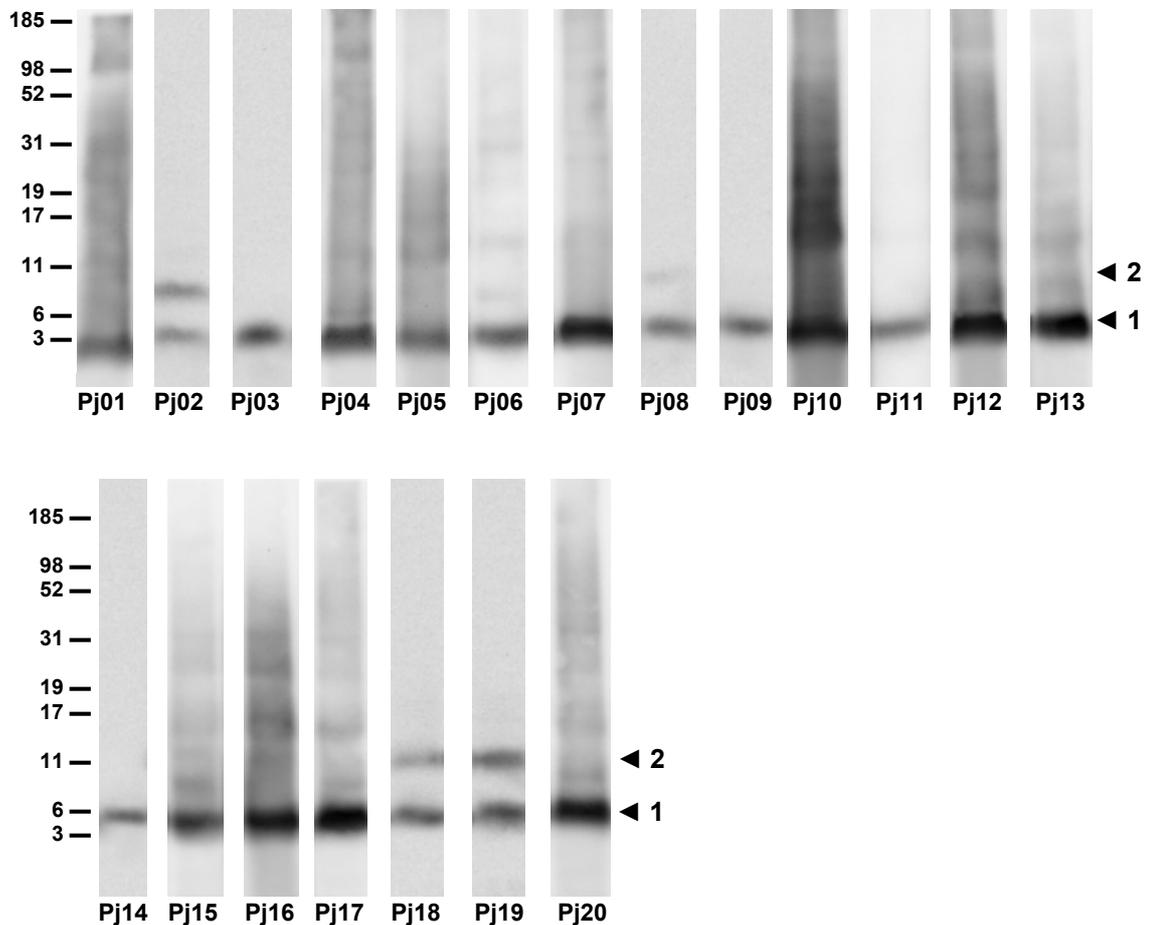


**Abb. III.A.9.1.2.3.2:** Anteil SP-B Monomer, Dimer und Tetramer an der Gesamtkonzentration, dargestellt in %.

### **III.A.9.2            SP-C**

Zur Beurteilung der SP-C Konzentrationen in der BAL wurden die Proben mit einer eindimensionalen Gelelektrophorese aufgetrennt und anschließend mittels Western Blot detektiert und quantifiziert. Es wurden 10 µg Gesamtprotein nativer Lavage auf einem NuPAGE® Bis-Tris 10 % Gel aufgetrennt. Die Proben wurden denaturiert und nicht reduziert aufgetragen. Als Molekulargewichtsmarker wurde MultiMark® Multi-Colored Standard verwendet. Nach dem Blotten wurde die Membran als 1. Inkubation mit polyklonalem r-SP-C Antikörper vom Kaninchen von Byk Gulden inkubiert. Als zweiter Antikörper wurde Peroxidase konjugierter AffiniPure F(ab')<sub>2</sub> Fragment Goat Anti-Rabbit IgG (H+L) verwendet. Die Inkubation der Western Blot Membran mit SP-C Antikörper erfolgte als 1. Inkubation.

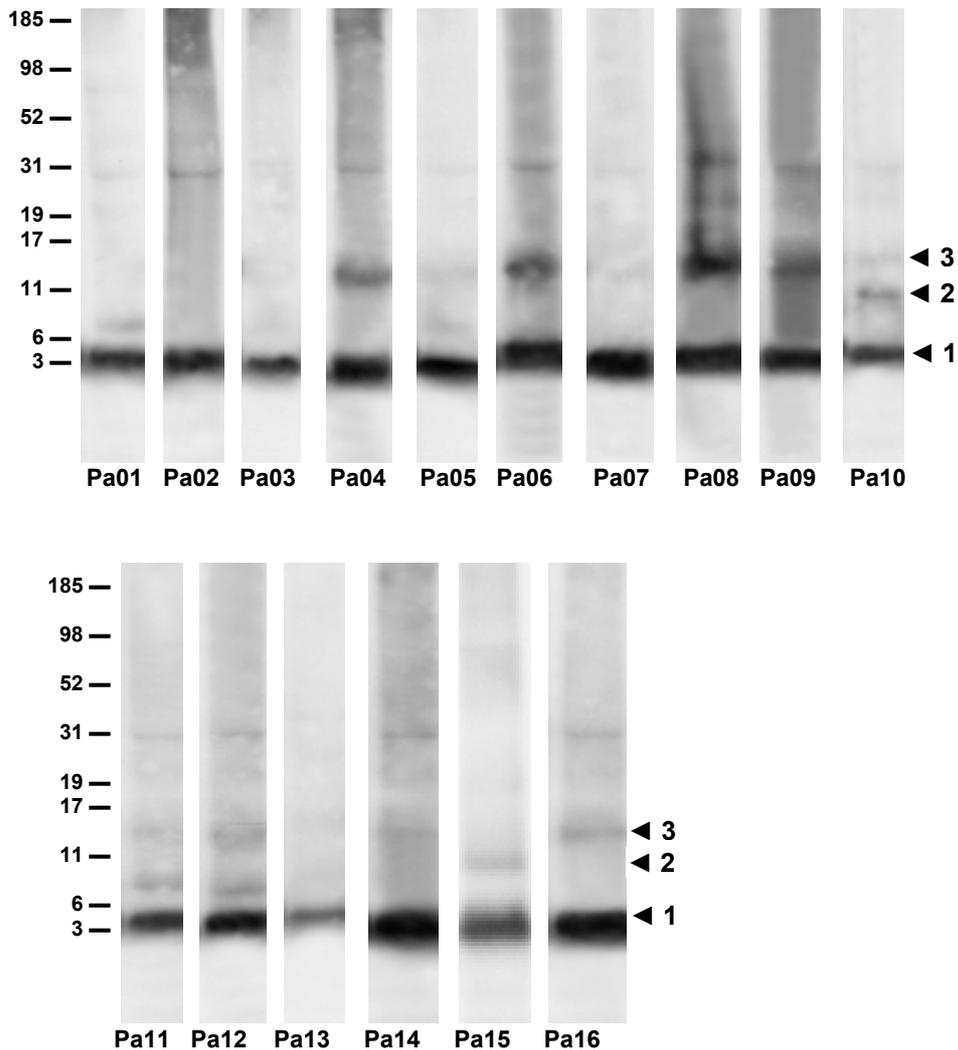
### III.A.9.2.1 Gesamtkonzentration III.A.9.2.1.1 PAP juvenil



**Abb. III.A.9.2.1.1.1:** Western Blots der nicht reduzierten Lavageproben der juvenilen PAP Patienten. 1. Inkubation der Membran mit SP-C. (◀ 1: SP-C Monomer, ▶ 2: SP-C Dimer)

Bei allen juvenilen PAP Patienten ist die Bande des reifen SP-C bei ca. 4,2 kDa vorhanden. Bei Patient Pj02, Pj18 und Pj19 ist zusätzlich eine Bande bei ca. 8 kDa, die dem SP-C Dimers entspricht, vorhanden.

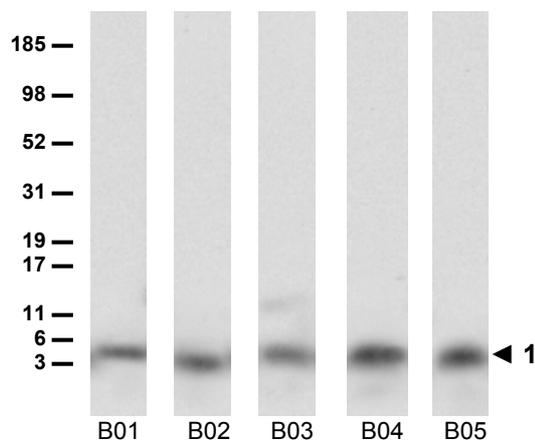
### III.A.9.2.1.2 PAP adult



**Abb. III.A.9.2.1.2.1:** Western Blots der nicht reduzierten Lavageproben der adulten PAP Patienten. 1. Inkubation der Membran mit SP-C Antikörper (◀ 1: SP-C Monomer, ◀ 2: SP-C Dimer, ◀ 3: SP-C Trimer).

Bei allen adulten PAP Patienten ist die Bande bei ca. 4,2 kDa für das reife SP-C Monomer vorhanden. Bei Patient Pa10 und Pa15 wurde zusätzlich eine Bande bei ca. 8 kDa, die dem SP-C Dimer entspricht, detektiert. Bei Patient Pa01, Pa11, Pa12 und Pa15 ist eine Bande bei ca. 8 kDa vorhanden die dem SP-C Dimer entspricht. Die restlichen Banden können nicht erklärt werden und sind unspezifische Detektionen des Antikörpers.

### III.A.9.2.1.3 Bronchitis



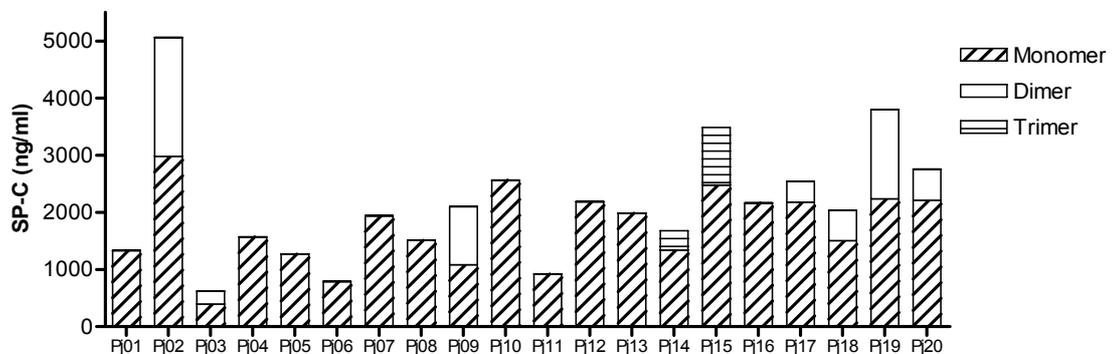
**Abb. III.A.9.2.1.3.1:** Western Blots der nicht reduzierten Lavageproben der Patienten mit Bronchitis. 1. Inkubation der Membran mit SP-C. (◄ 1: SP-C Monomer)

Bei allen Kontrollpatienten mit chronischer Bronchitis ist die Bande des reifen SP-C bei ca. 4,2 kDa vorhanden.

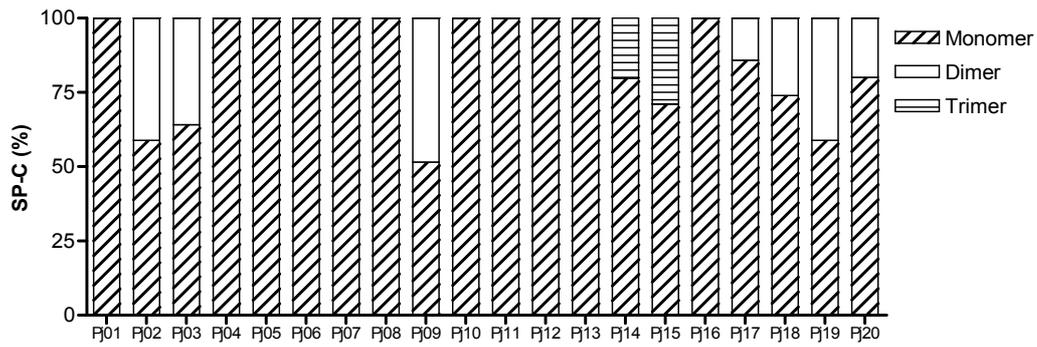
### III.A.9.2.2 SP-C Multimere

Zusätzlich sollen die Anteile der Monomer-, Dimer-, Trimer- und Tetramerbanden als Anteil an der Gesamtkonzentration SP-C und als prozentualer Anteil der SP-C Konzentration graphisch dargestellt werden.

#### III.A.9.2.2.1 PAP juvenil

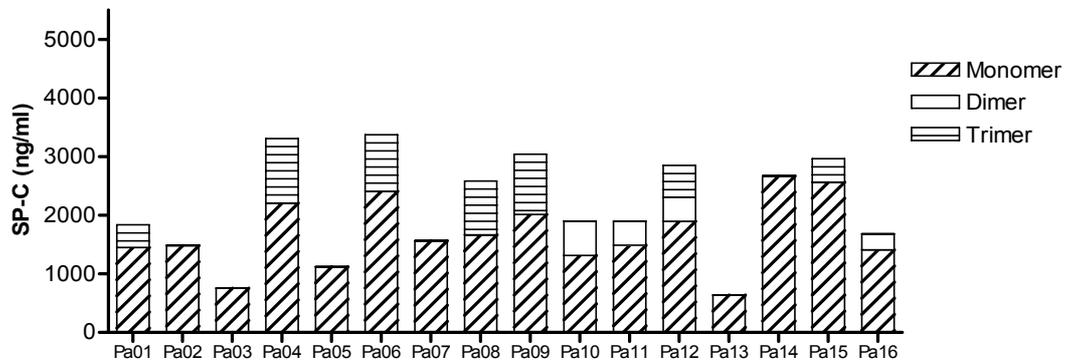


**Abb. III.A.9.2.2.1:** SP-C Konzentration in ng/ml aufgetrennt nach Anteil Monomer, Dimer und Trimer an der Gesamtkonzentration.

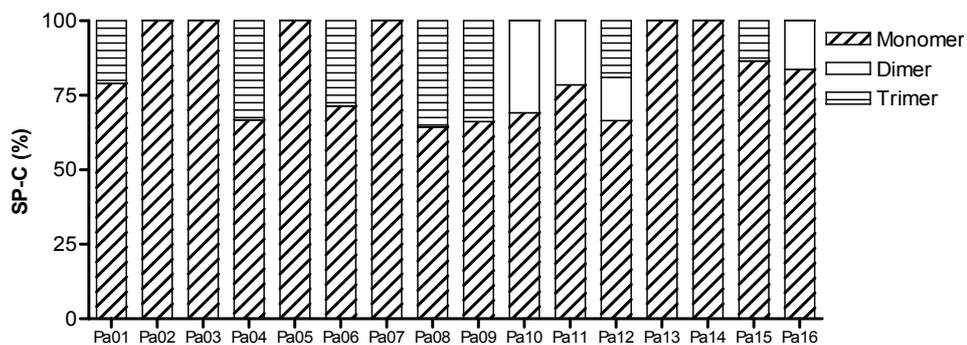


**Abb. III.A.9.2.2.2:** Anteil SP-C Monomer, Dimer und Trimer an der Gesamtkonzentration, dargestellt in %.

### III.A.9.2.2.2 PAP adult



**Abb. III.A.9.2.2.2.1:** SP-C Konzentration in ng/ml aufgetrennt nach Anteil Monomer, Dimer und Trimer an der Gesamtkonzentration.



**Abb. III.A.9.2.2.2.2:** Anteil SP-C Monomer, Dimer und Trimer an der Gesamtkonzentration, dargestellt in %.

### III.A.9.2.2.3 Bronchitis

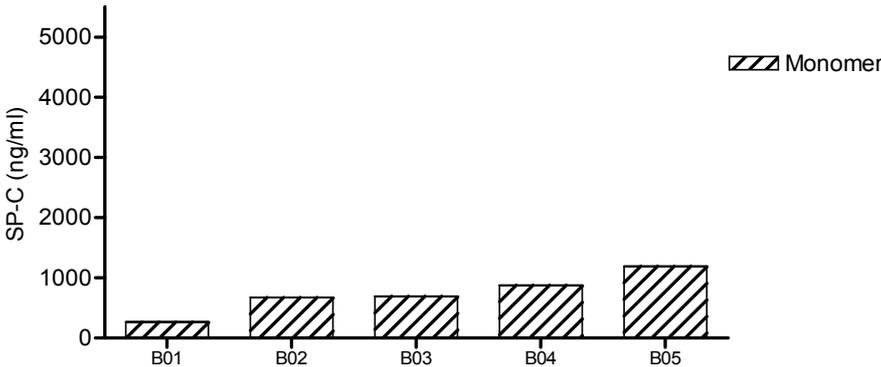


Abb. III.A.9.2.2.3.1: SP-C Konzentration in ng/ml des Monomers an der Gesamtkonzentration.

### **III.B Auswaschkinetik**

Bei ausgewählten juvenilen und adulten PAP Patienten wurden die Parameter Gesamtprotein und Surfactantprotein A, B, C und D untersucht. Es wurde die Konzentration pro ml, die absolut ausgewaschene Menge in der untersuchten Spülportion und die Konzentration bezogen auf das Körpergewicht beurteilt (III.B.2-5). Zusätzlich wurde die Konzentration, die ausgewaschene Menge pro Gesamtprotein, die ausgewaschene Menge je Gesamtlavage und die Konzentration pro kg Körpergewicht in der dBALF und der gesamten tBALF statistisch pro Gruppe ausgewertet (III.B.1). Es wurden Proben von 4 juvenilen PAP Patienten verwendet, von denen jeweils eine Poolfraktion der diagnostischen BAL (dBALF\_Pool) und Aliquots der einzelnen Flaschen der therapeutischen BAL (tBALF\_Fl.) zur Verfügung standen. In der Gruppe der adulten PAP Patienten waren von 3 Patienten Aliquots einzelner Flaschen der therapeutischen BAL (tBALF\_Fl.) und von weiteren 3 Patienten eine diagnostische Poolfraktion (dBALF\_Pool) und eine gepoolte therapeutische BAL (tBALF\_Pool) vorhanden. Aliquots der Poolfraktion einer diagnostischen BAL (dBALF\_Pool) von 16 gesunden Patienten und einem Patienten mit Lipidpneumonitis (Lj01) konnten als Kontrolle verwendet werden. Diese Poolfraktion ist zum Vergleich mit den Poolfraktionen der juvenilen PAP Patienten geeignet, da sie auf die gleiche Art gewonnen wurde. Bei dem Patienten mit Lipidpneumonitis konnte zusätzlich die Auswaschkinetik beurteilt und mit den PAP Patienten verglichen werden, da zusätzlich eine Halblungenlavage als Probe zur Verfügung stand. In den folgenden Tabellen (Tabelle III.B.1-3) finden sich genauere Angaben zu den verwendeten Lavagen und den Parametern, die bestimmt wurden. In Tabelle III.B.4 sind die BAL Befunde der Patienten- und Kontrollgruppen angegeben.

Tabelle III.B.1: Patientenkollektiv PAP juvenil (Pj)

Code	Geschlecht	BAL-Datum	Probe	Volumen dBALF_Pool; tBALF_gesamt	Protein	SP-A	SP-B	SP-C	SP-D
Pj01	m	01.10.2001 rechts	dBALF_Pool, tBALF_FI.1-4	36 ml; 1915 ml	X	---	---	---	X
		05.06.2000 rechts	dBALF_Pool, tBALF_FI.1-6	36 ml; 2932 ml	X	X	X	X	X
		07.06.2000 links	dBALF_Pool, tBALF_FI.1-6	36 ml; 2890 ml	X	X	X	X	X
		11.12.2000 rechts	dBALF_Pool, tBALF_FI.1-4	36 ml; 1801 ml	X	---	---	---	X
		09.05.2001 links	dBALF_Pool, tBALF_FI.1-10	36 ml; 4787 ml	X	---	X	X	X
		25.09.2000 rechts	dBALF_Pool, tBALF_FI.1-7	36 ml; 3407 ml	X	X	X	X	X
		27.09.2000 links	dBALF_Pool, tBALF_FI.1-9	36 ml; 4365 ml	X	X	X	X	X
		18.06.2001 rechts	dBALF_Pool, tBALF_FI.1-6	36 ml; 2985 ml	X	X	X	X	X
		20.06.2001 links	dBALF_Pool, tBALF_FI.1-7	36 ml; 3524 ml	X	X	X	X	X
		06.11.2000 rechts	dBALF_Pool, tBALF_FI.1-7	36 ml; 1775 ml	X	---	---	---	X
		08.11.2000 links	dBALF_Pool, tBALF_FI.1-9	36 ml; 2753 ml	X	---	---	---	X
Pj02	w	27.06.2001 rechts	dBALF_Pool, tBALF_FI.1-10	36 ml; 3790 ml	X	X	X	X	X
		29.06.2001 links	dBALF_Pool, tBALF_FI.1-6	36 ml; 2988 ml	X	X	X	X	X
		08.08.2002 rechts	dBALF_Pool, tBALF_FI.1-6	36 ml; 2739 ml	X	X	X	X	X
		08.08.2002 links	dBALF_Pool, tBALF_FI.1-7	36 ml; 3302 ml	X	X	X	X	X
		29.11.2002 rechts	dBALF_Pool, tBALF_FI.1-5	36 ml; 2245 ml	X	X	---	---	X
		29.11.2002 links	dBALF_Pool, tBALF_FI.1-7	36 ml; 3815 ml	X	X	X	X	X
Pj03	w	04.12.2002 rechts	dBALF_Pool, tBALF_FI.1-2	20 ml; 210,5 ml	X	X	X	X	X
		05.12.2002 links	dBALF_Pool, tBALF_FI.1-8	19 ml; 291 ml	X	X	X	X	X
Pj04	m	07.12.2001 rechts	dBALF_Pool, tBALF_FI.1-2	15 ml; 953 ml	X	X	X	X	X
		19.12.2001 links	dBALF_Pool, tBALF_FI.1-4	12,5 ml; 1056 ml	X	X	X	X	X
m		= männlich							
w		= weiblich							
X		= Probe wurde analysiert							
---		= nicht gemessen							

**Tabelle III.B.2:** Patientenkollektiv PAP adult (Pa)

Code	Geschlecht	BAL-Datum	Probe	Volumen dBALF_Pool; tBALF_gesamt	Protein	SP-A	SP-B	SP-C	SP-D
Pa01	w	12.3.2001 links	dBALF_Pool, tBALF_Pool	154 ml; 13800 ml	X	X	X	X	X
		15.3.2001 rechts	dBALF_Pool, tBALF_Pool	150 ml; 14100 ml	X	X	X	X	X
Pa02	w	19.2.2001 links	dBALF_Pool, tBALF_Pool	168 ml; 6440 ml	X	X	X	X	X
Pa03	w	23.4.2002 rechts	dBALF_Pool, tBALF_Pool	159 ml; 17500 ml	X	X	X	X	X
Pa04	w	31.08.2004	tBALF_FI.1-27	27000 ml	X	X	X	X	X
Pa05	m	05.05.2003 links	tBALF_FI.1-20	20000 ml	X	X	X	X	X
Pa06	m	02.10.2003 rechts	tBALF_FI.1-39	39000 ml	X	X	X	X	X
m = männlich w = weiblich X = Probe wurde analysiert									

**Tabelle III.B.3:** Patientenkollektiv gesunde Kontrollen (C)/ Lipidpneumonitis (Lj)

Code	Geschlecht	BAL-Datum	Probe	Volumen dBALF_Pool; tBALF_gesamt	Protein	SP-A	SP-B	SP-C	SP-D
C01	w	08.12.1998	dBALF_Pool	12 ml	X	X	X	X	X
C02	m	17.12.1994	dBALF_Pool	47,5 ml	X	X	---	---	X
C03	m	22.02.1999	dBALF_Pool	22,5 ml	X	X	---	---	X
C04	m	26.01.1999	dBALF_Pool	17 ml	X	X	X	X	X
C05	w	24.02.1999	dBALF_Pool	21 ml	X	X	X	X	X
C06	m	25.02.1999	dBALF_Pool	21 ml	X	X	---	---	X
C07	w	01.03.1999	dBALF_Pool	12,5 ml	X	X	X	X	X
C08	m	02.03.1999	dBALF_Pool	14 ml	X	X	---	---	X
C09	m	12.10.1999	dBALF_Pool	17 ml	X	X	---	---	X
C10	m	07.12.2000	dBALF_Pool	65 ml	X	X	---	---	X
Lj01	m	17.05.2001	dBALF_Pool	5 ml	X	X	X	X	X
		21.11.2001	dBALF_Pool, tBALF_FI.1-2	18 ml; 1132 ml	X	X	X	X	X
m = männlich w = weiblich X = Probe wurde analysiert --- = nicht gemessen									

**Tabelle III.B.4:** BALF Befunde der Patienten- und Kontrollgruppen

	Zellzahl ( $\mu\text{l}^{-1}$ )	Makrophagen (%)	Lymphocyten (%)	Neutrophile (%)	Eosinophile (%)	Vitalität (%)	Recovery (%)
PAP juv (n=20)	170 (80; 540)	81 (35; 91)	7 (2; 19)	13 (5; 55)	0 (0;0)	89.5 (85; 92.5)	62
PAP ad (n=16)	125 (53; 178)	74 (40; 80)	18.5 (7.1; 29.5)	30.5 (4.5; 89)	1 (0.5; 3.3)	59	n.a.
Kontrollen (n=10)	27 (9; 68)	91 (87; 95)	8 (5; 12)	1 (0.5; 2)	0 (0;0)	77 (70; 84)	39 (31; 48)
Lipidpneumonitis (n=1)	170	41	10	42	7	85	170
--- = nicht untersucht							
Anmerkung: Die BAL Befunde der Patienten beinhalteten nicht in allen Fällen sämtliche Parameter (n.a.).							

### III.B.1 Summenstatistik der ausgewaschenen Komponenten

In den folgenden Tabellen werden die Ergebnisse der Parameter Gesamtprotein, SP-A, SP-B, SP-C und SP-D in den untersuchten Proben der Patienten- und Kontrollgruppen dargestellt. Es wurden jeweils die Poolfraktionen der diagnostischen Lavagen und die therapeutischen Lavagen als Gesamtanalyse pro Gruppe ausgewertet. Es ist jeweils der Median und die 25/ 75 % Perzentilen angegeben.

**Tabelle III.B.1.1:** Volumen (zurückgewonnen) der dBALF und tBALF

	Art der BAL	PAP juvenil (n=4)	PAP adult (dBAL: n=4/ tBAL: n=6)	Gesunde Kontrollen (n=10)	Lipidpneumonitis (n=1)
Ausgewaschenes Volumen (ml)	dBALF_Pool	36.0 (36.0; 36.0)	156.5 (152; 3466)	19 (13.3; 35)	11.5
	tBALF	2890 (1788; 3466)	17500 (13800; 27000)	n.a.	1132
n.a. nicht zutreffend					

**Tabelle III.B.1.2:** Gesamtprotein in der dBALF und tBALF

	Art der BAL	PAP juvenil (n=4)	PAP adult (dBAL: n=4/ tBAL: n=6)	Gesunde Kontrollen (n=16)	Lipidpneumonitis (n=1)
<b>Protein</b>					
Konzentration (µg/ml)	dBALF_Pool	324.3 (209.0; 1182)	845.3 (228.3; 1490)	71.1 (48.2; 83.1)	116.4
	tBALF	222.5 ( 118.7; 1020)	538.0 (199.3; 768.1)	n.a.	187.0
Ausgewaschene Menge total (mg)	dBALF_Pool	10.3 (7.5; 35.7)	129.7 (37.8; 226.8)	1.3 (1.0; 2.3)	0.58
	tBALF	538.8 (270.6; 1965)	7586 (3071; 15374)	n.a.	123.7
Konzentration pro kg Körpergewicht (mg/ml/kg)	dBALF_Pool	30.37 (18.01; 121.5)	23.8 (9.6; 79.1)	6.4 (3.2; 8.8)	8.95
	tBALF	20.3 (9.3; 89.6)	7.7 (3.6; 10.2)	n.a.	14.39
Ausgewaschene Menge total/ kg Körpergewicht (mg/kg)	dBALF_Pool	1.1 (0.6; 3.9)	2.0 (0.7; 3.2)	0.12 (0.09; 0.16)	0.04
	tBALF	47.6 (24.4; 161.3)	108.4 (38.4; 258.1)	n.a.	9.52
n.a. nicht zutreffend					

**Tabelle III.B.1.3:** SP-A, SP-B, SP-C, SP-D in der dBALF und tBALF

	Art der BAL	PAP juvenil (n=4)	PAP adult (dBAL: n=4/ tBAL: n=6)	Gesunde Kontrollen (n=10)	Lipidpneumonitis (n=1)
<b>SP-A</b>					
Konzentration (µg/ml)	dBALF_Pool	33,2 (17.2; 181.2)	278.2 (141.2; 632.3)	9.0 (3.4; 11.3)	15,43
	tBALF	50,7 (22.0; 193.0)	736.1 (530.6; 2568)	n.a.	54,96
Menge pro Protein (µg/µg)	dBALF_Pool	0.09 (0.05; 0.25)	0.19 (0.14; 1.62)	0.12 (0.05; 0.16)	0,13
	tBALF	0.17 (0.12; 0.28)	1.07 (0.56; 15.71)	n.a.	0,33
Ausgewaschene Menge total (mg)	dBALF_Pool	0.76 (0.53; 5.18)	42.3 (21.8; 103.6)	0.67 (0.20; 0.98)	0,08
	tBALF	99.6 (37.0; 363.0)	10158 (7982; 51358)*	n.a.	31.2
Konzentration pro kg Körpergewicht (µg/ml/kg)	dBALF_Pool	4.2 (1.4; 14.8)	4.0 (2.0; 10.8)	0.89 (0.29; 1.09)	1,19
	tBALF	7.5 (2.0; 21.4)	10.5 (5.8; 29.3)	n.a.	4,23
Ausgewaschene Menge total/ kg Körpergewicht (mg/kg)	dBALF_Pool	0.12 (0.05; 0.45)	0.61 (0.32; 1.78)	0.05 (0.02; 0.09)	0.01
	tBALF	14.6 (3.6; 26.8)	145 (114; 642)	n.a.	1.23
<b>SP-B</b>					
Konzentration (ng/ml)	dBALF_Pool	856.2 (614; 1366)	764 (341; 1134)	591 (160; 1227)	261.7
	tBALF	759 (595; 1063)	523 (372; 1253)	n.a.	364.5
Menge pro Protein (ng/µg)	dBALF_Pool	1.8 (0.9; 4.1)	1.04 (0.77; 1.67)	8.1 (3.4; 13.6)	1.68
	tBALF	2.3 (1.2; 15.4)	1.4 (1.1; 2.6)	n.a.	1.62
Ausgewaschene Menge total (µg)	dBALF_Pool	29.7 (19.6; 48.2)	118.2 (56.0; 172.4)	10.0 (2.6; 17.6)	4.71
	tBALF	2705 (1090; 3191)*	7607 (3953; 30220)*	n.a.	408.3
Konzentration pro kg Körpergewicht (ng/ml/kg)	dBALF_Pool	86.7 (56.9; 111.9)	11.6 ( 6.1; 16.2)	52.5 (13.3; 149)	20.13
	tBALF	83.4 (56.2; 93.5)	7.5 (4.8; 20.0)	n.a.	28.04

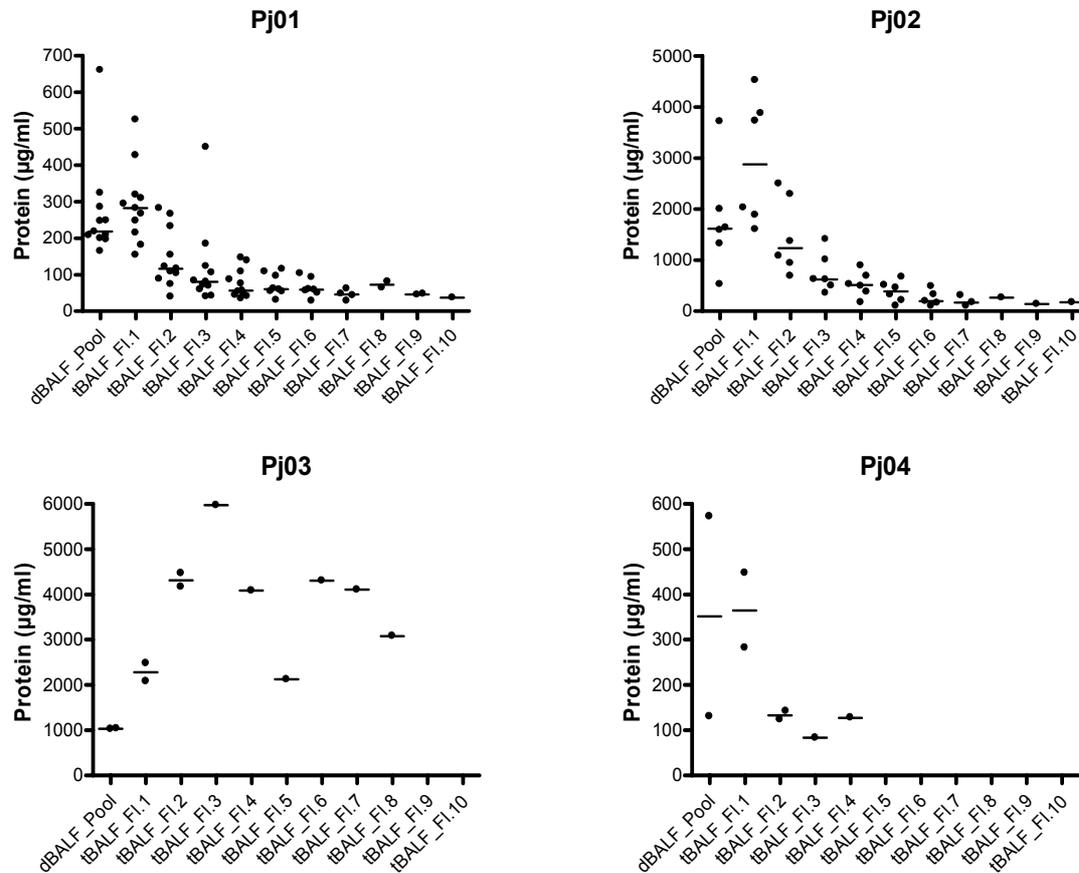
	Art der BAL	PAP juvenil (n=4)	PAP adult (dBAL: n=4/ tBAL: n=6)	Gesunde Kontrollen (n=10)	Lipidpneumonitis (n=1)
Ausgewaschene Menge total/ kg Körpergewicht (µg/kg)	dBALF_Pool	2.9 (1.8; 3.8)	1.8 (1.0; 2.5)	0.91 (0.2; 2.1)	0.36
	tBALF	190 (125; 275)	105 (70.6; 537)	n.a.	31.4
<b>SP-C</b>					
Konzentration (ng/ml)	dBALF_Pool	1418 (790; 2330)	1478 (632; 2096)	333 (91.6; 683)	726.2
	tBALF	1385 (735; 1864)	897 (614; 1286)	n.a.	837.0
Menge pro Protein (ng/µg)	dBALF_Pool	2.4 (1.8; 3.8)	20.3( 4.8; 81.5)	4.5 (1.8; 10.2)	4.66
	tBALF	4.5 (2.3; 6.2)	4.2 (2.3; 41.2)	n.a.	3.87
Ausgewaschene Menge total (µg)	dBALF_Pool	39.2 (23.7; 62.6)	230 (104; 819)	8.6 (2.7; 14.8)	13,07
	tBALF	3199 (1220; 5611)*	14238 (9583; 34999)*	n.a.	939.8
Konzentration pro kg Körpergewicht (ng/ml/kg)	dBALF_Pool	148 (62.1; 222)	22.7 (11.3; 29.9)	30.3 (9.3; 61.3)	55.86
	tBALF	139 (61.4; 206)	14.4 (9.9; 23.0)	n.a.	64.38
Ausgewaschene Menge total/ kg Körpergewicht (µg/kg)	dBALF_Pool	4.2 (2.2; 6.0)	3.5 (1.9; 4.6)	0.6 (0.2; 1.3)	1.01
	tBALF	247 (213; 432)	203 (120; 620)	n.a.	72.3
<b>SP-D</b>					
Konzentration (µg/ml)	dBALF_Pool	0.42 (0.24; 0.73)	0.53 (0.37; 2.73)	0.37 (0.26; 0.64)	0.10
	tBALF	0.43 (0.24; 0.60)	0.51 (0.38; 0.77)	n.a.	0.50
Menge pro Protein (ng/µg)	dBALF_Pool	0.96 (0.23; 1.53)	0.52 (0.35; 18.6)	5.3 (3.6; 11.1)	0.82
	tBALF	1.7 (0.8; 2.5)	1.49 (0.70; 3.60)	n.a.	1.4
Ausgewaschene Menge total (µg)	dBALF_Pool	13.4 (56.1; 25.5)	80.0 (56.5; 433.1)	7.0 (5.0; 14.5)	0.48
	tBALF	804 (405; 1707)	10902 (8259; 16239)*	n.a.	279
Konzentration pro kg Körpergewicht (ng/ml/kg)	dBALF_Pool	0.04 (0.03; 0.07)	0.008 (0.006; 0.05)	0.04 (0.02; 0.06)	0.007
	tBALF	0.04 (0.02; 0.05)	0.009 (0.005; 0.01)	n.a.	0.04
Ausgewaschene Menge total/ kg Körpergewicht (mg/kg)	dBALF_Pool	1.26 (0.86; 1.92)	1.14 (0.87; 7.59)	0.64 (0.52; 0.89)	0.04
	tBALF	64.4 (51.1; 126)	156 (94.7; 245)	n.a.	21.4
* ausgewaschene Menge total berechnet (aus Konzentration und Volumen)					
n.a. nicht zutreffend					

### III.B.2 Gesamtprotein

Im Folgenden werden die Ergebnisse der Gesamtproteinanalytik der Proben der juvenilen und adulten PAP Patienten und der Kontrollgruppe graphisch dargestellt. Es wurde jeweils die Gesamtproteinkonzentration, die absolute Proteinmenge in der jeweiligen Spülportion und die Gesamtproteinkonzentration bezogen auf das Körpergewicht analysiert. Es wurde die Proteinbestimmungsmethode nach Bradford verwendet.

### III.B.2.1 Konzentration

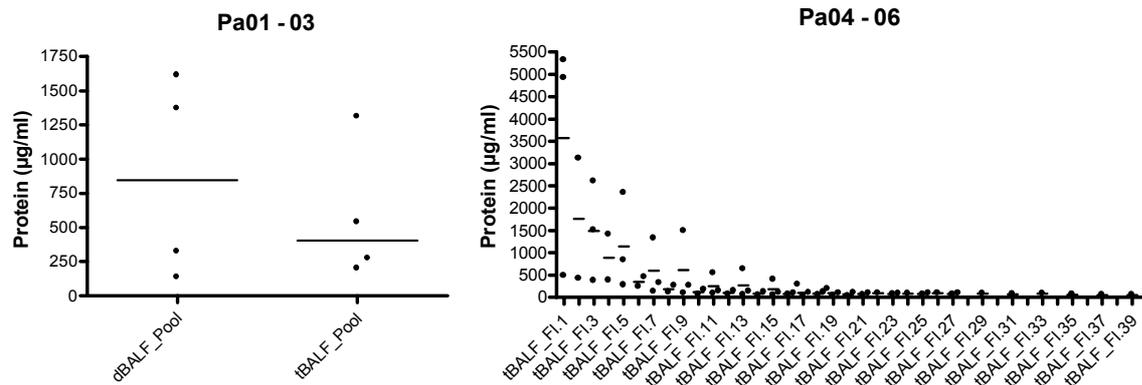
#### III.B.2.1.1 PAP juvenil



**Abb. III.B.2.1.1.1:** Gesamtproteinkonzentration in den Poolfraktionen der diagnostischen BALF und den einzelnen Flaschen der therapeutischen Lavagen der juvenilen PAP Patienten Pj01, Pj02, Pj03 und Pj04. Ein Symbol entspricht der Gesamtproteinkonzentration in µg/ml in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

Die Proben der Patienten Pj01, Pj02 und Pj04 zeigen eine hyperbole Auswaschkinetik. Bei Patient Pj03 ist keine einheitliche Auswaschkinetik erkennbar. Die Poolfraktionen weisen, da sie nur zentrifugiert zur Verfügung standen eine geringere Proteinkonzentration auf, als die jeweils folgenden 1.Flaschen.

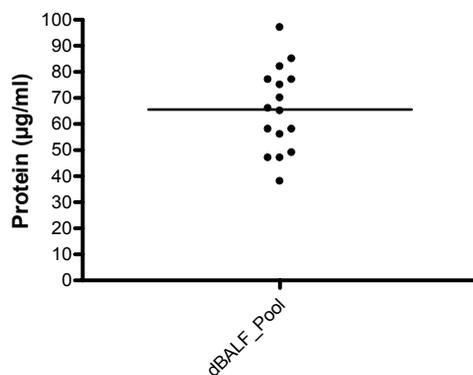
### III.B.2.1.2 PAP adult



**Abb. III.B.2.1.2.1:** Gesamtproteinkonzentration in den Poolfraktionen der diagnostischen BALF und den gepoolten therapeutischen Lavagen der adulten PAP Patienten Pa01, Pa02 und Pa03 und den einzelnen Flaschen der therapeutischen Lavagen der adulten PAP Patienten Pa04, Pa05 und Pa06. Ein Symbol entspricht der Gesamtproteinkonzentration in µg/ml in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

Die Patienten Pa04-Pa06 zeigten eine hyperbole Auswaschkinetik. Bei den Patienten Pa01-Pa03 findet sich in der Poolfraktion eine höhere Proteinkonzentration, als in der gepoolten therapeutische BAL.

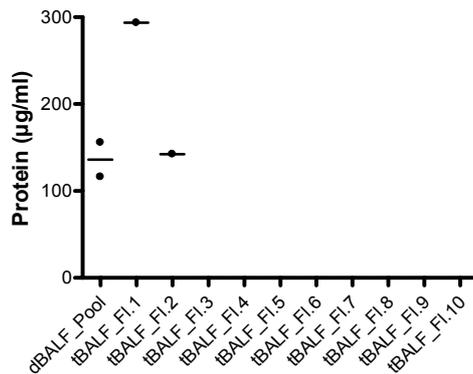
### III.B.2.1.3 Gesunde Kontrollen



**Abb. III.B.2.1.3.1:** Gesamtproteinkonzentration in den Poolfraktionen der diagnostischen BALF der gesunden Kontrollen. Ein Symbol entspricht der Gesamtproteinkonzentration in µg/ml in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

Die Proteinkonzentration in den Proben der Poolfraktionen der gesunden Kontrollen sind im Median deutlich niedriger als bei den juvenilen PAP Patienten.

### III.B.2.1.4 Lipidpneumonitis

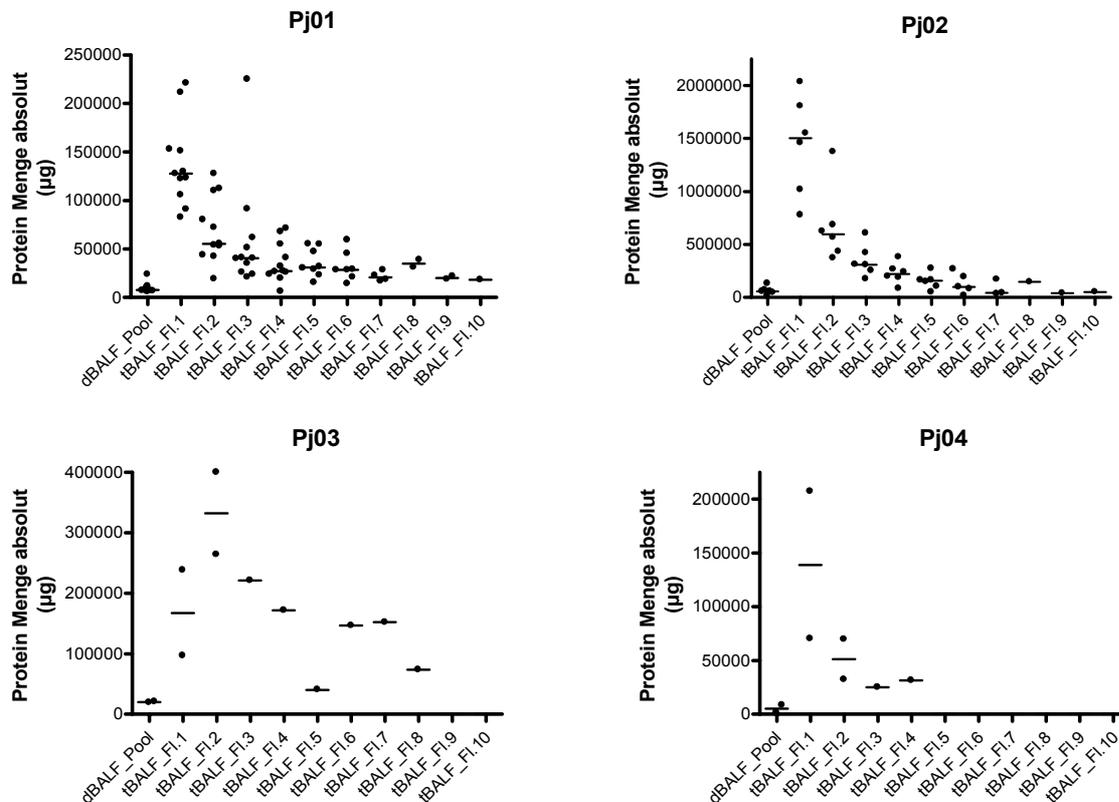


**Abb. III.B.2.1.4.1:** Gesamtproteinkonzentration in den Poolfraktionen der diagnostischen BALF und den einzelnen Flaschen der therapeutischen Lavagen des Patienten mit Lipidpneumonitis Lj01. Ein Symbol entspricht der Gesamtproteinkonzentration in µg/ml in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

Der Kontrollpatient Lj01 zeigt bezogen auf die Proteinkonzentration die gleiche Auswaschkinetik wie die PAP Patienten. Die Poolfraktion weist die geringste Konzentration auf, die Konzentration der 2. Flasche liegt unter der Konzentration der 1. Flasche, was der Kinetik der PAP Patienten entspricht.

## III.B.2.2 Absolute Auswaschmenge pro Spülportion

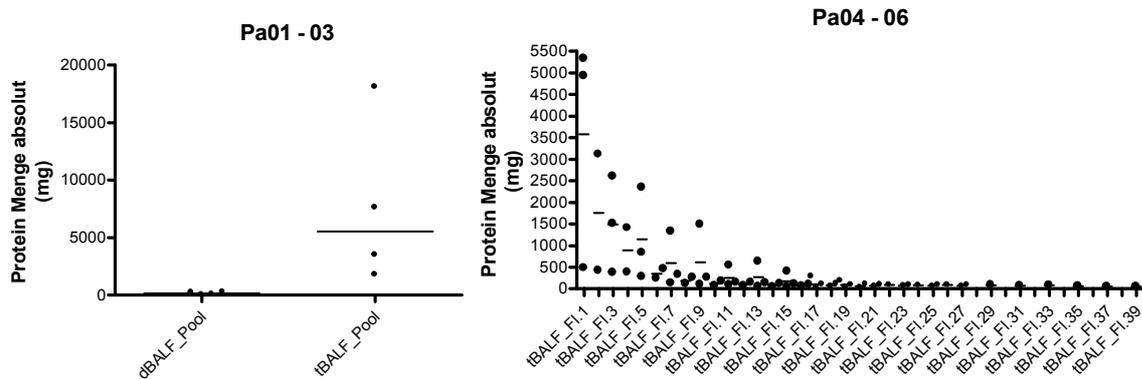
### III.B.2.2.1 PAP juvenil



**Abb. III.B.2.2.1.1:** Gesamtproteinmenge absolut in den Poolfraktionen der diagnostischen BALF und den einzelnen Flaschen der therapeutischen Lavagen der juvenilen PAP Patienten. Ein Symbol entspricht der Gesamtproteinmenge in mg in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

Die Proben der juvenilen PAP Patienten Pj01-Pj04 zeigen eine hyperbole Auswaschkinetik bezogen auf die Gesamtproteinmenge je Spülportion. Die Poolfraktion zeigt bei allen Patienten eine geringere Konzentration, als die folgende 1. Flasche, was durch die Zentrifugation der Probe, aber hauptsächlich durch das niedrigere Volumen der Poolfraktion zu erklären ist.

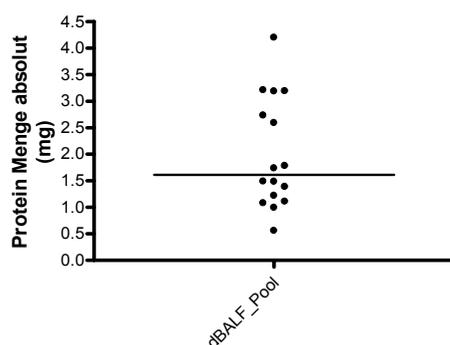
### III.B.2.2.2 PAP adult



**Abb. III.B.2.2.2.1:** Gesamtproteinmenge absolut in den Poolfraktionen der diagnostischen BALF und den gepoolten therapeutischen Lavagen der adulten PAP Patienten Pa01, Pa02 und Pa03 und den einzelnen Flaschen der therapeutischen Lavagen der adulten PAP Patienten Pa04, Pa05 und Pa06. Ein Symbol entspricht der Gesamtproteinmenge in mg in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

Die Proben der adulten PAP Patienten Pa04-Pa06 zeigen eine hyperbole Auswaschkinetik bezogen auf die absolut ausgewaschene Proteinmenge. Bei den adulten PAP Patienten Pa01-03 ist die Gesamtmenge in den therapeutischen Spülportionen auf Grund des vielfach höheren Volumens, größer als in den diagnostischen Lavagen.

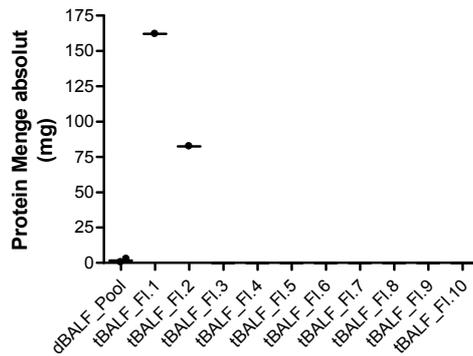
### III.B.2.2.3 Gesunde Kontrollen



**Abb. III.B.2.2.3.1:** Gesamtproteinmenge absolut in den Poolfraktionen der diagnostischen BALF der Kontrollen. Ein Symbol entspricht der Gesamtproteinmenge in mg in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

Die gesunden Kontrollen zeigen im Median eine niedrigere absolute Proteinmenge in der Poolfraktion, was schon durch die niedrigere Proteinkonzentration bedingt ist.

### III.B.2.2.4 Lipidpneumonitis

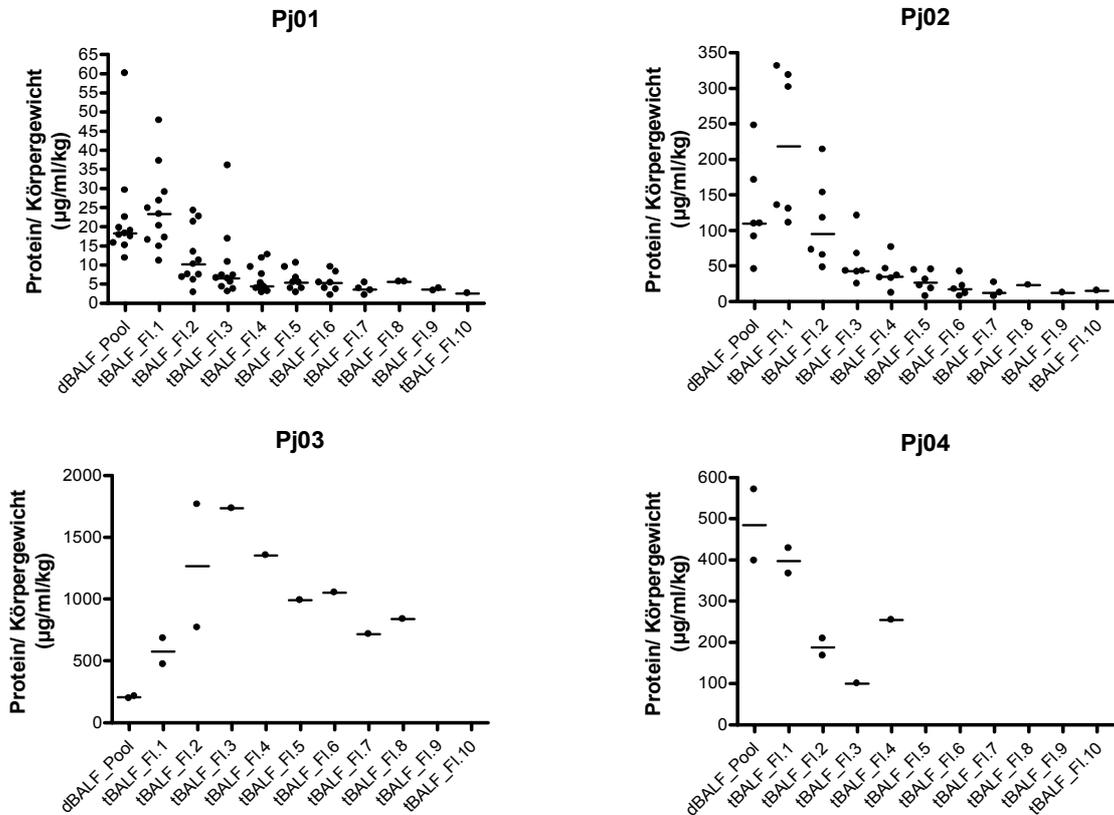


**Abb. III.B.2.2.4.1:** Gesamtproteinmenge absolut in den Poolfraktionen der diagnostischen BALF und den einzelnen Flaschen der therapeutischen Lavagen des Patienten mit Lipidpneumonitis Lj01. Ein Symbol entspricht der Gesamtproteinmenge in mg in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

Bei dem Kontrollpatienten Lj01 zeigt die Auswaschkinetik den gleichen Verlauf wie die Kinetik der PAP Patienten, die Gesamtproteinmenge des Pools liegt unter der Gesamtmenge der 1. Flasche, da er vor der Messung zentrifugiert wurde und das Volumen geringer war. Die Proteing Gesamtmenge der 2. Flasche liegt unter der Menge der 1. Flasche, was der Kinetik der PAP Patienten entspricht.

### III.B.2.3 Proteinkonzentration /kg Körpergewicht

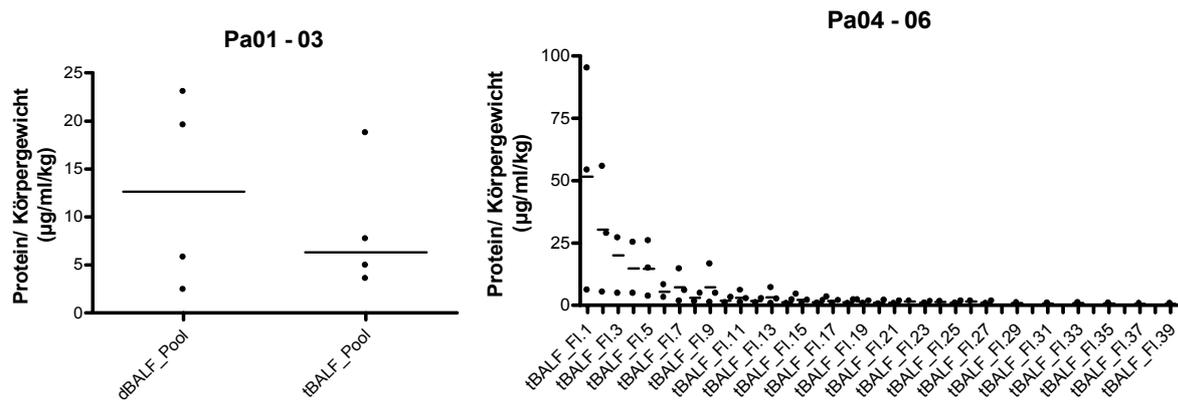
#### III.B.2.3.1 PAP juvenil



**Abb. III.B.2.3.1.1:** Gesamtproteinkonzentration bezogen auf das Körpergewicht in den Poolfraktionen der diagnostischen BAL und den einzelnen Flaschen der therapeutischen Lavagen der juvenilen PAP Patienten. Ein Symbol entspricht der Gesamtproteinkonzentration in µg/ml/kg Körpergewicht in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

Auch bezogen auf das Körpergewicht zeigen die Proben der juvenilen PAP Patienten eine hyperbole Auswaschkinetik.

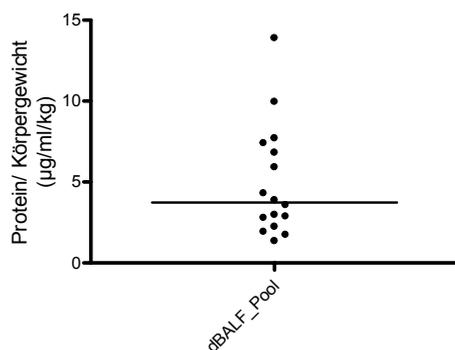
### III.B.2.3.2 PAP adult



**Abb. III.B.2.3.2.1:** Gesamtproteinkonzentration bezogen auf das Körpergewicht in den Poolfraktionen der diagnostischen BALF und den gepoolten therapeutischen Lavagen der adulten PAP Patienten Pa01, Pa02 und Pa03 und den einzelnen Flaschen der therapeutischen Lavagen der adulten PAP Patienten Pa04, Pa05 und Pa06. Ein Symbol entspricht der Gesamtproteinkonzentration in µg/ml/kg Körpergewicht in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

Bezogen auf das Körpergewicht zeigen die Proben der adulten PAP Patienten Pa04-P06 eine hyperbole Auswaschkinetik. Die adulten PAP Patienten Pa01-P03 zeigen bezogen auf das Körpergewicht in den Poolfraktionen höhere Proteinkonzentrationen.

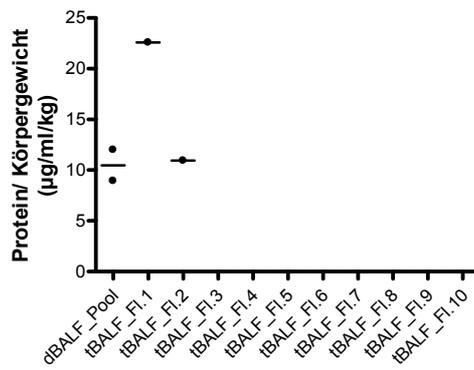
### III.B.2.3.3 Gesunde Kontrollen



**Abb. III.B.2.3.3.1:** Gesamtproteinkonzentration bezogen auf das Körpergewicht in den Poolfraktionen der diagnostischen BALF der Kontrollen. Ein Symbol entspricht der Gesamtproteinkonzentration in µg/ml/kg Körpergewicht in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

Die gesunden Kontrollen zeigen auch bezogen auf das Körpergewicht eine geringere Proteinkonzentration in den Proben der Poolfraktion als die juvenilen PAP Patienten.

### III.B.2.3.4 Lipidpneumonitis



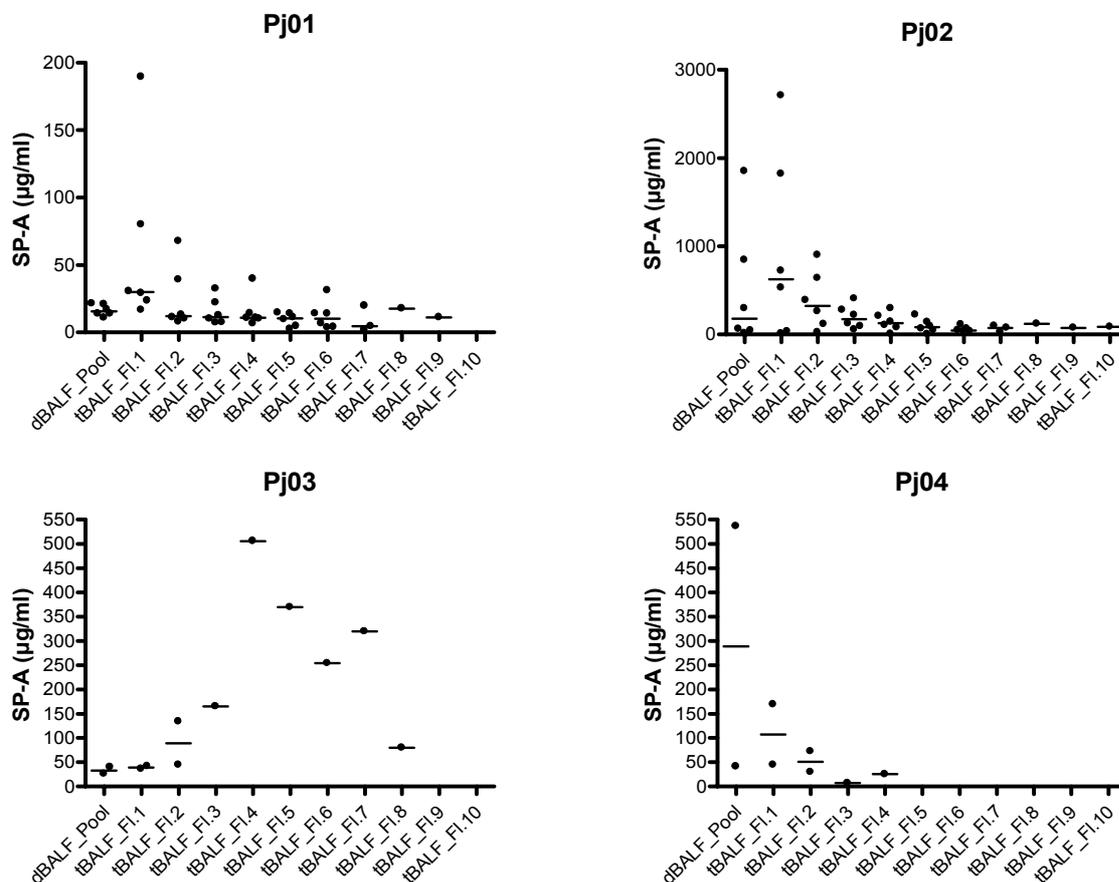
**Abb. III.B.2.3.4.1:** Gesamtproteinkonzentration bezogen auf das Körpergewicht in den Poolfraktionen der diagnostischen BAL und den einzelnen Flaschen der therapeutischen Lavagen des Patienten mit Lipidpneumonitis Lj01. Ein Symbol entspricht der Gesamtproteinkonzentration in µg/ml/kg Körpergewicht in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

Der Kontrollpatient Lj01 zeigte die gleiche Auswaschkinetik pro kg Körpergewicht wie die PAP Patienten.

### III.B.3 SP-A

Im Folgenden werden die Ergebnisse der SP-A Analytik in den Proben der juvenilen und adulten PAP Patienten dargestellt und mit dem gesunden Kontrollkollektiv verglichen. Es wurde jeweils die SP-A Konzentration in  $\mu\text{g/ml}$ , die absolute SP-A Menge in  $\mu\text{g}$  in der jeweiligen Spülportion, die SP-A Konzentration bezogen auf das Körpergewicht und bezogen die Proteinkonzentration in der jeweiligen Spülportion analysiert.

#### III.B.3.1 Konzentration III.B.3.1.1 PAP juvenil

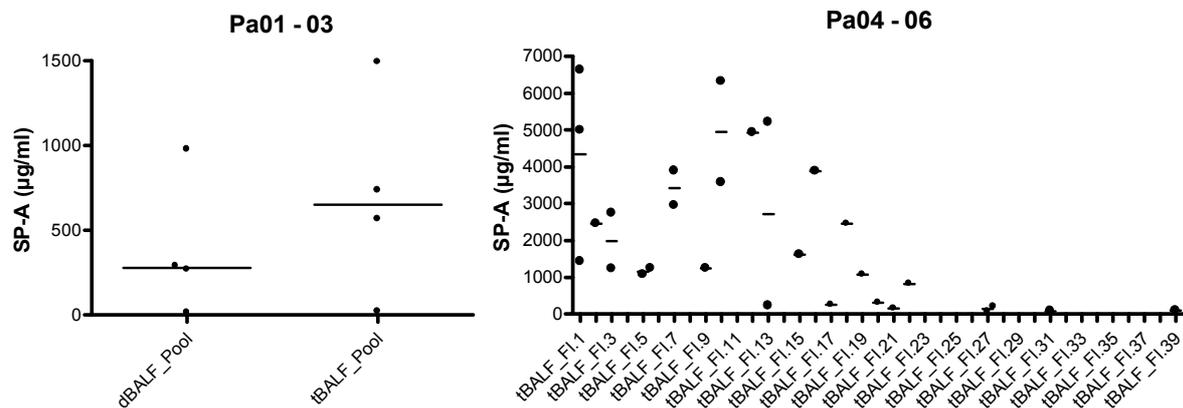


**Abb. III.B.3.1.1.1:** SP-A Konzentration in den Poolfraktionen der diagnostischen BALF und den einzelnen Flaschen der therapeutischen Lavagen der juvenilen PAP Patienten Pj01, Pj02, Pj03 und Pj04. Ein Symbol entspricht der SP-A Konzentration in  $\mu\text{g/ml}$  in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

Bei den Proben der juvenilen PAP Patienten Pj01, Pj02 und Pj04 ist eine hyperbole Auswaschkinetik, bei Patient Pj03 ist keine einheitliche Auswaschkinetik zu erkennen. Die Mediane der SP-A Konzentrationen in den einzelnen Proben der Patienten sind dabei sehr unterschiedlich, die SP-A Konzentrationen des Patienten

Pj02 liegen deutlich höher, als die der anderen juvenilen PAP Patienten. Es ist zu beachten, dass die jeweilige Poolfraktion eine geringere Konzentration aufweist als die folgende 1. Flasche. Dies liegt daran, dass die Pool Fraktion nur zentrifugiert zur Verfügung stand, was einen Konzentrationsverlust von ca. 30 % bedingt.

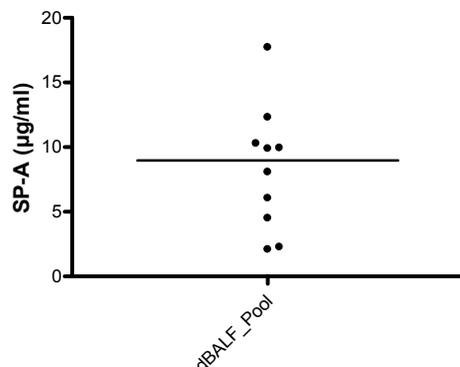
### III.B.3.1.2 PAP adult



**Abb. III.B.3.1.2.1:** SP-A Konzentration in den Poolfraktionen der diagnostischen BALF und den gepoolten therapeutischen Lavagen der adulten PAP Patienten Pa01, Pa02 und Pa03 und den einzelnen Flaschen der therapeutischen Lavagen der adulten PAP Patienten Pa04, Pa05 und Pa06. Ein Symbol entspricht der SP-A Konzentration in µg/ml in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

Bei den Proben der adulten PAP Patienten Pa01-Pa03 haben die Poolfraktionen der diagnostischen Lavagen im Median eine höhere SP-A Konzentration als die gepoolten Proben der therapeutischen Lavagen. Die Proben der adulten PAP Patienten Pa04-Pa06 zeigen keine einheitliche Auswaschkinetik.

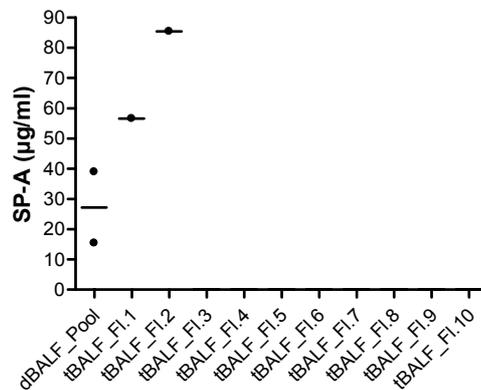
### III.B.3.1.3 Gesunde Kontrollen



**Abb. III.B.3.1.3.1:** SP-A Konzentration in den Poolfraktionen der diagnostischen BALF der gesunden Kontrollen. Ein Symbol entspricht der SP-A Konzentration in µg/ml in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

Die SP-A Konzentration der gesunden Kontrollgruppe in der Poolfraktion der diagnostischen Lavage ist im Median mit der Poolfraktion der juvenilen PAP Patienten Pj01 und Pj03 vergleichbar.

### III.B.3.1.4 Lipidpneumonitis

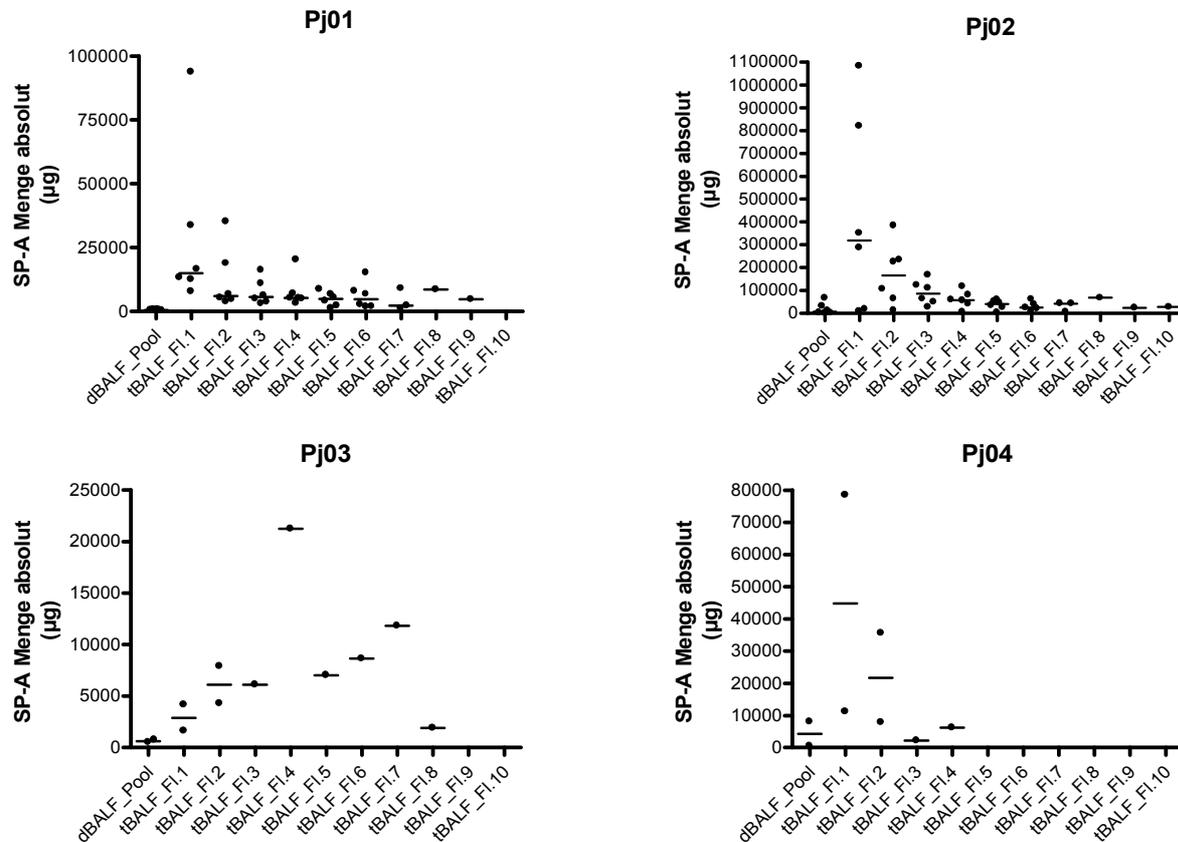


**Abb. III.B.3.1.4.1:** SP-A Konzentration in den Poolfraktionen der diagnostischen BALF und den einzelnen Flaschen der therapeutischen Lavagen des Patienten mit Lipidpneumonitis Lj01. Ein Symbol entspricht der SP-A Konzentration in µg/ml in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

Der Kontrollpatient Lj01 zeigte ein zu den PAP Patienten gegensätzliches Auswaschprofil. Die höchste SP-A Konzentration konnte in der 2. Flasche gemessen werden.

### III.B.3.2 Absolute Auswaschmenge pro Spülportion

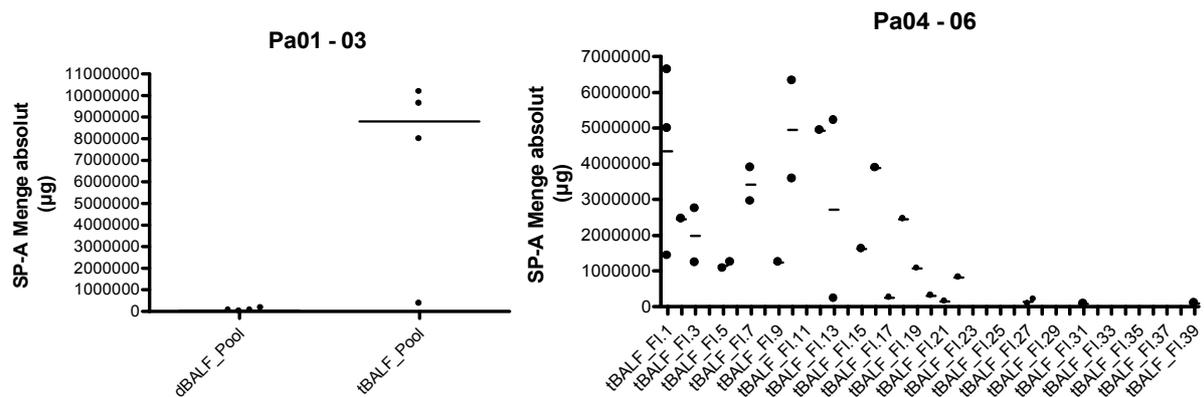
#### III.B.3.2.1 PAP juvenil



**Abb. III.B.3.2.1.1:** SP-A Menge absolut, die in den Poolfraktionen der diagnostischen BAL und den einzelnen Flaschen der therapeutischen Lavagen der juvenilen PAP Patienten Pj01, Pj02, Pj03 und Pj04 ausgewaschen wurde. Ein Symbol entspricht der SP-A Menge in µg in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

In den Proben der juvenilen PAP Patienten Pj01, Pj02 und Pj04 ist eine abnehmende SP-A Menge in den Spülportionen über die BAL zu erkennen. Der juvenile PAP Patient Pj03 zeigt über die Dauer der BAL keine abnehmenden SP-A Mengen in den einzelnen Spülportionen.

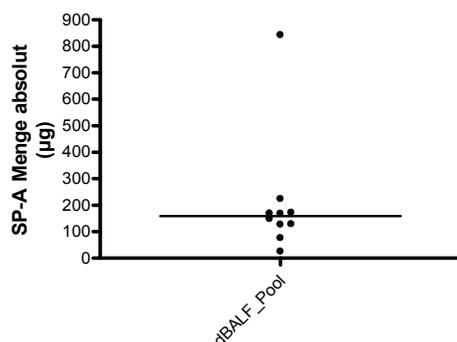
### III.B.3.2.2 PAP adult



**Abb. III.B.3.2.2.1:** SP-A Menge absolut, die in den Poolfraktionen der diagnostischen BALF und den gepoolten therapeutischen Lavagen der adulten PAP Patienten Pa01, Pa02 und Pa03 und den einzelnen Flaschen der therapeutischen Lavagen der adulten PAP Patienten Pa04, Pa05 und Pa06 ausgewaschen wurde. Ein Symbol entspricht der SP-A Menge in µg in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

Die adulten PAP Patienten Pa04-06 zeigen über die Dauer der BAL keine abnehmenden SP-A Mengen in den einzelnen Spülportionen. Bei den adulten PAP Patienten Pa01-03 ist die Gesamtmenge SP-A in den therapeutischen Spülportionen auf Grund des vielfach höheren Volumens, größer als in den diagnostischen Lavagen.

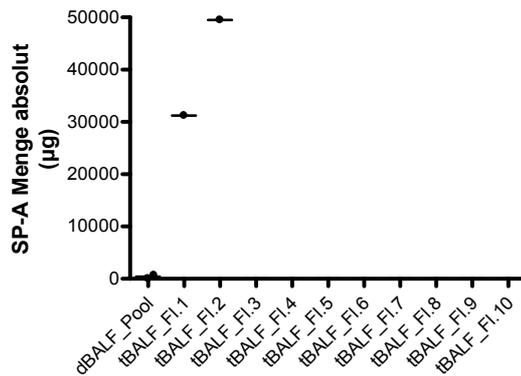
### III.B.3.2.3 Gesunde Kontrollen



**Abb. III.B.3.2.3.1:** SP-A Menge absolut, in den Poolfraktionen der diagnostischen BAL der Kontrollen, die ausgewaschen wurde. Ein Symbol entspricht der SP-A Menge in µg in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

Die SP-A Konzentrationen in den Poolfraktionen der gesunden Kontrollen liegen im Median deutlich unter den Konzentrationen der Poolfraktionen der juvenilen PAP Patienten.

### III.B.3.2.4 Lipidpneumonitis

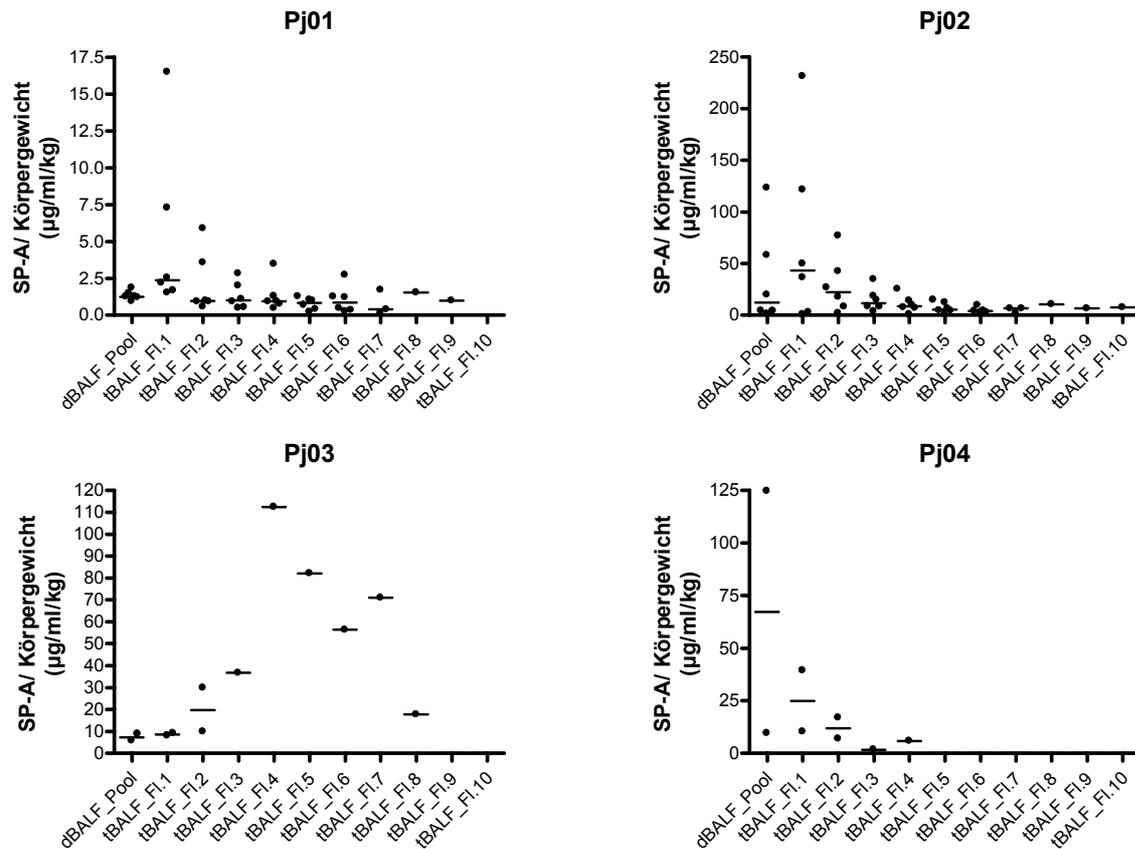


**Abb. III.B.3.2.4.1:** SP-A Menge absolut, die in den Poolfraktionen der diagnostischen BAL und den einzelnen Flaschen der therapeutischen Lavagen des Patienten mit Lipidpneumonitis Lj01 ausgewaschen wurde. Ein Symbol entspricht der SP-A Menge in µg in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

Die Auswaschkinetik des Kontrollpatienten Lj01 zeigte zeigte einen gegensätzlichen Verlauf, da die SP-A Menge, die pro Flasche ausgewaschen wurde über den Verlauf der Lavage anstieg.

### III.B.3.3 SP-A /kg Körpergewicht

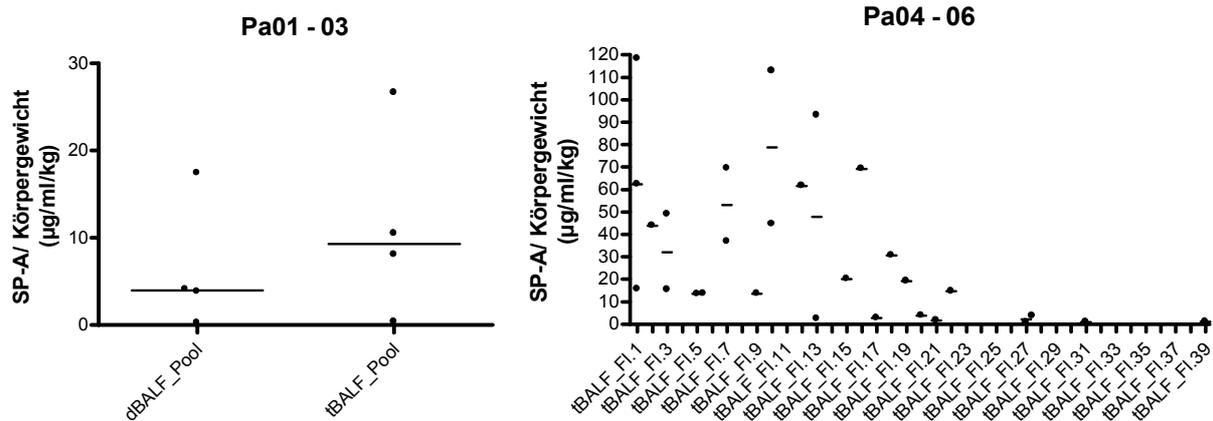
#### III.B.3.3.1 PAP juvenil



**Abb. III.B.3.3.1.1:** SP-A Konzentration bezogen auf das Körpergewicht in den Poolfraktionen der diagnostischen BAL und den einzelnen Flaschen der therapeutischen Lavagen der juvenilen PAP Patienten Pj01, Pj02, Pj03 und Pj04. Ein Symbol entspricht der SP-A Konzentration in µg/ml/kg Körpergewicht in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

Bezogen auf das Körpergewicht zeigen die Proben der juvenilen PAP Patienten Pj01, Pj02 und Pj04 eine hyperbole Auswaschkinetik. Die Proben des juvenilen PAP Patienten Pj03 zeigen keine einheitliche Auswaschkinetik.

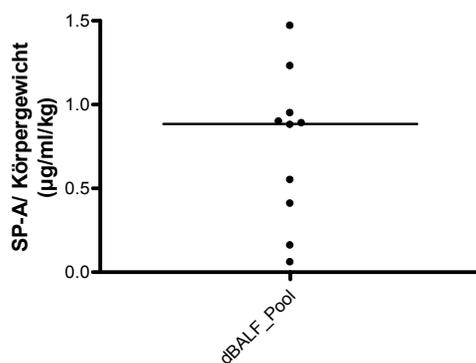
### III.B.3.3.2 PAP adult



**Abb. III.B.3.3.2.1:** SP-A Konzentration bezogen auf das Körpergewicht in den Poolfraktionen der diagnostischen BALF und den gepoolten therapeutischen Lavagen der adulten PAP Patienten Pa01, Pa02 und Pa03 und den einzelnen Flaschen der therapeutischen Lavagen der adulten PAP Patienten Pa04, Pa05 und Pa06. Ein Symbol entspricht der SP-A Konzentration in µg/ml/kg Körpergewicht in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

Die Proben der adulten PAP Patienten Pa04-P06 zeigen keine einheitliche Auswaschkinetik. Die Proben der adulten PAP Patienten Pa01-03 zeigen in den diagnostischen BALF niedrigere SP-A Konzentration bezogen auf das Körpergewicht, als in den therapeutischen BALF.

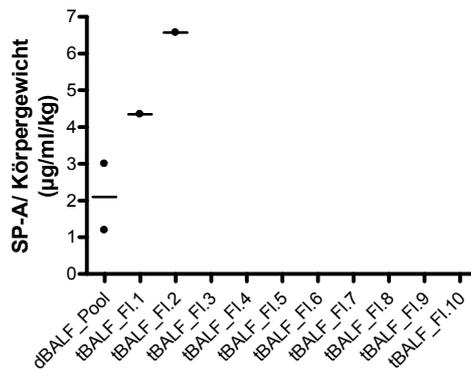
### III.B.3.3.3 Gesunde Kontrollen



**Abb. III.B.3.3.3.1:** SP-A Konzentration bezogen auf das Körpergewicht in den Poolfraktionen der diagnostischen BAL der Kontrollen. Ein Symbol entspricht der SP-A Konzentration in µg/ml/kg Körpergewicht in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

Die SP-A Konzentrationen pro kg Körpergewicht der Poolfraktionen der gesunden Kontrollen entsprechen im Median etwa den Poolfraktionen der juvenilen PAP Patienten Pj01 und Pj03.

### III.B.3.3.4 Lipidpneumonitis



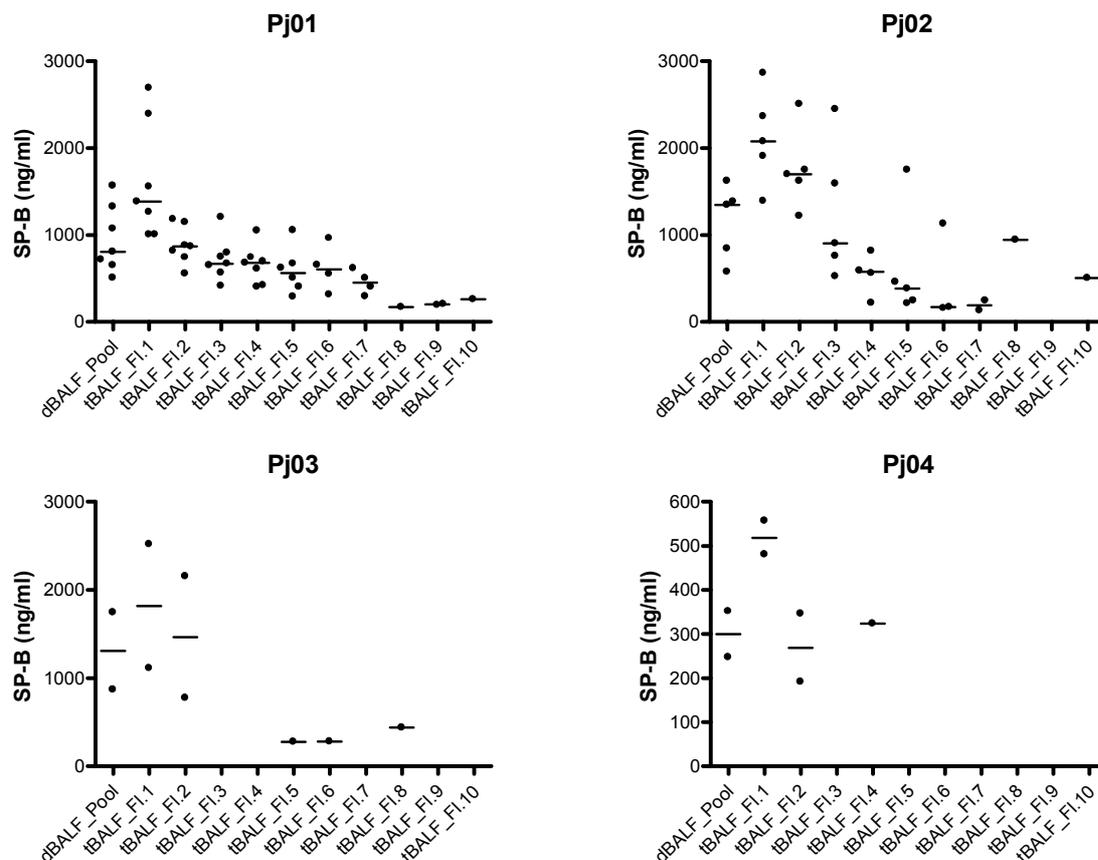
**Abb. III.B.3.3.4.1:** SP-A Konzentration bezogen auf das Körpergewicht in den Poolfraktionen der diagnostischen BAL und den einzelnen Flaschen der therapeutischen Lavagen des Patienten mit Lipidpneumonitis Lj01. Ein Symbol entspricht der SP-A Konzentration in  $\mu\text{g/ml/kg}$  Körpergewicht in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

Der Kontrollpatient Lj01 zeigte eine zu den PAP Patienten gegensätzliche Auswaschkinetik, da die ausgewaschene SP-A Menge pro kg Körpergewicht über die Lavage ansteigt.

### III.B.4 SP-B

Es wurde jeweils die SP-B Konzentration, die SP-B Menge bezogen auf den Proteingehalt, die absolute SP-B Menge und die SP-B Menge bezogen auf das Körpergewicht in der jeweiligen Spülportion analysiert.

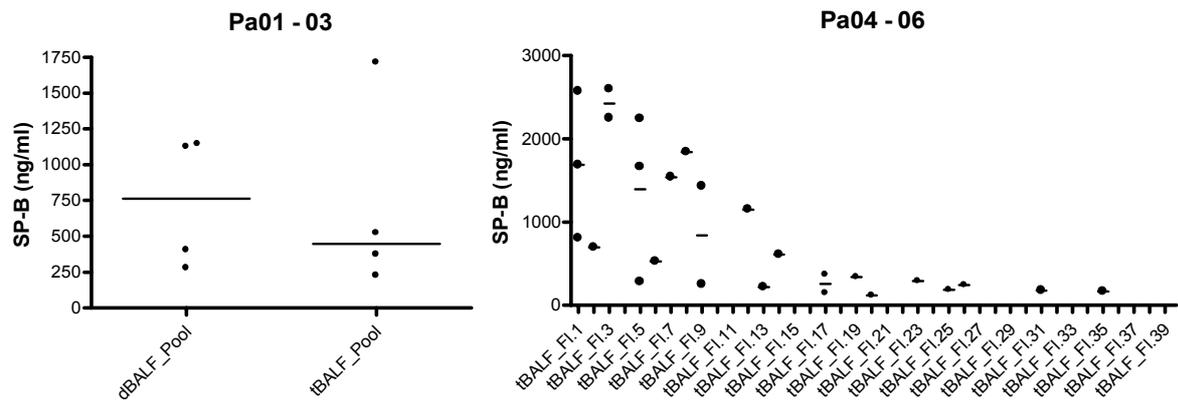
#### III.B.4.1 Konzentration III.B.4.1.1 PAP juvenil



**Abb. III.B. 4.1.1.1:** SP-B Konzentration in den Poolfraktionen der diagnostischen BALF und den einzelnen Flaschen der therapeutischen Lavagen der juvenilen PAP Patienten Pj01, Pj02, Pj03 und Pj04. Ein Symbol entspricht der SP-B Konzentration in ng/ml in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

In den Proben der juvenilen PAP Patienten Pj01 und Pj02 ist eine hyperbole Auswaschkinetik bezogen auf die SP-B Konzentration zu erkennen. Die Patienten Pj03 und Pj04 zeigen eine deutlich ungleichmäßigere Auswaschkinetik der SP-B Konzentration.

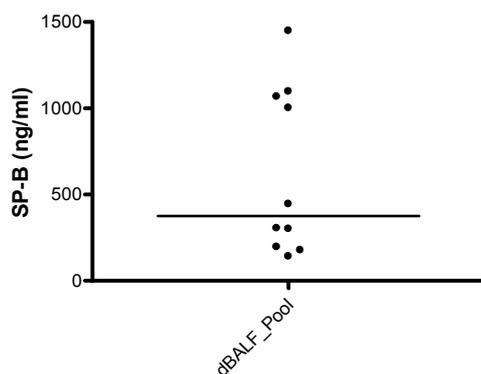
### III.B.4.1.2 PAP adult



**bb. III.B.4.1.2.1:** SP-B Konzentration in den Poolfraktionen der diagnostischen BALF und den gepoolten therapeutischen Lavagen der adulten PAP Patienten Pa01, Pa02 und Pa03 und den einzelnen Flaschen der therapeutischen Lavagen der adulten PAP Patienten Pa04, Pa05 und Pa06. Ein Symbol entspricht der SP-B Konzentration in ng/ml in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben. A

Die adulten PAP Patienten Pa01-Pa03 zeigen in den diagnostischen Poolfraktionen höhere SP-B Konzentrationen, als in den gepoolten therapeutischen Lavagen. Die adulten PAP Patienten Pa04-Pa06 zeigen in den Proben der einzelnen Flaschen der therapeutischen BALF eine hyperbole Auswaschkinetik.

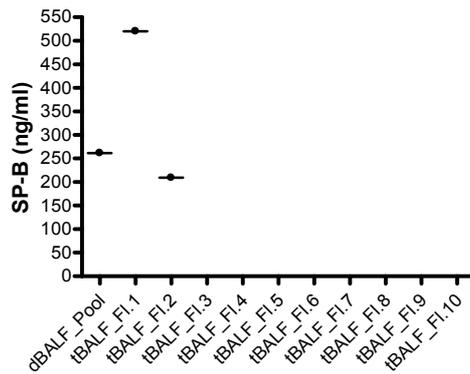
### III.B.4.1.3 Gesunde Kontrollen



**Abb. III.B.4.1.3.1:** SP-B Konzentration in den Poolfraktionen der diagnostischen BALF der gesunden Kontrollen. Ein Symbol entspricht der SP-B Konzentration in ng/ml in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

Die SP-B Konzentrationen in den Poolfraktionen der gesunden Kontrollen sind im Median mit den Proben des juvenilen PAP Patienten Pj04 vergleichbar. Die Poolfraktionen der anderen juvenilen PAP Patienten zeigen im Median deutlich höhere Konzentrationen.

### III.B.4.1.4 Lipidpneumonitis

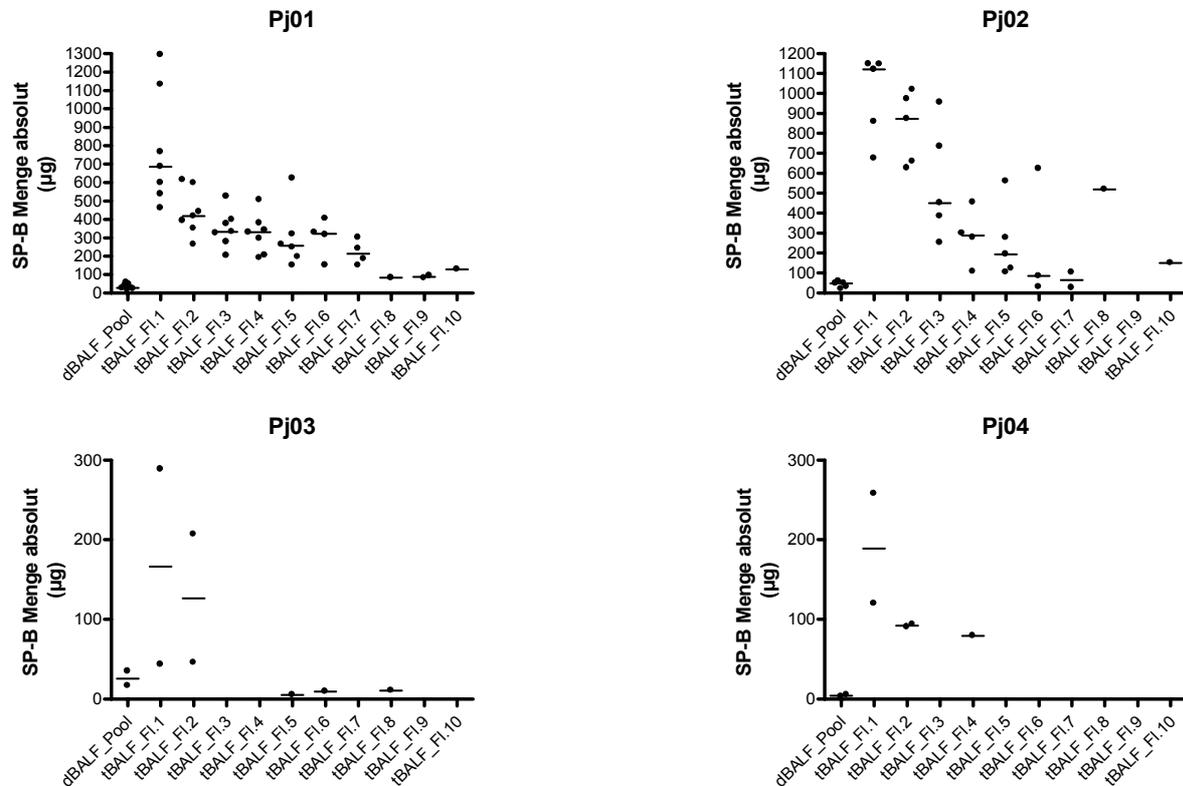


**Abb. III.B.4.1.4.1:** SP-B Konzentration in den Poolfraktionen der diagnostischen BALF und den einzelnen Flaschen der therapeutischen Lavagen des Patienten mit Lipidpneumonitis LJ01. Ein Symbol entspricht der SP-B Konzentration in ng/ml in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

Der Kontrollpatient Lj01 zeigt die gleiche Auswaschkinetik wie die PAP Patienten. Die Konzentrationen der einzelnen Auswaschportionen sind mit den Proben des juvenilen PAP Patienten Pj04 vergleichbar.

### III.B.4.2. Absolute Auswaschmenge pro Spülportion

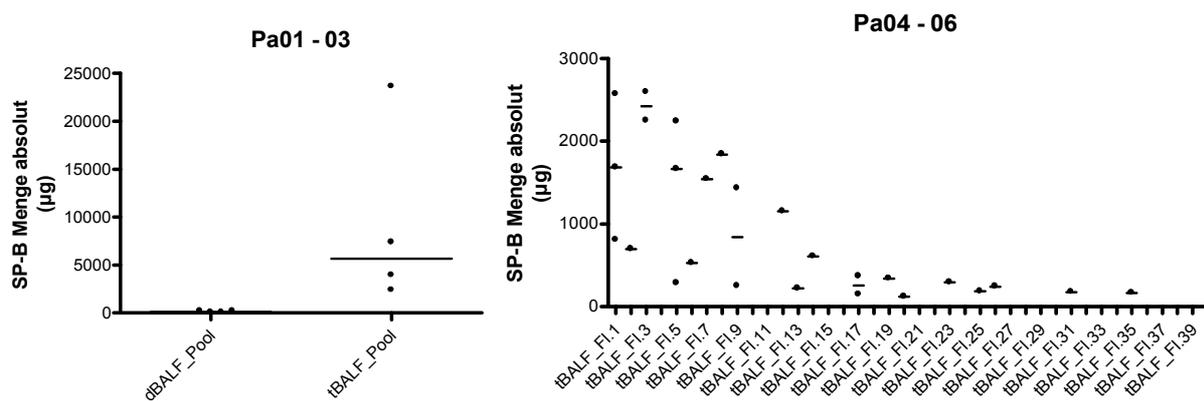
#### III.B.4.2.1 PAP juvenil



**Abb. III.B.4.2.1.1:** SP-B Menge absolut, die in den Poolfraktionen der diagnostischen BALF und den einzelnen Flaschen der therapeutischen Lavagen der juvenilen PAP Patienten Pj01, Pj02, Pj03 und Pj04 ausgewaschen wurde. Ein Symbol entspricht der SP-B Menge in µg in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

Die Proben der juvenilen PAP Patienten zeigen bezogen auf die Gesamtmenge SP-B, die je Spülportion ausgewaschen wurde eine hyperbole Auswaschkinetik, wobei die Kinetik bei den Patienten Pj03 und Pj04 deutlich ungleichmäßiger ist, als bei den Patienten Pj01 und Pj02.

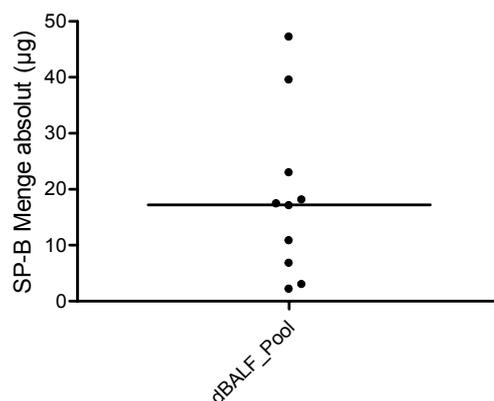
### III.B.4.2.2 PAP adult



**Abb. III.B.4.2.2.1:** SP-B Menge absolut, die in den Poolfraktionen der diagnostischen BALF und den gepoolten therapeutischen Lavagen der adulten PAP Patienten Pa01, Pa02 und Pa03 und den einzelnen Flaschen der therapeutischen Lavagen der adulten PAP Patienten Pa04, Pa05 und Pa06 ausgewaschen wurde. Ein Symbol entspricht der SP-B Menge in µg in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

Die adulten PAP Patienten Pa01-03 zeigen in den diagnostischen Poolfraktionen niedrigere SP-B Mengen, als in den gepoolten therapeutischen Lavagen. Die adulten PAP Patienten Pa04-06 zeigen eine hyperbole Auswaschkinetik bezogen auf die absolut ausgewaschene SP-B Menge je Spülportion.

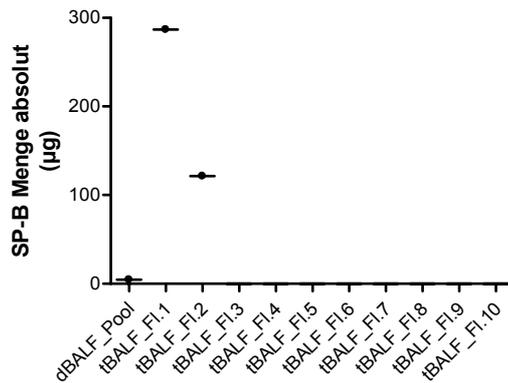
### III.B.4.2.3 Gesunde Kontrollen



**Abb. III.B.4.2.3.1:** SP-B Menge absolut, in den Poolfraktionen der diagnostischen BAL der Kontrollen, die ausgewaschen wurde. Ein Symbol entspricht der SP-B Menge in µg in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

Die absolut ausgewaschene SP-B Menge pro Spülportion in den Poolfraktionen der gesunden Kontrollen sind im Median mit den Proben des juvenilen PAP Patienten vergleichbar.

### III.B.4.2.4 Lipidpneumonitis

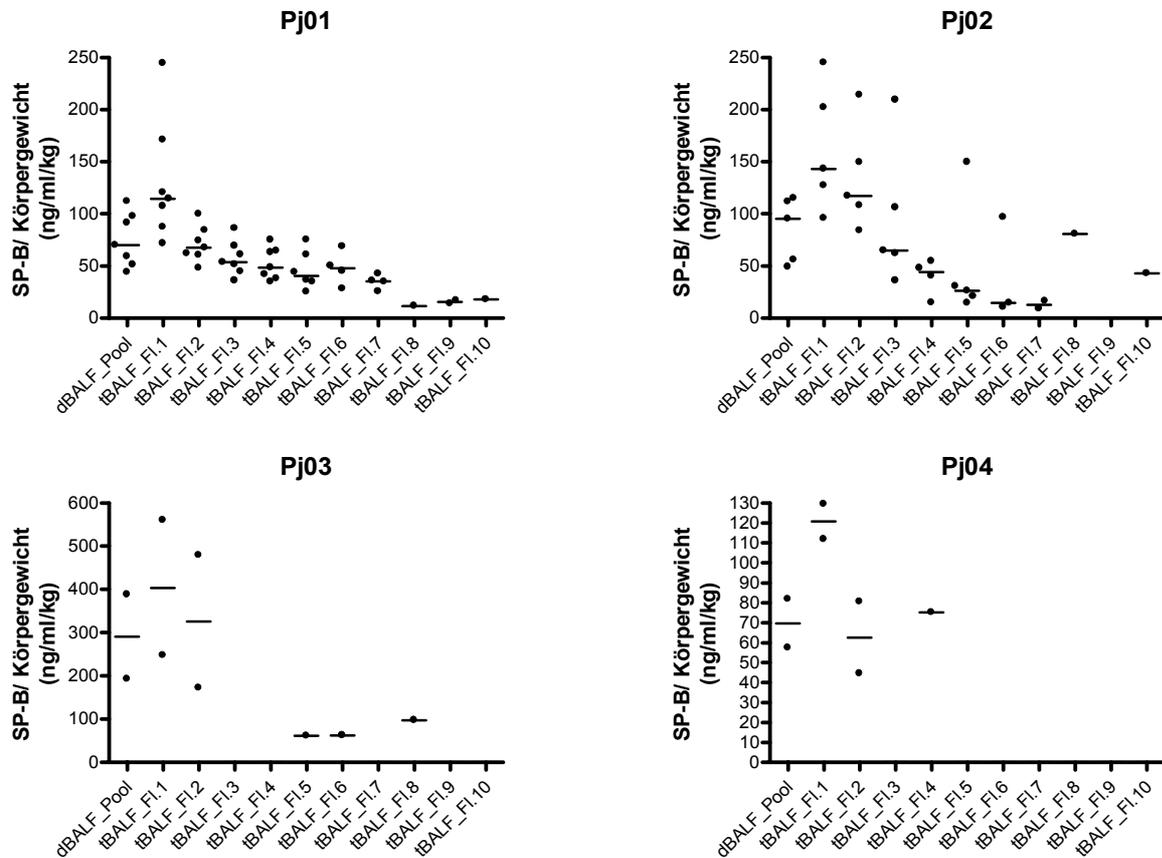


**Abb. III.B.4.2.4.1:** SP-B Menge absolut, die in den Poolfraktionen der diagnostischen BALF und den einzelnen Flaschen der therapeutischen Lavagen des Patienten mit Lipidpneumonitis Lj01 ausgewaschen wurde. Ein Symbol entspricht der SP-B Menge in  $\mu\text{g}$  in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

Der Kontrollpatient Lj01 zeigt die gleiche Auswaschkinetik wie die PAP Patienten bezogen auf den Gesamtgehalt SP-B pro Spülportion.

### III.B.4.3 SP-B /kg Körpergewicht

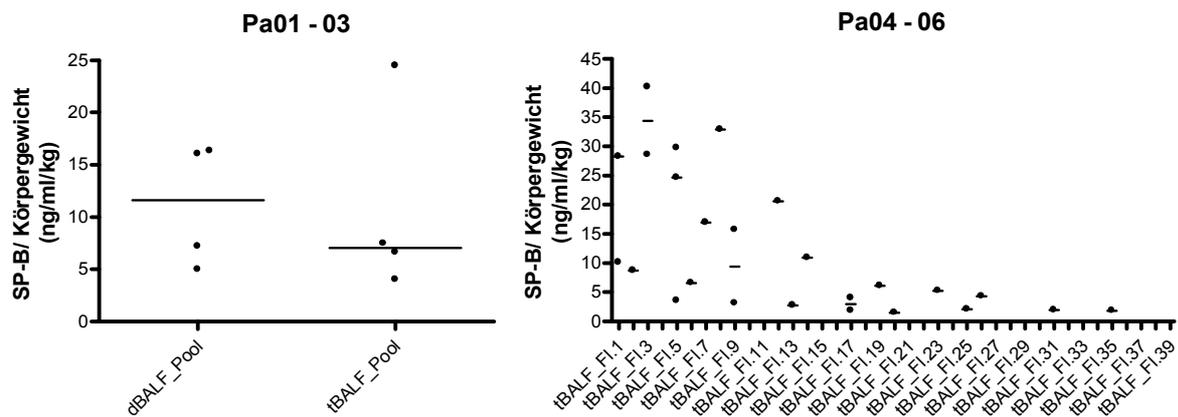
#### III.B.4.3.1 PAP juvenil



**Abb. III.B.4.3.1.1:** SP-B Konzentration bezogen auf das Körpergewicht in den Poolfraktionen der diagnostischen BALF und den einzelnen Flaschen der therapeutischen Lavagen der juvenilen PAP Patienten Pj01, Pj02, Pj03 und Pj04. Ein Symbol entspricht der SP-B Konzentration in ng/ml/kg Körpergewicht in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

Die juvenilen PAP Patienten zeigen bezogen auf das Körpergewicht eine hyperbole Auswaschkinetik der SP-B Konzentration. Die Auswaschkinetik der Patienten Pj03 und Pj04 ist deutlich ungleichmäßiger als bei den Patienten Pj01 und Pj02.

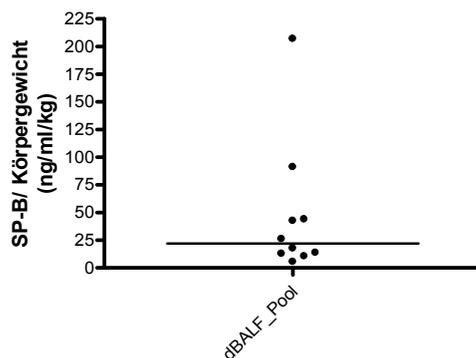
### III.B.4.3.2 PAP adult



**Abb. III.B.4.3.2.1:** SP-B Konzentration bezogen auf das Körpergewicht in den Poolfraktionen der diagnostischen BALF und den gepoolten therapeutischen Lavagen der adulten PAP Patienten Pa01, Pa02 und Pa03 und den einzelnen Flaschen der therapeutischen Lavagen der adulten PAP Patienten Pa04, Pa05 und Pa06. Ein Symbol entspricht der SP-B Konzentration in ng/ml/kg Körpergewicht in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

Die Patienten Pa01-03 zeigen in den Poolfraktionen höhere SP-B Konzentrationen bezogen auf das Körpergewicht, als in den gepoolten therapeutischen Lavagen. Die Proben der adulten PAP Patienten Pa04-06 zeigen bezogen auf das Körpergewicht eine hyperbole Auswaschkinetik der SP-B Konzentration.

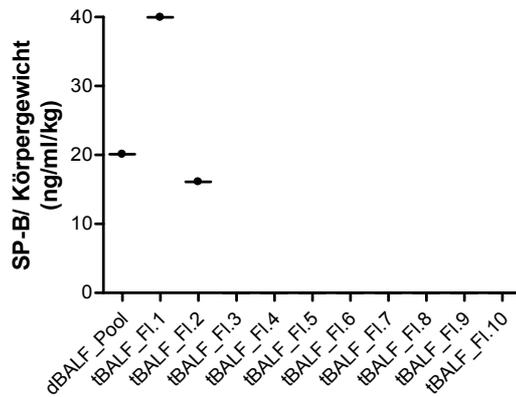
### III.B.4.3.3 Gesunde Kontrollen



**Abb. III.B.4.3.3.1:** SP-B Konzentration bezogen auf das Körpergewicht in den Poolfraktionen der diagnostischen BALF der Kontrollen. Ein Symbol entspricht der SP-B Konzentration in ng/ml/kg Körpergewicht in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

Die SP-B Konzentration bezogen auf das Körpergewicht liegt in den Poolfraktionen der gesunden Kontrollen im Median niedriger als bei den juvenilen PAP Patienten.

### III.B.4.3.4 Lipidpneumonitis



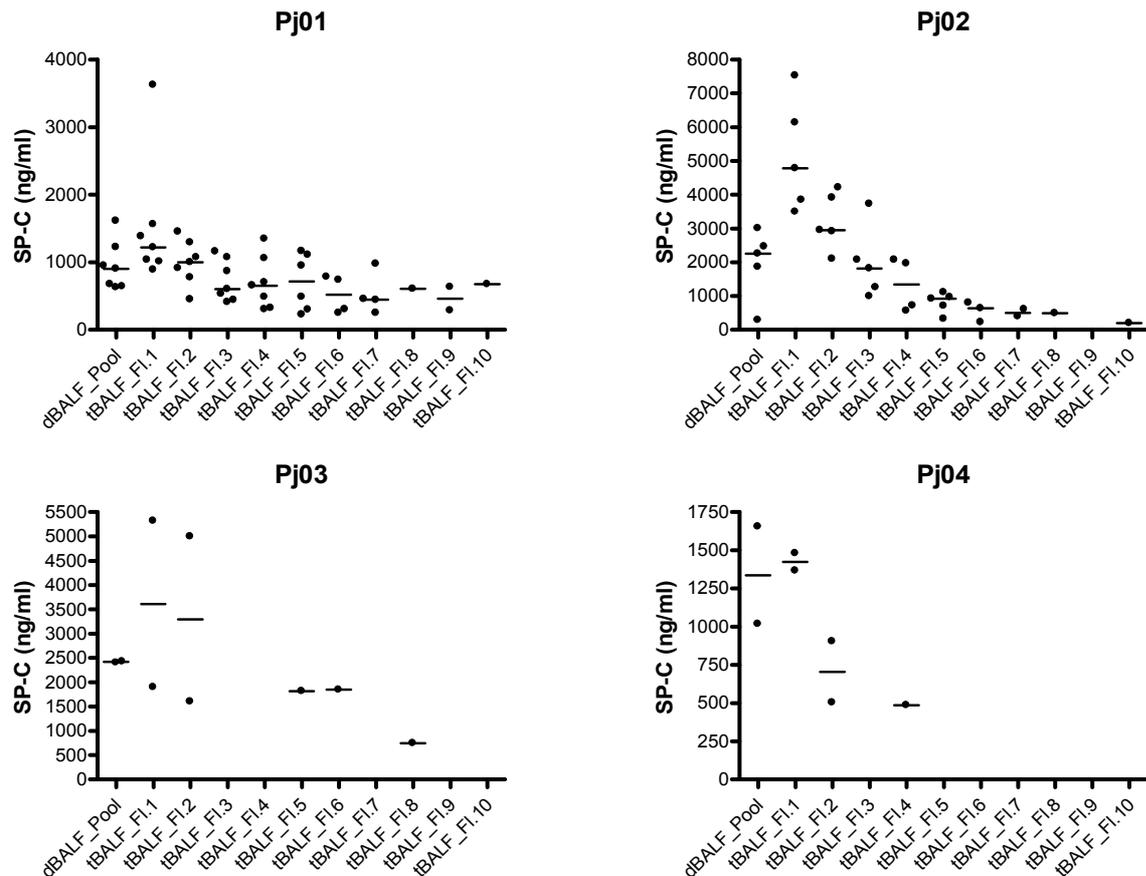
**Abb. III.B.4.3.4.1:** SP-B Konzentration bezogen auf das Körpergewicht in den Poolfraktionen der diagnostischen BALF und den einzelnen Flaschen der therapeutischen Lavagen des Patienten mit Lipidpneumonitis Lj01. Ein Symbol entspricht der SP-B Konzentration in ng/ml/kg Körpergewicht in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben..

Der Kontrollpatient Lj01 zeigte bezogen auf das Körpergewicht die gleiche Auswaschkinetik wie die PAP Patienten.

### III.B.5 SP-C

Es wurde jeweils die SP-C Konzentration, die absolute SP-C Menge und die SP-C Menge bezogen auf das Körpergewicht in kg in der jeweiligen Spülportion analysiert.

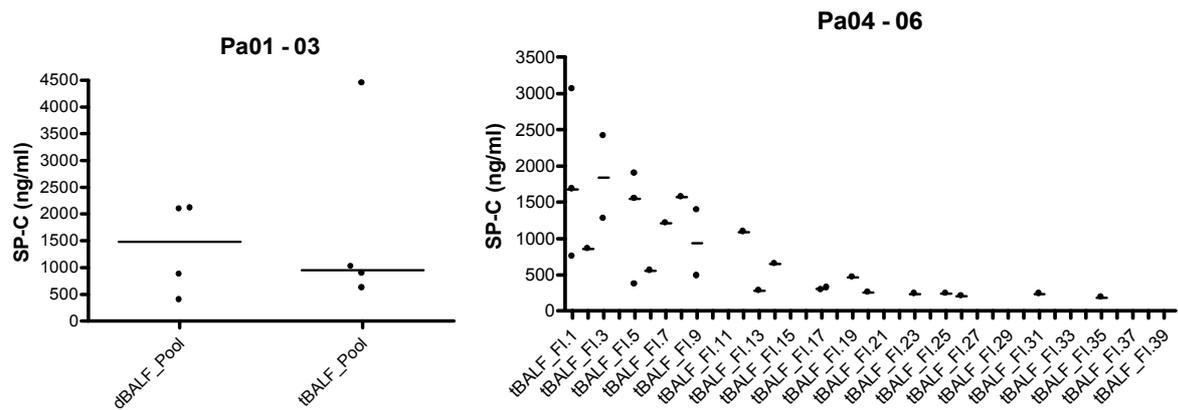
#### III.B.5.1 Konzentration III.B.5.1.1 PAP juvenil



**Abb. III.B.5.1.1.1:** SP-C Konzentration in den Poolfraktionen der diagnostischen BALF und den einzelnen Flaschen der therapeutischen Lavagen der juvenilen PAP Patienten Pj01, Pj02, Pj03 und Pj04. Ein Symbol entspricht der SP-C Konzentration in ng/ml in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

Die Proben der juvenilen PAP Patienten zeigen eine hyperbole Auswaschkinetik der SP-C Konzentration.

### III.B.5.1.2 PAP adult

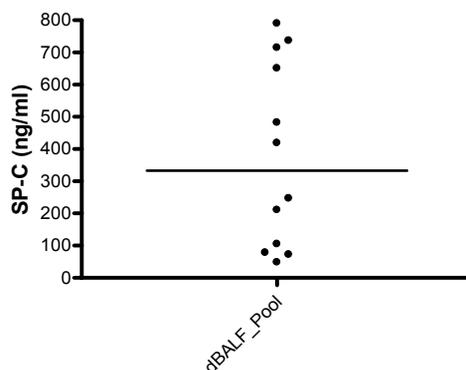


**Abb. III.B.5.1.2.1:** SP-C Konzentration in den Poolfraktionen der diagnostischen BALF und den gepoolten therapeutischen Lavagen der adulten PAP Patienten Pa01, Pa02 und Pa03 und den einzelnen Flaschen der therapeutischen Lavagen der adulten PAP Patienten Pa04, Pa05 und Pa06. Ein Symbol entspricht der SP-C Konzentration in ng/ml in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

Bei den Patienten Pa01-03 zeigen die diagnostischen Poolfraktionen höhere SP-C Konzentrationen als die gepoolten therapeutischen Lavagen.

Die Proben der adulten PAP Patienten Pa04-06 zeigen eine hyperbole Auswaschkinetik der SP-C Konzentration über die einzelnen Flaschen.

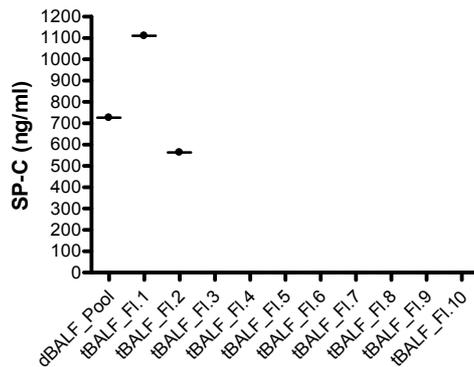
### III.B.5.1.3 Gesunde Kontrollen



**Abb. III.B.5.1.3.1:** SP-C Konzentration in den Poolfraktionen der diagnostischen BALF der gesunden Kontrollen. Ein Symbol entspricht der SP-C Konzentration in ng/ml in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

Die Poolfraktionen der gesunden Kontrollen zeigen im Median niedrigere Konzentrationen als die Poolfraktionen der juvenilen PAP Patienten.

### III.B.5.1.4 Lipidpneumonitis

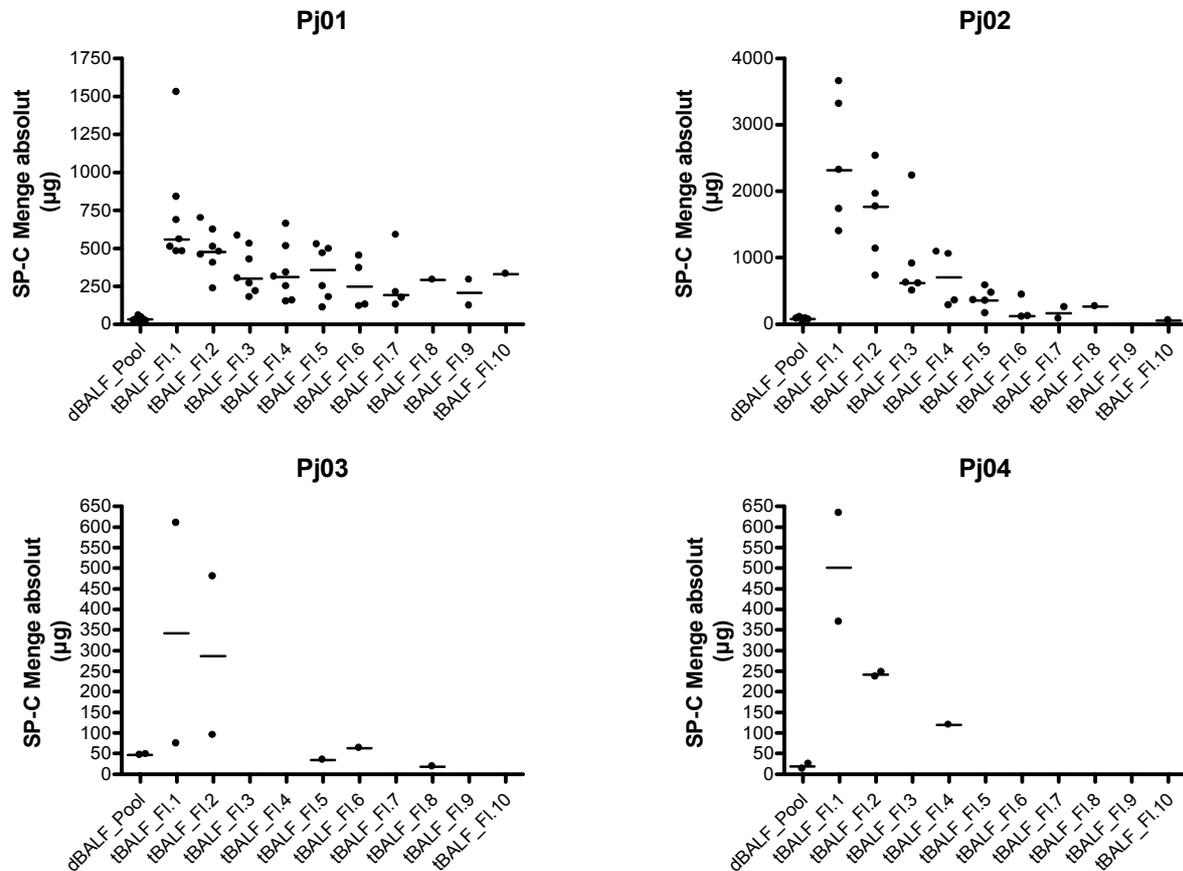


**Abb. III.B.5.1.4.1:** SP-C Konzentration in den Poolfraktionen der diagnostischen BALF und den einzelnen Flaschen der therapeutischen Lavagen des Patienten mit Lipidpneumonitis Lj01. Ein Symbol entspricht der SP-C Konzentration in ng/ml in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

Die Lavage der Kontrollpatienten Lj01 zeigt eine hyperbole Auswaschkinetik der SP-C Konzentration.

### III.B.5.2 Absolute Auswaschmenge pro Spülportion

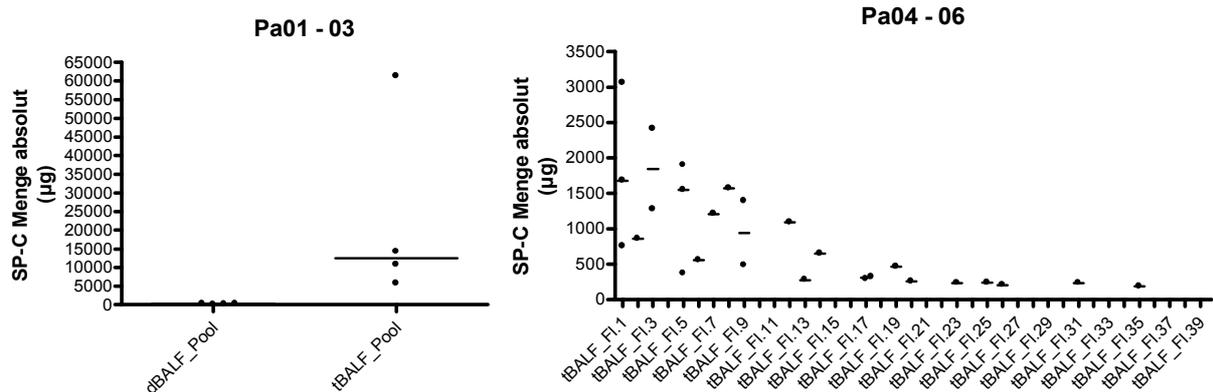
#### III.B.5.2.1 PAP juvenil



**Abb. III.B.5.2.1.1:** SP-C Menge absolut, die in den Poolfraktionen der diagnostischen BALF und den einzelnen Flaschen der therapeutischen Lavagen der juvenilen PAP Patienten Pj01, Pj02, Pj03 und Pj04 ausgewaschen wurde. Ein Symbol entspricht der SP-C Menge in µg in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

Die Gesamtmenge SP-C, die in den einzelnen Spülportionen ausgewaschen wurde, nimmt in den Proben der juvenilen PAP Patienten Pj01-04 über den Verlauf der Lavage ab. Die Poolfraktion zeigt bei allen Patienten die geringste Auswaschmenge, was auf das geringe Volumen der Probe zurückzuführen ist.

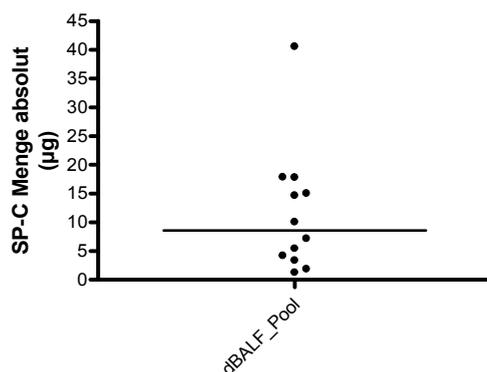
### III.B.5.2.2 PAP adult



**Abb. III.B.5.2.2.1:** SP-C Menge absolut, die in den Poolfraktionen der diagnostischen BALF und den gepoolten therapeutischen Lavagen der adulten PAP Patienten Pa01, Pa02 und Pa03 und den einzelnen Flaschen der therapeutischen Lavagen der adulten PAP Patienten Pa04, Pa05 und Pa06 ausgewaschen wurde. Ein Symbol entspricht der SP-C Menge in µg in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

Die Poolfraktion zeigen bei den Patienten PA01-03 eine geringere Auswaschmenge als die Proben der gepoolten therapeutischen Lavagen, was auf das geringe Volumen der Probe zurückzuführen ist. Bei den adulten PAP Patienten Pa04-06 nimmt die Gesamtmenge SP-C, die in den einzelnen Flaschen ausgewaschen wurde über den Verlauf der Lavage ab.

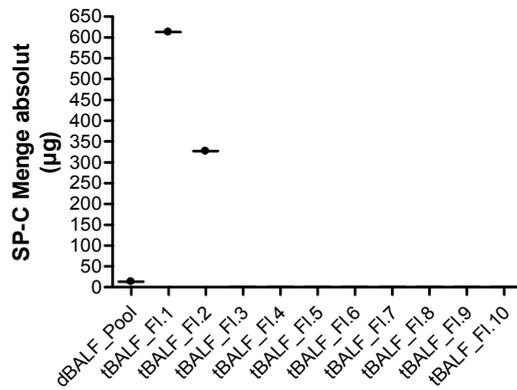
### III.B.5.2.3 Gesunde Kontrollen



**Abb. III.B.5.2.3.1:** SP-C Menge absolut, in den Poolfraktionen der diagnostischen BALF der Kontrollen, die ausgewaschen wurde. Ein Symbol entspricht der SP-C Menge in µg in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

Die absolut ausgewaschenen SP-C Mengen der diagnostischen Poolfraktionen der gesunden Kontrollen entsprechen im Median den ausgewaschenen SP-C Mengen in den Poolfraktionen des juvenilen PAP Patienten Pj04.

### III.B.5.2.4 Lipidpneumonitis

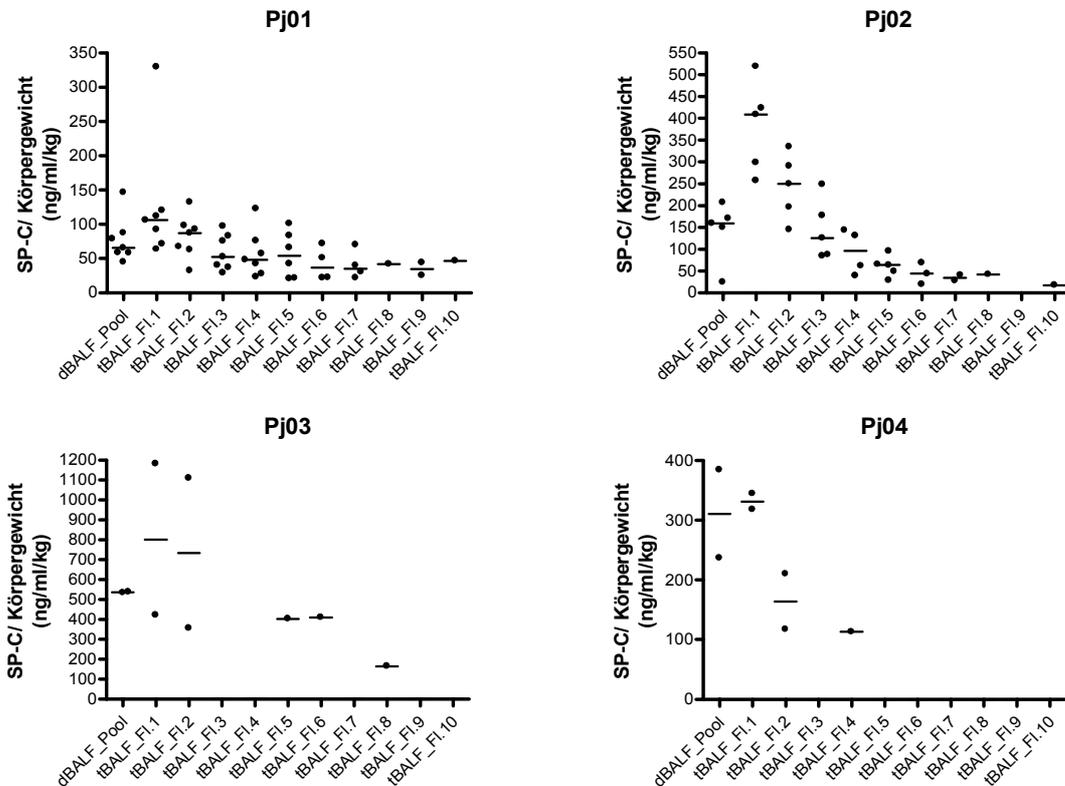


**Abb. III.B.5.2.4.1:** SP-C Menge absolut, die in den Poolfraktionen der diagnostischen BALF und den einzelnen Flaschen der therapeutischen Lavagen des Patienten mit Lipidpneumonitis Lj01 ausgewaschen wurde. Ein Symbol entspricht der SP-C Menge in µg in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

Die Lavage des Kontrollpatienten Lj01 zeigt eine hyperbole Auswaschkinetik der absolut ausgewaschenen SP-C Menge.

### III.B.5.3 SP-C /kg Körpergewicht

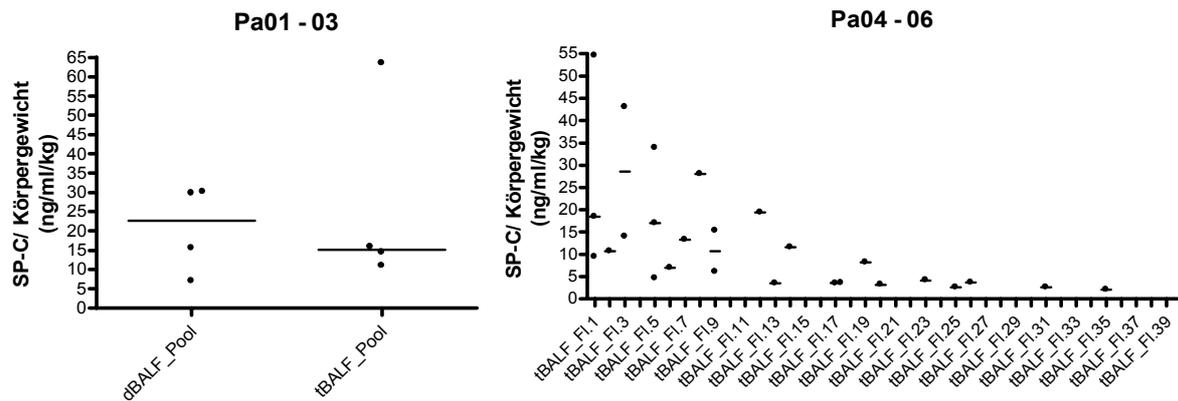
#### III.B.5.3.1 PAP juvenil



**Abb.III.B.5.3.1.1:** SP-FC Konzentration bezogen auf das Körpergewicht in den Poolfraktionen der diagnostischen BAL und den einzelnen Flaschen der therapeutischen Lavagen der juvenilen PAP Patienten Pj01, Pj02, Pj03 und Pj04. Ein Symbol entspricht der SP-C Konzentration in ng/ml/kg Körpergewicht in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

Die Proben der juvenilen PAP Patienten zeigen bezogen auf das Körpergewicht eine hyperbole Auswaschkinetik der SP-C Konzentration.

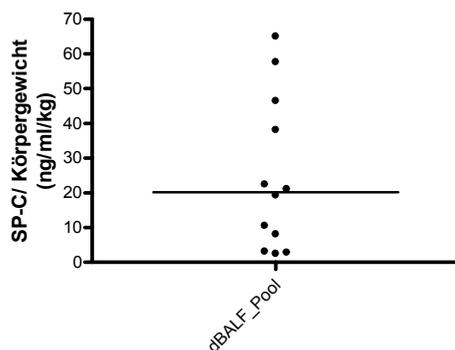
### III.B.5.3.2 PAP adult



**Abb. III.B.5.3.2.1:** SP-C Konzentration bezogen auf das Körpergewicht in den Poolfraktionen der diagnostischen BALF und den gepoolten therapeutischen Lavagen der adulten PAP Patienten Pa01, Pa02 und Pa03 und den einzelnen Flaschen der therapeutischen Lavagen der adulten PAP Patienten Pa04, Pa05 und Pa06. Ein Symbol entspricht der SP-C Konzentration in ng/ml/kg Körpergewicht in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

Die Patienten Pa01-03 zeigen in den Poolfraktionen höhere SP-C Konzentrationen bezogen auf das Körpergewicht, als in den gepoolten therapeutischen Lavagen. Die Proben der adulten PAP Patienten Pa04-06 zeigen bezogen auf das Körpergewicht eine hyperbole Auswaschkinetik der SP-C Konzentrationen.

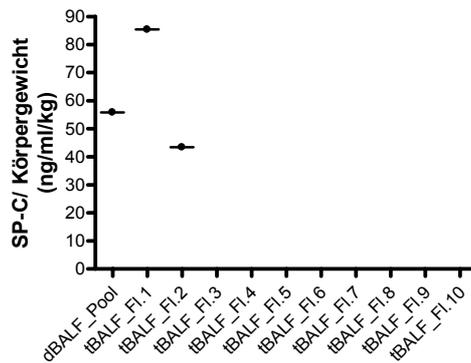
### III.B.5.3.3 Gesunde Kontrollen



**Abb. III.B.5.3.3.1:** SP-C Konzentration bezogen auf das Körpergewicht in den Poolfraktionen der diagnostischen BALF der Kontrollen. Ein Symbol entspricht der SP-C Konzentration in ng/ml/kg Körpergewicht in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

Die Poolfraktionen der gesunden Kontrollen zeigen niedrigere SP-C Konzentrationen bezogen auf das Körpergewicht, als die Poolfraktionen der juvenilen PAP Patienten.

### III.B.5.3.4 Lipidpneumonitis



**Abb. III.B.5.3.4.1:** SP-C Konzentration bezogen auf das Körpergewicht in den Poolfraktionen der diagnostischen BAL und den einzelnen Flaschen der therapeutischen Lavagen des Patienten mit Lipidpneumonitis Lj01. Ein Symbol entspricht der SP-C Konzentration in ng/ml/kg Körpergewicht in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

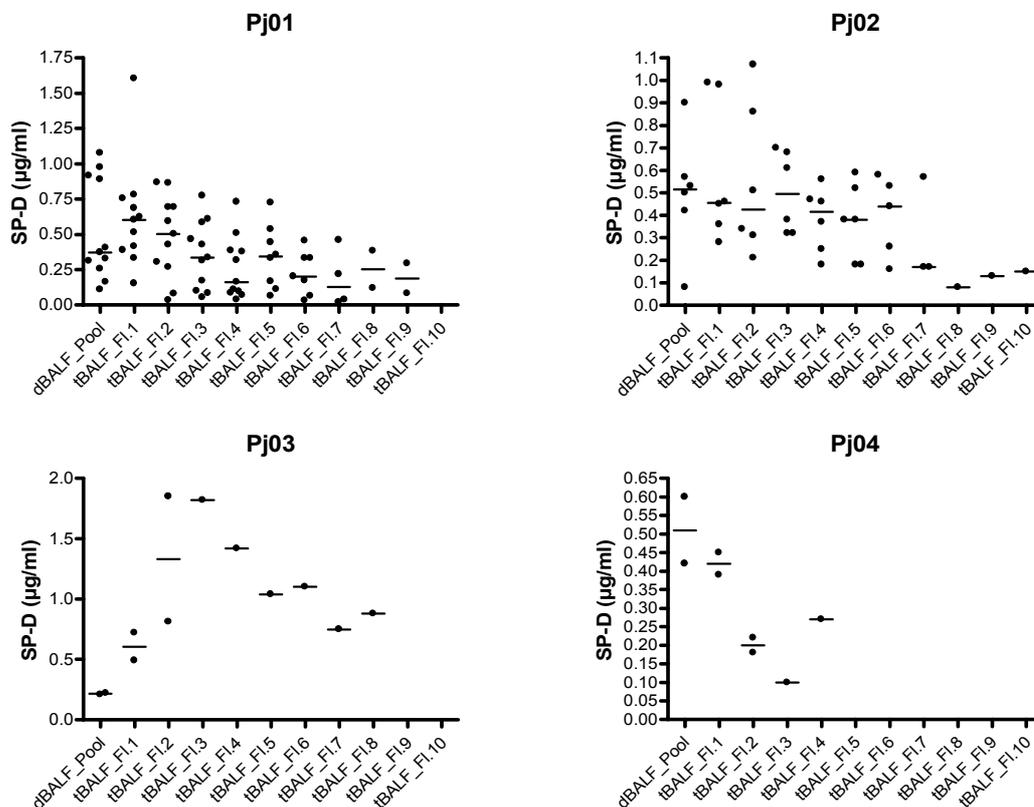
Die Probe des Kontrollpatienten Lj01 zeigt eine hyperbole Auswaschkinetik der SP-C Konzentration bezogen auf das Körpergewicht.

## III.B.6 SP-D

Im Folgenden werden die Ergebnisse der SP-D Analytik in den Proben der juvenilen und adulten PAP Patienten dargestellt und mit den gesunden Kontrollpatienten und dem Kontrollpatient mit Lipidpneumomitis verglichen. Es wurde jeweils die SP-D Konzentration in  $\mu\text{g/ml}$ , die absolut ausgewaschene SP-D Menge, die SP-D Menge bezogen auf das Körpergewicht in  $\text{kg}$  und den Proteingehalt in  $\mu\text{g}$  in der jeweiligen Spülportion analysiert.

### III.B.6.1 Konzentration

#### III.B.6.1.1 PAP juvenil

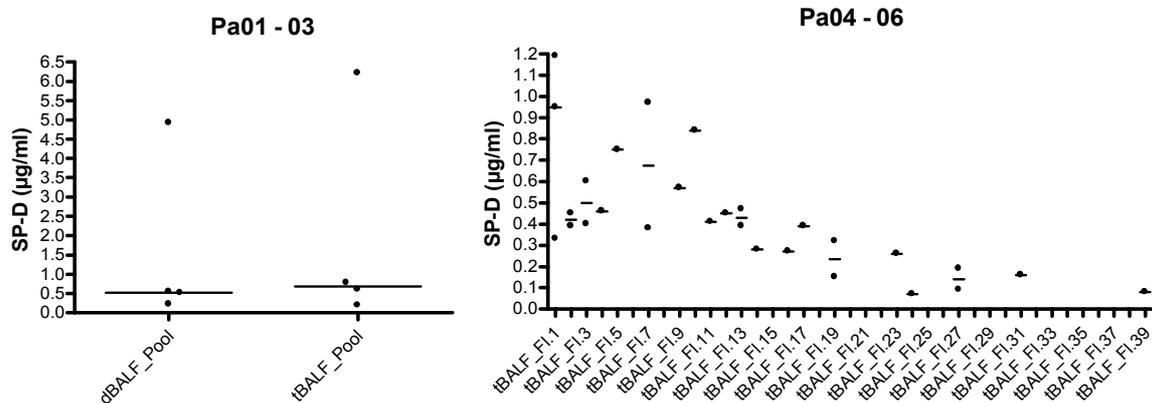


**Abb. III.B.6.1.1.1:** SP-D Konzentration in den Poolfraktionen der diagnostischen BALF und den einzelnen Flaschen der therapeutischen Lavagen der juvenilen PAP Patienten Pj01, Pj02, Pj03 und Pj04. Ein Symbol entspricht der SP-D Konzentration in  $\mu\text{g/ml}$  in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

Für die Patienten Pj01 und Pj02 lässt sich eine hyperbole Auswaschkinetik erkennen. Bei den Patienten Pj03 und Pj04 ist keine einheitliche Auswaschkinetik erkennbar. Die jeweiligen Poolfraktionen weisen bis auf Patient Pj03 eine geringere Konzentration auf, als die folgende 1. Flasche. Dies liegt daran, dass die

Poolfraktionen nur zentrifugiert zur Verfügung standen, was einen Konzentrationsverlust von ca. 30 % bedingt

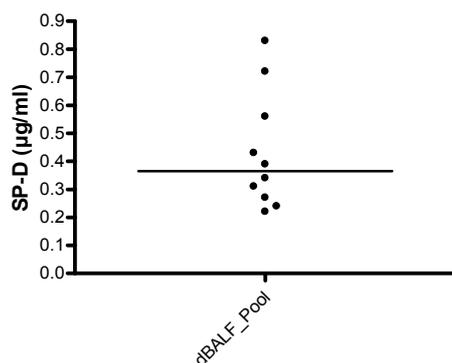
### III.B.6.1.2 PAP adult



**Abb. III.B.6.1.2.1:** SP-D Konzentration in den Poolfraktionen der diagnostischen BALF und den gepoolten therapeutischen Lavagen der adulten PAP Patienten Pa01, Pa02 und Pa03 und den einzelnen Flaschen der therapeutischen Lavagen der adulten PAP Patienten Pa04, Pa05 und Pa06. Ein Symbol entspricht der SP-D Konzentration in µg/ml in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

Es zeigen sich keine Unterschiede in der SP-D Konzentration der Poolfraktionen der diagnostischen Lavagen und der gepoolten therapeutischen Lavagen.

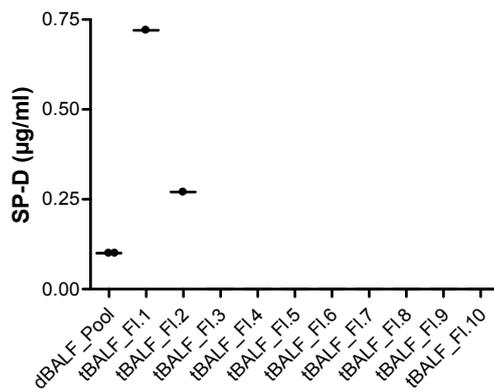
### III.B.6.1.3 Gesunde Kontrollen



**Abb. III.B.6.1.3.1:** SP-D Konzentration in den Poolfraktionen der diagnostischen BALF der gesunden Kontrollen. Ein Symbol entspricht der SP-D Konzentration in µg/ml in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

Es zeigen sich keine Unterschiede in der SP-D Konzentration der diagnostischen Poolfraktionen der gesunden Kontrollen und der juvenilen PAP Patienten.

### III.B.6.1.4 Lipidpneumonitis

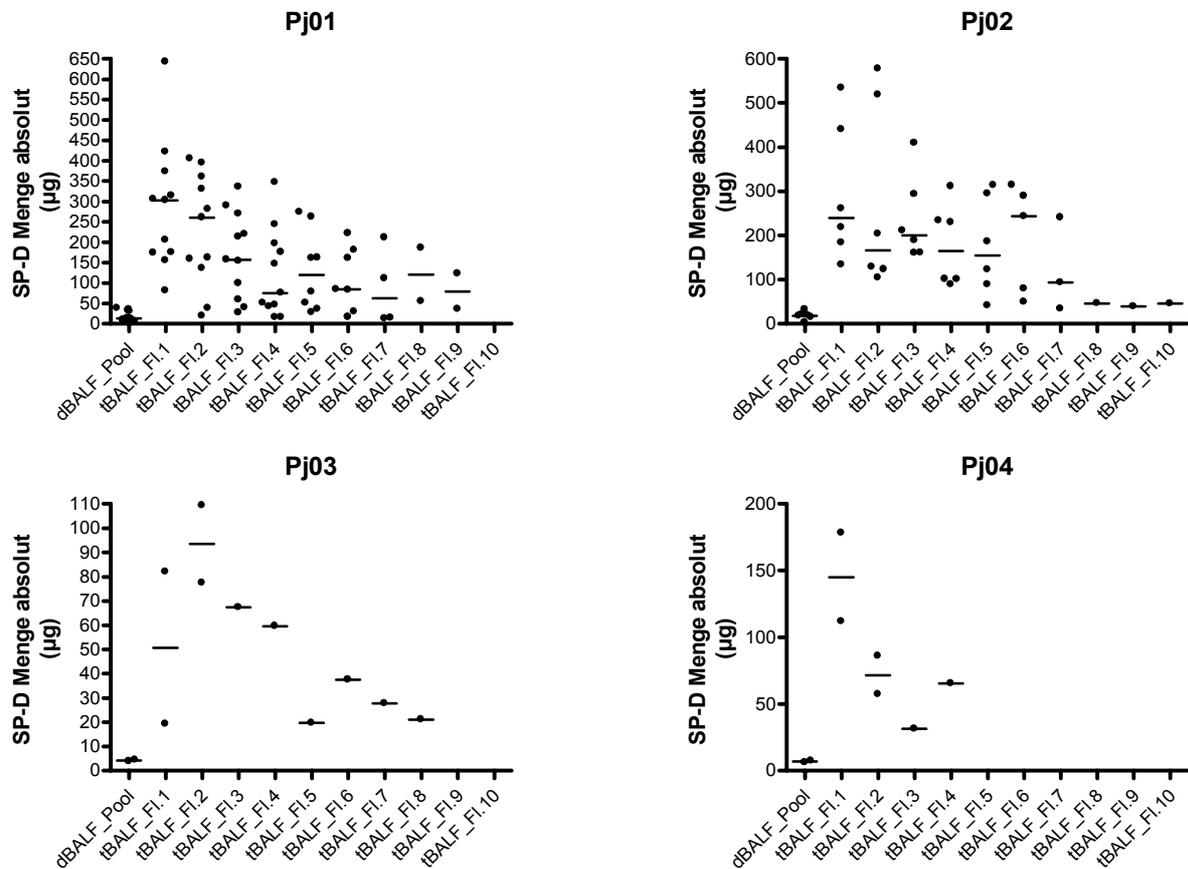


**Abb. III.B.6.1.4.1:** SP-D Konzentration in den Poolfraktionen der diagnostischen BALF und den einzelnen Flaschen der therapeutischen Lavagen des Patienten mit Lipidpneumonitis Lj01. Ein Symbol entspricht der SP-D Konzentration in µg/ml in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

Die Proben der Lavage des Kontrollpatienten Lj01 zeigen eine hyperbole Auswaschkinetik der SP-D Konzentration.

### III.B.6.2 Menge absolut

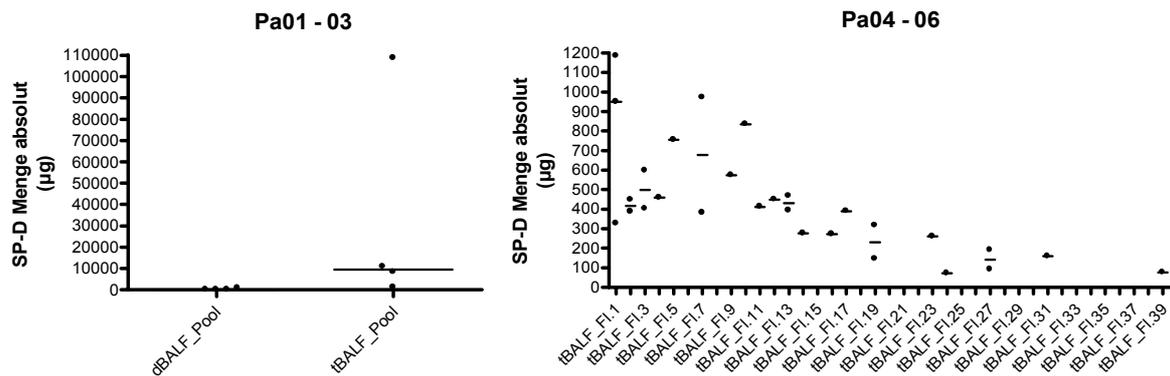
#### III.B.6.2.1 PAP juvenil



**Abb. III.B.6.2.1.1:** SP-D Menge absolut, die in den Poolfraktionen der diagnostischen BALF und den einzelnen Flaschen der therapeutischen Lavagen der juvenilen PAP Patienten Pj01, Pj02, Pj03 und Pj04 ausgewaschen wurde. Ein Symbol entspricht der SP-D Menge in µg in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

Die Proben der juvenilen PAP Patienten zeigen eine hyperbole Auswaschkinetik der absolut ausgewaschenen SP-D Mengen pro Auswaschportion.

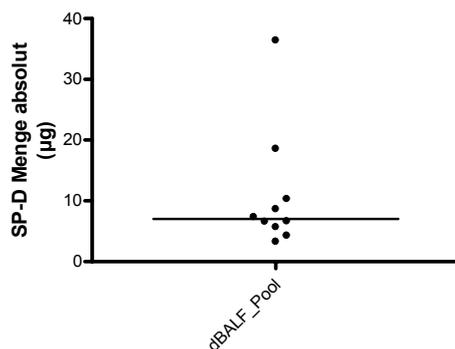
### III.B.6.2.2 PAP adult



**Abb. III.B.6.2.2.1:** SP-D Menge absolut, die in den Poolfraktionen der diagnostischen BALF und den gepoolten therapeutischen Lavagen der adulten PAP Patienten Pa01, Pa02 und Pa03 und den einzelnen Flaschen der therapeutischen Lavagen der adulten PAP Patienten Pa04, Pa05 und Pa06 ausgewaschen wurde. Ein Symbol entspricht der SP-D Menge in  $\mu\text{g}$  in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

Die absolut ausgewaschene SP-D Menge in den Poolfraktionen der adulten PAP Patienten Pa01-03 ist geringer als die SP-D Menge in den gepoolten therapeutischen Lavagen. Die Lavagen der adulten PAP Patienten Pa04-06 zeigen eine hyperbole Auswaschkinetik bezogen auf die absolut ausgewaschene SP-D Menge pro Spülportion.

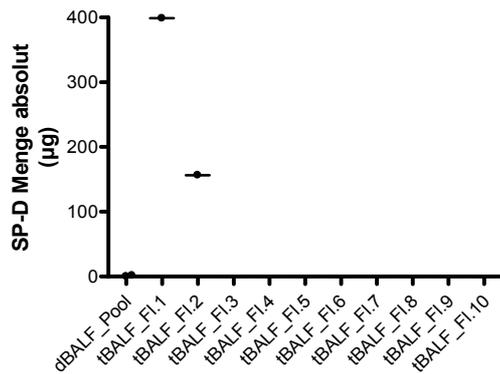
### III.B.6.2.3 Gesunde Kontrollen



**Abb. III.B.6.2.3.1:** SP-D Menge absolut, in den Poolfraktionen der diagnostischen BALF der Kontrollen, die ausgewaschen wurde. Ein Symbol entspricht der SP-D Menge in  $\mu\text{g}$  in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

Die Poolfraktionen der gesunden Kontrollen zeigen keine Unterschiede in der absolut ausgewaschenen SP-D Menge zu den Proben der juvenilen PAP Patienten.

### III.B.6.2.4 Lipidpneumonitis

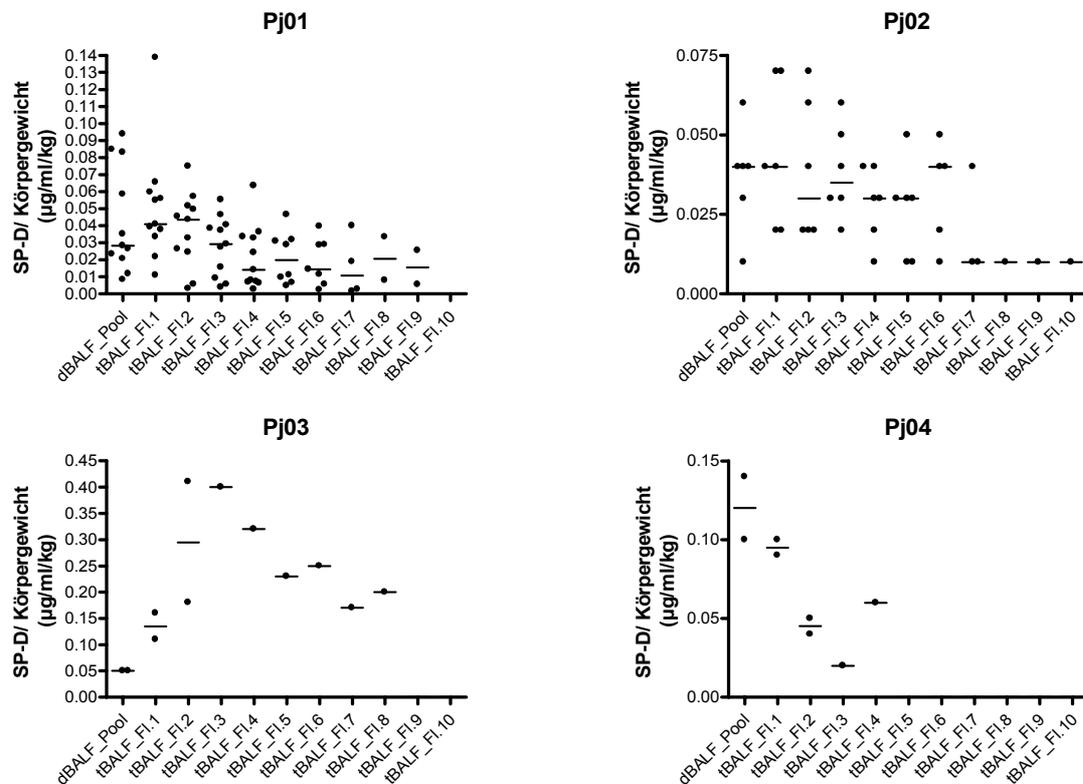


**Abb. III.B.6.2.4.1:** SP-D Menge absolut, die in den Poolfraktionen der diagnostischen BALF und den einzelnen Flaschen der therapeutischen Lavagen des Patienten mit Lipidpneumonitis Lj01 ausgewaschen wurde. Ein Symbol entspricht der SP-D Menge in µg in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

Die Proben des Kontrollpatienten Lj01 zeigen eine hyperbole Auswaschkinetik der absolut ausgewaschenen SP-D Menge.

### III.B.6.3 SP-D /kg Körpergewicht

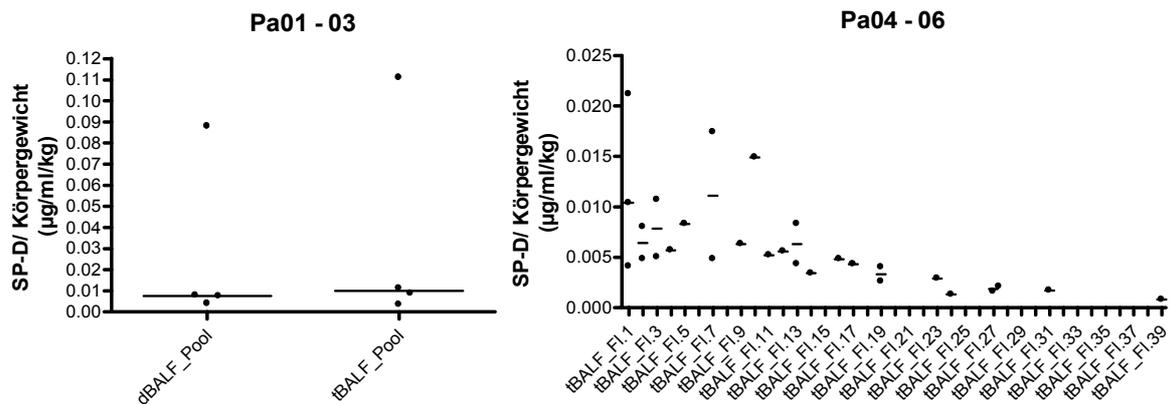
#### III.B.6.3.1 PAP juvenil



**Abb. III.B.6.3.1.1:** SP-D Konzentration bezogen auf das Körpergewicht in den Poolfraktionen der diagnostischen BALF und den einzelnen Flaschen der therapeutischen Lavagen der juvenilen PAP Patienten Pj01, Pj02, Pj03 und Pj04. Ein Symbol entspricht der SP-D Konzentration in  $\mu\text{g/ml/kg}$  Körpergewicht in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

Die juvenilen PAP Patienten zeigen alle eine hyperbole Auswaschkinetik der SP-D Konzentration bezogen auf das Körpergewicht in kg. Die Poolfraktionen zeigen außer in den Proben des Patienten Pj04 die geringsten Werte, was darauf zurückzuführen ist, dass die Poolfraktion nur zentrifugiert gemessen wurden.

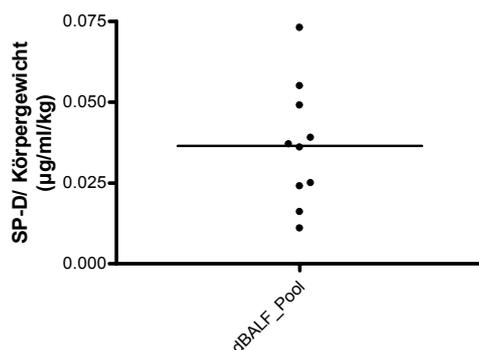
### III.B.6.3.2 PAP adult



**Abb. III.B.6.3.2.1:** SP-D Konzentration bezogen auf das Körpergewicht in den Poolfraktionen der diagnostischen BALF und den gepoolten therapeutischen Lavagen der adulten PAP Patienten Pa01, Pa02 und Pa03 und den einzelnen Flaschen der therapeutischen Lavagen der adulten PAP Patienten Pa04, Pa05 und Pa06. Ein Symbol entspricht der SP-D Konzentration in µg/ml/kg Körpergewicht in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

Die Proben der adulten PAP Patienten Pa01-03 zeigen keine Unterschiede zwischen den Poolfraktionen und den gepoolten therapeutischen Lavagen in der SP-D Konzentration bezogen auf das Körpergewicht, die therapeutischen Lavageproben der Patienten Pa04-06 zeigen eine hyperbole Auswaschkinetik.

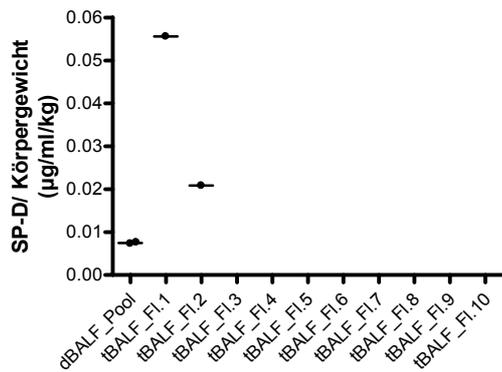
### III.B.6.3.3 Gesunde Kontrollen



**Abb. III.B.6.3.3.1:** SP-D Konzentration bezogen auf das Körpergewicht in den Poolfraktionen der diagnostischen BALF der Kontrollen. Ein Symbol entspricht der SP-D Konzentration in µg/ml/kg Körpergewicht in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

Die SP-D Konzentration bezogen auf das Körpergewicht der Poolfraktionen der gesunden Kontrollpatienten entspricht etwa den Poolproben der juvenilen PAP Patienten.

### III.B.6.3.4 Lipidpneumonitis



**Abb. III.B.6.3.4.1:** SP-D Konzentration bezogen auf das Körpergewicht in den Poolfraktionen der diagnostischen BALF und den einzelnen Flaschen der therapeutischen Lavagen des Patienten mit Lipidpneumonitis. Ein Symbol entspricht der SP-D Konzentration in µg/ml/kg Körpergewicht in der angegebenen Probe. Mediane sind gegeben.

Die Lavageprobe des Kontrollpatienten zeigt eine hyperbole Auswaschkinetik der SP-D Konzentration bezogen auf das Körpergewicht in kg.

## B.7 Korrelation zwischen dBALF\_Pool und tBALF\_1.Flasche

Im folgenden wurden die Ergebnisse der Analyse von Gesamtprotein, SP-A, SP-B, SP-C und SP-D in den Proben der Poolfraktionen der diagnostischen BAL mit den Proben der 1.Flasche der therapeutischen BAL verglichen. Zu diesem Zweck wurde die Korrelation zwischen der Konzentration der dBALF\_Pool und der Konzentration der tBALF\_1.Flasche von den Proben der juvenilen und adulten PAP Patienten bestimmt.

**Tab. III.B.7.1:** Korrelation der Parameter Gesamtprotein, SP-A, SP-B, SP-C und SP-D

Korrelation	Anzahl der Wertepaare (n)	P Wert (signifikant < 0,05)	r <sup>2</sup>	Korrelation signifikant (α=0.05)
<b>Protein</b>				
Konzentration (µg/ml)	25	P<0.0001	0,513	Ja
<b>SP-A</b>				
Konzentration (µg/ml)	20	0,025	0,251	Ja
SP-A/Protein (µg/µg)	20	0,023	0,254	Ja
<b>SP-B</b>				
Konzentration (ng/ml)	20	P<0.0001	0,626	Ja
SP-B/Protein (ng/µg)	20	P<0.0001	0,924	Ja
<b>SP-C</b>				
Konzentration (ng/ml)	20	P<0.0001	0,661	Ja
SP-B/Protein (ng/µg)	20	P<0.0001	0,663	Ja
<b>SP-D</b>				
Konzentration (µg/ml)	25	0,015	0,233	Ja
SP-D/Protein (µg/µg)	25	P<0.0001	0,969	Ja

Die Ergebnisse aller untersuchten Parameter zeigten eine signifikante Korrelation zwischen den Proben der Poolfraktion der diagnostischen BALF und den Proben der 1. Flasche der therapeutischen BALF.

## **III.C Analyse der Lipidfraktion der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit**

### **III.C.1 Untersuchung von einer BALF-Probe je Patient**

Es wurden Proben der BALF von 19 juvenilen PAP Patienten und 15 adulten PAP Patienten untersucht und mit einer Kontrollgruppe aus 15 Patienten mit chronischer Bronchitis und einer Kontrollgruppe aus 17 gesunden Kindern verglichen.

Es wurden die Glycerol-Phospholipide Phosphatidylcholin (PC), Phosphatidylserin (PS), Phosphatidylglycerol (PG), Phosphatidylethanolamin (PE), und Phosphatidylinositol (PI), außerdem Sphingomyelin (SPM), Lysophosphatidylcholin (LPC), Ceramide (Cer), Cholesterolester (CE), freies Cholesterol (FC) und Alkyl-Phosphatidylethanolamin (Alkyl-PE) untersucht.

Die Spezies der einzelnen Parameter werden jeweils über ihre durchschnittliche Fettsäurekettenlänge und Anzahl der Doppelbindungen definiert. Folglich steht zum Beispiel die Abkürzung PC 32:1 für eine Phosphatidylcholinspezies mit einem Fettsäurerest bestehend aus 2 Fettsäureketten mit 32 C-Atomen und einer Doppelbindung.

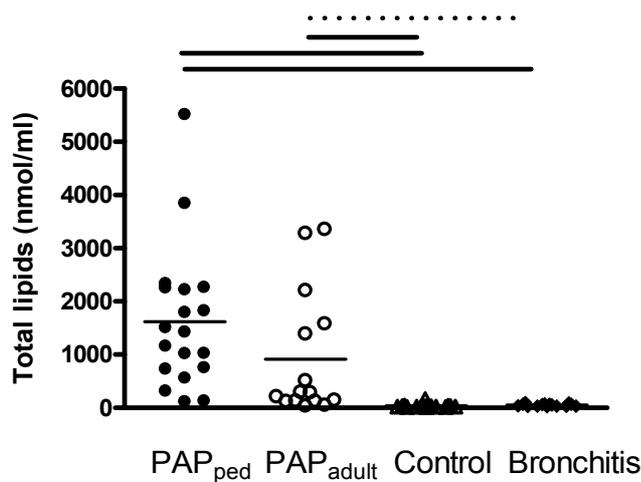
Eine Etherbindung wird durch ein zusätzliches O in der Abkürzung markiert, hier ist also eine Fettsäurekette nicht über eine Esterbindung, sondern eine Etherbindung gebunden, somit wird aus dem Säurerest ein Alkylrest.

Die Sphingomyeline bestehen aus einem Sphingosin und einem Fettsäurerest. Bei den Dihydro Spezies ist die Doppelbindung des Sphingosins hydriert. Da hier immer nur ein Fettsäurerest gebunden sein kann, bezeichnen die Abkürzungen die Kettenlänge und Anzahl der Doppelbindungen dieser Kette.

Bei der Lysophosphatidylcholinspezies ist nur eine der beiden freien OH-Gruppen des Glycerols mit einer Fettsäure verestert. Somit bezeichnen hier die Abkürzungen auch nur eine Fettsäurekette.

Bei der Spezies Alkyl-Phosphatidylethanolamin sind keine Fettsäurereste über Esterbindungen, sondern zwei Alkylreste über Etherbindungen an das Phospholipid Phosphatidylethanolamin gebunden.

### III.C.1 Lipid-Fraktion gesamt



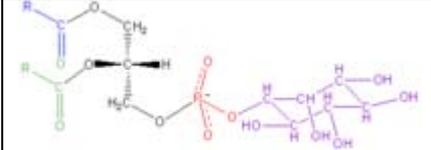
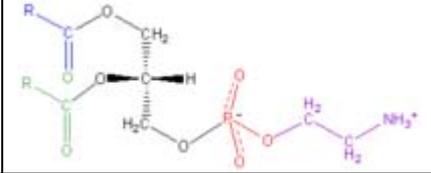
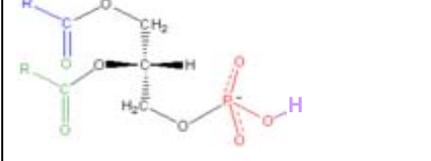
**Abb. III.C.1.1:** Lipid-Fraktion (PC, SPM, SPM-Dihydro, PE, PS, PG, PI, LPC, Cer, GluCer, Alkyl-PE, CE und FC) in nmol/ml in den ausgewiesenen Proben der diagnostischen bzw. therapeutischen BALF der verschiedenen Patientengruppen. Es ist jeweils der Mittelwert angegeben. Kruskal-Wallis Test:  $p < 0,0001$ , Dunn's post hoc Test: durchgehende Balken  $p < 0,001$ , gestrichelte Balken  $p < 0,01$ , gepunkteter Balken  $p < 0,05$ . Einzelwerte siehe Anhang.

Bei der Untersuchung der Lipidfraktion der BALF konnten signifikante Unterschiede zwischen den Patienten- und Kontrollgruppen ermittelt werden. Die Proben der juvenilen und adulten PAP Patienten zeigen gegenüber den Kontrollpatienten signifikant erhöhte Lipidkonzentrationen in der BALF.

#### III.C.1.2 Glycerol-Phospholipide

Es wurden die Glycerol-Phospholipide Phosphatidylcholin (PC), bzw. Lysophosphatidylcholin (LPC), Phosphatidylserin (PS), Phosphatidylinositol (PI) Phosphatidylethanolamin (PE) und Phosphatidylglycerol (PG) untersucht.

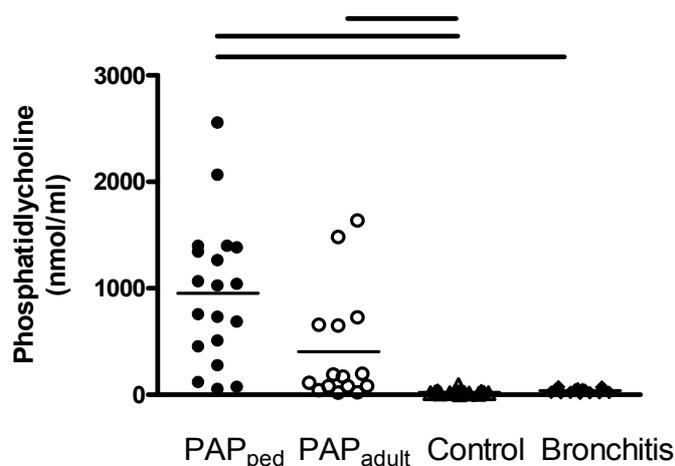
Bezeichnung	Strukturformel	Kopfgruppe	Ladung
Phosphatidylcholin (PC)		Cholin	neutral
Phosphatidylserin (PS)		Serin	negativ

Phosphatidylinositol (PI)		Inositol	negativ
Phosphatidylethanolamin (PE)		Ethanolamin	neutral
Phosphatidylglycerol (PG)		keine	neutral

Die Glycerol Phospholipide bestehen alle aus einem Glycerol, das über ein Phosphatrest mit der jeweiligen Kopfgruppe verbunden ist, bzw. bei PG nicht substituiert ist. Die anderen beiden freien OH-Gruppen können mit 2 Fettsäuren verestert oder verethert sein. Etherbindungen sind bei der Bezeichnung der Spezies mit einem zusätzlichen O in gekennzeichnet und als Alkylgruppe zusammengefasst. Bei der Spezies Lysophosphatidylcholin handelt es sich um ein PC, bei dem nur eine der beiden freien OH-Gruppen des Glycerols mit einem Fettsäurerest verknüpft ist.

### III.C.1.2.1 Phosphatidylcholin (PC)

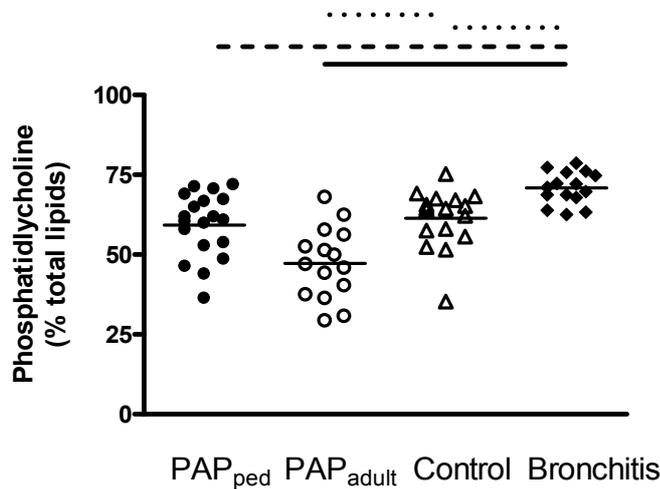
#### Phosphatidylcholin (nmol/ ml)



**Abb. III.C.1.2.1.1:** Anteil der Phosphatidylcholin-Fraktion in nmol/ ml in den BALF Proben in den Gruppen PAP juvenil, PAP adult, Kontrollen und Bronchitis. Es ist jeweils der Mittelwert angegeben. Kruskal-Wallis Test:  $p < 0,0001$ , Dunn`s post hoc Test: durchgehende Balken  $p < 0.001$ , gestrichelte Balken  $p < 0,01$ , gepunkteter Balken  $p < 0.05$ . Einzelwerte siehe Anhang.

Die BALF Proben der juvenilen PAP Patienten zeigen signifikant erhöhte PC Konzentration im Vergleich zu den Proben beider Kontrollgruppen, die Proben der adulten PAP Patienten nur zu den Proben der gesunden Kontrollen.

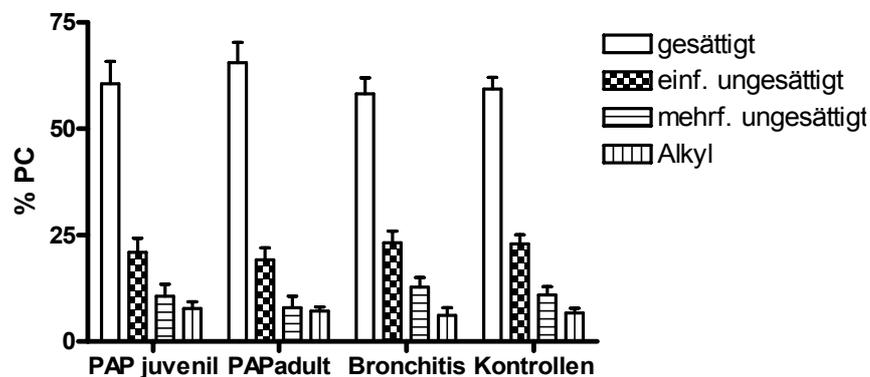
### Phosphatidylcholin (% PL)



**Abb. III.C.1.2.1.2:** Prozentualer Anteil der Phosphatidylcholinfraktion an der PL-Gesamtfraction in den Gruppen PAP juvenil, PAP adult, Kontrollen und Bronchitis. Es ist jeweils der Mittelwert angegeben. Kruskal-Wallis Test:  $p < 0,0001$ , Dunn's post hoc Test: durchgehende Balken  $p < 0.001$ , gestrichelte Balken  $p < 0,01$ , gepunkteter Balken  $p < 0.05$ . Einzelwerte siehe Anhang.

Der prozentuale PC Anteil in den Proben der Kontrollgruppe mit Bronchitis war im Vergleich zu den anderen drei untersuchten Gruppen signifikant am höchsten.

### Phosphatidylcholin ges./ unges./ Alkyl

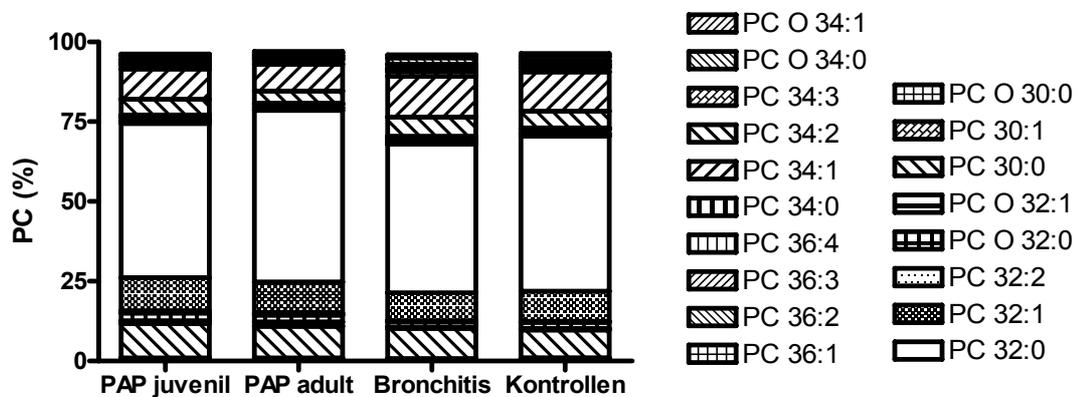


**Abb. III.C.1.2.1.3:** Phosphatidylcholin-Fraktion unterteilt nach gesättigten, einfach und mehrfach ungesättigten Spezies in den ausgewiesenen Proben der diagnostischen bzw. therapeutischen BALF der verschiedenen Patientengruppen. Es wird jeweils der Mittelwert mit relativen Standardabweichung in % angegeben.

		gesättigt	einf unges	mehrf unges	unges	Alkyl	gesamt
PAP juv.	Mittelwert (MW)	60,61	20,95	10,63	31,59	7,81	100,00
	Unteres 95% CI (MW)	58,07	19,35	9,26	29,11	7,07	100,00
	Oberes 95% CI (MW)	63,15	22,55	12,01	34,06	8,54	100,00
PAP ad.	Mittelwert (MW)	65,51	19,36	7,97	27,33	7,16	100,00
	Unteres 95% CI (MW)	62,85	17,77	6,50	24,67	6,62	100,00
	Oberes 95% CI (MW)	68,17	20,96	9,44	30,00	7,70	100,00
Bronchitis	Mittelwert (MW)	58,21	22,91	12,75	35,66	6,13	100,00
	Unteres 95% CI (MW)	56,12	21,46	11,47	34,10	5,12	100,00
	Oberes 95% CI (MW)	60,30	24,35	14,03	37,21	7,15	100,00
Kontrollen	Mittelwert (MW)	59,32	22,94	11,00	33,94	6,74	100,00
	Unteres 95% CI (MW)	57,90	21,84	10,02	32,33	6,15	100,00
	Oberes 95% CI (MW)	60,74	24,04	11,98	35,56	7,32	100,00

Das Verteilungsmuster der gesättigten, ungesättigten und Alkylspezies unterschied sich in den untersuchten Gruppen nicht signifikant.

### Phosphatidylcholin Spezies > 0,5%

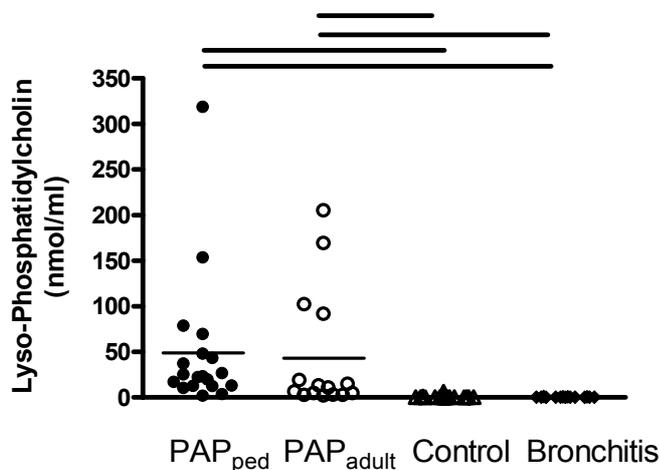


**Abb. III.C.1.2.1.4:** Phosphatidylcholin-Fraktion in den ausgewiesenen Proben der BALF der verschiedenen Patientengruppen. Es wurden nur die Spezies der PC-Fraktion dargestellt, die im Mittelwert > 0,5 % der Gesamtfraktion ausmachen.

In den Proben aller Gruppen bildete die PC Spezies 32:0 mit ca. 50 % den prozentualen größten Anteil der PC Fraktion. der Anteil der Spezies 34:1 war in den Proben der Kontrollgruppen ca. doppelt so groß wie in den PAP Patienten Proben.

### III.C.1.2.2 Lysophosphatidylcholin (LPC)

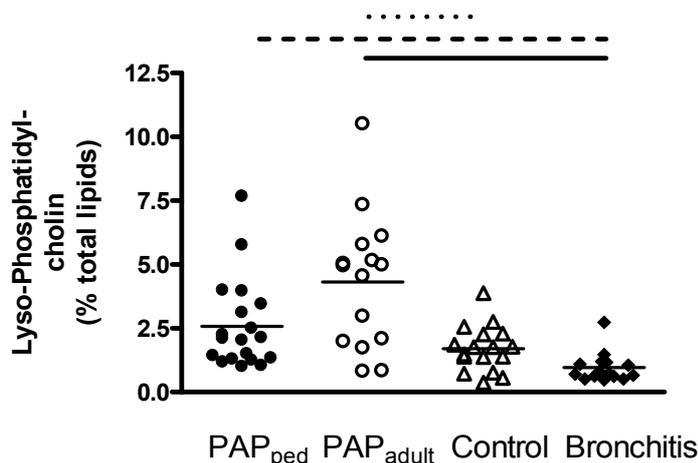
#### Lysophosphatidylcholin (nmol/ ml)



**Abb. III.C.1.2.2.1:** Prozentualer Anteil der Lysophosphatidylcholinfraktion an der PL-Gesamtfraction in den Gruppen PAP juvenil, PAP adult, Kontrollen und Bronchitis. Es ist jeweils der Mittelwert angegeben. Kruskal-Wallis Test:  $p < 0,0001$ , Dunn's post hoc Test: durchgehende Balken  $p < 0.001$ , gestrichelte Balken  $p < 0,01$ , gepunkteter Balken  $p < 0.05$ . Einzelwerte siehe Anhang.

Es zeigten sich stark signifikante Unterschiede in der LPC Konzentration zwischen den BALF Proben der Patientengruppen mit PAP und den Kontrollgruppen.

#### Lysophosphatidylcholin (% PL)

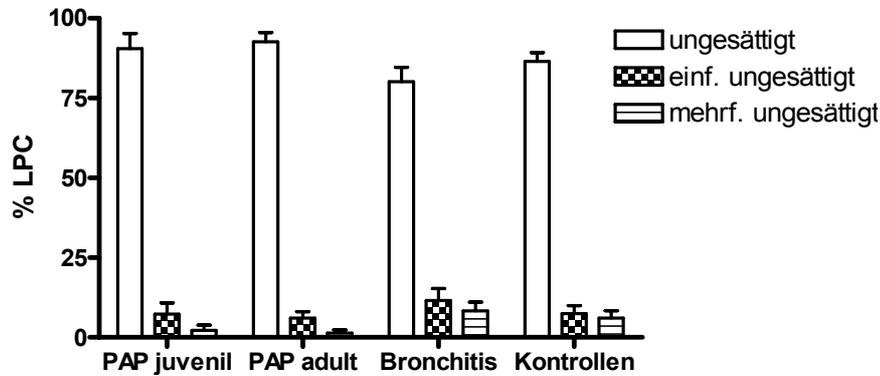


**Abb. III.C.1.2.2.2:** Prozentualer Anteil der Lysophosphatidylcholinfraktion an der PL-Gesamtfraction in den Gruppen PAP juvenil, PAP adult, Kontrollen und Bronchitis. Es ist jeweils der Mittelwert angegeben. Kruskal-Wallis Test:  $p < 0,0001$ , Dunn's post hoc Test: durchgehende Balken  $p < 0.001$ , gestrichelte Balken  $p < 0,01$ , gepunkteter Balken  $p < 0.05$ . Einzelwerte siehe Anhang.

Die LPC Fraktion war in den Proben der Kontrollgruppe mit Bronchitis im Gegensatz zur PC Spezies am niedrigsten und zu den beiden PAP Patientengruppen signifikant

unterschiedlich. Die PAP Patientenproben enthielten prozentual die höchsten Anteile an LPC.

### Lysophosphatidylcholin ges./ unges.

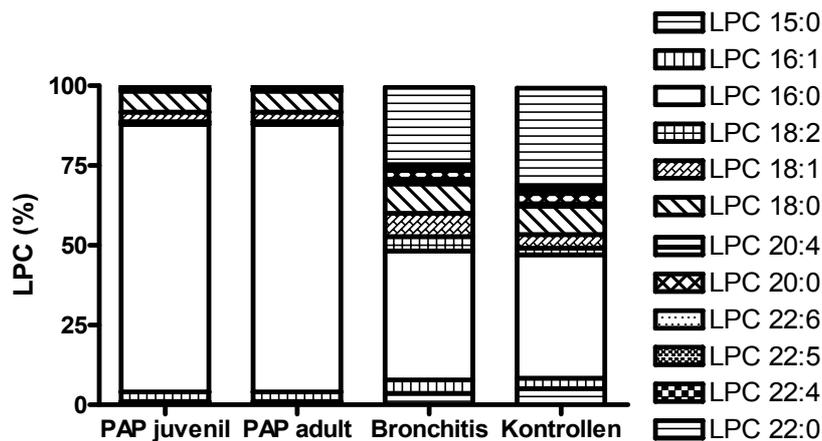


**Abb. III.C.1.2.2.3:** LPC-Fraktion unterteilt nach gesättigten, einfach und mehrfach ungesättigten Spezies in den ausgewiesenen Proben der diagnostischen bzw. therapeutischen BALF der verschiedenen Patientengruppen. Es wird jeweils der Mittelwert mit relativen Standardabweichung in % angegeben.

		gesättigt	einf unges	mehrf unges	unges	gesamt
<b>PAP juv.</b>	Mittelwert (MW)	90,47	7,33	2,19	9,53	100,00
	Unteres 95% CI (MW)	88,20	5,66	1,37	7,26	100,00
	Oberes 95% CI (MW)	92,74	9,01	3,02	11,80	100,00
<b>PAP ad.</b>	Mittelwert (MW)	92,59	6,02	1,40	7,42	100,00
	Unteres 95% CI (MW)	90,96	4,89	0,84	5,78	100,00
	Oberes 95% CI (MW)	94,22	7,14	1,95	9,05	100,00
<b>Bronchitis</b>	Mittelwert (MW)	80,16	11,51	8,32	19,84	100,00
	Unteres 95% CI (MW)	77,71	9,44	6,82	17,38	100,00
	Oberes 95% CI (MW)	82,62	13,59	9,83	22,29	100,00
<b>Kontrollen</b>	Mittelwert (MW)	86,50	7,47	6,04	13,50	100,00
	Unteres 95% CI (MW)	85,09	6,17	4,86	12,10	100,00
	Oberes 95% CI (MW)	87,90	8,76	7,22	14,91	100,00

Bei den Kontrollgruppen war im Vergleich zu den beiden Patientengruppen mit PAP der prozentuale Anteil der ungesättigten Spezies der LPC Fraktion signifikant erniedrigt und der Anteil der gesättigten Spezies signifikant erhöht.

### Lysophosphatidylcholin Spezies > 0,5%

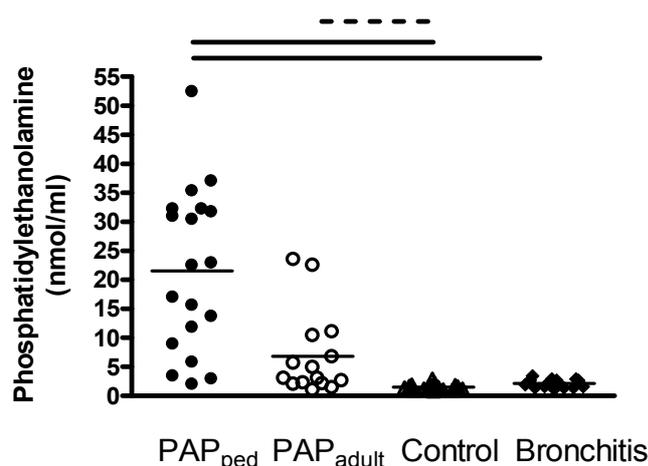


**Abb. III.C.1.2.2.4:** LPC-Fraktion in den ausgewiesenen Proben der BALF der verschiedenen Patientengruppen. Es wurden nur die Spezies der LPC-Fraktion dargestellt, die im Mittelwert > 0,5 % der Gesamtfraktion ausmachen.

Bei der Untersuchung der einzelnen Spezies der LPC Fraktion zeigten sich in den Spezies 16:0 und 22:0 die deutlichsten Unterschiede zwischen den Patientengruppen mit PAP und den Kontrollgruppen. Insgesamt bildete bei allen Gruppen die Spezies LPC 16:0 den prozentual höchsten Anteil.

### III.C.1.2.3 Phosphatidylethanolamin (PE)

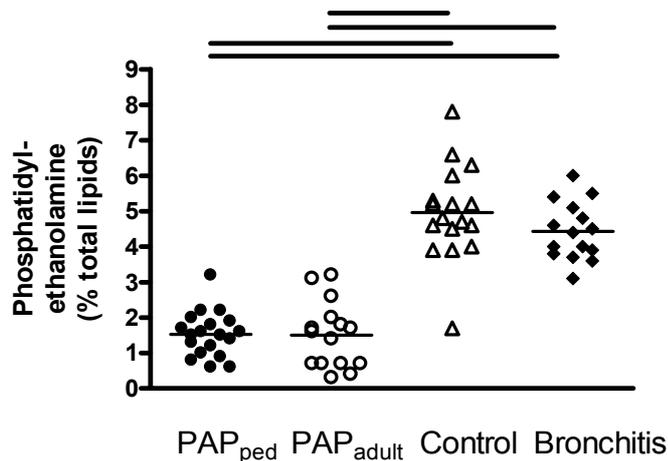
#### Phosphatidylethanolamin (nmol/ ml)



**Abb. III.C.1.2.3.1:** Prozentualer Anteil der Phosphatidylethanolaminfraktion an der PL-Gesamtfraktion in den Gruppen PAP juvenil, PAP adult, Kontrollen und Bronchitis. Es ist jeweils der Mittelwert angegeben. Kruskal-Wallis Test:  $p < 0,0001$ , Dunn`s post hoc Test: durchgehende Balken  $p < 0,001$ , gestrichelte Balken  $p < 0,01$ , gepunkteter Balken  $p < 0,05$ . Einzelwerte siehe Anhang.

Die BALF Proben der juvenilen PAP Patienten zeigen signifikant erhöhte PE Konzentration im Vergleich zu den Proben beider Kontrollgruppen, die Proben der adulten PAP Patienten nur im Vergleich zu den Proben der gesunden Kontrollen.

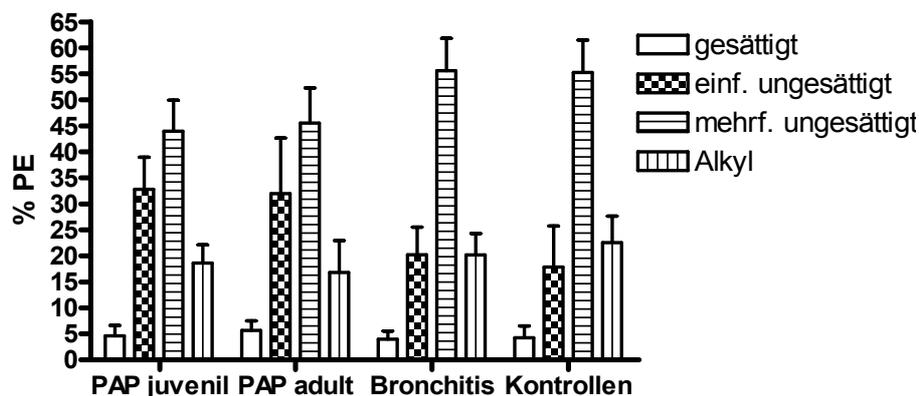
### Phosphatidylethanolamin (% PL)



**Abb. III.C.1.2.3.2:** Prozentualer Anteil der Phosphatidylethanolaminfraktion an der PL-Gesamtfraction in den Gruppen PAP juvenil, PAP adult, Kontrollen und Bronchitis. Es ist jeweils der Mittelwert angegeben. Kruskal-Wallis Test:  $p < 0,0001$ , Dunn's post hoc Test: durchgehende Balken  $p < 0,001$ , gestrichelte Balken  $p < 0,01$ , gepunkteter Balken  $p < 0,05$ . Einzelwerte siehe Anhang.

Der Anteil der PE Fraktion an der PL Fraktion war bei den Kontrollgruppen im Vergleich zu den PAP Patientenproben signifikant erhöht.

### Phosphatidylethanolamin ges./ unges.

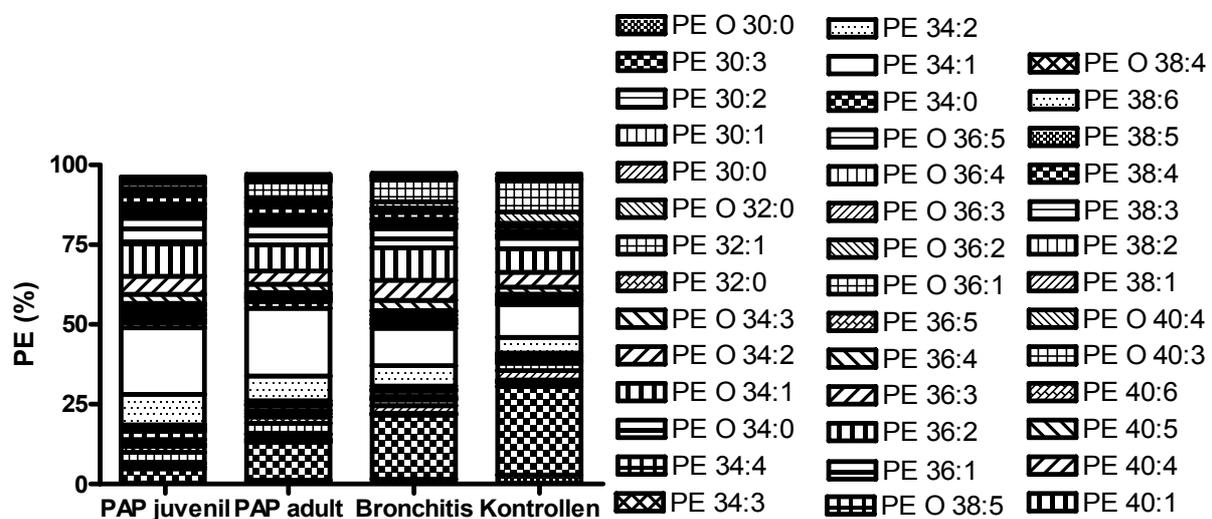


**Abb. III.C.1.2.3.3:** PE-Fraktion unterteilt nach gesättigten, einfach und mehrfach ungesättigten und Alkyl Spezies in den ausgewiesenen Proben der diagnostischen bzw. therapeutischen BALF der verschiedenen Patientengruppen. Die Alkyl-Spezies werden als %-Anteil der 100 % Gesamtfraction PE berechnet. Es wird jeweils der Mittelwert mit relativen Standardabweichung in % angegeben.

		gesättigt	einf unges	mehrf unges	unges	Alkyl	gesamt
PAP juv.	Mittelwert (MW)	4,63	32,82	43,96	76,78	18,60	100,00
	Unteres 95% CI (MW)	3,65	29,86	41,08	74,60	16,88	100,00
	Oberes 95% CI (MW)	5,60	35,77	46,84	78,96	20,31	100,00
PAP ad.	Mittelwert (MW)	5,66	31,96	45,54	77,50	16,83	100,00
	Unteres 95% CI (MW)	4,64	26,04	41,80	73,79	13,45	100,00
	Oberes 95% CI (MW)	6,69	37,89	49,27	81,22	20,22	100,00
Bronchitis	Mittelwert (MW)	4,01	20,23	55,61	75,84	20,15	100,00
	Unteres 95% CI (MW)	3,15	17,28	52,16	73,32	17,87	100,00
	Oberes 95% CI (MW)	4,86	23,18	59,06	78,37	22,44	100,00
Kontrollen	Mittelwert (MW)	4,27	17,86	55,28	73,14	22,58	100,00
	Unteres 95% CI (MW)	3,12	13,80	52,07	70,16	19,98	100,00
	Oberes 95% CI (MW)	5,42	21,93	58,49	76,12	25,18	100,00

Die ungesättigten Spezies der PE Fraktion war bei den beiden Kontrollgruppen signifikant höher als bei den beiden PAP Patientengruppen. In den gesättigten Spezies und den Alkylspezies zeigten sich keine Unterschiede zwischen den Gruppen.

#### Phosphatidylethanolamin Spezies > 0,5 %



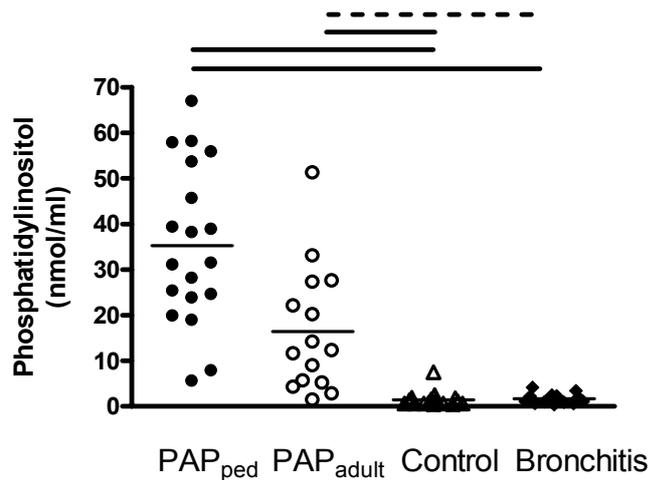
**Abb. III.C.1.2.3.4:** PE-Fraktion in den ausgewiesenen Proben der BALF der verschiedenen Patientengruppen. Es wurden nur die Spezies der PE-Fraktion dargestellt, die im Mittelwert > 0,5 % der Gesamtfraktion ausmachen.

Bei den beiden Patientengruppen mit PAP bildete die PE Spezies PE 34.1 mit ca. 20 % den höchsten prozentualen Anteil, bei den beiden Kontrollgruppen bildete diese Spezies ca. 10 % der gesamten PE Fraktion. Bei den Kontrollgruppen bildete die Spezies PE 30:3 mit ca. 25 % bei der Bronchitisgruppe und ca 30 % bei der

gesunden Kontrollgruppe den größten Anteil. Diese Spezies bildete bei den beiden PAP Gruppen einen deutlich geringeren Prozentanteil mit ca. 5 % in der juvenilen PAP Gruppe und ca. 10 % in der adulten PAP Gruppe.

### III.C.1.2.4 Phosphatidylinositol (PI)

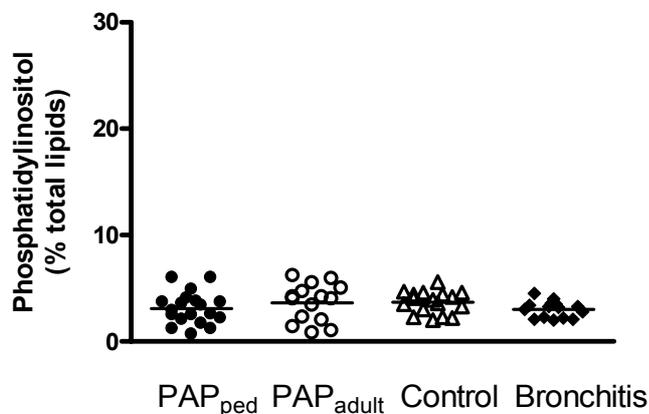
#### Phosphatidylinositol (nmol/ml)



**Abb. III.C.1.2.4.1:** Prozentualer Anteil der Phosphatidylinositolfraktion an der PL-Gesamtfraction in den Gruppen PAP juvenil, PAP adult, Kontrollen und Bronchitis. Es ist jeweils der Mittelwert angegeben. Kruskal-Wallis Test:  $p < 0,0001$ , Dunn's post hoc Test: durchgehende Balken  $p < 0.001$ , gestrichelte Balken  $p < 0,01$ , gepunkteter Balken  $p < 0.05$ . Einzelwerte siehe Anhang.

Die PI Konzentration in den BALF Proben der Patientengruppen mit PAP waren im Vergleich zu den Kontrollproben signifikant erhöht.

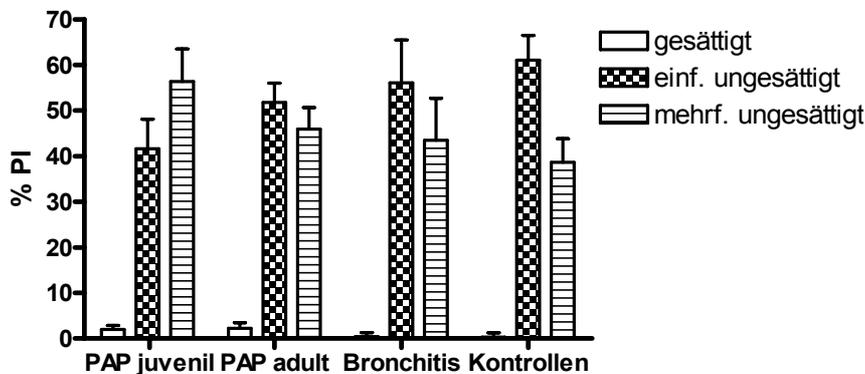
#### Phosphatidylinositol (% PL)



**Abb. III.C.1.2.4.2:** Prozentualer Anteil der Phosphatidylinositolfraktion an der PL-Gesamtfraction in den Gruppen PAP juvenil, PAP adult, Kontrollen und Bronchitis. Es ist jeweils der Mittelwert angegeben. Kruskal-Wallis Test:  $p < 0,0001$ , Dunn's post hoc Test: durchgehende Balken  $p < 0.001$ , gestrichelte Balken  $p < 0,01$ , gepunkteter Balken  $p < 0.05$ . Einzelwerte siehe Anhang.

Der prozentuale Anteil der PI Spezies zeigte bei allen untersuchten Gruppen keine signifikanten Unterschiede.

### Phosphatidylinositol ges./ unges.

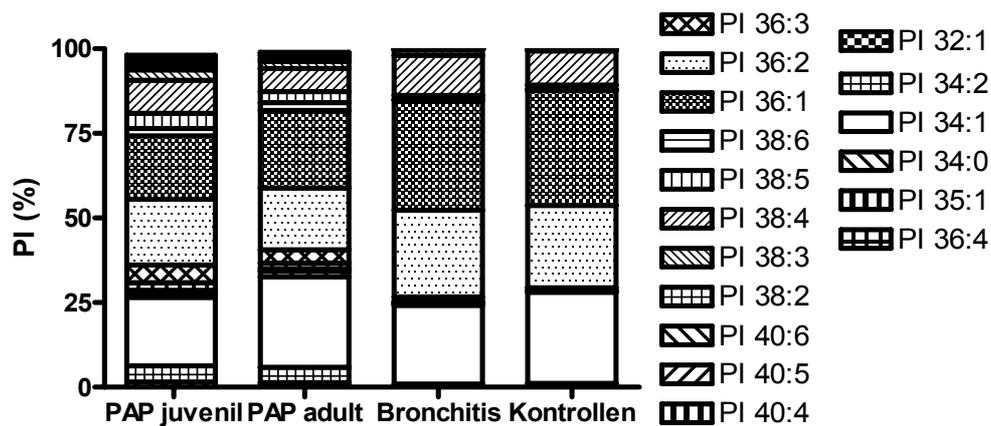


**Abb. III.C.1.2.4.3:** PI-Fraktion unterteilt nach gesättigten, einfach und mehrfach ungesättigten Spezies in den ausgewiesenen Proben der diagnostischen bzw. therapeutischen BALF der verschiedenen Patientengruppen. Es wird jeweils der Mittelwert mit relativen Standardabweichung in % angegeben.

		gesättigt	einf unges	mehrf unges	unges	gesamt
<b>PAP juv.</b>	Mittelwert (MW)	2,01	41,59	56,39	97,99	100,00
	Unteres 95% CI (MW)	1,58	38,47	52,97	97,56	100,00
	Oberes 95% CI (MW)	2,44	44,72	59,81	98,42	100,00
<b>PAP ad.</b>	Mittelwert (MW)	2,27	51,79	45,92	97,73	100,00
	Unteres 95% CI (MW)	1,60	49,43	43,29	97,06	100,00
	Oberes 95% CI (MW)	2,94	54,14	48,55	98,40	100,00
<b>Bronchitis</b>	Mittelwert (MW)	0,43	56,07	43,50	99,57	100,00
	Unteres 95% CI (MW)	-0,07	50,85	38,41	99,08	100,00
	Oberes 95% CI (MW)	0,92	61,29	48,59	100,10	100,00
<b>Kontrollen</b>	Mittelwert (MW)	0,32	61,05	38,64	99,68	100,00
	Unteres 95% CI (MW)	-0,16	58,27	35,95	99,21	100,00
	Oberes 95% CI (MW)	0,79	63,83	41,32	100,20	100,00

In den Gruppen PAP adult, Bronchitis und gesunde Kontrollen bildete die einfach ungesättigten Spezies den größten Anteil der PI Fraktion, in der Gruppe der juvenilen PAP Patienten bildete die mehrfach ungesättigten Spezies den größten Anteil. Der Anteil der gesättigten PI Spezies war in allen Gruppen unter 3 %.

### Phosphatidylinositol Spezies > 0,5 %

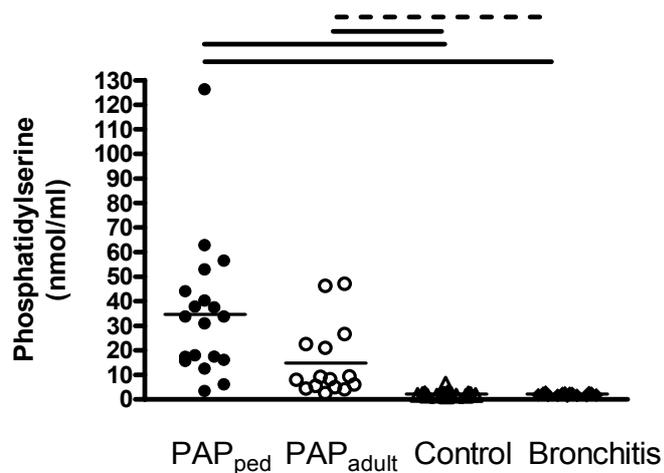


**Abb. III.C.1.2.4.4:** PI-Fraktion in den ausgewiesenen Proben der BALF der verschiedenen Patientengruppen. Es wurden nur die Spezies der PI-Fraktion dargestellt, die im Mittelwert > 0,5 % der Gesamtfraktion ausmachen.

In allen vier Gruppen bildeten die drei Spezies PI 36:1, PI 36:2 und PI 34:1 ca. 75 % der PI-Gesamtfraktion. In den beiden Patientengruppen mit PAP war der Anteil der drei Fraktionen gleichmäßig verteilt und betrug jeweils ca. 20-25 %. In den beiden Kontrollgruppen bildete die Fraktion PI 26:1 mit ca. 40 % den deutlich höchsten Anteil.

### III.C.1.2.5 Phosphatidylserin (PS)

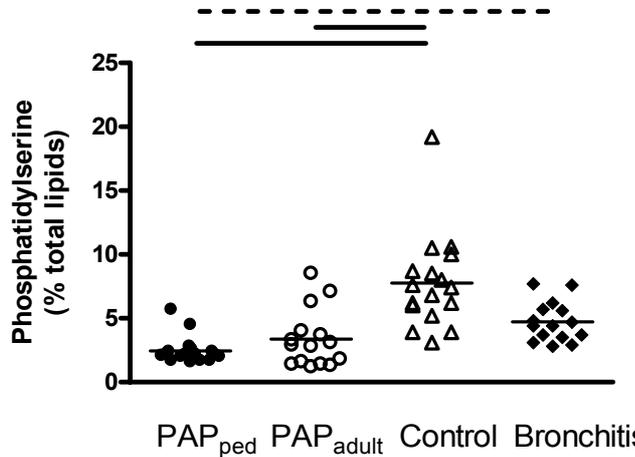
#### Phosphatidylserin (nmol/ml)



**Abb. III.C.1.2.5.1:** Prozentualer Anteil der Phosphatidylserinfraktion an der PL-Gesamtfraktion in den Gruppen PAP juvenil, PAP adult, Kontrollen und Bronchitis. Es ist jeweils der Mittelwert angegeben. Kruskal-Wallis Test:  $p < 0,0001$ , Dunn's post hoc durchgehende Balken  $p < 0.001$ , gestrichelte Balken  $p < 0,01$ , gepunkteter Balken  $p < 0.05$ . Einzelwerte siehe Anhang.

Die beiden PAP Patientengruppen zeigten signifikant höhere PS Konzentrationen als die Proben der Kontrollgruppen.

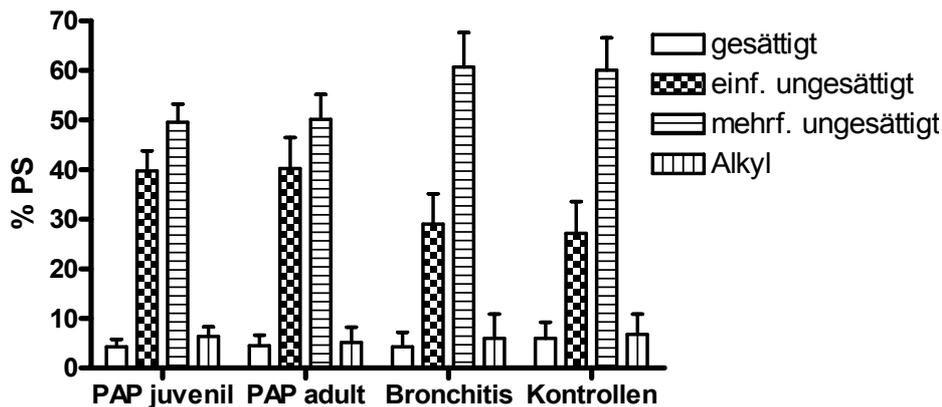
**Phosphatidylserin (% PL)**



**Abb. III.C.1.2.5.2:** Prozentualer Anteil der Phosphatidylserinfraktion an der PL-Gesamtfraction in den Gruppen PAP juvenil, PAP adult, Kontrollen und Bronchitis. Es ist jeweils der Mittelwert angegeben. Kruskal-Wallis Test:  $p < 0,0001$ , Dunn's post hoc Test: durchgehende Balken  $p < 0.001$ , gestrichelte Balken  $p < 0,01$ , gepunkteter Balken  $p < 0.05$ . Einzelwerte siehe Anhang.

Die Proben der beiden Kontrollgruppen enthielten im Gegensatz zur absoluten PS Konzentration prozentual höhere Anteile PS .

**Phosphatidylserin ges./ unges./ Alkyl**

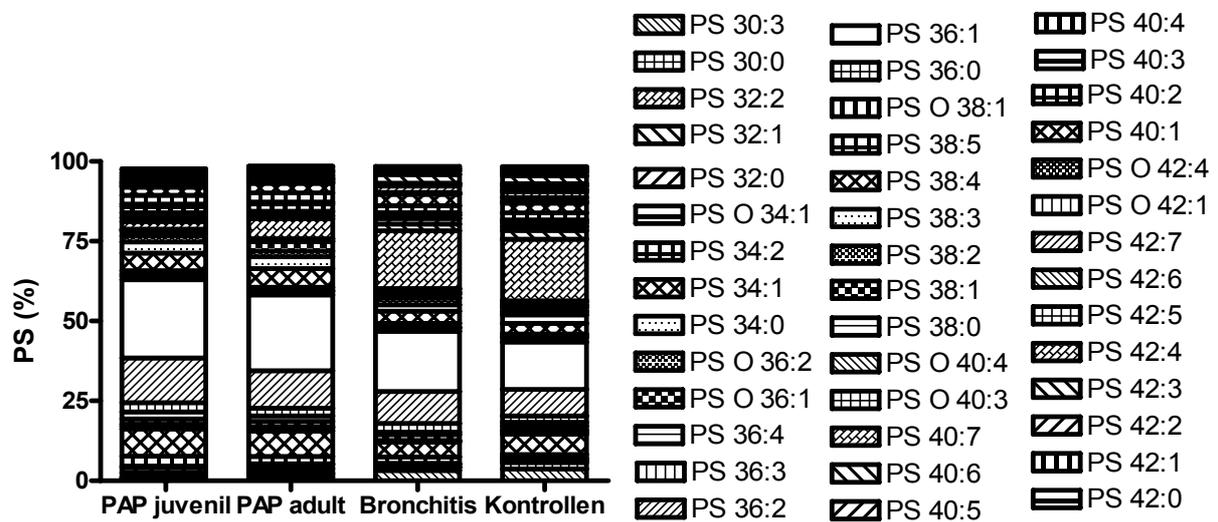


**Abb. III.C.1.2.5.3:** PS-Fraktion unterteilt nach gesättigten, einfach und mehrfach ungesättigten und Alkyl Spezies in den ausgewiesenen Proben der diagnostischen bzw. therapeutischen BALF der verschiedenen Patientengruppen. Die Alkyl-Spezies werden als %-Anteil der 100 % Gesamtfraction PS berechnet. Es wird jeweils der Mittelwert mit relativen Standardabweichung in % angegeben.

		gesättigt	einf unges	mehrf unges	unges	Alkyl	gesamt
PAP juv.	Mittelwert (MW)	4,30	39,73	49,58	89,31	6,40	100,00
	Unteres 95% CI (MW)	3,56	37,76	47,83	88,13	5,47	100,00
	Oberes 95% CI (MW)	5,03	41,69	51,33	90,48	7,33	100,00
PAP ad.	Mittelwert (MW)	4,49	40,21	50,13	90,35	5,16	100,00
	Unteres 95% CI (MW)	3,30	36,74	47,35	88,35	3,44	100,00
	Oberes 95% CI (MW)	5,68	43,69	52,92	92,34	6,88	100,00
Bronchitis	Mittelwert (MW)	4,27	29,02	60,72	89,74	5,99	100,00
	Unteres 95% CI (MW)	2,63	25,64	56,89	86,15	3,28	100,00
	Oberes 95% CI (MW)	5,91	32,40	64,54	93,33	8,71	100,00
Kontrollen	Mittelwert (MW)	5,96	27,16	60,05	87,22	6,82	100,00
	Unteres 95% CI (MW)	4,28	23,88	56,71	84,86	4,75	100,00
	Oberes 95% CI (MW)	7,65	30,44	63,40	89,57	8,90	100,00

Die einfach ungesättigten Spezies waren bei den beiden Kontrollgruppen im Vergleich zu den beiden PAP Patientengruppen signifikant erniedrigt, die mehrfach ungesättigten Spezies dagegen signifikant erhöht. Bei den gesättigten- und den Alkylspezies sind keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen zu erkennen.

**Phosphatidylserin Spezies > 0,5 %**



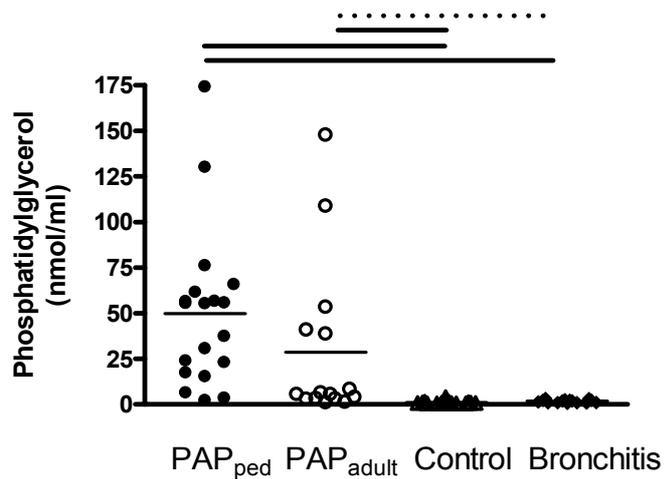
**Abb. III.C.1.2.5.4:** PS-Fraktion in den ausgewiesenen Proben der BALF der verschiedenen Patientengruppen. Es wurden nur die Spezies der PS-Fraktion dargestellt, die im Mittelwert > 0,5% der Gesamtfraktion ausmachen.

Bei der PAP Patientengruppen bildete die Fraktion PS 36:1 die größten Anteil an der PS-Gesamtfraktion mit ca. 25 %. In den beiden Kontrollgruppen bildeten die Fraktionen PS 36:1 und PS 40:7 mit jeweils ca. 20 % den deutlich größten Anteil. Die

Fraktion PS 36:2 bildete in den beiden PAP gruppen ca. 10-15 % , bei den Kontrollgruppen ca. 5-10 % der PS-Gesamtfraktion.

### III.C.1.2.6 Phosphatidylglycerol (PG)

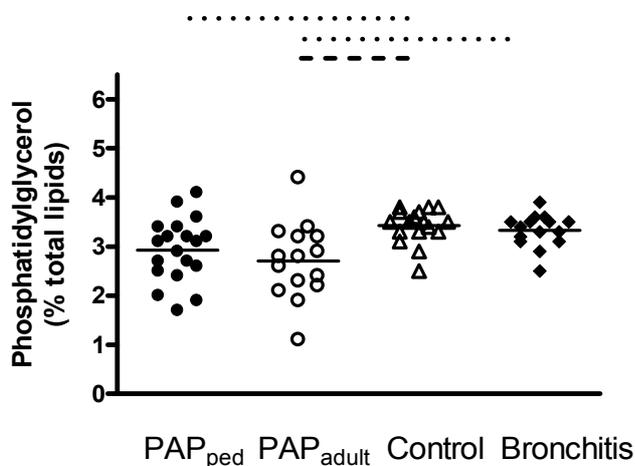
#### Phosphatidylglycerol (nmol/ml)



**Abb. III.C.1.2.6.1:** Prozentualer Anteil der Phosphatidylglycerolfraktion an der PL-Gesamtfraktion in den Gruppen PAP juvenil, PAP adult, Kontrollen und Bronchitis. Es ist jeweils der Mittelwert angegeben. Kruskal-Wallis Test:  $p < 0,0001$ , Dunn's post hoc Test: durchgehende Balken  $p < 0.001$ , gestrichelte Balken  $p < 0,01$ , gepunkteter Balken  $p < 0.05$ . Einzelwerte siehe Anhang.

Die Proben der beiden PAP Patientengruppen zeigten jeweils signifikante höhere PG Konzentrationen als die Proben der Kontrollgruppen.

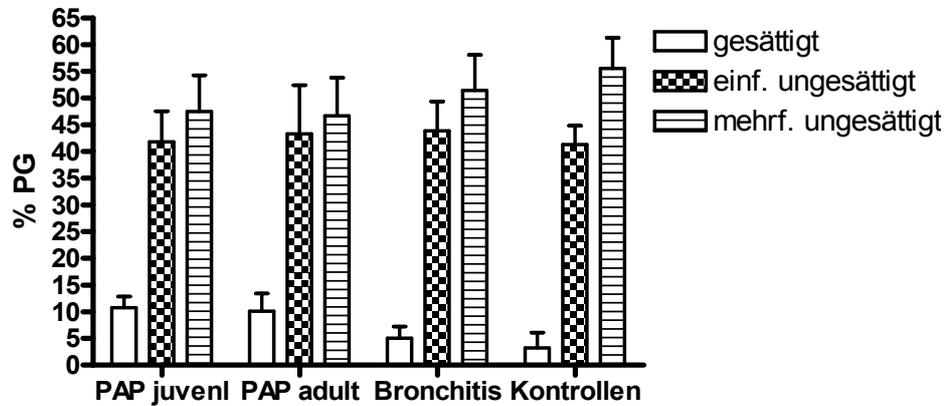
#### Phosphatidylglycerol (% PL)



**Abb. III.C.1.2.6.2:** Prozentualer Anteil der Phosphatidylglycerolfraktion an der PL-Gesamtfraktion in den Gruppen PAP juvenil, PAP adult, Kontrollen und Bronchitis. Es ist jeweils der Mittelwert angegeben. Kruskal-Wallis Test:  $p < 0,0001$ , Dunn's post hoc Test: durchgehende Balken  $p < 0.001$ , gestrichelte Balken  $p < 0,01$ , gepunkteter Balken  $p < 0.05$ . Einzelwerte siehe Anhang.

Die Proben der Kontrollgruppen hatten prozentual, im Gegensatz zur absoluten Konzentration, höhere PG Anteile, als die PAP Patientenproben.

### Phosphatidylglycerol ges./ unges./ Alkyl

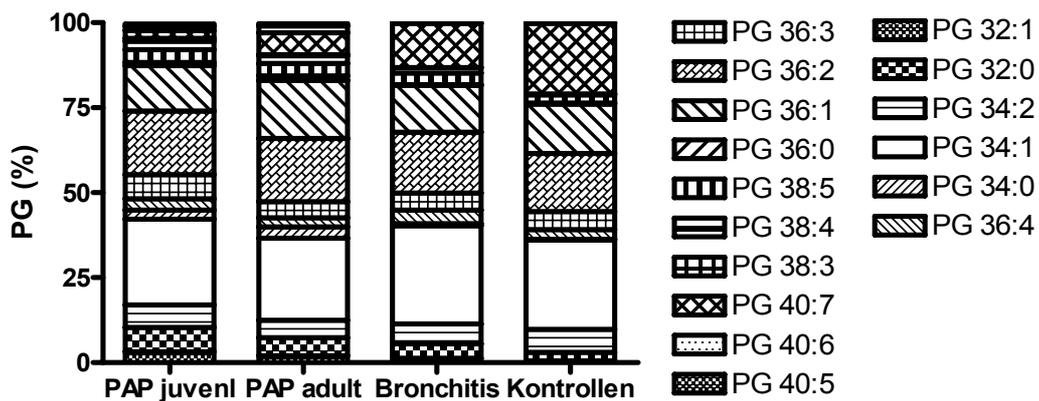


**Abb. III.C.1.2.6.3:** PG-Fraktion unterteilt nach gesättigten, einfach und mehrfach ungesättigten Spezies in den ausgewiesenen Proben der diagnostischen bzw. therapeutischen BALF der verschiedenen Patientengruppen. Es wird jeweils der Mittelwert mit relativen Standardabweichung in % angegeben.

		gesättigt	einf unges	mehrf unges	unges	gesamt
PAP juv.	Mittelwert (MW)	10,74	41,78	47,47	89,26	100,00
	Unteres 95% CI (MW)	9,71	39,00	44,22	88,23	100,00
	Oberes 95% CI (MW)	11,77	44,56	50,73	90,29	100,00
PAP ad.	Mittelwert (MW)	10,09	43,28	46,65	89,91	100,00
	Unteres 95% CI (MW)	8,26	38,22	42,68	88,07	100,00
	Oberes 95% CI (MW)	11,93	48,34	50,62	91,74	100,00
Bronchitis	Mittelwert (MW)	5,05	43,91	51,03	94,95	100,00
	Unteres 95% CI (MW)	3,85	40,75	47,32	93,76	100,00
	Oberes 95% CI (MW)	6,24	47,08	54,73	96,15	100,00
Kontrollen	Mittelwert (MW)	3,21	41,28	55,54	96,79	100,00
	Unteres 95% CI (MW)	1,72	39,45	52,57	95,31	100,00
	Oberes 95% CI (MW)	4,69	43,10	58,50	98,28	100,00

Die gesättigten Spezies zeigen bei den Kontrollgruppen im Vergleich zu den PAP Patientengruppen signifikant erniedrigte Werte, bei den ungesättigten Spezies sind keine signifikanten Unterschiede zu erkennen.

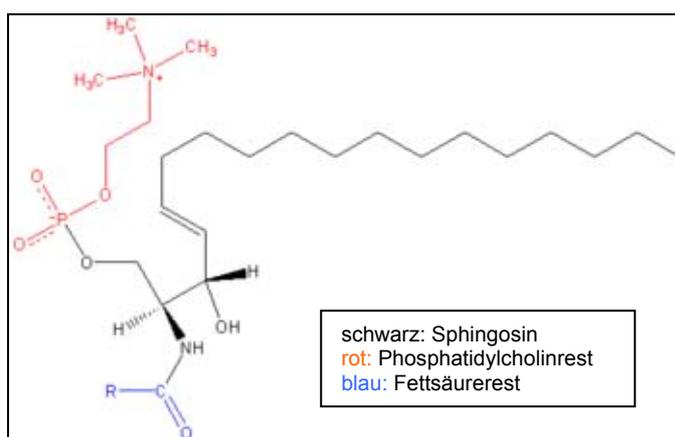
### Phosphatidylglycerol Spezies > 0,5 %



**Abb. III.C.1.2.6.4:** PG-Fraktion in den ausgewiesenen Proben der BALF der verschiedenen Patientengruppen. Es wurden nur die Spezies der PG-Fraktion dargestellt, die im Mittelwert > 0,5% der Gesamtfraktion ausmachen.

Bei allen vier Gruppen bildete die Spezies PG 34:1 mit ca. 25 % den Hauptanteil an der PS Gesamtfraktion. Die Fraktionen PG 36:2 und PG 36:1 bildeten ca. 15-20 % der PG Fraktion. In den beiden Kontrollgruppen war der Anteil der Spezies PG 40:7 mit ca. 10 % in der Bronchitisgruppe und ca. 20 % in der gesunden Kontrollgruppe deutlich höher als in den beiden PAP Gruppen.

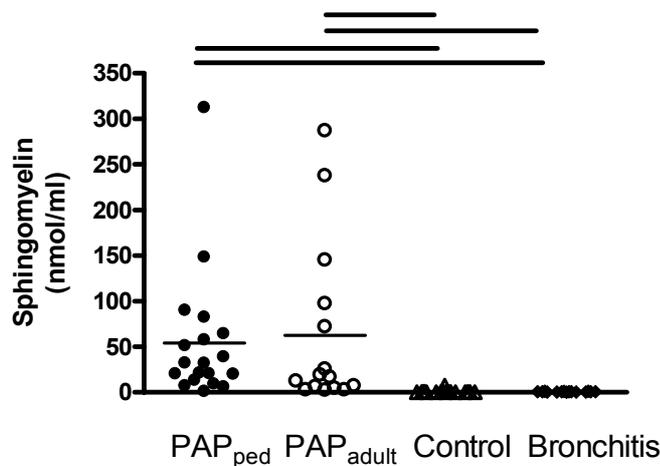
### III.C.1.3 Sphingolipide



Sphingolipide bestehen aus dem Aminoalkohol Sphingosin, der mit einem Fettsäurerest substituiert ist. Ist zusätzlich ein Phosphatidylcholinrest gebunden spricht man von Sphingomyelin.

### II.C.1.3.1 Sphingomyelin (SPM)

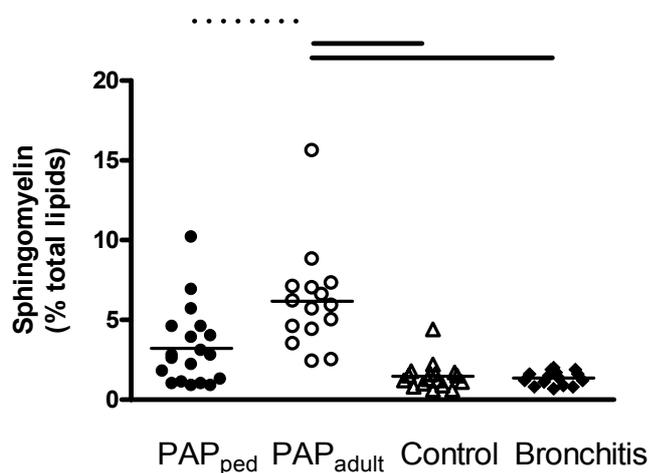
#### Sphingomyelin (nmol/ml)



**Abb. III.C.1.3.1.1:** Prozentualer Anteil der Sphingomyelinfraktion an der PL-Gesamtfraction in den Gruppen PAP juvenil, PAP adult, Kontrollen und Bronchitis. Es ist jeweils der Mittelwert angegeben. Kruskal-Wallis Test:  $p < 0,0001$ , Dunn's post hoc: durchgehende Balken  $p < 0.001$ , gestrichelte Balken  $p < 0,01$ , gepunkteter Balken  $p < 0.05$ . Einzelwerte siehe Anhang.

Die Proben der juvenilen und adulten PAP Patienten zeigen signifikant höhere SPM Konzentrationen als die Proben der Kontrollgruppen.

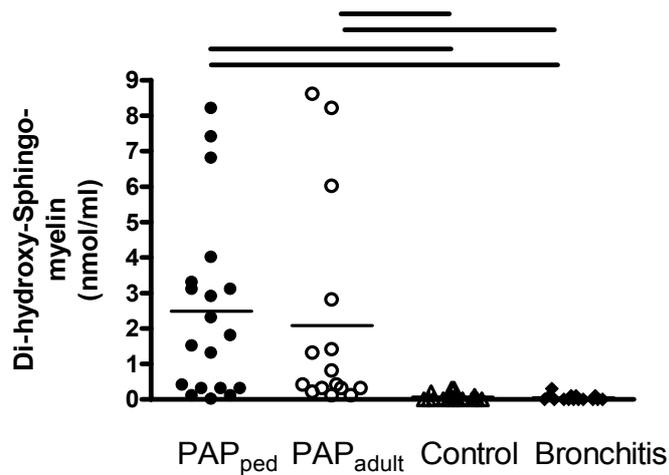
#### Sphingomyelin (% PL)



**Abb. III.C.1.3.1.2:** Prozentualer Anteil der Sphingomyelinfraktion an der PL-Gesamtfraction in den Gruppen PAP juvenil, PAP adult, Kontrollen und Bronchitis. Es ist jeweils der Mittelwert angegeben. Kruskal-Wallis Test:  $p < 0,0001$ , Dunn's post hoc: durchgehende Balken  $p < 0.001$ , gestrichelte Balken  $p < 0,01$ , gepunkteter Balken  $p < 0.05$ . Einzelwerte siehe Anhang.

Die Proben der PAP Patienten zeigen signifikant höhere prozentuale SPM Anteile, als die Proben der Kontrollgruppen.

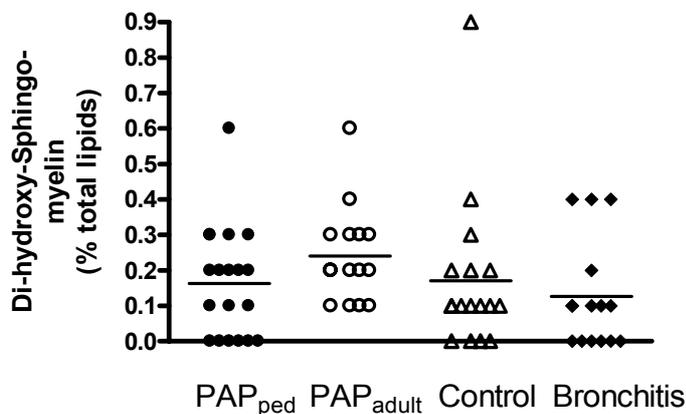
### Di-hydroxy-Sphingomyelin (nmol/ml)



**Abb. III.C.1.3.1.3:** Anteil der Di-hydroxy-Sphingomyelinfraktion in nmol/ml in den BALF Proben in den Gruppen PAP juvenil, PAP adult, Kontrollen und Bronchitis. Es ist jeweils der Mittelwert angegeben. Kruskal-Wallis Test:  $p < 0,0001$ , Dunn's post hoc: durchgehende Balken  $p < 0.001$ , gestrichelte Balken  $p < 0,01$ , gepunkteter Balken  $p < 0.05$ . Einzelwerte siehe Anhang.

Die Proben der juvenilen und adulten PAP Patienten zeigen signifikant höhere Di-hydroxy-SPM Konzentrationen als die Proben der Kontrollgruppen.

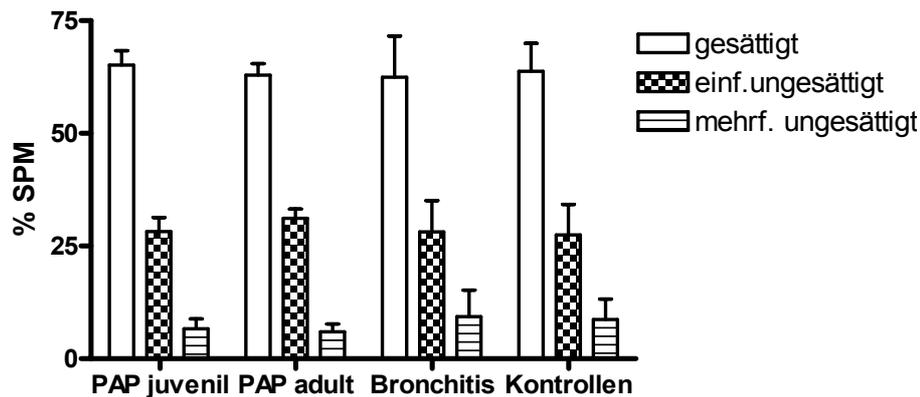
### Di-hydroxy-Sphingomyelin (% PL)



**Abb. III.C.1.3.1.4:** Prozentualer Anteil der Di-hydroxy-Sphingomyelinfraktion an der PL-Gesamtfraktion in den Gruppen PAP juvenil, PAP adult, Kontrollen und Bronchitis. Es ist jeweils der Mittelwert angegeben. Kruskal-Wallis Test:  $p < 0,0001$ , Dunn's post hoc: durchgehende Balken  $p < 0.001$ , gestrichelte Balken  $p < 0,01$ , gepunkteter Balken  $p < 0.05$ . Einzelwerte siehe Anhang.

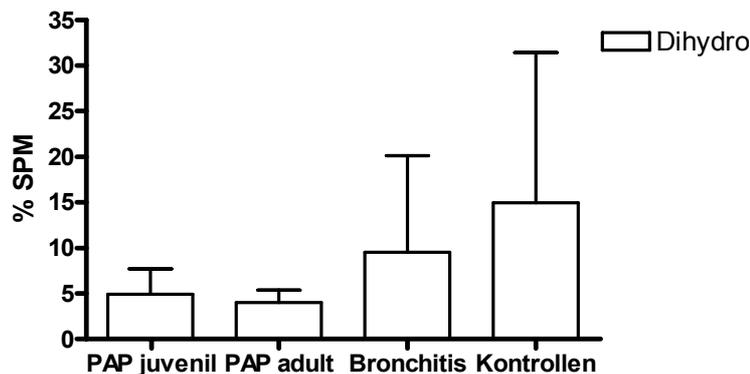
Die Anteile Di-hydroxy-SPM unterschieden prozentual in den verschiedenen Gruppen nicht.

### Sphingomyelin ges./ unges.



**Abb. III.C.1.3.1.5:** SPM-Fraktion unterteilt nach gesättigten, einfach und mehrfach ungesättigten Spezies in den ausgewiesenen Proben der diagnostischen bzw. therapeutischen BALF der verschiedenen Patientengruppen. Es wird jeweils der Mittelwert mit relativen Standardabweichung in % angegeben.

### Di-hydroxy-Sphingomyelin

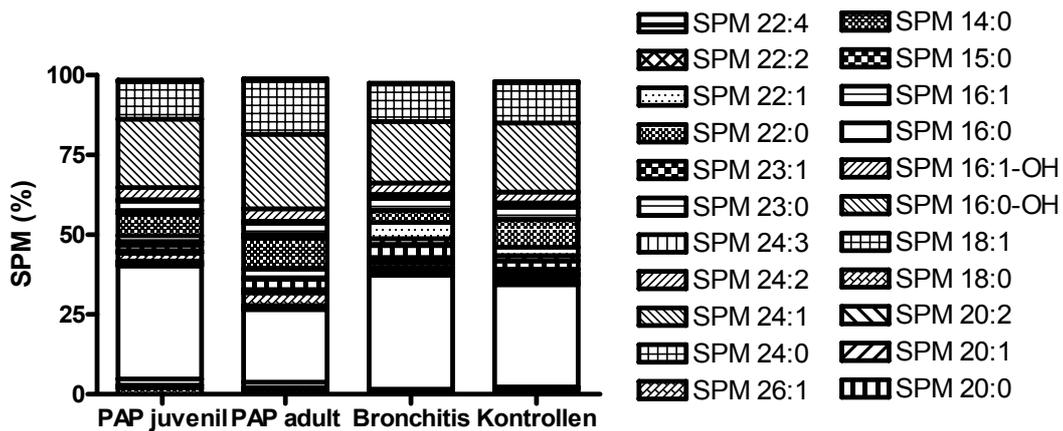


**Abb. III.C.1.3.1.6:** Di-hydroxy-Spezies der SPM-Fraktion in den ausgewiesenen Proben der diagnostischen bzw. therapeutischen BALF der verschiedenen Patientengruppen. Die Dihydro-Spezies werden als %-Anteil von 100 % Gesamtfraktion SPM berechnet. Es wird jeweils der Mittelwert mit relativen Standardabweichung in % angegeben.

		gesättigt	einf unges	mehrf unges	unges	gesamt	Dihydro
PAP juv.	Mittelwert (MW)	65,13	28,22	6,65	34,87	100,00	4,92
	Unteres 95% CI (MW)	63,57	26,72	5,60	33,32	100,00	3,57
	Oberes 95% CI (MW)	66,68	29,72	7,71	36,43	100,00	6,27
PAP ad.	Mittelwert (MW)	62,92	31,14	5,94	37,08	100,00	4,00
	Unteres 95% CI (MW)	61,53	29,97	4,96	35,68	100,00	3,24
	Oberes 95% CI (MW)	64,32	32,30	6,92	38,47	100,00	4,77
Bronchitis	Mittelwert (MW)	62,50	28,17	9,34	37,50	100,00	9,53
	Unteres 95% CI (MW)	57,47	24,33	6,06	32,47	100,00	3,67
	Oberes 95% CI (MW)	67,53	32,00	12,61	42,53	100,00	15,39
Kontrollen	Mittelwert (MW)	63,77	27,50	8,73	36,23	100,00	14,96
	Unteres 95% CI (MW)	60,57	24,04	6,43	33,03	100,00	6,49
	Oberes 95% CI (MW)	66,97	30,96	11,03	39,43	100,00	23,43

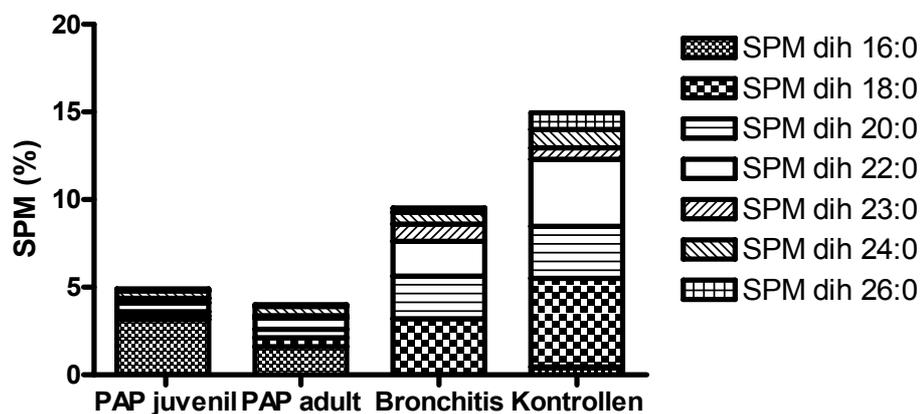
Bei allen Gruppen ist die Verteilung der gesättigten, einfach- und mehrfach ungesättigten SPM Spezies nicht signifikant unterschiedlich. Die gesättigten SPM Spezies bilden den prozentual höchsten Anteil mit ca. 60 %. Die Proben der beiden Kontrollgruppen zeigen deutlich höhere Di-hydroxy SPM Anteile, als die Proben der beiden Gruppen mit PAP.

### Spingomyelin Spezies > 0,5 %



**Abb. III.C.1.3.1.7:** SPM-Fraktion in den ausgewiesenen Proben der BALF der verschiedenen Patientengruppen. Es wurden nur die Spezies der SPM-Fraktion dargestellt, die im Mittelwert > 0,5 % der Gesamtfraktion ausmachen.

### Di-hydroxy-Spingomyelin Spezies > 0,5 %

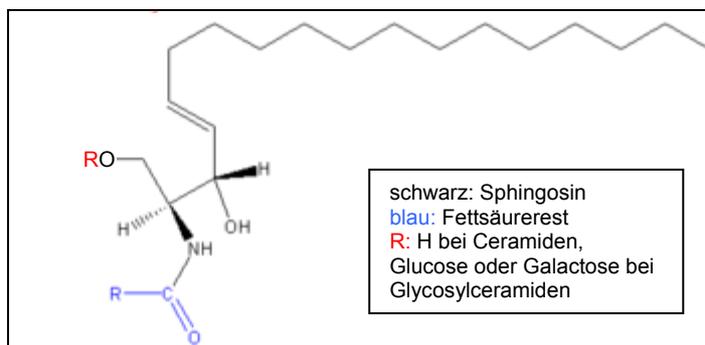


**Abb. III.C.1.3.1.8:** Di-hydroxy Spezies der SPM-Fraktion in den ausgewiesenen Proben der BALF der verschiedenen Patientengruppen. Es wurden nur die Dihydro-Spezies der SPM-Fraktion dargestellt, die im Mittelwert > 0,5 % der Gesamtfraktion ausmachen. Die Dihydro Spezies > 0,5% werden nicht zu der Gesamtfraktion gerechnet, sondern als % Anteile von 100% SPM bestimmt.

Die Spezies SPM 24:3 bildet in allen Gruppen den höchsten prozentualen Einzelanteil mit zwischen 25 % und 40 %. Die Spezies SPM 24:1 bildet den 2. höchsten Einzelanteil und liegt in allen Gruppen bei ca. 25 %.

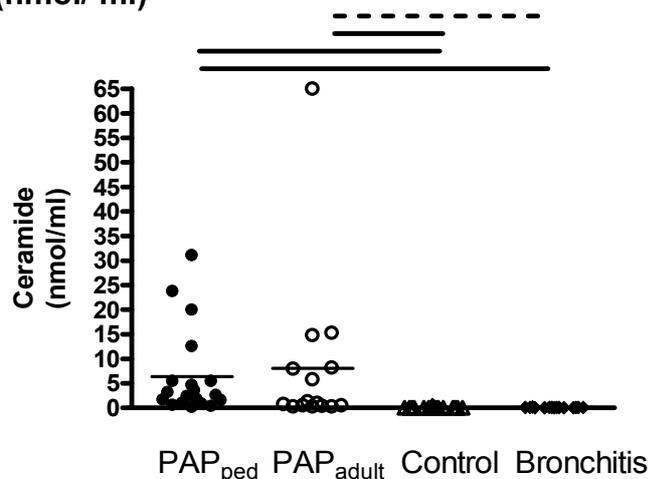
Die Dihydro-Spezies bilden bei den beiden PAP Gruppen ca. 5 %, bei der Kontrollgruppe mit Bronchitis ca. 10 % und der gesunden Kontrollgruppe ca. 15 % der SPM Gesamtfraktion. Die Spezies SPM dihydro 16:0 bildet in den Proben der beiden PAP Gruppen den höchsten Einzelanteil. In den Proben der Kontrollgruppen bildet die Spezies SPM dihydro 18:0 und SPM dihydro 22:0 den höchsten Prozentanteil mit jeweils ca. 3 % in der Bronchitisgruppe und jeweils ca. 6 % in der gesunden Kontrollgruppe.

### III.C.1.4 Ceramide (Cer)



Ceramide sind eine Zwischenstufe bei der Synthese von Sphingolipiden und leiten sich vom Sphingosin ab. Über die Aminogruppe ist ein Fettsäurerest gebunden. Bei den Glycosylceramiden (GluCer) ist zusätzlich ein Zucker, meist Glucose oder Galactose, gebunden.

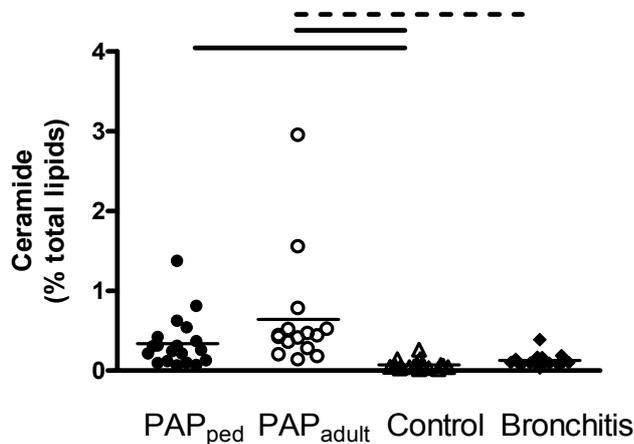
#### Ceramide (nmol/ ml)



**Abb. III.C.1.4.1:** Prozentualer Anteil der Ceramidfraktion an der PL-Gesamtfraktion in den Gruppen PAP juvenil, PAP adult, Kontrollen und Bronchitis. Es ist jeweils der Mittelwert angegeben. Kruskal-Wallis Test:  $p < 0,0001$ , Dunn`s post hoc: durchgehende Balken  $p < 0,001$ , gestrichelte Balken  $p < 0,01$ , gepunkteter Balken  $p < 0,05$ . Einzelwerte siehe Anhang.

Die Proben der juvenilen und adulten PAP Patienten zeigen signifikant höhere Ceramid Konzentrationen als die Proben der Kontrollgruppen.

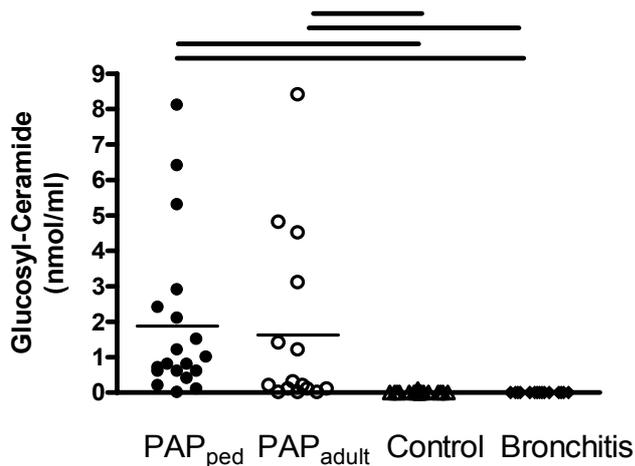
### Ceramide (% PL)



**Abb. III.C.1.4.2:** Prozentualer Anteil der Ceramidfraktion an der PL-Gesamtfraction in den Gruppen PAP juvenil, PAP adult, Kontrollen und Bronchitis. Es ist jeweils der Mittelwert angegeben. Kruskal-Wallis Test:  $p < 0,0001$ , Dunn`s post hoc: durchgehende Balken  $p < 0,001$ , gestrichelte Balken  $p < 0,01$ , gepunkteter Balken  $p < 0,05$ . Einzelwerte siehe Anhang.

Die Proben der juvenilen und adulten PAP Patienten zeigen signifikant höhere prozentuale Ceramid Anteile als die Proben der Kontrollgruppen.

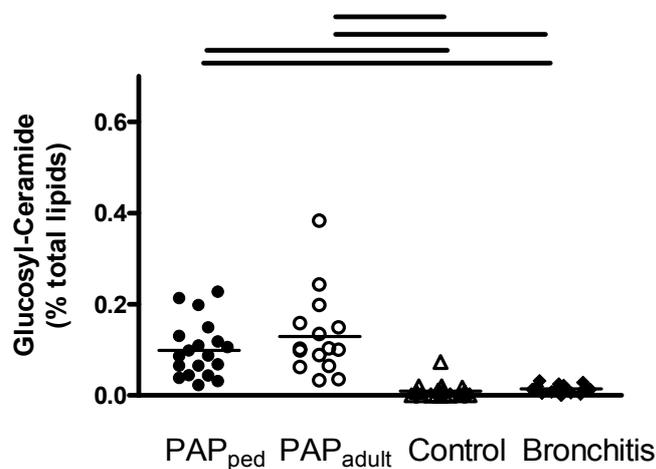
### Glucosyl-Ceramide (nmol/ ml)



**Abb. III.C.1.4.3:** Prozentualer Anteil der Glucosylceramidfraktion in nmol/ ml in den Gruppen PAP juvenil, PAP adult, Kontrollen und Bronchitis. Es ist jeweils der Mittelwert angegeben. Kruskal-Wallis Test:  $p < 0,0001$ , Dunn`s post hoc: durchgehende Balken  $p < 0,001$ , gestrichelte Balken  $p < 0,01$ , gepunkteter Balken  $p < 0,05$ . Einzelwerte siehe Anhang.

Die Proben der juvenilen und adulten PAP Patienten zeigen signifikant höhere Glucosyl Ceramid Konzentrationen als die Proben der Kontrollgruppen.

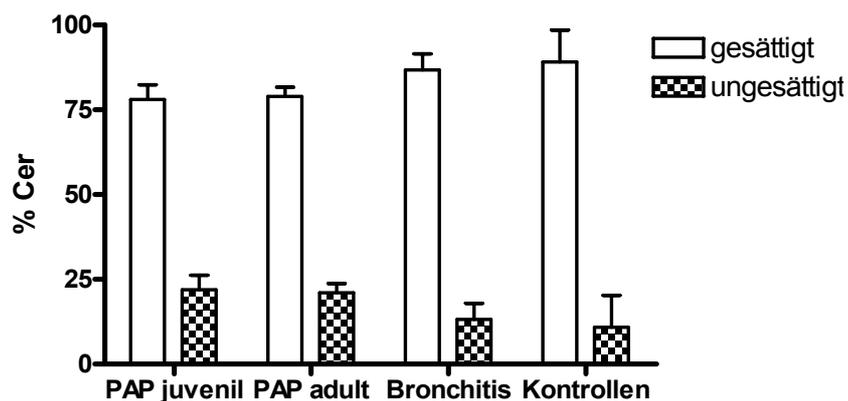
### Glucosyl-Ceramide (% PL)



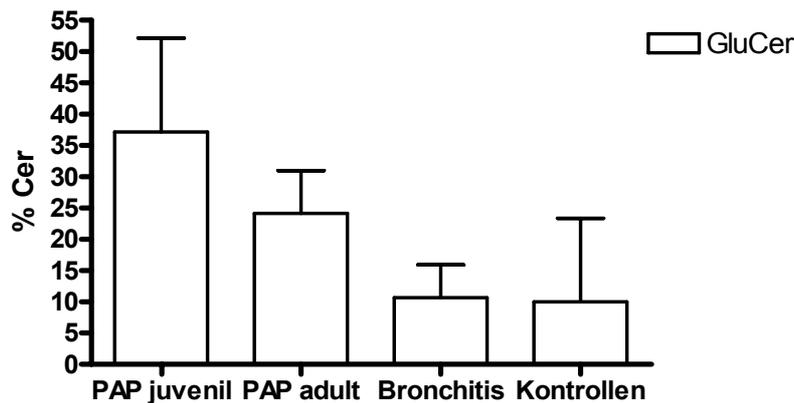
**Abb. III.C.1.4.4:** Prozentualer Anteil der Glucosylceramidfraktion an der PL-Gesamtfraktion in den Gruppen PAP juvenil, PAP adult, Kontrollen und Bronchitis. Es ist jeweils der Mittelwert angegeben. Kruskal-Wallis Test:  $p < 0,0001$ , Dunn's post hoc: durchgehende Balken  $p < 0.001$ , gestrichelte Balken  $p < 0,01$ , gepunkteter Balken  $p < 0.05$ . Einzelwerte siehe Anhang.

Die Proben der juvenilen und adulten PAP Patienten zeigen signifikant höhere prozentuale Glucosyl-Ceramid Anteile als die Proben der Kontrollgruppen.

### Ceramide ges./ unges.



**Abb. III.C.1.4.5:** Cer-Fraktion unterteilt nach gesättigten und ungesättigten Spezies in den ausgewiesenen Proben der diagnostischen bzw. therapeutischen BALF der verschiedenen Patientengruppen. Es wird jeweils der Mittelwert mit relativen Standardabweichung in % angegeben.

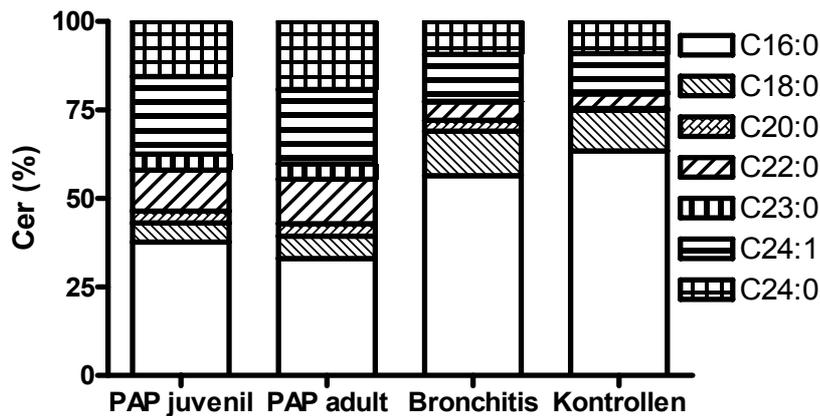
**Glucosyl-Ceramide ges./ unges.**

**Abb. III.C.1.4.6:** Cer-Fraktion der glucosylierten Cer Spezies in den ausgewiesenen Proben der diagnostischen bzw. therapeutischen BALF der verschiedenen Patientengruppen. Die GluCer-Spezies werden als %-Anteil der 100 % Gesamtfraktion Cer berechnet. Es wird jeweils der Mittelwert mit relativen Standardabweichung in % angegeben.

		gesättigt	unges	gesamt	GluCer
<b>PAP juv.</b>	Mittelwert (MW)	78,08	21,92	100,00	37,17
	Unteres 95% CI (MW)	76,03	19,87	100,00	29,96
	Oberes 95% CI (MW)	80,13	23,97	100,00	44,37
<b>PAP ad.</b>	Mittelwert (MW)	78,94	21,06	100,00	24,13
	Unteres 95% CI (MW)	77,42	19,53	100,00	20,35
	Oberes 95% CI (MW)	80,47	22,58	100,00	27,91
<b>Bronchitis</b>	Mittelwert (MW)	86,79	13,21	100,00	10,65
	Unteres 95% CI (MW)	84,15	10,57	100,00	7,74
	Oberes 95% CI (MW)	89,43	15,85	100,00	13,56
<b>Kontrollen</b>	Mittelwert (MW)	89,09	10,91	100,00	10,02
	Unteres 95% CI (MW)	84,25	6,07	100,00	3,15
	Oberes 95% CI (MW)	93,93	15,75	100,00	16,88

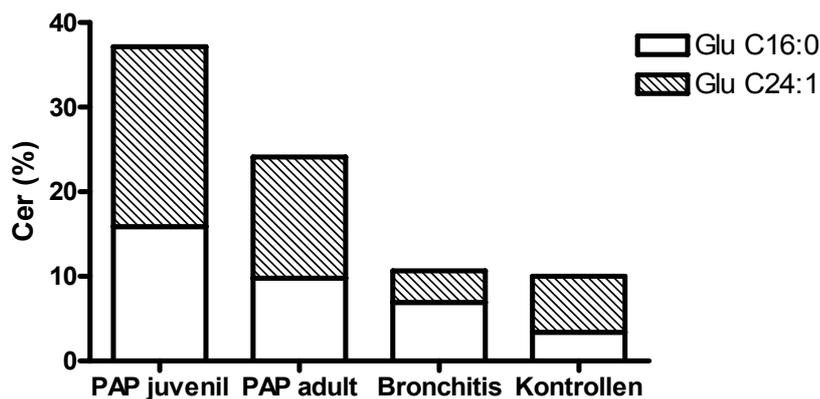
In den Proben aller Gruppen bildeten die gesättigten Spezies den größeren Anteil mit ca. 78 % bei den PAP Gruppen und ca. 87 % bei den Kontrollgruppen. In den Proben der juvenilen PAP Gruppe betragen die glucosylierten Ceramidspezies ca. 38 %, bei den adulten PAP Gruppen ca. 24 %, bei den beiden Kontrollgruppen ca 10 % von 100 % der Ceramid-Fraktion.

### Ceramid Spezies > 0,5 %



**Abb. III.C.1.4.7:** Cer-Fraktion in den ausgewiesenen Proben der BALF der verschiedenen Patientengruppen. Es wurden nur die Spezies der Cer-Fraktion dargestellt, die im Mittelwert > 0,5% der Gesamtfraktion ausmachen.

### Glucosyl-Ceramid Spezies > 0,5 %



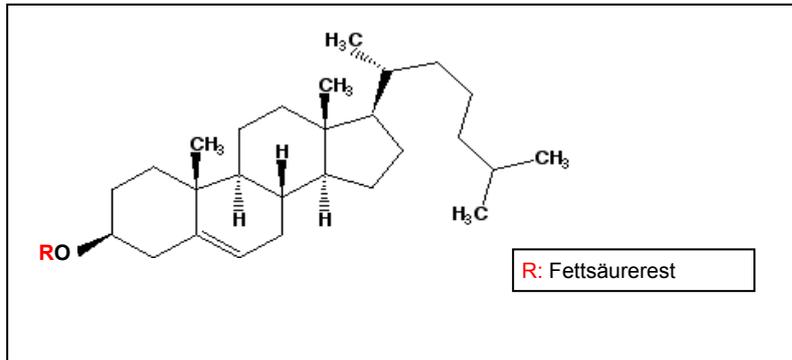
**Abb. III.C.1.4.8:** Cer-Fraktion in den ausgewiesenen Proben der BALF der verschiedenen Patientengruppen. Es wurden nur die Spezies der Cer-Fraktion dargestellt, die im Mittelwert > 0,5% der Gesamtfraktion ausmachen.

In den Proben aller Gruppen bildet die Spezies Cer 16:0 den größten Einzelanteil der Gesamtfraktion der Ceramide mit zwischen 30 und 35 % in den PAP Gruppen und ca. 60 % in den Kontrollgruppen. Die Spezies Cer 24:1 bildete in den Proben der PAP Gruppen ca. 20 % und ca. 10 % in den Proben der Kontrollgruppen. Die Spezies Cer 18:0 bildet bei den Kontrollgruppen einen signifikant größeren Prozentanteil der Ceramidgesamtfraktion.

In den Proben der juvenilen PAP Patienten ist der größte Anteil an glucosylierten Ceramidspezies enthalten, der sich aus ca. 20 % Glu C16:0 und ca. 18 % Glu C24:1 zusammensetzt. Die Proben der adulten PAP Patienten enthalten ca. 25 %, die

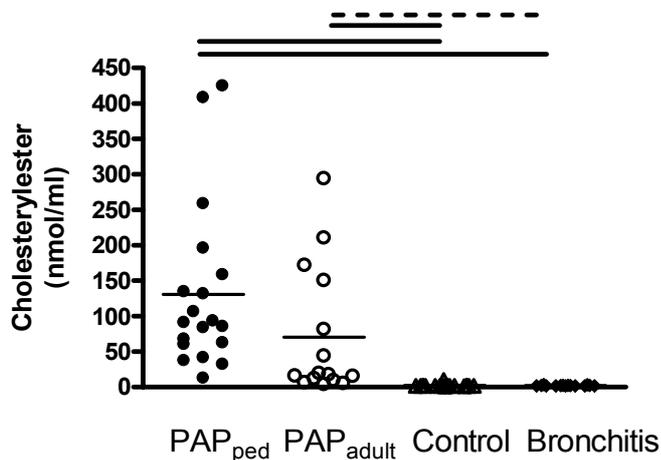
Proben der beiden Kontrollgruppen ca. 10 % glucosylierte Ceramisspezies des Gesamtanteils Ceramid.

### III.C.1.5 Cholesterol (Chol)



Die Cholesterol Spezies setzt sich aus Cholesterolestern, bei denen an der freien OH-Gruppe des Cholesterols ein Fettsäurerest gebunden ist (CE) und freiem Cholesterol (FC) zusammen.

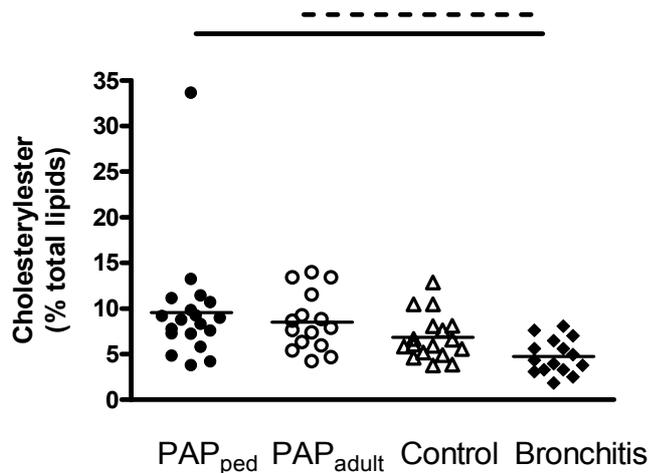
### Cholesterol (nmol/ml)



**Abb. III.C.1.5.1:** Anteil der Cholesterolester-Fraktion in nmol/ ml in den BALF Proben der Gruppen PAP juvenil, PAP adult, Kontrollen und Bronchitis. Es ist jeweils der Mittelwert angegeben. Kruskal-Wallis Test:  $p < 0,0001$ , Dunn's post hoc: durchgehende Balken  $p < 0.001$ , gestrichelte Balken  $p < 0,01$ , gepunkteter Balken  $p < 0.05$ . Einzelwerte siehe Anhang.

Die Proben der juvenilen und adulten PAP Patienten zeigten signifikant höhere Cholesterolesterkonzentrationen als die Proben der Kontrollgruppen.

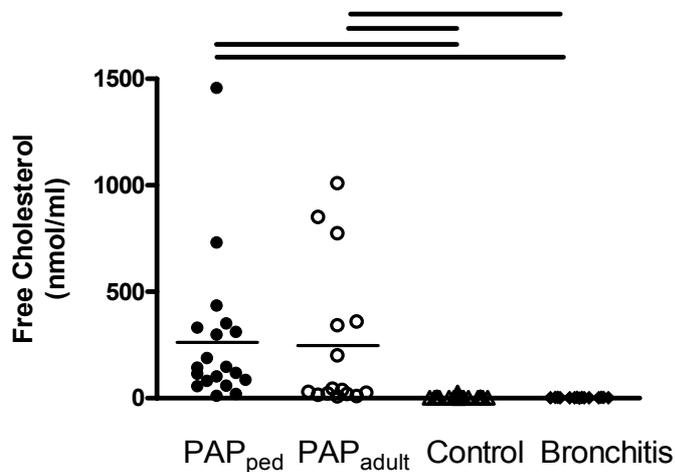
### Cholesterolester (% PL)



**Abb. III.C.1.5.2:** Prozentualer Anteil der Cholesterolesterfraktion an der Lipid-Gesamtfraction in den Gruppen PAP juvenil, PAP adult, Kontrollen und Bronchitis. Es ist jeweils der Mittelwert angegeben. Kruskal-Wallis Test:  $p < 0,0001$ , Dunn`s post hoc: durchgehende Balken  $p < 0.001$ , gestrichelte Balken  $p < 0,01$ , gepunkteter Balken  $p < 0.05$ . Einzelwerte siehe Anhang.

Der prozentuale Anteil an CE in den Proben der Bronchitispatienten war im Vergleich zu den beiden PAP Patientengruppe signifikant erniedrigt.

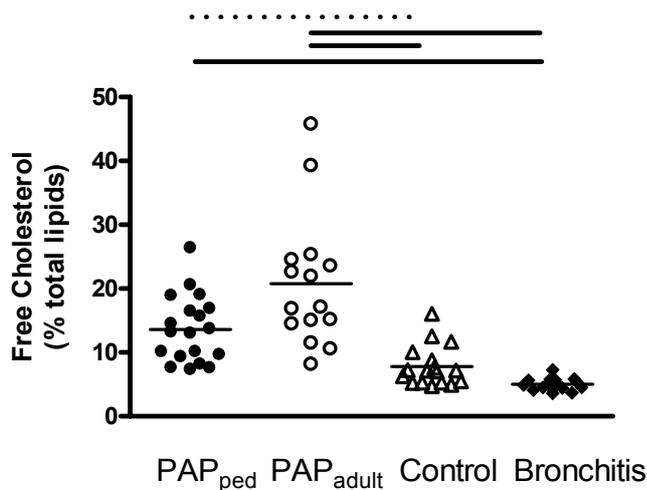
### Freies Cholesterolester (nmol/ml)



**Abb. III.C.1.5.3:** Prozentualer Anteil der freien Cholesterolester-Fraktion an der Lipid-Gesamtfraction in den Gruppen PAP juvenil, PAP adult, Kontrollen und Bronchitis. Es ist jeweils der Mittelwert angegeben. Kruskal-Wallis Test:  $p < 0,0001$ , Dunn`s post hoc: durchgehende Balken  $p < 0.001$ , gestrichelte Balken  $p < 0,01$ , gepunkteter Balken  $p < 0.05$ . Einzelwerte siehe Anhang.

Die Proben der juvenilen und adulten PAP Patienten zeigten signifikant höhere Konzentrationen an freiem Cholesterolester als die Proben der Kontrollgruppen.

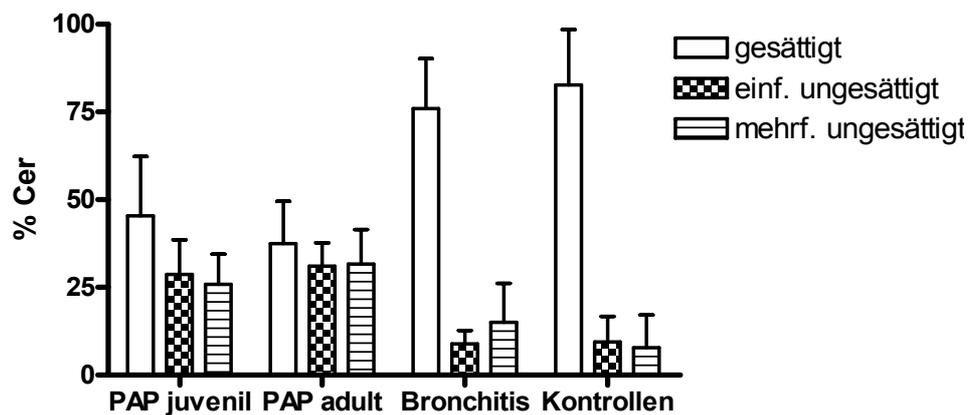
### Freies Cholesterol (% PL)



**Abb. III.C.1.5.4:** Anteil der freien Cholesterolfraction in nmol/ ml in den BALF Proben der Gruppen PAP juvenil, PAP adult, Kontrollen und Bronchitis. Es ist jeweils der Mittelwert angegeben. Kruskal-Wallis Test:  $p < 0,0001$ , Dunn's post hoc: durchgehende Balken  $p < 0.001$ , gestrichelte Balken  $p < 0,01$ , gepunkteter Balken  $p < 0.05$ . Einzelwerte siehe Anhang.

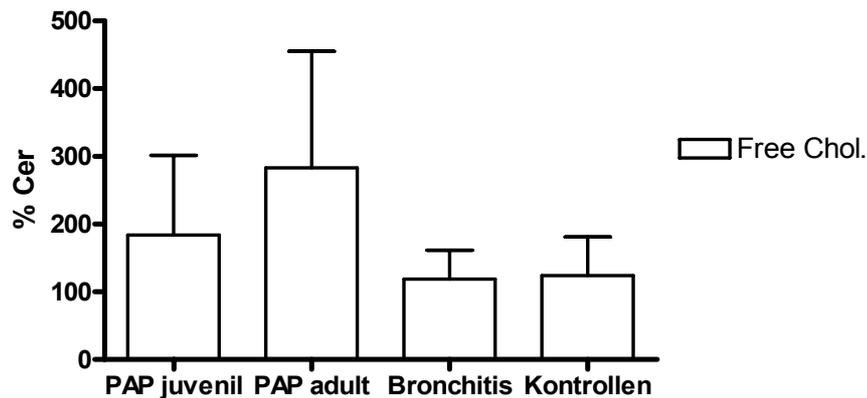
Der Anteil des freien Cholesterols an der Lipidfraktion war in den Proben der PAP Patienten im Vergleich zu den Kontrollpatienten signifikant erhöht.

### Cholesterol ges./ unges.



**Abb. III.C.1.5.5:** CE-Fraktion unterteilt nach gesättigten, einfach und mehrfach ungesättigten Spezies in den ausgewiesenen Proben der diagnostischen bzw. therapeutischen BALF der verschiedenen Patientengruppen. Es wird jeweils der Mittelwert mit relativen Standardabweichung in % angegeben.

### Freies Cholesterol ges./ unges.



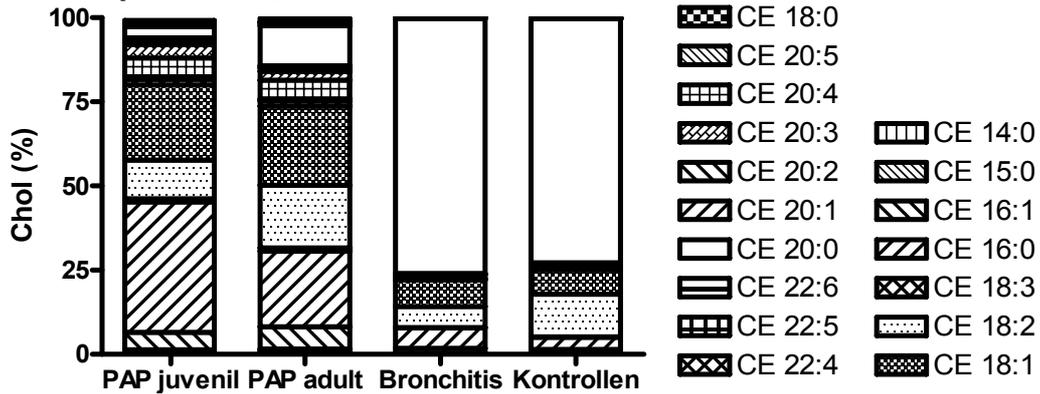
**Abb. III.C.1.5.6:** FC-Spezies als % der Chol- Fraktion in den ausgewiesenen Proben der diagnostischen bzw. therapeutischen BALF der verschiedenen Patientengruppen. Es wird jeweils der Mittelwert mit relativen Standardabweichung in % angegeben.

		gesättigt	einf unges	mehrf unges	unges	gesamt	FC
PAP juv.	Mittelwert (MW)	45,37	28,68	25,89	54,63	100,00	184,10
	Unteres 95% CI (MW)	37,21	23,93	21,77	46,48	100,00	127,60
	Oberes 95% CI (MW)	53,52	33,44	30,02	62,79	100,00	240,60
PAP ad.	Mittelwert (MW)	37,47	31,00	31,60	62,53	100,00	283,00
	Unteres 95% CI (MW)	30,77	27,27	26,16	55,84	100,00	187,60
	Oberes 95% CI (MW)	44,16	34,73	37,04	69,23	100,00	378,40
Bronchitis	Mittelwert (MW)	75,93	8,87	15,00	24,07	100,00	118,90
	Unteres 95% CI (MW)	68,04	6,75	8,82	16,17	100,00	95,19
	Oberes 95% CI (MW)	83,83	10,98	21,18	31,96	100,00	142,50
Kontrollen	Mittelwert (MW)	82,71	9,47	7,77	17,29	100,00	123,80
	Unteres 95% CI (MW)	74,60	5,76	2,93	9,19	100,00	94,30
	Oberes 95% CI (MW)	90,81	13,18	12,60	25,40	100,00	153,20

In den Proben der beiden PAP Gruppen sind die gesättigten, einfach- und mehrfach ungesättigten Spezies relativ gleichmäßig verteilt mit zwischen 25 % und 40 %. In den Proben der beiden Kontrollgruppen bilden die gesättigten Spezies deutlich den größten Anteil mit ca. 75 %.

In den Proben der juvenilen PAP Patienten betrug der Anteil des freien Cholesterols ca. 450 %, in den Proben der adulten PAP Patienten ca. 283 % und in den Proben der beiden Kontrollgruppen ca. 120 % der Gesamtfraktion der Cholesterolspezies.

**Cholesterol Spezies > 0,5 %**



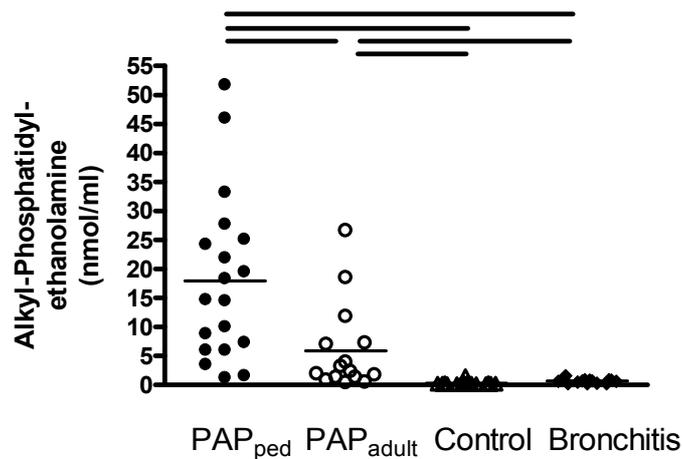
**Abb. III.C.1.5.7:** CE-Fraktion in den ausgewiesenen Proben der BALF der verschiedenen Patientengruppen. Es wurden nur die Spezies der CE-Fraktion dargestellt, die im Mittelwert > 0,5% der Gesamtfraktion ausmachen.

In den Proben der PAP Patienten bildeten die Spezies CE 18:2, CE 18:1 und CE 16:0 mit jeweils ca. 25 % die größten Anteile der Gesamtfraktion der Cholesterolester. In den Kontrollgruppen bildet die Fraktion CE 20:0 mit ca. 75 % den größten Anteil.

**III.C.1.6 Alkyl-Phosphatidylethanolamin (Alkyl PE)**

Bei der Fraktion der Alkyl-Phosphatidylethanolamine handelt es sich um PE Spezies, die nicht mit 2 Fettsäuren verestert, sondern mit 2 Alkylresten verethert sind.

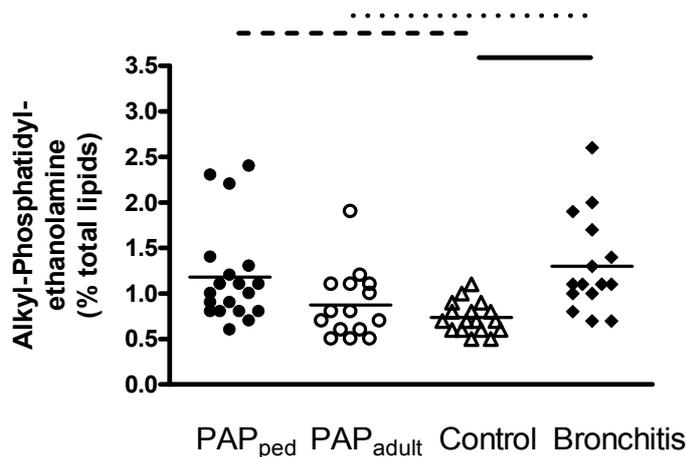
**Alkyl-Phosphatidylethanolamin (nmol/ ml)**



**Abb. III.C.1.6.1:** Prozentualer Anteil der Alkylphosphatidylethanolamin-Fraktion an der PL-Fraktion in den Gruppen PAP juvenil, PAP adult, Kontrollen und Bronchitis. Es ist jeweils der Mittelwert angegeben. Kruskal-Wallis Test: durchgehende Balken p < 0.001, gestrichelte Balken p < 0,01, gepunkteter Balken p < 0.05. Einzelwerte siehe Anhang.

Die Proben der juvenilen PAP Patienten zeigten signifikant erhöhte Alkyl-PE Konzentrationen im Vergleich zu den Proben der beiden Kontrollgruppen und der adulten PAP Gruppe. Die Alkyl-PE Konzentrationen in den Proben der adulten PAP Patienten waren im Vergleich zu der Kontrollgruppen signifikant erhöht.

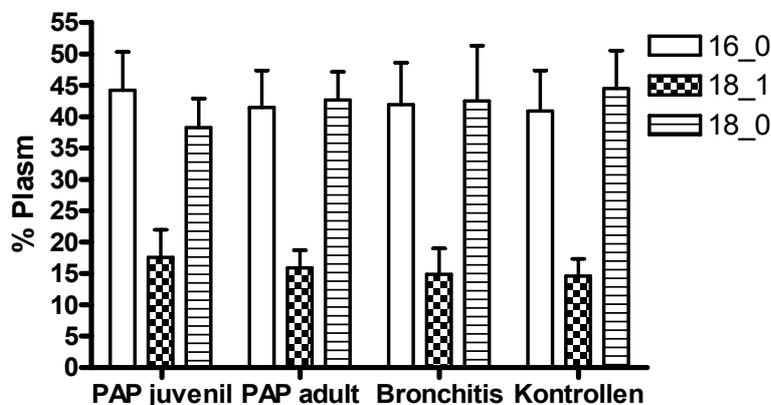
### Alkyl-Phosphatidylethanolamin (% PL)



**Abb. III.C.1.6.2:** Prozentualer Anteil der Alkylphosphatidylethanolaminfraktion an der PL-Fraktion in den Gruppen PAP juvenil, PAP adult, Kontrollen und Bronchitis. Es ist jeweils der Mittelwert angegeben. Kruskal-Wallis Test:  $p < 0,0001$ , Dunn's post hoc: durchgehende Balken  $p < 0,001$ , gestrichelte Balken  $p < 0,01$ , gepunkteter Balken  $p < 0,05$ . Einzelwerte siehe Anhang.

Die Bronchitisproben zeigten die prozentual höchsten Alkyl-Phosphatidylethanolamin Anteil und unterschieden sich signifikant von den Proben der gesunden Kontrollgruppe und den adulten PAP Patienten.

### Alkyl-Phosphatidylethanolamin 16\_0/ 18\_1/18\_0

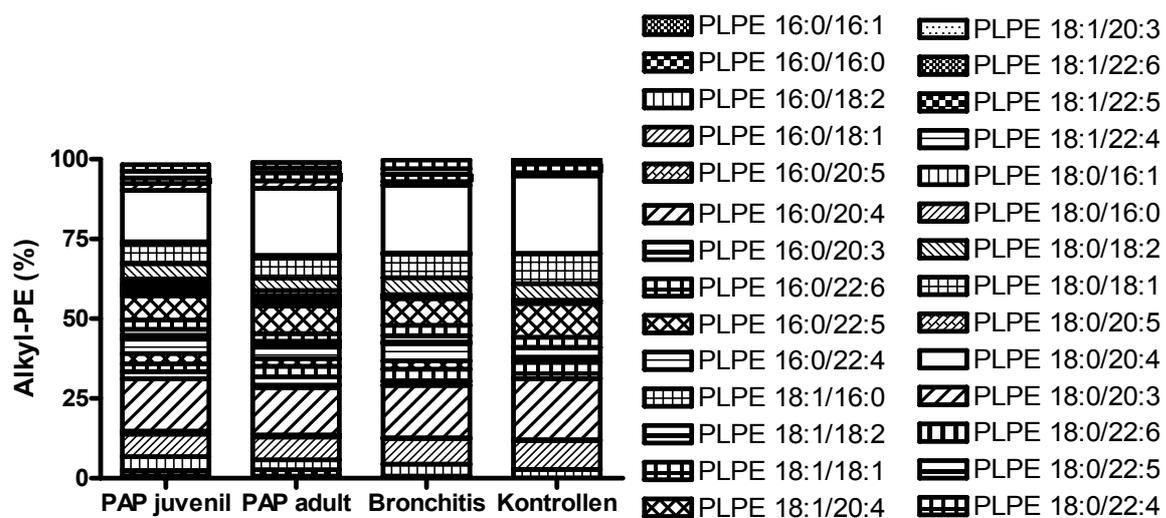


**Abb. III.C.1.6.3:** Alkyl PE-Spezies als % der Alkyl PE-Fraktion in den ausgewiesenen Proben der diagnostischen bzw. therapeutischen BALF der verschiedenen Patientengruppen. Es wird jeweils der Mittelwert mit relativen Standardabweichung in % angegeben.

		16_0	18_1	18_0	gesamt
PAP juv.	Mittelwert (MW)	44,18	17,56	38,26	100,00
	Unteres 95% CI (MW)	41,23	15,43	36,05	100,00
	Oberes 95% CI (MW)	47,14	19,68	40,48	100,00
PAP ad.	Mittelwert (MW)	41,46	15,89	42,66	100,00
	Unteres 95% CI (MW)	38,18	14,30	40,17	100,00
	Oberes 95% CI (MW)	44,74	17,47	45,14	100,00
Bronchitis	Mittelwert (MW)	42,33	15,17	42,50	100,00
	Unteres 95% CI (MW)	38,61	12,92	37,61	100,00
	Oberes 95% CI (MW)	46,05	17,43	47,38	100,00
Kontrollen	Mittelwert (MW)	40,91	14,59	44,50	100,00
	Unteres 95% CI (MW)	37,58	13,18	41,40	100,00
	Oberes 95% CI (MW)	44,23	16,01	47,60	100,00

Es sind keine signifikanten Unterschiede zwischen den Patientengruppen und den Kontrollgruppen in der Verteilung der Alkylspezies auf die verschiedenen Fraktionen zu erkennen.

**Alkyl-Phosphatidylethanolamin Spezies > 0,5 %**



**Abb. III.C.1.6.4:** Alkyl PE-Fraktion in den ausgewiesenen Proben der BALF der verschiedenen Patientengruppen. Es wurden nur die Spezies der Alkyl PE-Fraktion dargestellt, die im Mittelwert > 0,5 % der Gesamtfraktion ausmachen.

Die Proben der juvenilen PAP Patienten enthielten deutlich den höchsten Anteil an Alkyl-PE. Die Fraktionen PLPE 16:0/20:4 und PLPE 18:0/20:4 bildeten jeweils ca. 3 % der Spezies.

### III.C.2 Validierung der PL Bestimmung

Um den Einfluss hoher Phospholipidkonzentrationen in den Proben auf die Messergebnisse auszuschließen, wurde aus den BALF Proben von zwei zufällig ausgewählten Patienten jeweils eine Verdünnungsreihe mit 6 Verdünnungen (unverdünnt, 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5) hergestellt und vermessen.

Für jede Verdünnung wurden die %-Werte der Glycerol-Phospholipidfraktionen PC, PE und PS und SPM, LPC, Chol und Cer bestimmt. Der Beweis der Linearität der Verdünnung im gewählten Messbereich und die Unabhängigkeit der Ergebnisse von den Phospholipidkonzentrationen sollte durch die relativen Standardabweichungen der Prozentanteile der einzelnen Fraktionen und Spezies (gesättigt, einfach ungesättigt, mehrfach ungesättigt und falls vorhanden, Alkyl und Dihydro) erwiesen werden. Zudem wurden die absolut gemessenen Werte (in nmol/ml) in Abhängigkeit von der Verdünnung dargestellt und die Signifikanz der Regressionsgeraden über den p-Wert bestimmt.

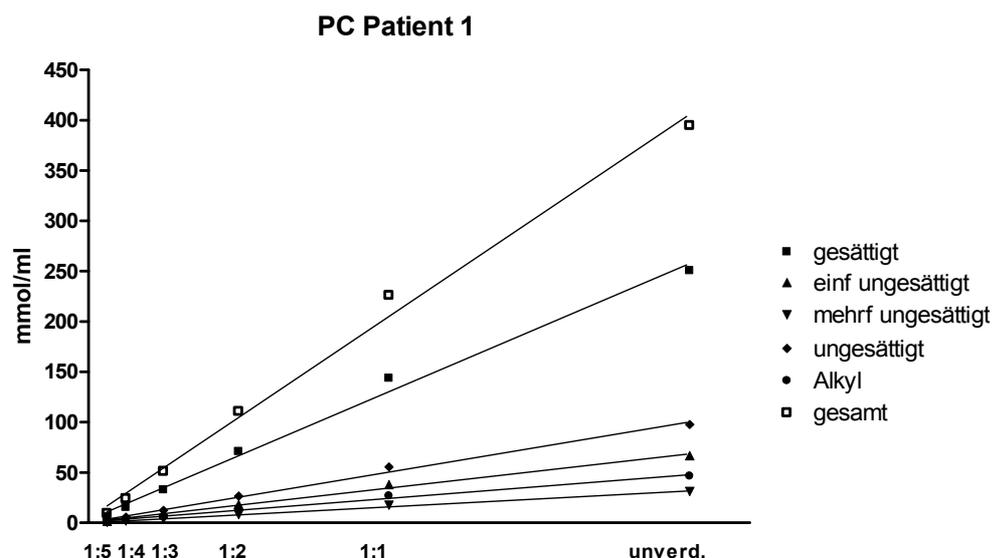
### III.C.2.1 Phosphatidylcholin

In der folgenden Tabelle werden die Ergebnisse der statistischen Auswertung der PC Messungen in % der BALF Proben von Patient 1 und 2 dargestellt.

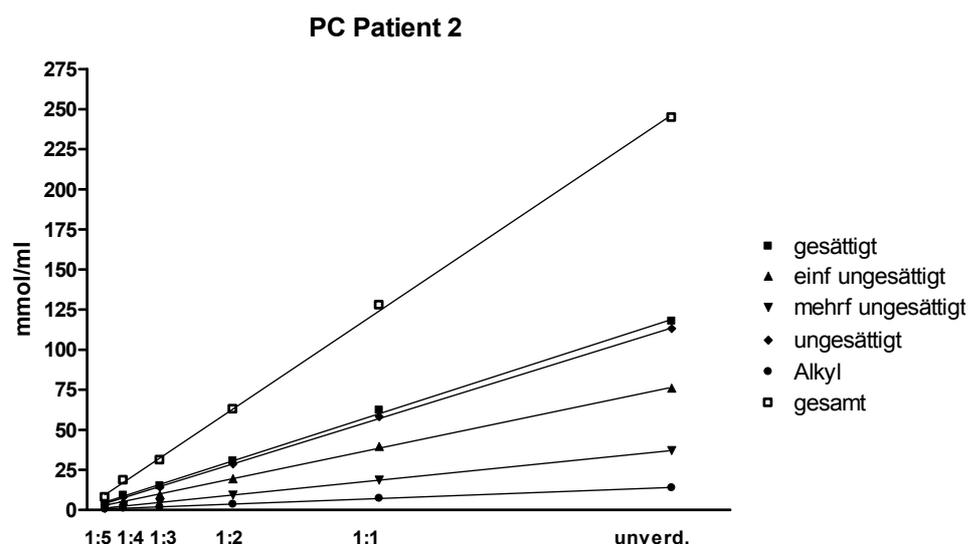
Tabelle III.C.2.1.1: Statistik PC in %

		gesättigt	einf unges	mehrf unges	unges	Alkyl	gesamt
<b>Patient 1</b>	<b>Anzahl der Messwerte</b>	6	6	6	6	6	6
	<b>Minimum</b>	63,45	15,60	7,03	22,71	11,63	100,00
	<b>25% Perzentil</b>	63,50	15,91	7,07	22,98	11,71	100,00
	<b>Median</b>	64,05	16,61	7,44	24,11	11,96	100,00
	<b>75% Perzentil</b>	64,66	16,91	7,83	24,68	12,36	100,00
	<b>Maximum</b>	64,83	16,91	7,87	24,77	12,45	100,00
	<b>Mittelwert (MW)</b>	64,07	16,47	7,45	23,92	12,01	100,00
	<b>Standardabweichung</b>	0,53	0,51	0,34	0,81	0,31	0,00
	<b>Standardfehler</b>	0,22	0,21	0,14	0,33	0,13	0,00
	<b>Unteres 95% Konfidenzintervall des MW</b>	63,51	15,94	7,09	23,07	11,68	100,00
	<b>Oberes 95% Konfidenzintervall des MW</b>	64,63	17,01	7,81	24,77	12,33	100,00
	<b>Variationskoeffizient</b>	0.83%	3.11%	4.60%	3.37%	2.59%	0.00%
<b>Patient 2</b>	<b>Anzahl der Messwerte</b>	6	6	6	6	6	6
	<b>Minimum</b>	48,13	29,83	13,96	44,28	5,53	100,00
	<b>25% Perzentil</b>	48,32	30,30	14,21	44,50	5,60	100,00
	<b>Median</b>	48,72	30,94	14,64	45,64	5,75	100,00
	<b>75% Perzentil</b>	49,63	31,05	15,00	45,97	5,87	100,00
	<b>Maximum</b>	49,80	31,06	15,15	46,20	5,92	100,00
	<b>Mittelwert (MW)</b>	48,89	30,76	14,61	45,37	5,74	100,00
	<b>Standardabweichung</b>	0,62	0,47	0,40	0,72	0,14	0,00
	<b>Standardfehler</b>	0,25	0,19	0,16	0,29	0,06	0,00
	<b>Unteres 95% Konfidenzintervall des MW</b>	48,23	30,27	14,19	44,61	5,59	100,00
	<b>Oberes 95% Konfidenzintervall des MW</b>	49,54	31,25	15,03	46,13	5,88	100,00
	<b>Variationskoeffizient</b>	1.27%	1.52%	2.75%	1.59%	2.40%	0.00%

In den folgenden Graphen werden die Messergebnisse der Verdünnungsreihe der PC Spezies in nmol/ml von Patient 1 und 2 dargestellt. Die BALF Proben wurden jeweils unverdünnt und in den Verdünnungsstufen 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 und 1:5 vermessen.



**Abb. III.C.2.1.1:** Darstellung der PC Spezies unterteilt in gesättigten,-einfach ungesättigten,-mehrfach ungesättigten,-ungesättigten,-Alkyl und gesamt Anteil des Patienten 1. Die Probe wurden jeweils unverdünnt und 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 und 1:5 verdünnt vermessen. Durch die Regressionsgerade soll die Linearität der Verdünnungsreihe dargestellt werden.



**Abb. III. C.2.1.2:** Darstellung der PC Spezies unterteilt in gesättigten,-einfach ungesättigten,-mehrfach ungesättigten,-ungesättigten,-Alkyl und gesamt Anteil des Patienten 2. Die Probe wurden jeweils unverdünnt und 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 und 1:5 verdünnt vermessen. Durch die Regressionsgerade soll die Linearität der Verdünnungsreihe dargestellt werden.

		gesättigt	einf ungesättigt	mehrf ungesättigt	ungesättigt	Alkyl	gesamt
Patient 1	r <sup>2</sup>	0,9936	0,9944	0,9947	0,9945	0,993	0,9938
	P value	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001
Patient 2	r <sup>2</sup>	0,9992	0,9995	0,9999	0,9997	0,9992	0,9995
	P value	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001

Bei Patient 1 und 2 konnte durch ein Verdünnungsreihe die Linearität der Messung bestätigt werden. Es zeigte sich eine signifikante Korrelation, die sich durch den Parameter  $r^2 > 0,99$  bei beiden Patienten ausdrückt.

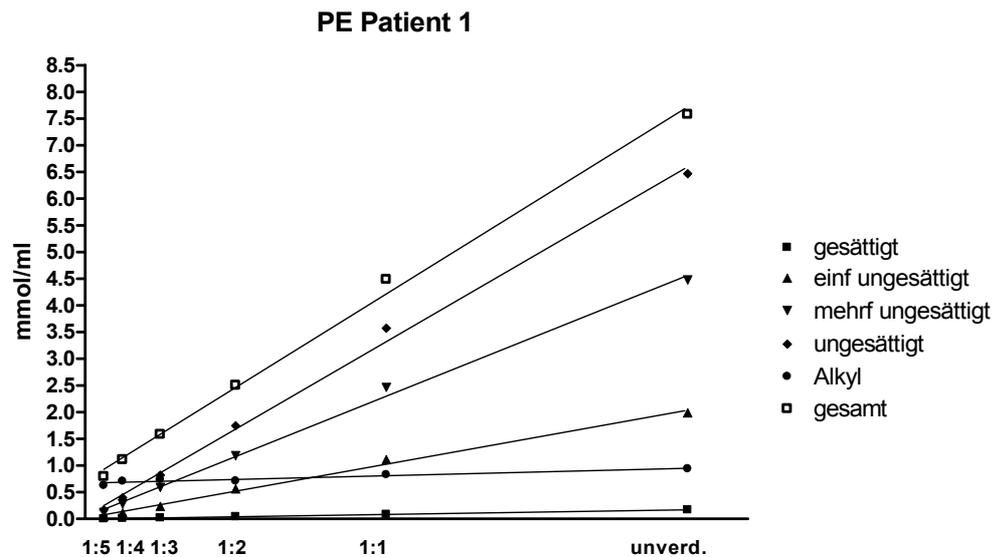
### III.C.2.2 Phosphatidylethanolamin

In der folgenden Tabelle werden die Ergebnisse der statistischen Auswertung der PE Messungen in % der BALF Proben von Patient 1 und 2 dargestellt.

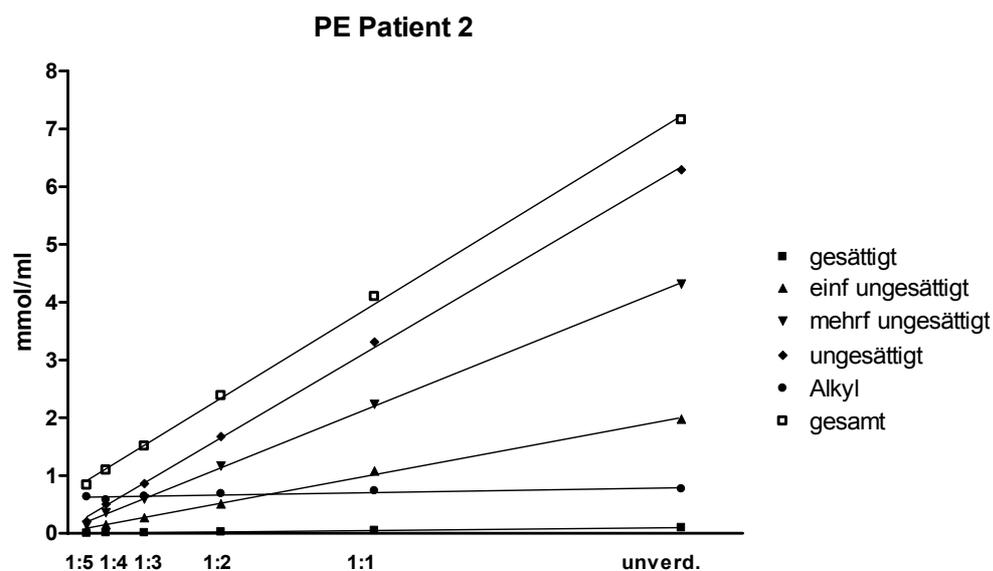
Tabelle III.C.2.2.1: Statistik PE in %

		gesättigt	einf unges	mehrf unges	unges	Alkyl	gesamt
<b>Patient 1</b>	<b>Anzahl der Messwerte</b>	6	6	6	6	6	
	<b>Minimum</b>	0,00	6,29	14,98	21,28	12,40	100,00
	<b>25% Perzentil</b>	0,48	8,09	20,29	28,38	15,47	100,00
	<b>Median</b>	1,50	18,63	42,26	60,89	37,62	100,00
	<b>75% Perzentil</b>	2,09	25,47	56,98	82,45	71,13	100,00
	<b>Maximum</b>	2,24	26,24	59,12	85,36	78,72	100,00
	<b>Mittelwert (MW)</b>	1,36	17,40	39,84	57,24	41,40	100,00
	<b>Standardabweichung</b>	0,81	8,29	17,20	25,45	26,24	0,00
	<b>Standardfehler</b>	0,33	3,39	7,02	10,39	10,71	0,00
	<b>Unteres 95% Konfidenzintervall des MW</b>	0,51	8,70	21,79	30,53	13,87	100,00
	<b>Oberes 95% Konfidenzintervall des MW</b>	2,20	26,10	57,90	83,95	68,94	100,00
	<b>Variationskoeffizient</b>	59.53%	47.66%	43.18%	44.46%	63.37%	0.00%
<b>Patient 2</b>	<b>Anzahl der Messwerte</b>	6	6	6	6	6	
	<b>Minimum</b>	0,00	7,96	16,34	24,30	10,76	100,00
	<b>25% Perzentil</b>	0,33	10,67	24,50	35,17	14,37	100,00
	<b>Median</b>	1,01	19,58	44,02	63,60	35,62	100,00
	<b>75% Perzentil</b>	1,27	26,95	57,41	84,36	64,27	100,00
	<b>Maximum</b>	1,33	27,60	60,31	87,91	75,70	100,00
	<b>Mittelwert (MW)</b>	0,87	19,07	41,98	61,04	38,09	100,00
	<b>Standardabweichung</b>	0,49	7,59	16,08	23,62	24,03	0,00
	<b>Standardfehler</b>	0,20	3,10	6,56	9,64	9,81	0,00
	<b>Unteres 95% Konfidenzintervall des MW</b>	0,36	11,10	25,10	36,26	12,87	100,00
	<b>Oberes 95% Konfidenzintervall des MW</b>	1,38	27,03	58,85	85,83	63,31	100,00
	<b>Variationskoeffizient</b>	56.04%	39.80%	38.30%	38.69%	63.10%	0.00%

In den folgenden Graphen werden die Messergebnisse der Verdünnungsreihe der PE Spezies in nmol/ml von Patient 1 und 2 dargestellt. Die BALF Proben wurden jeweils unverdünnt und in den Verdünnungsstufen 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 und 1:5 vermessen.



**Abb. III.C.2.2.1:** Darstellung der PE Spezies unterteilt in gesättigten,-einfach ungesättigten,-mehrfach ungesättigten,-ungesättigten,-Alkyl und gesamt Anteil des Patienten 1. Die Probe wurden jeweils unverdünnt und 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 und 1:5 verdünnt vermessen. Durch die Regressionsgerade soll die Linearität der Verdünnungsreihe dargestellt werden.



**Abb. III.C.2.2.2:** Darstellung der PE Spezies unterteilt in gesättigten,-einfach ungesättigten,-mehrfach ungesättigten,-ungesättigten,-Alkyl und gesamt Anteil des Patienten 2. Die Probe wurden jeweils unverdünnt und 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 und 1:5 verdünnt vermessen. Durch die Regressionsgerade soll die Linearität der Verdünnungsreihe dargestellt werden.

		gesättigt	einf ungesättigt	mehrf ungesättigt	ungesättigt	Alkyl	gesamt
<b>Patient 1</b>	$r^2$	0,9988	0,9951	0,9973	0,9968	0,9094	0,9966
	P value	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	0,0032	< 0,0001
<b>Patient 2</b>	$r^2$	0,9909	0,998	0,9994	0,9993	0,8096	0,999
	P value	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	0,0146	< 0,0001

Bei Patient 1 und 2 konnte durch ein Verdünnungsreihe die Linearität der Messung bestätigt werden. Es zeigte sich eine signifikante Korrelation, die sich durch den Parameter  $r^2 > 0,99$  bei beiden Patienten ausdrückt.

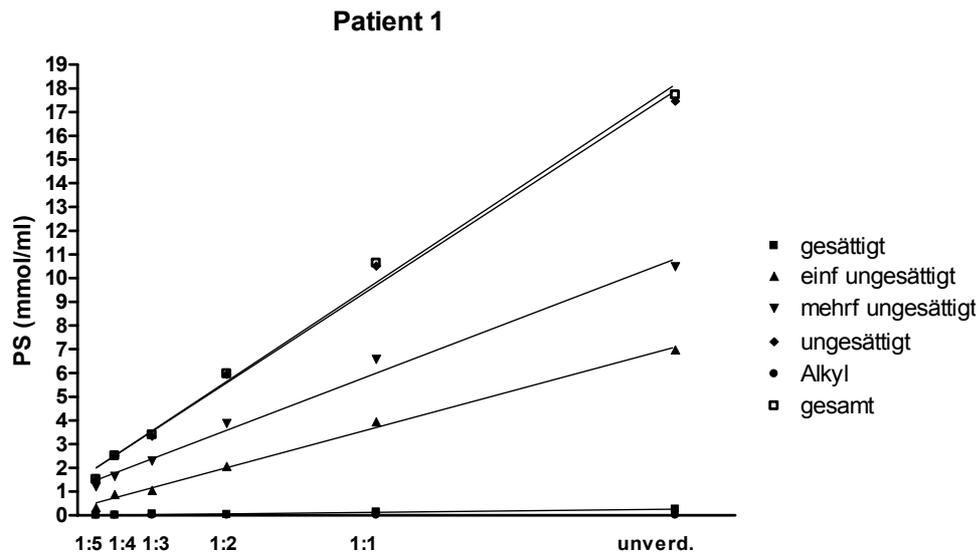
### III.C.2.3 Phosphatidylserin

In der folgenden Tabelle werden die Ergebnisse der statistischen Auswertung der PS Messungen in % der BALF Proben von Patient 1 und 2 dargestellt.

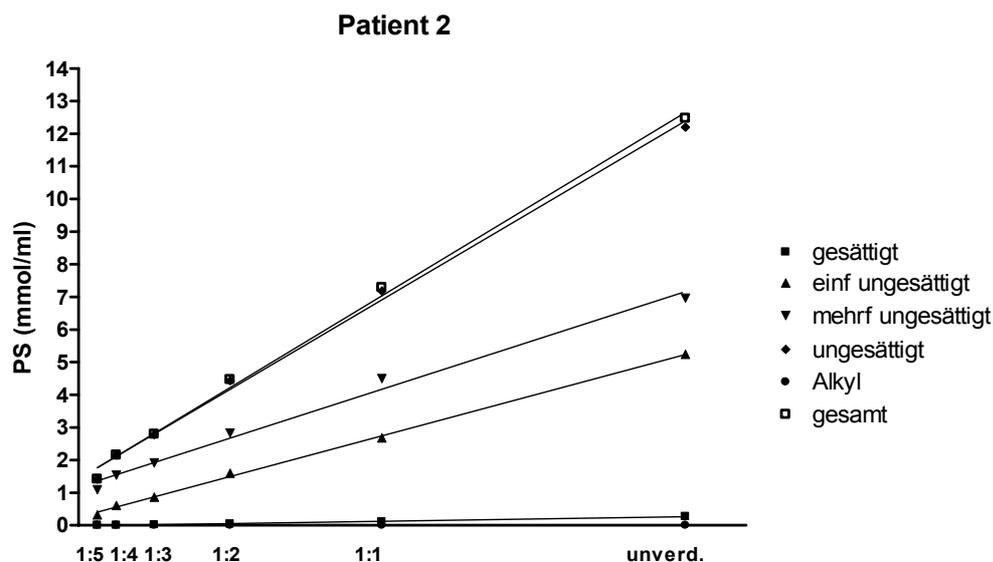
Tabelle III.C.2.3.1: Statistik PS in %

		gesättigt	einf unges	mehrf unges	unges	Alkyl	gesamt
Patient 1	Anzahl der Messwerte	6	6	6	6	6	6
	Minimum	0,00	20,85	59,13	98,29	0,00	100,00
	25% Perzentil	0,00	25,89	60,44	98,40	0,00	100,00
	Median	0,88	34,70	65,05	99,12	0,00	100,00
	75% Perzentil	1,60	38,20	73,26	100,00	0,00	100,00
	Maximum	1,71	39,38	79,15	100,00	0,00	100,00
	Mittelwert (MW)	0,83	32,93	66,25	99,17	0,00	100,00
	Standardabweichung	0,76	6,55	6,95	0,76	0,00	0,00
	Standardfehler	0,31	2,67	2,84	0,31	0,00	0,00
	Unteres 95% Konfidenzintervall des MW	0,03	26,06	58,95	98,38	0,00	100,00
	Oberes 95% Konfidenzintervall des MW	1,62	39,80	73,54	99,97	0,00	100,00
	Variationskoeffizient	91.59%	19.89%	10.49%	0.76%		0.00%
Patient 2	Anzahl der Messwerte	6	6	6	6	6	6
	Minimum	0,00	22,80	55,82	97,82	0,00	100,00
	25% Perzentil	0,00	25,55	58,76	98,17	0,00	100,00
	Median	0,72	33,34	65,94	99,28	0,00	100,00
	75% Perzentil	1,83	39,41	74,46	100,00	0,00	100,00
	Maximum	2,18	42,00	77,20	100,00	0,00	100,00
	Mittelwert (MW)	0,85	32,77	66,39	99,15	0,00	100,00
	Standardabweichung	0,86	6,84	7,66	0,86	0,00	0,00
	Standardfehler	0,35	2,79	3,13	0,35	0,00	0,00
	Unteres 95% Konfidenzintervall des MW	-0,05	25,58	58,35	98,25	0,00	100,00
	Oberes 95% Konfidenzintervall des MW	1,75	39,95	74,42	100,00	0,00	100,00
	Variationskoeffizient	100.84%	20.89%	11.53%	0.86%		0.00%

In den folgenden Graphen werden die Messergebnisse der Verdünnungsreihe der PS Spezies in nmol/ml von Patient 1 und 2 dargestellt. Die BALF Proben wurden jeweils unverdünnt und in den Verdünnungsstufen 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 und 1:5 vermessen.



**Abb. III. C.2.3.1:** Darstellung der PS Spezies unterteilt in gesättigten,-einfach ungesättigten,-mehrfach ungesättigten,-ungesättigten,-Alkyl und gesamt Anteil des Patienten 1. Die Probe wurden jeweils unverdünnt und 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 und 1:5 verdünnt vermessen. Durch die Regressionsgerade soll die Linearität der Verdünnungsreihe dargestellt werden.



**Abb. III. C.2.3.2:** Darstellung der PS Spezies unterteilt in gesättigten,-einfach ungesättigten,-mehrfach ungesättigten,-ungesättigten,-Alkyl und gesamt Anteil des Patienten 2. Die Probe wurden jeweils unverdünnt und 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 und 1:5 verdünnt vermessen. Durch die Regressionsgerade soll die Linearität der Verdünnungsreihe dargestellt werden.

		gesättigt	einf ungesättigt	mehrf ungesättigt	ungesättigt	Alkyl	gesamt
<b>Patient 1</b>	$r^2$	0,9617	0,9954	0,9902	0,9933		0,9936
	P value	0,0006	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001		< 0.0001
<b>Patient 2</b>	$r^2$	0,9897	0,9986	0,9902	0,9964		0,9968
	P value	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001		< 0.0001

Bei Patient 1 und 2 konnte durch ein Verdünnungsreihe die Linearität der Messung bestätigt werden. Es zeigte sich eine signifikante Korrelation, die sich durch den Parameter  $r^2 > 0,99$  bei beiden Patienten ausdrückt.

### III.C.2.4 Sphingomyelin

In der folgenden Tabelle werden die Ergebnisse der statistischen Auswertung der SPM Messungen in % der BALF Proben von Patient 1 und 2 dargestellt.

Tabelle III.C.2.4.1: Statistik SPM in %

		gesättigt	einf unges	mehrf unges	unges	gesamt	Dihydro
<b>Patient 1</b>	<b>Anzahl der Messwerte</b>	6	6	6	6	6	6
	<b>Minimum</b>	52,37	19,08	2,52	22,29	100,00	1,54
	<b>25% Perzentil</b>	52,55	19,43	2,57	22,31	100,00	3,25
	<b>Median</b>	53,47	20,02	3,35	23,27	100,00	5,68
	<b>75% Perzentil</b>	55,39	20,23	3,71	23,73	100,00	10,05
	<b>Maximum</b>	55,41	20,33	3,90	23,81	100,00	11,62
	<b>Mittelwert (MW)</b>	53,80	19,89	3,21	23,10	100,00	6,33
	<b>Standardabweichung</b>	1,36	0,44	0,54	0,68	0,00	3,43
	<b>Standardfehler</b>	0,56	0,18	0,22	0,28	0,00	1,40
	<b>Unteres 95% Konfidenzintervall des MW</b>	52,37	19,43	2,64	22,38	100,00	2,73
	<b>Oberes 95% Konfidenzintervall des MW</b>	55,23	20,35	3,78	23,81	100,00	9,92
	<b>Variationskoeffizient</b>	2.53%	2.22%	16.91%	2.95%	0.00%	54.19%
<b>Patient 2</b>	<b>Anzahl der Messwerte</b>	6	6	6	6	6	6
	<b>Minimum</b>	45,33	22,79	2,79	26,29	100,00	6,79
	<b>25% Perzentil</b>	45,80	23,09	2,82	26,33	100,00	8,01
	<b>Median</b>	46,43	23,63	3,14	26,78	100,00	9,85
	<b>75% Perzentil</b>	47,35	24,08	3,47	27,10	100,00	13,57
	<b>Maximum</b>	47,42	24,08	3,57	27,33	100,00	15,25
	<b>Mittelwert (MW)</b>	46,53	23,60	3,14	26,73	100,00	10,47
	<b>Standardabweichung</b>	0,76	0,49	0,31	0,38	0,00	2,86
	<b>Standardfehler</b>	0,31	0,20	0,13	0,15	0,00	1,17
	<b>Unteres 95% Konfidenzintervall des MW</b>	45,73	23,08	2,82	26,34	100,00	7,47
	<b>Oberes 95% Konfidenzintervall des MW</b>	47,33	24,12	3,47	27,13	100,00	13,47
	<b>Variationskoeffizient</b>	1.64%	2.09%	9.86%	1.42%	0.00%	27.29%

In den folgenden Graphen werden die Messergebnisse der Verdünnungsreihe der SPM Spezies in nmol/ml von Patient 1 und 2 dargestellt. Die BALF Proben wurden jeweils unverdünnt und in den Verdünnungsstufen 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 und 1:5 vermessen.



Bei Patient 1 und 2 konnte durch ein Verdünnungsreihe die Linearität der Messung bestätigt werden. Es zeigte sich eine signifikante Korrelation, die sich durch den Parameter  $r^2 > 0,99$  bei beiden Patienten ausdrückt.

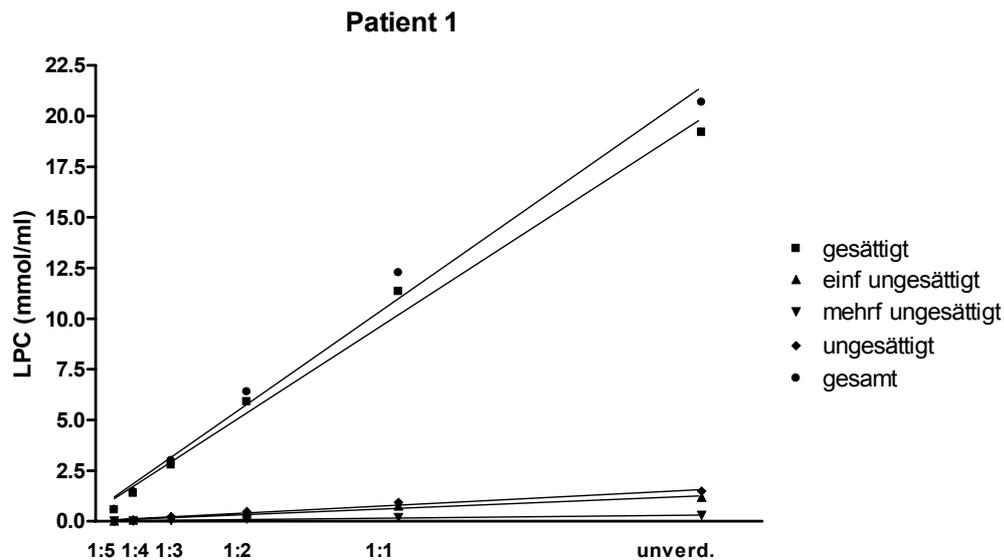
### III.C.2.5 Lysophosphatidylcholin

In der folgenden Tabelle werden die Ergebnisse der statistischen Auswertung der LPC Messungen in % der BALF Proben von Patient 1 und 2 dargestellt.

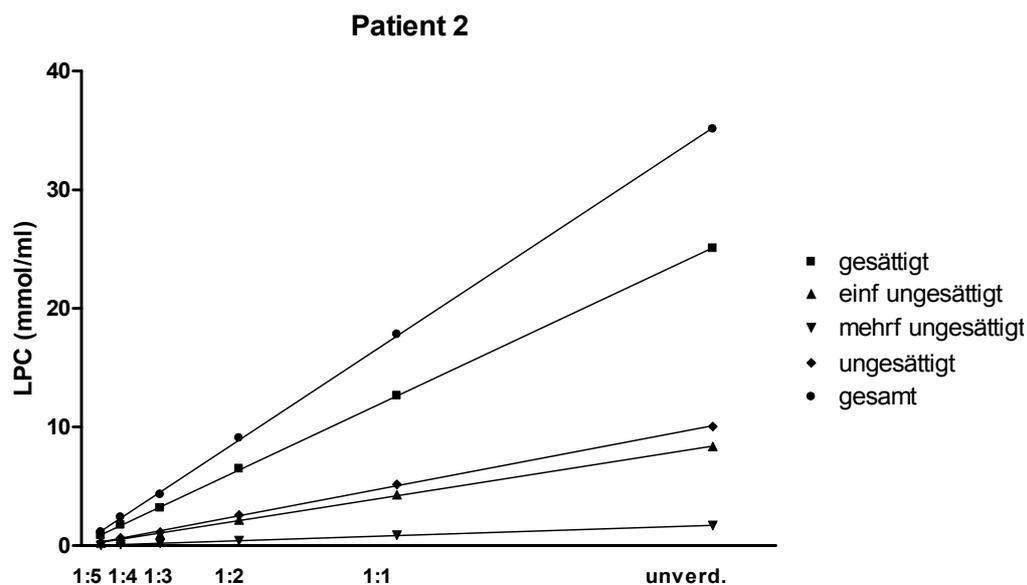
**Tabelle III.C.2.5.1:** Statistik LPC in %

		gesät	einf unges	mehrf unges	unges	gesamt
<b>Patient 1</b>	<b>Anzahl der Messwerte</b>	6	6	6	6	6
	<b>Minimum</b>	92,42	3,72	0,00	3,72	100,00
	<b>25% Perzentil</b>	92,44	4,21	0,00	4,21	100,00
	<b>Median</b>	92,72	5,76	1,34	7,29	100,00
	<b>75% Perzentil</b>	95,79	6,14	1,62	7,57	100,00
	<b>Maximum</b>	96,28	6,16	1,79	7,58	100,00
	<b>Mittelwert (MW)</b>	93,65	5,37	0,99	6,35	100,00
	<b>Standardabweichung</b>	1,70	0,96	0,78	1,70	0,00
	<b>Standardfehler</b>	0,69	0,39	0,32	0,69	0,00
	<b>Unteres 95% Konfidenzintervall des MW</b>	91,87	4,36	0,16	4,58	100,00
	<b>Oberes 95% Konfidenzintervall des MW</b>	95,43	6,38	1,81	8,13	100,00
	<b>Variationskoeffizient</b>	1.81%	17.97%	79.43%	26.67%	0.00%
<b>Patient 2</b>	<b>Anzahl der Messwerte</b>	6	6	6	6	6
	<b>Minimum</b>	70,99	21,55	2,75	24,30	100,00
	<b>25% Perzentil</b>	71,19	21,71	3,31	25,28	100,00
	<b>Median</b>	72,13	23,54	4,53	27,87	100,00
	<b>75% Perzentil</b>	74,73	23,98	4,90	28,82	100,00
	<b>Maximum</b>	75,70	24,08	4,94	29,01	100,00
	<b>Mittelwert (MW)</b>	72,68	23,07	4,24	27,32	100,00
	<b>Standardabweichung</b>	1,81	1,09	0,83	1,81	0,00
	<b>Standardfehler</b>	0,74	0,45	0,34	0,74	0,00
	<b>Unteres 95% Konfidenzintervall des MW</b>	70,79	21,93	3,38	25,42	100,00
	<b>Oberes 95% Konfidenzintervall des MW</b>	74,58	24,22	5,11	29,21	100,00
	<b>Variationskoeffizient</b>	2.49%	4.74%	19.50%	6.61%	0.00%

In den folgenden Graphen werden die Messergebnisse der Verdünnungsreihe der LPC Spezies in nmol/ml von Patient 1 und 2 dargestellt. Die BALF Proben wurden jeweils unverdünnt und in den Verdünnungsstufen 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 und 1:5 vermessen.



**Abb. III. C.2.5.1:** Darstellung der LPC Spezies unterteilt in gesättigten,-einfach ungesättigten,-mehrfach ungesättigten,-ungesättigten,-Alkyl und gesamt Anteil des Patienten 1. Die Probe wurden jeweils unverdünnt und 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 und 1:5 verdünnt vermessen. Durch die Regressionsgerade soll die Linearität der Verdünnungsreihe dargestellt werden.



**Abb. III. C.2.5.1:** Darstellung der LPC Spezies unterteilt in gesättigten,-einfach ungesättigten,-mehrfach ungesättigten,-ungesättigten,-Alkyl und gesamt Anteil des Patienten 2. Die Probe wurden jeweils unverdünnt und 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 und 1:5 verdünnt vermessen. Durch die Regressionsgerade soll die Linearität der Verdünnungsreihe dargestellt werden.

		gesättigt	einf ungesättigt	mehrf ungesättigt	ungesättigt	gesamt
<b>Patient 1</b>	$r^2$	0,9903	0,9794	0,9658	0,9789	0,9896
	P value	< 0,0001	0,0002	0,0004	0,0002	< 0,0001
<b>Patient 2</b>	$r^2$	0,9999	0,9994	0,9994	0,9994	0,9999
	P value	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001

Bei Patient 1 und 2 konnte durch ein Verdünnungsreihe die Linearität der Messung bestätigt werden. Es zeigte sich eine signifikante Korrelation, die sich durch den Parameter  $r^2 > 0,99$  bei beiden Patienten ausdrückt.

### III.C.2.6 Cholesterol

In der folgenden Tabelle werden die Ergebnisse der statistischen Auswertung der Chol Messungen in % der BALF Proben von Patient 1 und 2 dargestellt.

Tabelle III.C.2.6.1: Statistik Chol in %

		gesättigt	einf unges	mehrf unges	unges	gesamt	FC
<b>Patient 1</b>	<b>Anzahl der Messwerte</b>	6	6	6	6	6	6
	<b>Minimum</b>	58,78	13,04	14,78	28,40	100,00	479,80
	<b>25% Perzentil</b>	59,42	16,34	15,07	31,41	100,00	496,70
	<b>Median</b>	60,58	21,23	18,01	39,42	100,00	531,10
	<b>75% Perzentil</b>	68,60	22,13	18,64	40,58	100,00	593,10
	<b>Maximum</b>	71,60	22,49	18,73	41,22	100,00	631,70
	<b>Mittelwert (MW)</b>	62,87	19,90	17,24	37,14	100,00	540,30
	<b>Standardabweichung</b>	4,87	3,49	1,73	4,87	0,00	52,01
	<b>Standardfehler</b>	1,99	1,42	0,71	1,99	0,00	21,23
	<b>Unteres 95% Konfidenzintervall des MW</b>	57,75	16,23	15,43	32,02	100,00	485,70
	<b>Oberes 95% Konfidenzintervall des MW</b>	67,98	23,56	19,05	42,25	100,00	594,90
	<b>Variationskoeffizient</b>	7.75%	17.54%	10.02%	13.12%	0.00%	9.63%
<b>Patient 2</b>	<b>Anzahl der Messwerte</b>	6	6	6	6	6	6
	<b>Minimum</b>	16,93	49,14	19,78	68,92	100,00	183,70
	<b>25% Perzentil</b>	17,56	49,78	20,29	70,07	100,00	184,10
	<b>Median</b>	21,10	54,64	23,34	78,91	100,00	189,60
	<b>75% Perzentil</b>	29,93	58,17	25,21	82,45	100,00	205,20
	<b>Maximum</b>	31,08	58,40	25,74	83,07	100,00	205,70
	<b>Mittelwert (MW)</b>	22,86	54,20	22,95	77,14	100,00	193,00
	<b>Standardabweichung</b>	5,87	3,90	2,30	5,87	0,00	9,82
	<b>Standardfehler</b>	2,40	1,59	0,94	2,40	0,00	4,01
	<b>Unteres 95% Konfidenzintervall des MW</b>	16,70	50,10	20,53	70,98	100,00	182,70
	<b>Oberes 95% Konfidenzintervall des MW</b>	29,02	58,29	25,36	83,30	100,00	203,30
	<b>Variationskoeffizient</b>	25.67%	7.19%	10.03%	7.61%	0.00%	5.09%

In den folgenden Graphen werden die Messergebnisse der Verdünnungsreihe der Chol Spezies in nmol/ml von Patient 1 und 2 dargestellt. Die BALF Proben wurden jeweils unverdünnt und in den Verdünnungsstufen 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 und 1:5 vermessen.



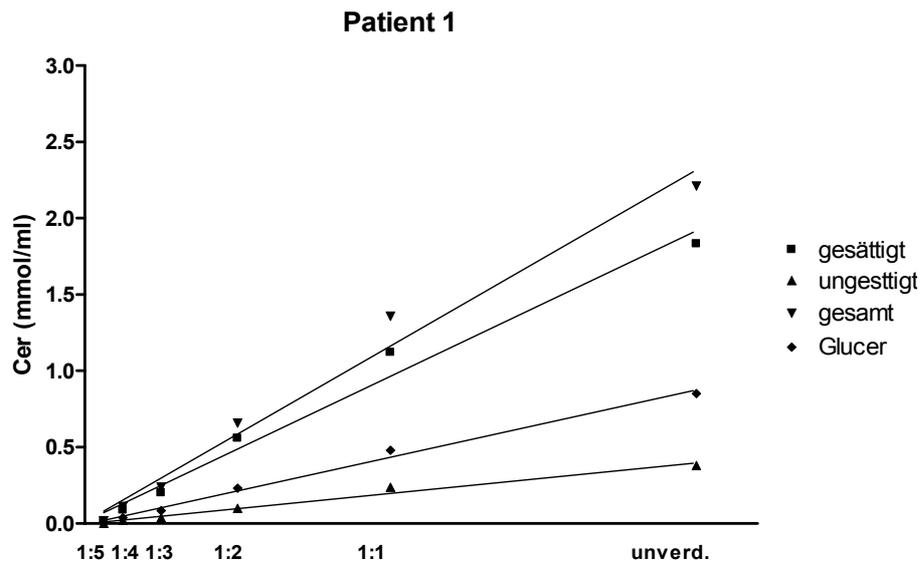
Bei Patient 1 und 2 konnte durch ein Verdünnungsreihe die Linearität der Messung bestätigt werden. Es zeigte sich eine signifikante Korrelation, die sich durch den Parameter  $r^2 > 0,99$  bei beiden Patienten ausdrückt.

### III.C.2.7 Ceramide

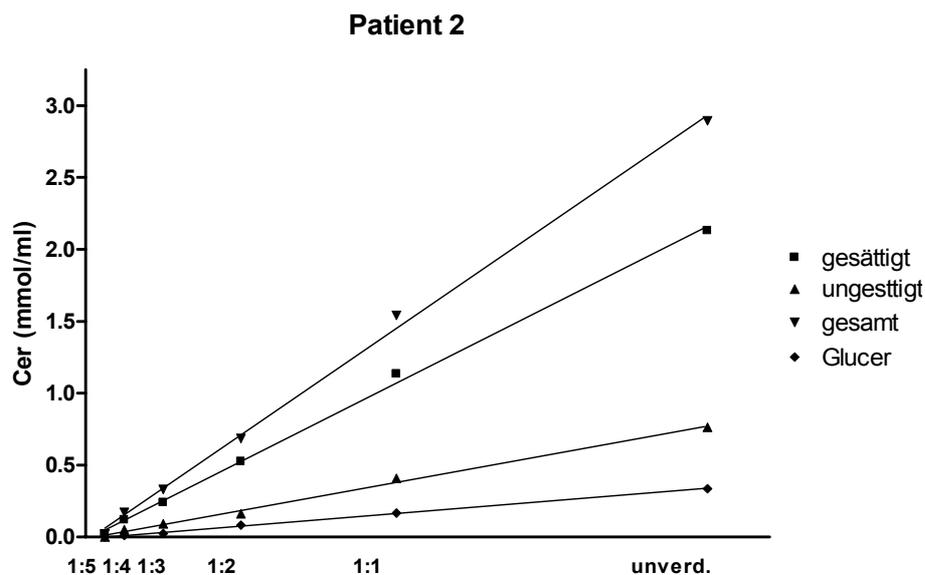
In der folgenden Tabelle werden die Ergebnisse der statistischen Auswertung der Cer Messungen in % der BALF Proben von Patient 1 und 2 dargestellt.

Tabelle III.C.2.7.1: Statistik Cer in %

		gesät	unges	gesamt	GluCer
<b>Patient 1</b>	<b>Anzahl der Messwerte</b>	6	6	6	6
	<b>Minimum</b>	80,10	0,00	100,00	33,99
	<b>25% Perzentil</b>	81,33	7,54	100,00	34,56
	<b>Median</b>	83,86	16,14	100,00	35,41
	<b>75% Perzentil</b>	92,47	18,67	100,00	45,11
	<b>Maximum</b>	100,00	19,90	100,00	51,72
	<b>Mittelwert (MW)</b>	85,89	14,12	100,00	38,36
	<b>Standardabweichung</b>	7,14	7,14	0,00	6,72
	<b>Standardfehler</b>	2,91	2,91	0,00	2,74
	<b>Unteres 95% Konfidenzintervall des MW</b>	78,39	6,62	100,00	31,31
	<b>Oberes 95% Konfidenzintervall des MW</b>	93,38	21,61	100,00	45,41
	<b>Variationskoeffizient</b>	8.31%	50.58%	0.00%	17.51%
<b>Patient 2</b>	<b>Anzahl der Messwerte</b>	6	6	6	6
	<b>Minimum</b>	70,18	0,00	100,00	0,00
	<b>25% Perzentil</b>	71,40	11,72	100,00	3,05
	<b>Median</b>	73,61	26,40	100,00	9,11
	<b>75% Perzentil</b>	88,29	28,60	100,00	11,85
	<b>Maximum</b>	100,00	29,82	100,00	12,08
	<b>Mittelwert (MW)</b>	77,76	22,24	100,00	8,00
	<b>Standardabweichung</b>	11,09	11,09	0,00	4,60
	<b>Standardfehler</b>	4,53	4,53	0,00	1,88
	<b>Unteres 95% Konfidenzintervall des MW</b>	66,13	10,60	100,00	3,17
	<b>Oberes 95% Konfidenzintervall des MW</b>	89,40	33,87	100,00	12,83
	<b>Variationskoeffizient</b>	14.26%	49.85%	0.00%	57.49%



**Abb. III. C.2.7.1:** Darstellung der Cer Spezies unterteilt in gesättigten,-einfach ungesättigten,-mehrfach ungesättigten,-ungesättigten,-Alkyl und gesamt Anteil des Patienten 1. Die Probe wurden jeweils unverdünnt und 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 und 1:5 verdünnt vermessen. Durch die Regressionsgerade soll die Linearität der Verdünnungsreihe dargestellt werden.



**Abb. III. C.2.7.2:** Darstellung der Cer Spezies unterteilt in gesättigten,-einfach ungesättigten,-mehrfach ungesättigten,-ungesättigten,-Alkyl und gesamt Anteil des Patienten 2. Die Probe wurden jeweils unverdünnt und 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 und 1:5 verdünnt vermessen. Durch die Regressionsgerade soll die Linearität der Verdünnungsreihe dargestellt werden.

		gesättigt	ungesättigt	gesamt	Glucer
Patient 1	$r^2$	0,9828	0,9809	0,9828	0,9933
	P value	0,0001	0,0001	0,0001	< 0.0001
Patient 2	$r^2$	0,9982	0,996	0,998	0,9985
	P value	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001

Bei Patient 1 und 2 konnte durch ein Verdünnungsreihe die Linearität der Messung bestätigt werden. Es zeigte sich eine signifikante Korrelation, die sich durch den Parameter  $r^2 > 0,99$  bei beiden Patienten ausdrückt.

### **III.D Analyse von fibrillären SP-C Aggregaten in der BALF**

Es wurden Proben bronchoalveoläre Lavageflüssigkeit verschiedener juveniler und adulter PAP Patienten untersucht. Im folgenden werden die verschiedenen Versuche und das verwendete Material genau beschrieben.

#### **III.D.1 Einzelanalyse einer BALF-Probe des Patienten Pj01**

Es wurden je 150 ml der aus der rechten und linken Lungenseite gewonnenen Spülflüssigkeit einer therapeutischen bronchoalveolären Lavage des juvenilen PAP Patienten Pj01 für die Analyse verwendet. Jeweils die ersten 10 aus der rechten und linken Lunge gewonnenen Flaschen wurden gepoolt und anschließend sofort frisch weiterverarbeitet.

Die Proben wurden nach der unter II.D.6 beschriebenen Methode bis zur Gewinnung des Pellet 3 aufgearbeitet. Durch die Behandlung mit der SDS-Lösung können die im Pellet enthaltenen fibrillären Aggregate aus SP-C von anderen Proteinen abgetrennt werden, da diese, wie bei Gusstafsson et al.<sup>25</sup> beschrieben SDS resistent sind. Ziel war es durch die Behandlung der Aggregate mit zwei verschiedenen Konzentrationen einer SDS-Lösung herauszufinden, ob diese durch eine höher konzentrierte Lösung besser aufgereinigt werden und nur bis zu einer bestimmten SDS-Konzentration resistent sind. Das entstandene Pellet 3 der rechten und linken Seite wurde aufgeteilt, um mit zwei verschiedenen SDS-Konzentrationen behandelt zu werden.

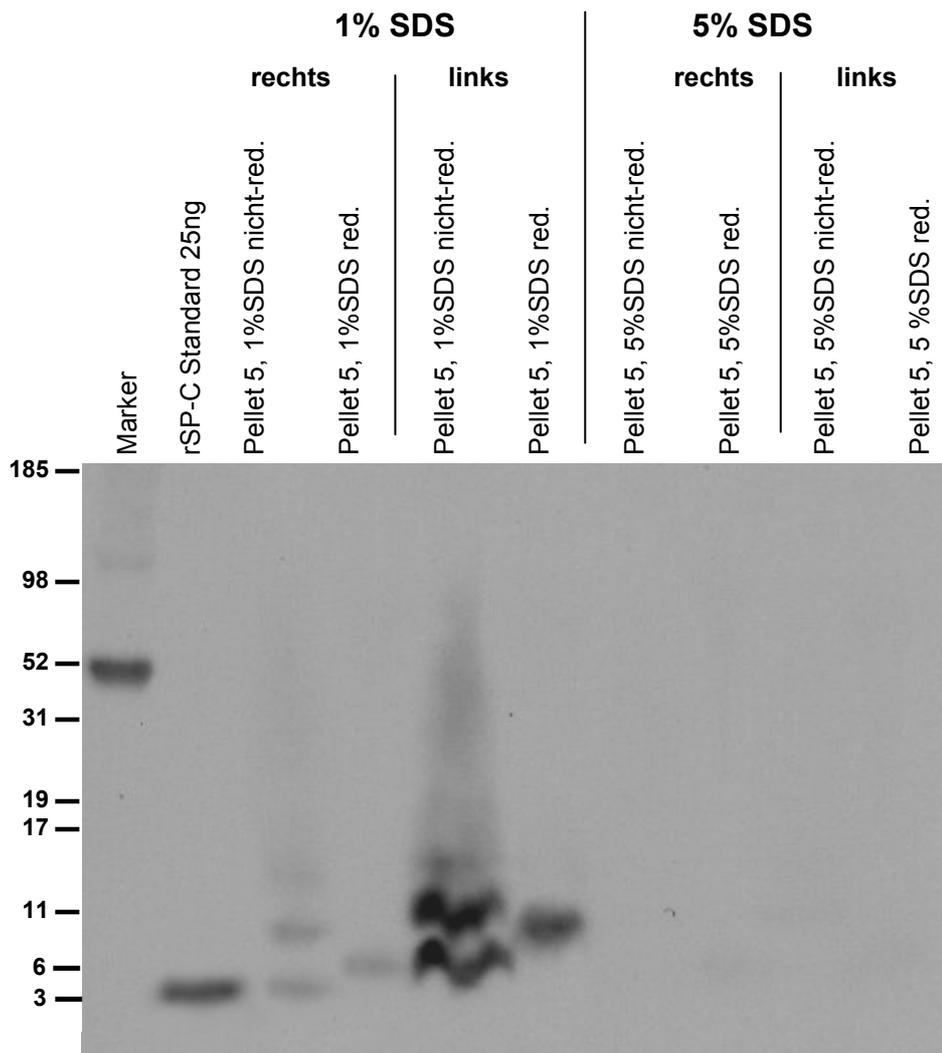
Das jeweilige Pellet wurde mit 2 ml einer 1 %igen bzw. einer 5 %igen SDS Lösungen versetzt und 2 Stunden bei Raumtemperatur geschüttelt. Von beiden Pellets verblieb ein Rückstand, jedoch war das Pellet, das mit der höher prozentigen SDS-Lösung inkubiert war deutlich besser gelöst.

Beide Proben wurden nun 2 Stunden mit 100.000 g bei 20°C in der Ultrazentrifuge zentrifugiert. Der entstandene Überstand wurde vorsichtig dekantiert und die Pellets (Pellet 4) noch einmal mit 2 ml der jeweiligen vorher verwendeten SDS Lösung versetzt. Nach weiteren 2 Stunden leichtem Schütteln wurden die Proben noch einmal 2 Stunden bei 100.000 g und 20°C zentrifugiert. Auch nach der 2. Inkubation von nochmals 2 Stunden waren die Pellets nicht vollständig gelöst.

Die 2-mal mittels SDS aufgereinigten Pellets (Pellet 5) wurden nun 3-mal mit 1 ml Wasser gewaschen und für eine zytologische Untersuchung und eine 1-D

Gelelektrophorese mit anschließendem Western Blot verwendet. Durch die Aufteilung des Ausgangsvolumens von 150 ml ursprünglich eingesetzter BALF auf die zwei verschiedenen konzentrierten SDS Lösungen und eine weitere Aufteilung für Gelelektrophorese und zytologische Färbung, kann jedes Pellet auf ein Ausgangsvolumen von ca. 37,5 ml nativer BALF zurückgeführt werden.

#### Western Blot der Pellets:

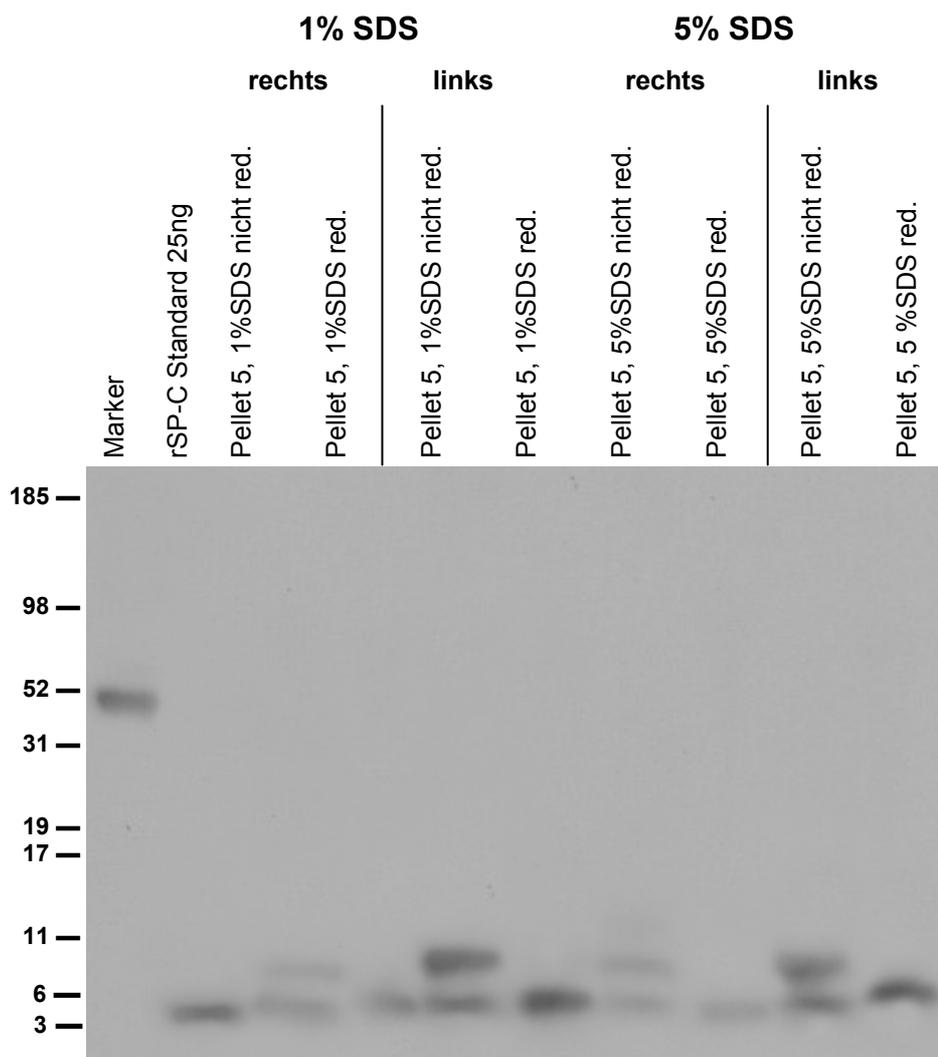


**Abb. III.D.1.1:** Western Blot der aufgereinigten BALF Proben der Pellets des Patienten Pj01. Die Proben wurden jeweils reduziert und nicht reduziert aufgetragen. Inkubation mit Antikörper gegen SP-C.

Der Western Blot zeigte eine deutlich höhere Bandenintensität in den Proben der linken Lunge, was sich durch die eine höhere SP-C Konzentration in den BALF Proben der linken Lunge erklären ließe. Nach der Inkubation mit 5 %iger SDS Lösung waren auf dem Blot sowohl in nicht-reduzierter, als auch reduzierter Form für beide Lungenseiten keine Banden des SP-C zu erkennen. Daher ist anzunehmen,

dass eine 5 %ige SDS-Lösung auch SP-C Monomere und Dimere bzw. auch vorhandene größere Aggregate löst und somit diese Konzentration für das selektive Abtrennen von SP-C nicht mehr geeignet ist. Bei den Proben, die mit 1 %iger SDS-Lösung behandelt wurden sind im unreduzierten und reduzierten Zustand Banden für SP-C zu erkennen. Zusätzlich sieht man im unreduzierten Zustand eine schwache Bande für das Trimer, die in eine Schliere übergeht. Hier kann es sich um größere Aggregate, die aus SP-C bestehen handeln, da sie vom Antikörper erkannt werden, aber zu groß sind, um sich sauber aufzutrennen. Bei der Reduktion verschwinden diese Schlieren und es bleibt eine Bande für das Monomer bei 6-10 kDa, da die SP-C Aggregate ebenso wie Dimer und Trimer durch das Reducing Agent aufgelöst werden.

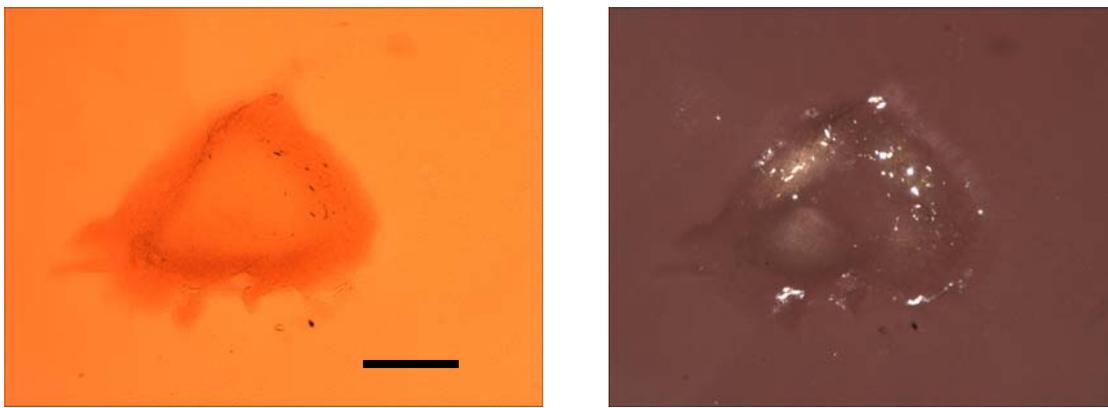
#### Western Blot der Überstände:



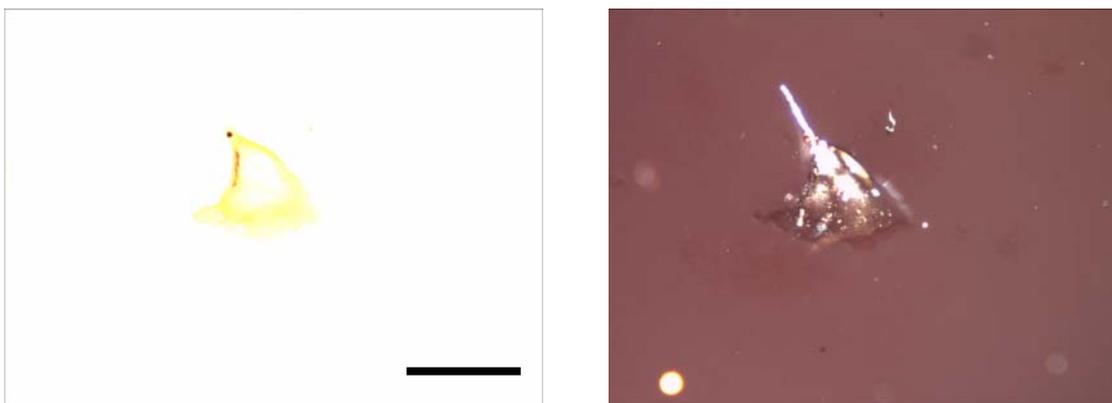
**Abb. III.D.1.2:** Western Blot der aufgereinigten BALF Proben der Überstände des Patienten Pj01. Die Proben wurden jeweils reduziert und nicht reduziert aufgetragen. Inkubation mit Antikörper gegen SP-C.

Auch bei der Analyse der Überstände auf dem Western Blot zeigen die Proben der linken Lunge eine höhere Bandenintensität, Dies bestätigt die Vermutung, daß aus der linken Lunge mehr SP-C ausgewaschen wurde. In allen unreduzierten Proben sind Banden für das SP-C Monomer und Dimer zu erkennen, die sich mit Reducing Agent auf die Monomerbande reduzieren lassen.

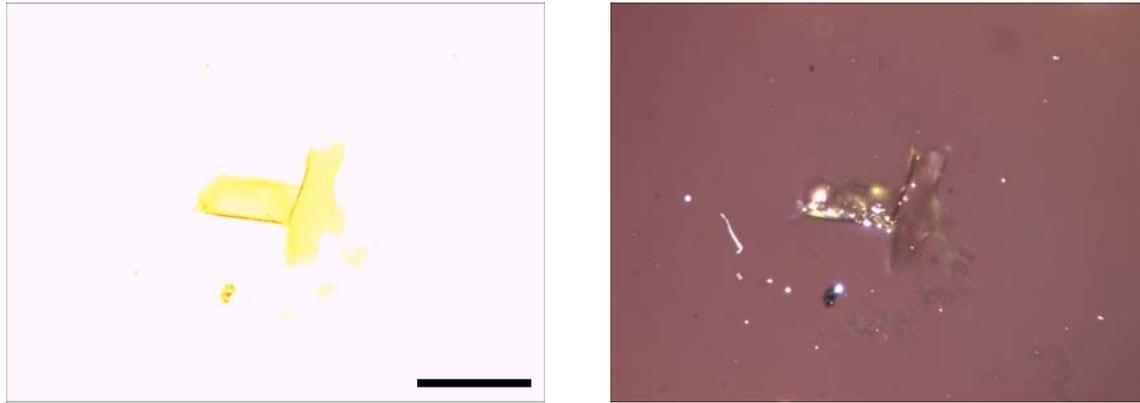
#### Zytologische Auswertung der Pellets:



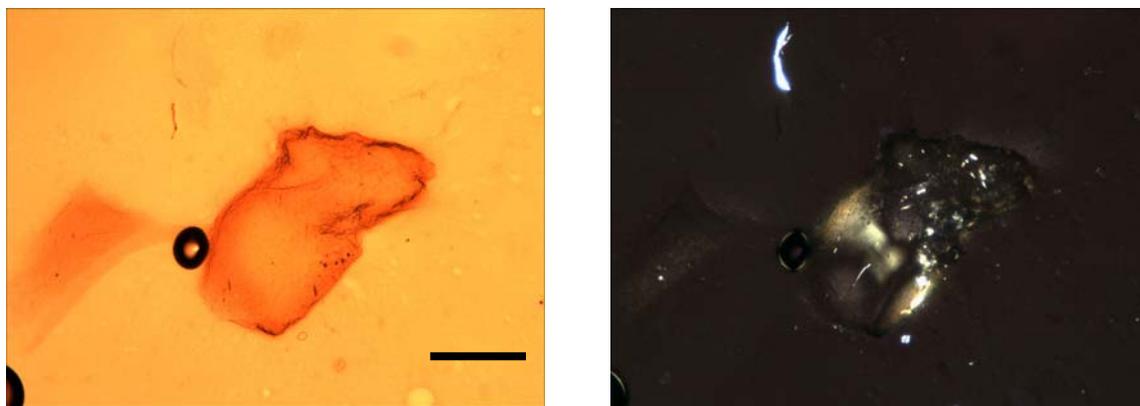
**Abb. III.D.1.3:** Lichtmikroskopische Aufnahmen, 63fache Vergrößerung nach Kongorotfärbung. Die Bilder zeigen Ausschnitte aus dem Pellet 5 der linken Lunge nach Behandlung mit 1 %iger SDS-Lösung. Das rechte Bild zeigt die Probe unter polarisiertem Licht. (Balken entspricht 0,2 mm)



**Abb. III. D.1.4:** Lichtmikroskopische Aufnahmen, 25fache Vergrößerung (Balken entspricht 0,6 mm) nach Kongorotfärbung. Die Bilder zeigen Ausschnitte aus dem Pellet 5 der rechten Lunge nach Behandlung mit 1 %iger SDS-Lösung. Das rechte Bild zeigt die Probe unter polarisiertem Licht.



**Abb. III. D.1.5:** Lichtmikroskopische Aufnahmen, 25fache Vergrößerung (Balken entspricht 0,6 mm) nach Kongorotfärbung. Die Bilder zeigen Ausschnitte aus dem Pellet 5 der rechten Lunge nach Behandlung mit 1 %iger SDS-Lösung. Das rechte Bild zeigt die Probe unter polarisiertem Licht.



**Abb. III. D.1.6:** Lichtmikroskopische Aufnahmen, 63fache Vergrößerung (Balken entspricht 0,2 mm) nach Kongorotfärbung. Die Bilder zeigen Ausschnitte aus dem Pellet 5 der rechten Lunge nach Behandlung mit 1 %iger SDS-Lösung. Das rechte Bild zeigt die Probe unter polarisiertem Licht.

Zur zytologischen Analyse wurden die Proben des Pellet 5 auf Objektträger ausgestrichen und nach dem Lufttrocknen mit Kongorot gefärbt. Bei der Betrachtung unter dem Lichtmikroskop fielen einige Stellen durch eine intensive Kongorotbindung auf. Diese Stellen zeigten unter polarisiertem Licht eine weißliche Doppelbrechung, welche ein Zeichen für das Vorhandensein von fibrillärem Material ist. Im Gegensatz zum Western Blot war in der Probe der rechten Lunge mehr scholliges Kongorot-positives Material enthalten als in der Probe der linken Lunge. In den BALF Proben, die mit 5 %iger SDS-Lösung behandelt wurden, konnte kein Kongorot-positives fibrilläres Material detektiert werden.

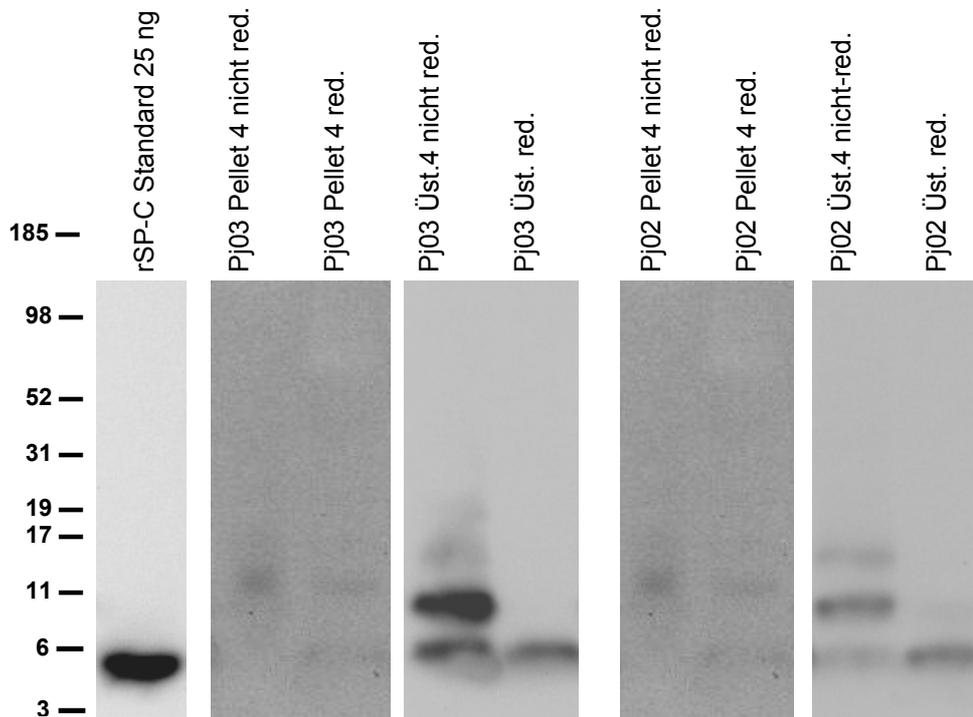
### III.D.2 Analyse von BALF-Proben verschiedener Patienten

Von 6 adulten und 2 juvenilen PAP Patienten konnten jeweils 15 ml einer therapeutischer Lavage vorhanden, die für die Isolation von fibrillärem Material aus der BALF verwendet werden konnten. Die Proben wurden wie unter II.D.6 beschrieben aufgearbeitet und die entstandenen Pellets (Pellet 4) weiterverarbeitet. Diese BALF Proben waren bei -80°C eingefroren.

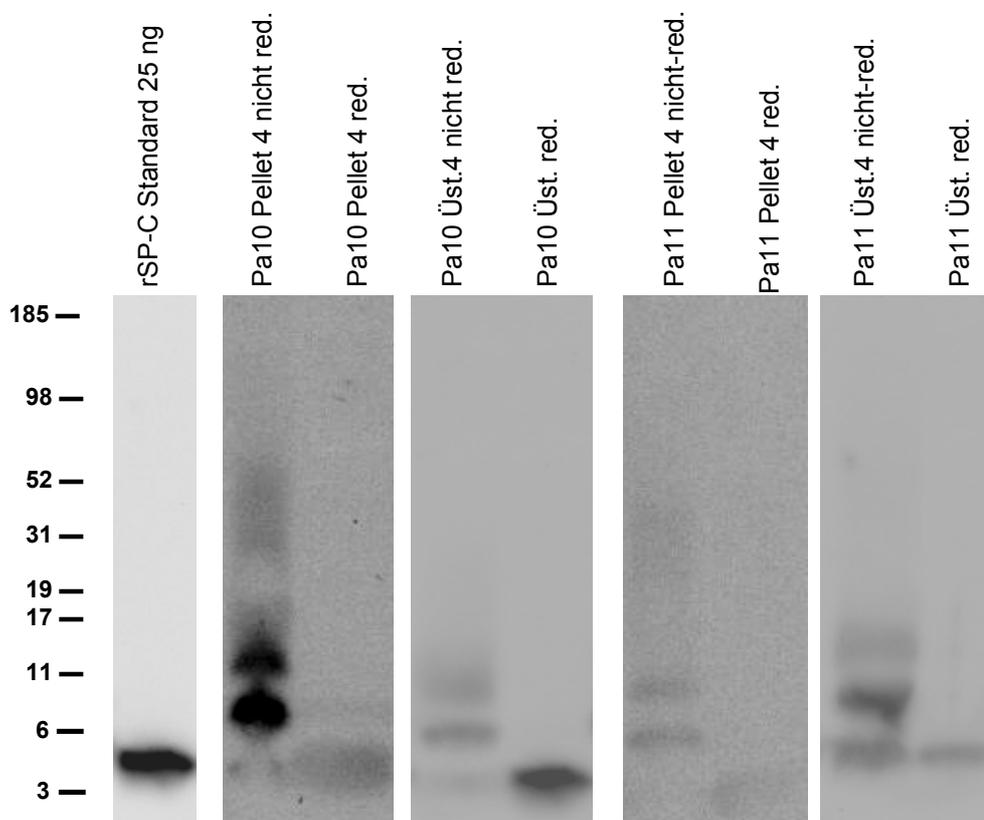
**Tabelle III.D.2.1:** Übersicht über die verwendeten BALF Proben der einzelnen Patienten.

Patient	Geschlecht	Datum	Flasche tBALF	verwendetes Volumen (ml)	Gesamtprotein ( $\mu\text{g/ml}$ ) im Üst. 4
Pj02	weiblich	05.12.02	2	15	928,77
Pj03	männlich	07.12.01	2	15	880,78
Pa03	weiblich	23.04.02	tBALF-Pool	50	892,84
Pa08	männlich	06.01.04	5	15	858,87
Pa10	männlich	01.04.04	2	15	868,66
Pa11	männlich	10.02.04	3	15	873,47
Pa12	männlich	26.08.04	3	15	916,86
Pa15	männlich	04.08.04	3	15	1155,90

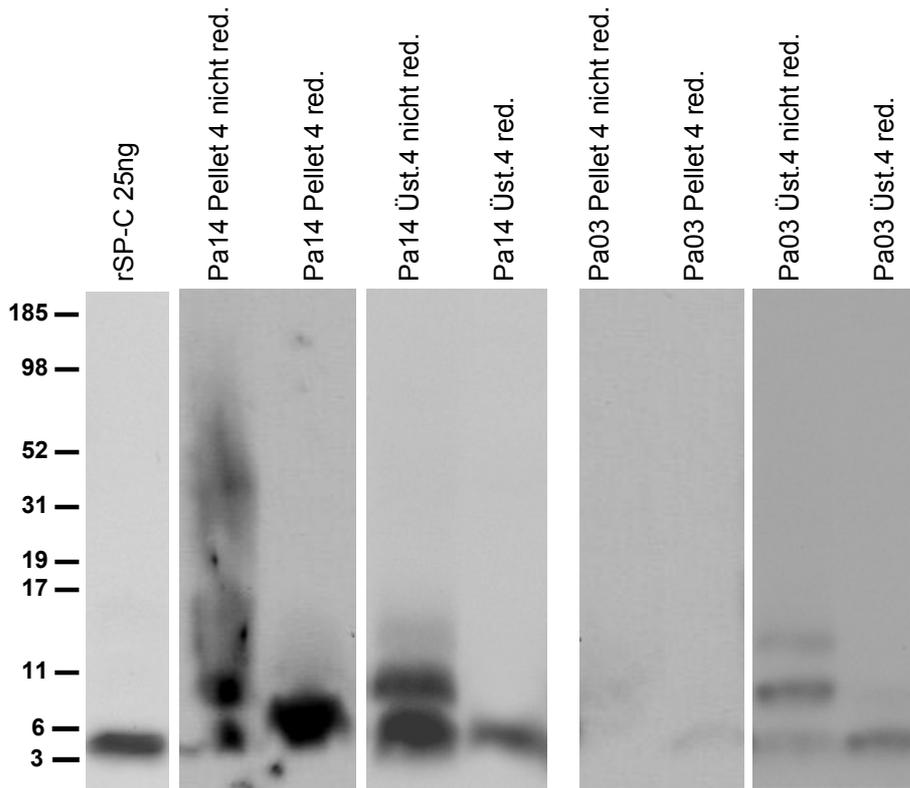
Die Proben wurden nach der unter II.D.6 beschriebenen Methode aufgearbeitet und für die zytologische Untersuchung und die 1-D Gelelektrophorese mit anschließendem Western Blot verwendet.

Western Blot der BALF:

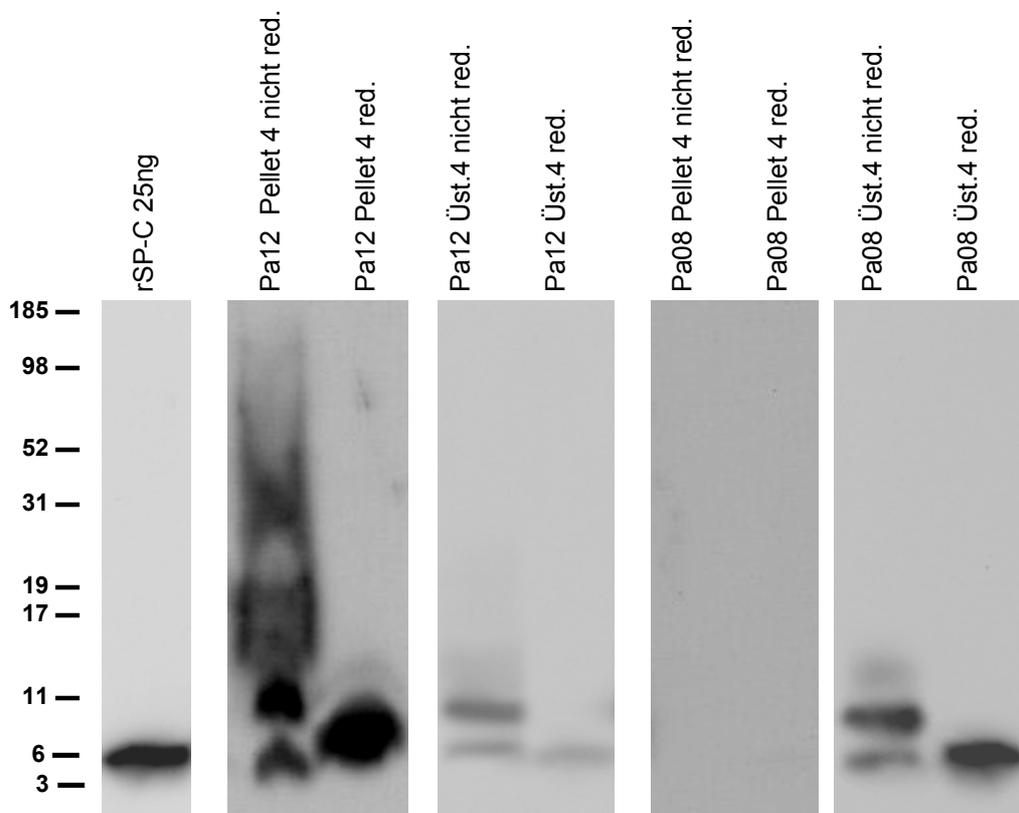
**Abb. III.D.2.1:** Western Blot der BALF Proben der Patienten Pj02 und Pj03. Die Proben wurden jeweils reduziert und nicht reduziert aufgetragen. Inkubation mit Antikörper gegen SP-C.



**Abb. III.D.2.2:** Western Blot der BALF Proben der Patienten Pa10 und Pa11. Die Proben wurden jeweils reduziert und nicht reduziert aufgetragen. Inkubation mit Antikörper gegen SP-C.



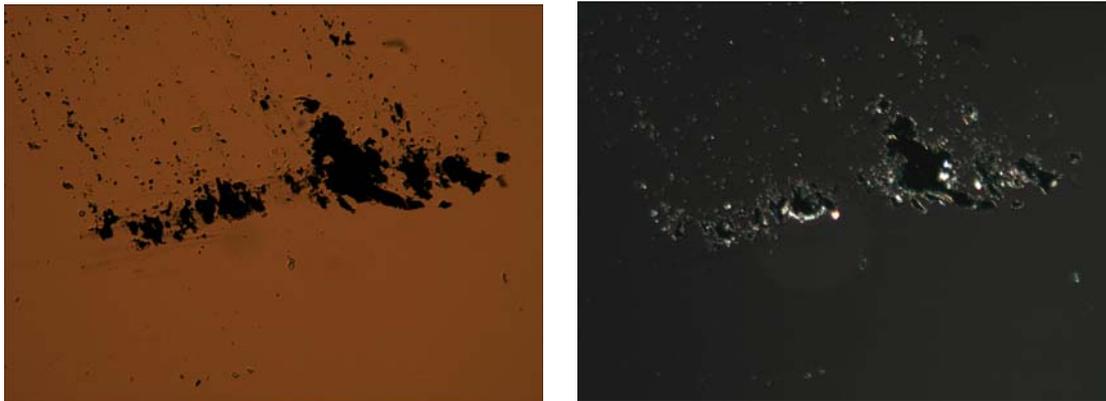
**Abb. III.D.2.3:** Western Blot der BALF Proben der Patienten Pa14 und Pa03. Die Pelletproben und Überstände wurden jeweils reduziert und nicht reduziert aufgetragen. Inkubation mit Antikörper gegen SP-C.



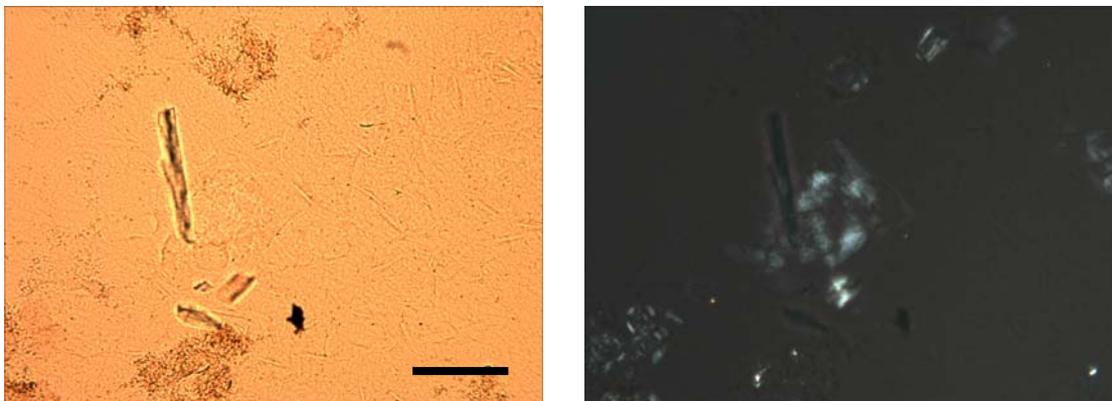
**Abb. III.D.2.4:** Western Blot der BALF Proben der Patienten Pa12 und Pa08. Die Pelletproben und Überstände wurden jeweils reduziert und nicht reduziert aufgetragen. Inkubation mit Antikörper gegen SP-C.

Bei Patient Pj03 und Pa08 sind keine Banden zu sehen. Der SP-C Gehalt scheint in dem Volumen der verwendeten Proben zu gering zu sein, um nach der Behandlung mit SDS und den Waschschrinen noch Banden für SP-C detektieren zu können. Bei Patient Pa03 ist im unreduzierten Zustand nur eine leichte unbegrenzte Schwärzung bei ca. 8 kDa, im reduzierten Zustand eine etwas deutlichere Bande bei ca. 4 kDa zu sehen. Der SP-C Gehalt nach den Aufreinigungsschritten ist bei dem hier eingesetzten Ausgangsvolumen der Lavage ebenfalls zu gering. Bei den Patienten Pa10, Pa12 und Pa14 sieht man deutlich in der unreduzierten Bahn eine Schliere. Diese kann aus größeren Aggregaten aus SP-C bestehen, da sie vom Antikörper gegen SP-C detektiert werden kann und im reduzierten Zustand verschwindet. Bei den Patienten Pj02 und Pa11 sind nur leicht größere Aggregate in der unreduzierten Bahn zu erkennen.

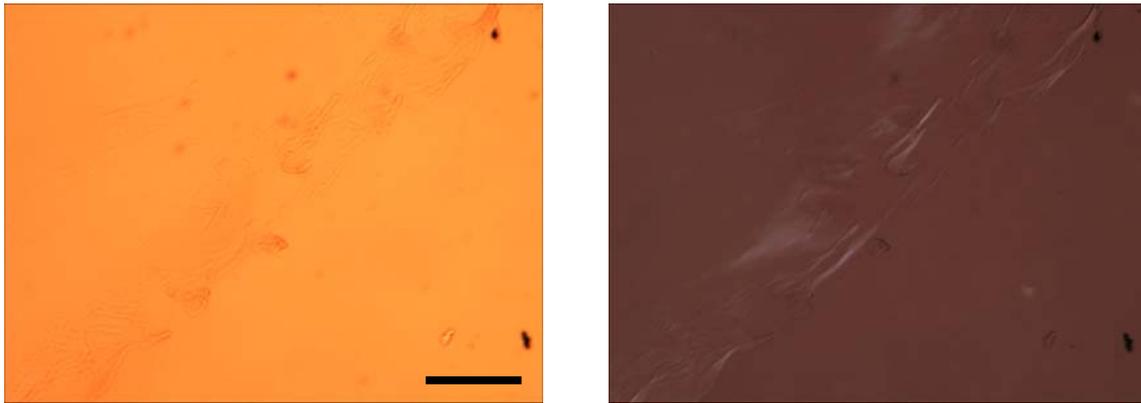
#### Zytologische Analyse der BALF:



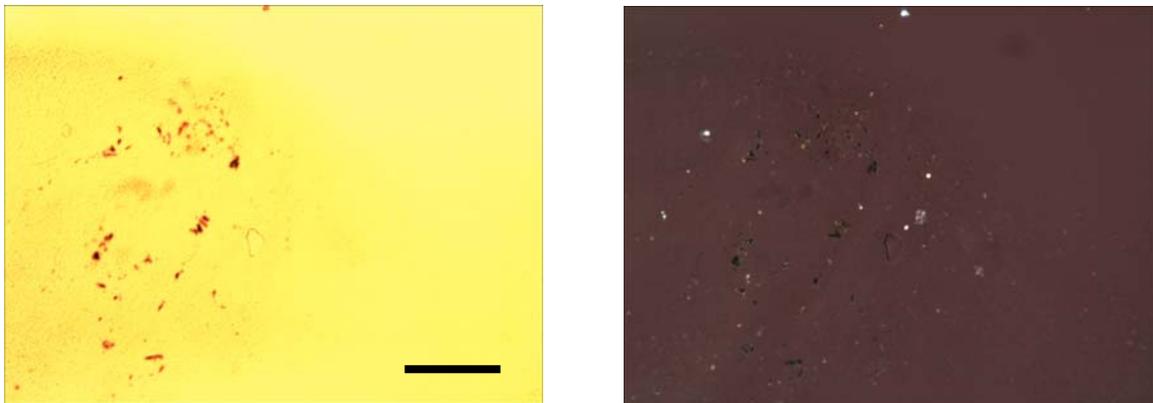
**Abb. III.D.2.5:** Lichtmikroskopische Aufnahmen, 63fache Vergrößerung (Balken entspricht 0,2 mm) nach Kongorotfärbung. Die Bilder zeigen Ausschnitte aus dem Pellet 5 des Patienten Pj03. Das rechte Bild zeigt die Probe unter polarisiertem Licht.



**Abb. III.D.2.6:** Lichtmikroskopische Aufnahmen, 63fache Vergrößerung (Balken entspricht 0,2 mm) nach Kongorotfärbung. Die Bilder zeigen Ausschnitte aus dem Pellet 5 des Patienten Pa10. Das rechte Bild zeigt die Probe unter polarisiertem Licht.



**Abb. III.D.2.7:** Lichtmikroskopische Aufnahmen, 63fache Vergrößerung (Balken entspricht 0,2 mm) nach Kongorotfärbung. Die Bilder zeigen Ausschnitte aus dem Pellet 5 des Patienten Pa08. Das rechte Bild zeigt die Probe unter polarisiertem Licht.

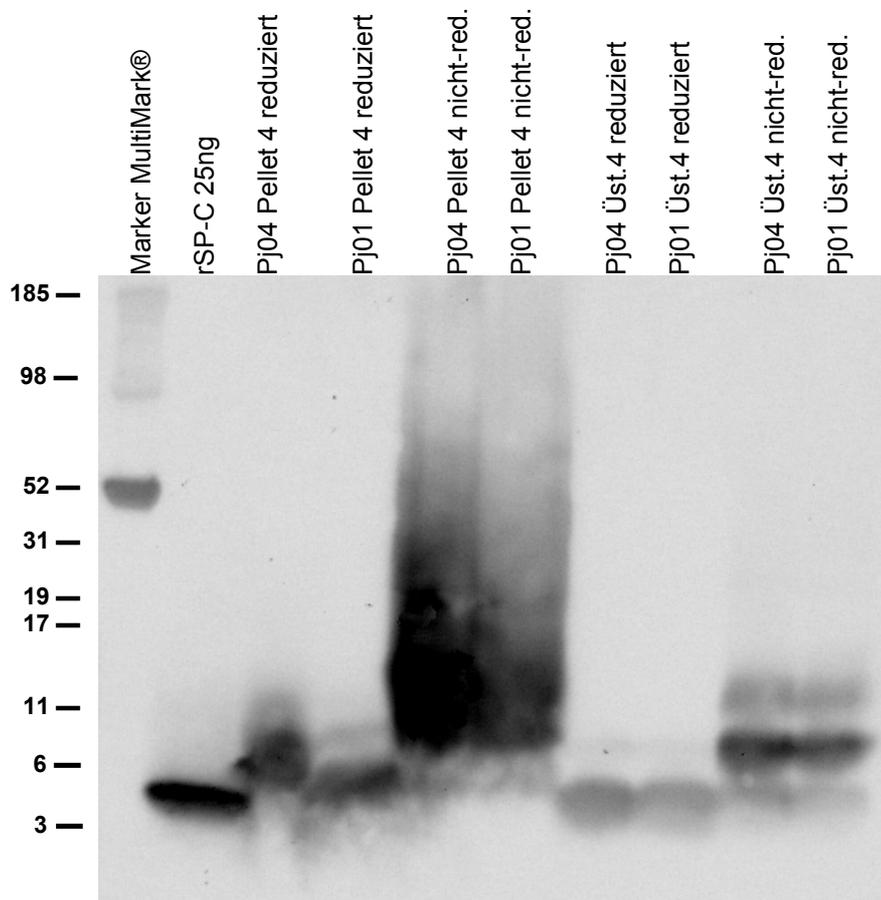


**Abb. III.D.2.8:** Lichtmikroskopische Aufnahmen, 63fache Vergrößerung (Balken entspricht 0,2 mm) nach Kongorotfärbung. Die Bilder zeigen Ausschnitte aus dem Pellet 5 des Patienten Pa14. Das rechte Bild zeigt die Probe unter polarisiertem Licht.

Bei der Untersuchung der Pelletproben konnte nur in den Proben der Patienten Pj03, Pa08, Pa10 und Pa14 Kongorot-positives Material mit schwacher weißlicher Doppelbrechung detektiert werden.

### III.D.3 Vergleich von Überstand und Pellet der BALF-Proben von zwei juvenilen PAP Patienten

Bei den juvenilen PAP Patienten Pj01 und Pj04 wurden je 50 ml therapeutische bronchoalveoläre Lavage der Flasche 1 nach der unter II.D.6 beschriebenen Methode aufgearbeitet. Das entstandene Pellet (Pellet 4) wurde für eine 1-D Gelelektrophorese mit anschließendem Western Blot verwendet. Die Proben waren bei -80°C eingefroren.



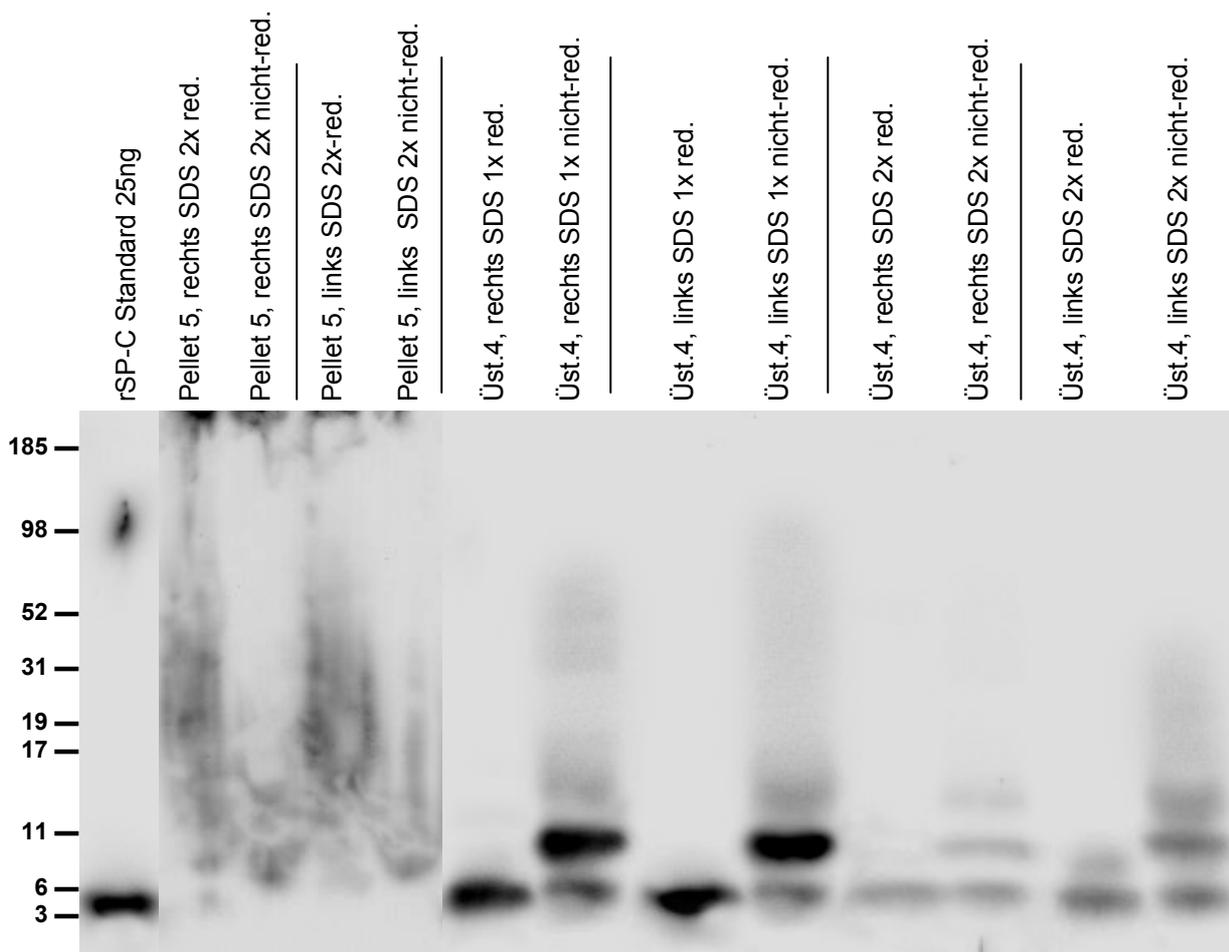
**Abb. III.D.3.1:** Western Blot der Patienten Pj01 und Pj04. Pellets und Überstände wurden jeweils reduziert und nicht reduziert aufgetragen. Inkubation mit Antikörper gegen SP-C.

Bei beiden juvenilen PAP Patienten bilden die unreduzierten Pelletproben starke Schlieren, die durch den Antikörper gegen SP-C detektiert werden. Bei vorheriger Reduktion der Probe können diese Schlieren nicht mehr detektiert werden und es ist nur noch eine Bande für das SP-C Monomer zu erkennen. Dies weist darauf hin, dass es sich um große Aggregate aus SP-C handelt. Im Überstand sind diese

Aggregate nicht sichtbar, sondern nur Banden für das SP-C Monomer, Dimer und Trimer, welche sich in der reduzierten Probe auf die SP-C Monomer Bande reduzieren.

### III.D.4 Analyse der SP-C Konzentration im Überstand

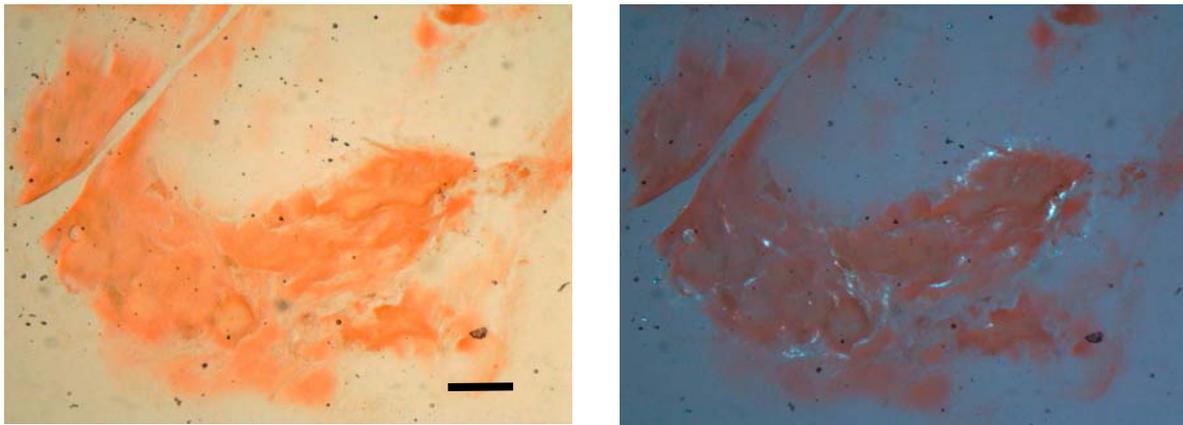
Es sollte untersucht werden, ob sich bei mehrmaliger Behandlung des Pellets weiterhin SP-C aus diesem herauslösen lässt. Hierzu wurde das aufgereinigte Pellet insgesamt 2 mal mit einer 1 %igen SDS Lösung inkubiert und beide Überstände mittels Western Blot auf ihre SP-C Konzentration untersucht. Für den Versuch wurden 150 ml einer frischen BAL der rechten und linken Lunge des Patienten Pj01 verwendet. Die Aufarbeitung der BALF wurde wie unter II.D.6 beschrieben durchgeführt. Anschließend wurde das Pellet ein 2. Mal mit einer 1 %igen SDS Lösung inkubiert und die beiden Überstände und das letzte Pellet mittels 1-D-Gel-elektrophorese und Western Blot auf ihren SP-C Gehalt untersucht.



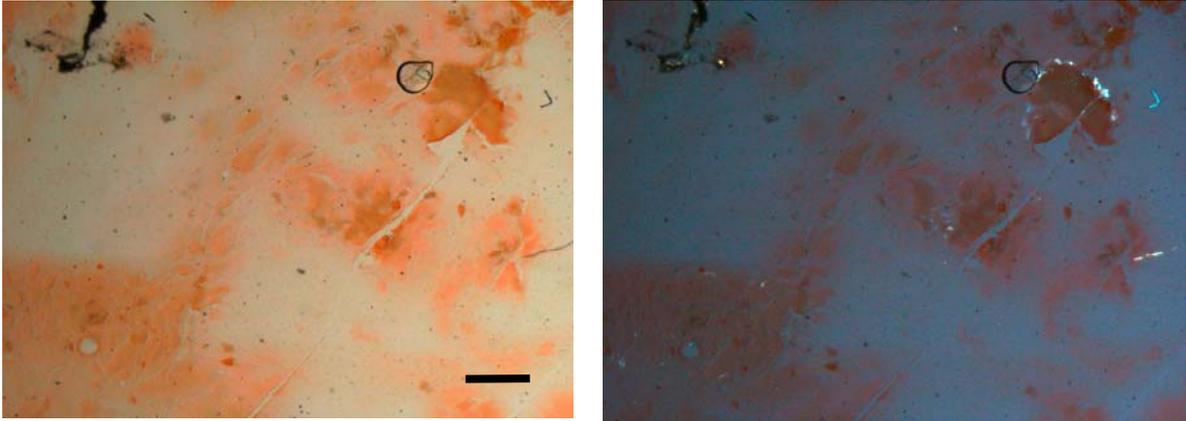
**Abb. III.D.4.1:** Western Blots des Patienten Pj01. Pellets und Überstände wurden jeweils reduziert und nicht reduziert aufgetragen.

Zwischen den Pelletproben der rechten und linken Lunge sind keine Unterschiede zu erkennen. Im nicht reduzierten Zustand wurden große Aggregate vom Antikörper gegen SP-C detektiert, die sich nach vorheriger Reduktion der Probe nicht vollständig auf die SP-C Monomer Bande reduzieren ließen. Bei den Proben der Überstände, die 1-mal mit SDS Lösung behandelt wurden sind im nicht reduzierten Zustand deutlich die Banden des SP-C Monomers und Dimers zu sehen, die sich durch die Behandlung mittels Reducing Agent auf die Monomerbande reduzierten. Durch die 2-malige Behandlung mit SDS bleiben die Bandenverhältnisse zwischen reduziertem und nicht-reduzierten Zustand gleich, insgesamt reduziert sich aber die Bandenintensität deutlich. Wahrscheinlich geht trotz der SDS Resistenz des SP-C durch wiederholte Wasch-oder Aufreinigungsschritte Protein verloren. Eine einmalige Behandlung mit SDS ist daher als ausreichend anzusehen.

#### Zytologische Analyse der BALF:



**Abb. III.D.4.3:** Lichtmikroskopische Aufnahmen (Balken entspricht 0,5 mm) nach Kongorotfärbung. Die Bilder zeigen Ausschnitte aus dem Pellet 5 des Patienten Pj01. Das rechte Bild zeigt die Probe unter polarisiertem Licht.



**Abb. III.D.4.4:** Lichtmikroskopische Aufnahmen (Balken entspricht 0,5 mm) nach Kongorotfärbung. Die Bilder zeigen Ausschnitte aus dem Pellet 5 des Patienten Pj01. Das rechte Bild zeigt die Probe unter polarisiertem Licht.

In den Pelletproben des Patienten Pj01 konnte grünlich fluoreszierendes Kongorot-positives Material detektiert werden.

## **IV Diskussion**

Ziel dieser Arbeit war es, verschiedene Parameter in der BALF von juvenilen und adulten PAP Patienten biochemisch zu analysieren und somit Unterschiede zwischen juvenilen und adulten PAP Patienten und zu gesunden Kontrollpatienten und Patienten, die nicht an PAP erkrankt sind zu ermitteln. Da die Proben, die für die Analyse der einzelnen Parameter verwendet wurden variieren, wurde zu Beginn jedes Ergebnisteiles eine Übersicht der für die jeweiligen Experimente verwendeten Proben eingefügt.

### **IV.1 Biochemische Analyse einer Probe je Patient**

#### **IV.1.1 Gesamtprotein**

In den Proben der juvenilen und adulten PAP Patienten konnten signifikant höhere Proteinkonzentration als in den Proben der Kontrollpatienten nachgewiesen werden. Die PAP Gruppen und die Kontrollgruppen untereinander zeigten keine signifikanten Unterschiede. Dieses Ergebnis stimmt mit den in der Literatur beschriebenen früheren Untersuchungen<sup>7;20</sup> überein. Auch die absolut ausgewaschene Proteinmenge in der jeweils untersuchten Spülportion war bei den PAP Patienten im Vergleich zu den Kontrollgruppen signifikant erhöht. Die Proteinkonzentration pro kg Körpergewicht zeigte nur in der Gruppe der juvenilen PAP Patienten im Vergleich zu den Kontrollpatienten signifikant erhöhte Werte.

#### **IV.1.2 GM-CSF**

Die GM-CSF Autoantikörpertiter in der BALF wurden mittels eines Antigenbindungs-Assays bestimmt. Zur Bewertung der Autoantikörpertiter wurde die von Latzin et al.<sup>49</sup> ermittelten Grenzwerte für die Diagnose positiver Autoantikörpertiter im Serum und der BALF verwendet. Die Proben der juvenilen PAP Patienten zeigten keine erhöhten GM-CSF Autoantikörpertiter in den BALF- und den Serumproben. Die Kontrollpatienten mit Bronchitis zeigten ebenfalls keine erhöhten Titer in der BALF. In den Serumproben der adulten PAP Patienten fanden sich bei 10 von 12 Patienten positive GM-CSF Autoantikörpertiter, in den BALF Proben waren die Titer bei 4 von 16 Patienten erhöht. Obwohl sich eine Korrelation der bestimmten GM-CSF Werte zwischen Serum und BALF zeigte, ist der eindeutige Nachweis der positiven Autoantikörpertiter nur im Serum möglich. Mit hoher Wahrscheinlichkeit sind

Verdünnungseffekte und Inhomogenität der BALF hierfür verantwortlich. Das Auftreten von positiven GM-CSF Titern bei Patienten mit adulter oder erworbener PAP ist in der Literatur bekannt<sup>45</sup>. Diese Antikörper spielen eine Rolle bei der Hemmung der Wiederaufnahme von Surfactant durch Alveolarmakrophagen. Bonfield et al.<sup>8;9;35</sup> wiesen eine Neutralisation von GM-CSF nach, diese konnte durch die therapeutische Gabe von GM-CSF ausgeglichen werden. Ob die Antikörper erst im Erwachsenenalter entstehen oder sie sich schon in der Kindheit entwickeln, ist unbekannt. Zumindest konnten wir hier bei keiner der kindlichen PAP Formen diese Autoantikörper nachweisen.

### **IV.1.3 SP-A**

Allgemein zeigten die Proben der PAP Patienten gegenüber den Kontrollproben signifikant erhöhte SP-A Konzentrationen. In früheren Untersuchungen von Honda et al. und Doyle et al.<sup>19</sup> fanden sich um den Faktor 10- bis 50- fache bzw. 40- bis 100- fache erhöhte SP-A Konzentrationen in den BALF Proben von PAP Patienten. In unseren Untersuchungen konnten diese Ergebnisse bestätigt werden. Die Proben der juvenilen und adulten PAP Patienten zeigten pro ml Spülflüssigkeit und bezogen auf das Körpergewicht pro kg signifikant erhöhte SP-A Konzentrationen. Die Gesamtmenge pro ml Spülportion war ebenfalls signifikant erhöht, wobei dieses Ergebnis durch das vielfach höhere Volumen der Proben der PAP Patienten erklärt werden muss. Auffällig war, dass die adulten PAP Patienten pro ml Spülflüssigkeit auch gegenüber den juvenilen PAP Patienten signifikant erhöhte Konzentrationen zeigten, bezogen auf das Körpergewicht zwischen diesen beiden Gruppen jedoch keine Unterschiede mehr sichtbar waren.

### **IV.1.4 SP-B**

Es wurde die SP-B Konzentration in BALF Proben von juvenilen und adulten PAP Patienten, gesunden Kontrollen und Kontrollen mit Bronchitis untersucht. Hierbei wurde das SP-B im nicht reduzierten Zustand analysiert und als Gesamtfraktion mittels einer Western Blot Analyse quantitativ bestimmt. In der Literatur sind bislang Methoden zur Quantifizierung von SP-B mittels ELISA<sup>47</sup> oder HPLC nach Isolierung aus der BALF<sup>4;12;75</sup> beschrieben. Die Proben der juvenilen und adulten PAP Patienten zeigten, wie auch schon in der Literatur beschrieben im Vergleich zu den

Kontrollgruppen signifikant erhöhte SP-B Konzentrationen in der BALF<sup>11;20</sup>. Bezogen auf das Körpergewicht zeigten nur die Proben der juvenilen PAP Patienten signifikant erhöhte Werte. Zusätzlich wurden die BALF Proben im nicht reduzierten Zustand von juvenilen und adulten PAP Patienten und von 5 Kontrollen mit Bronchitis auf die Verteilung des SP-B auf monomere, dimere, trimere und tetramere Formen des SP-B untersucht. Bei allen Patienten fand sich vor allem die auch in vivo vorliegende Dimerform des SP-B mit einem Molekulargewicht von ca. 16 kDa (nach<sup>6;32</sup>). Bei den PAP Patienten fanden sich zum Teil zusätzlich höhermolekulare trimere und tetramere Formen im Bereich von 24 bis 31 kDa (nach<sup>53</sup>), SP-B Monomer mit einem Molekulargewicht von ca. 8 kDa (nach<sup>20</sup>) konnte in allen untersuchten Proben in geringen Mengen nachgewiesen werden.

#### **IV.1.5 SP-C**

Es wurde die SP-C Konzentration in BALF Proben von juvenilen und adulten PAP Patienten, gesunden Kontrollen und Kontrollen mit Bronchitis untersucht. Das SP-C wurde ebenfalls im nicht reduzierten Zustand analysiert und als Gesamtfraktion mittels einer Western Blot Analyse quantitativ bestimmt. In der Literatur sind bislang Methoden zur Quantifizierung von SP-C mittels ELISA<sup>66</sup>, HPLC nach Isolierung aus der BALF<sup>4;12;75</sup> oder Gelfiltration mit anschließender ELEktrophorese<sup>63</sup> beschrieben. In den Proben der untersuchten juvenilen und adulten PAP Patienten wurden signifikant erhöhte SP-C Konzentrationen im Vergleich zu den Kontrollpatienten gemessen. Dieses Ergebnis entspricht den Ergebnissen in der Literatur<sup>10;21</sup>. Bezogen auf das Körpergewicht zeigten nur die Proben der juvenilen PAP Patienten signifikant erhöhte Konzentrationen. In der Darstellung der SP-C Menge bezogen auf die Proteinmenge zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen. Die BALF Proben von juvenilen und adulten PAP Patienten zeigten sich im Vergleich zu den gesunden Kontrollen und den Kontrollen mit Bronchitis signifikant erhöhte SP-C Konzentrationen. Bezogen auf das Körpergewicht war nur in den Proben der juvenilen PAP Patienten die SP-C Menge signifikant erhöht. Zusätzlich wurde die SP-C Fraktion bezüglich der quantitativen Verteilung auf Monomer-, Dimer- und Trimerformen untersucht. In allen untersuchten Proben bildete das SP-C Monomer mit einem Molekulargewicht von ca. 4,2 kDa<sup>71;72</sup> den Hauptanteil der SP-C Fraktion. Bei einigen juvenilen und adulten PAP Patienten konnten zusätzlich Banden für das SP-C Dimer bei ca. 7 kDa<sup>71</sup>.

### **IV.1.6 SP-D**

Crouch et al.<sup>17</sup> und Honda et al.<sup>36</sup> konnten in der BALF von adulten PAP Patienten signifikant erhöhte SP-D Konzentrationen nachweisen. Dieses Ergebnis konnte unsere Untersuchung nur zum Teil bestätigen. Die juvenilen und adulten PAP Patienten zeigten nur erhöhte SP-D Konzentrationen im Vergleich zu den Kontrollen mit Bronchitis. Die lungengesunden Kontrollen zeigten pro ml Spülportion und bezogen auf das Körpergewicht keine signifikanten Unterschiede zu den PAP Patienten.

### **IV.1.7 Korrelation**

Obwohl die Gesamtproteinkonzentration; die Konzentration der einzelnen Surfactantproteine und der Phospholipide bei Patienten mit PAP gegenüber den Kontrollgruppen erhöht sind, zeigten die Parameter untereinander überwiegend keine signifikante Korrelation. Daraus lässt sich folgern, dass nicht alle Parameter bei einem PAP Patienten gleichermaßen erhöht sein müssen und die Analyse jedes einzelnen Parameters notwendig ist, um ein vollständiges Bild der intraalveolären Akkumulation der Protein- und Lipidfraktion zu erhalten.

## **IV.2 Auswaschkinetik**

Die Durchführung von therapeutischen bronchoalveolären Lavagen ist bei juvenilen und adulten PAP Patienten die Therapie der Wahl<sup>67;68</sup>. Doyle et al.<sup>19</sup> konnten eine kontinuierliche Auswaschkinetik der Parameter SP-A, SP-B und Phospholipide, Onodera et al.<sup>55</sup> der Parameter Protein und Phospholipide zeigen, jedoch stützten sich die Ergebnisse beider Arbeiten auf die Daten nur je eines Falls. Paschen et al.<sup>57</sup> untersuchten vor allem die Auswaschkinetik der Parameter Gesamtprotein und Phospholipide. Dieser Arbeit lagen die BALF mehrerer therapeutischer Lavagen von 4 juvenilen und 6 adulten PAP Patienten zu Grunde. In dieser Arbeit sollten die Parameter Gesamtprotein und SP-A, SP-B, SP-C und SP-D untersucht werden. Zusätzlich stand die BALF von einer therapeutischen Lavage eines Patienten mit der Diagnose Cholesterolpneumonitis zur Verfügung, der als Kontrollpatient zur Beurteilung der Auswaschkinetik dienen konnte. Diagnostische Poolproben von weiteren 10 lungengesunden Kindern wurden als Kontrolle verwendet. Diese Proben können allerdings nur mit den Ergebnissen der diagnostischen Poolproben der

juvenilen und adulten PAP Patienten verglichen werden, da diese Proben auf die gleiche Art gewonnen wurden. Von 3 adulten PAP Patienten wurde die Auswaschkinetik über die einzelnen Flaschen untersucht, von 3 weiteren Patienten standen Poolproben der diagnostischen und therapeutischen Lavage zur Verfügung. Die Proben von 3 der 4 juvenilen PAP Patienten, die Proben der 3 adulten PAP Patienten und des Kontrollpatienten zeigten eine hyperbole Auswaschkinetik der Gesamtproteinkonzentration über die Dauer der Lavage. Die Proteinkonzentration in den Proben der 10 gesunden Kontrollen lag signifikant unter den Werten, die in den diagnostischen Poolproben der juvenilen und adulten PAP Patienten gemessen wurden. In der Darstellung der Gesamtproteinmenge und der Proteinkonzentration bezogen auf das Körpergewicht wurde das Ergebnis bestätigt.

Die SP-A Konzentration in den untersuchten BALF Proben zeigte ein deutlich heterogeneres Bild. Die Proben von 3 der 4 juvenilen PAP Patienten zeigten wiederum eine hyperbole Auswaschkinetik, jedoch unterschied sich das Level der Messwerte stark. Die Proben der adulten PAP Patienten zeigten eine sehr ungleichmäßige Auswaschkinetik, der Kontrollpatient zeigte eine zu den PAP Patienten gegensätzliche Kinetik. Die SP-A Konzentration in den Proben der Kontrollen lag signifikant unter den Werten der PAP Patienten.

Bei der Untersuchung der SP-B Konzentration zeigte sich in den Proben von 3 der juvenilen PAP Patienten und bei allen 3 adulten PAP Patienten eine hyperbole Auswaschkinetik. Auch der Kontrollpatient zeigte die gleiche Kinetik. Die Proben der 10 gesunden Kontrollpatienten zeigten ebenfalls eine signifikant niedrigere SP-B Konzentration, als die diagnostischen Poolproben der PAP Patienten.

Die Proben aller 4 juvenilen PAP Patienten, der 3 adulten PAP Patienten und des Kontrollpatienten zeigten eine hyperbole Auswaschkinetik der SP-C Konzentration über die Spülportionen der Lavage. Bei der Analyse der diagnostischen Poolfraktionen zeigten die Kontrollpatienten signifikant niedrigere SP-C Konzentrationen, als die PAP Patienten.

Die Proben von 2 der 4 juvenilen PAP Patienten zeigen eine gleichmäßige hyperbole Auswaschkinetik. Die Proben der 3 adulten PAP Patienten und des Kontrollpatienten zeigen ebenfalls eine hyperbole Auswaschkinetik. Die SP-D Konzentration in den diagnostischen Poolproben der Kontrollen unterscheidet sich nicht signifikant von den Poolproben der PAP Patienten.

Oft werden zu diagnostischen Zwecken die zu untersuchenden Parameter in der Poolprobe der diagnostischen BAL durchgeführt. Durch den Vergleich der Ergebnisse in den Poolproben der diagnostischen BALF und den Proben der 1. Flasche der therapeutischen BALF konnte gezeigt werden, dass diese signifikant miteinander korrelieren und somit eine gewisse Vorhersage aus der diagnostischen Lavage auf die therapeutische möglich ist.

### **IV.3 Analyse der Lipidfraktion der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit**

Die Hauptkomponente der BALF bildet mit ca. 70 - 80 % Phospholipiden und 10 % Neutrallipiden die Lipidfraktion. Trotzdem findet man in der Literatur bisher wenige Untersuchungen der Lipide in der BALF von Patienten mit PAP. Onodera et al. fanden ca. 15-fach erhöhte Phospholipidkonzentrationen in der BALF von PAP Patienten. Untersuchungen der genauen Zusammensetzung der Lipidfraktion in der BALF bei Patienten mit PAP im Vergleich zu gesunden Kontrollen sind bisher nicht bekannt. In dieser Arbeit wurde zum ersten Mal die Lipidfraktion der BALF von 19 juvenilen und 15 adulten PAP Patienten im Vergleich zu 15 Patienten mit Bronchitis und 17 lungengesunden Kontrollpatienten im Einzelnen untersucht.

Es wurde die Gesamtlipidfraktion, verschiedene Phospholipide, Cholesterolester, freies Cholesterol, Ceramide und Sphingomyelin bestimmt. Durch die Verwendung einer ESI-MS / MS Methode<sup>50;51</sup> war eine Quantifizierung der einzelnen Spezies und deren Fraktionen möglich.

Es konnte gezeigt werden, dass die Konzentration der Gesamtphospholipide in der BALF von juvenilen und adulten PAP Patienten im Vergleich zu Kontrollpatienten signifikant erhöht ist. Auch die Cholesterolester- und die freie Cholesterolfraktion war im Vergleich zum Kontrollkollektiv signifikant erhöht. Bei der Darstellung der Konzentration der einzelnen PL Spezies in nmol/ ml zeigten die Proben der PAP Patienten signifikant höhere Konzentrationen an PC, LPC, PS, PG, PI und PE. Bezogen auf den Anteil an der Gesamt-PL Fraktion in % waren jedoch nicht alle Phospholipide in den BALF Proben der PAP Patienten erhöht. Die Analyse zeigte bei den PAP Patienten signifikant niedrigere Phosphatidylserin- und Phosphatidylethanolaminanteile an der Gesamt-PL Fraktion. Bei der Untersuchung der Phosphatidylglycerol- und Phosphatidylinositolfraktion fanden sich keine signifikanten Unterschiede. In den BALF Proben der juvenilen PAP Patienten war ein signifikant

erhöhter Phosphatidycholinanteil im Vergleich zu den adulten PAP Patienten nachweisbar, wogegen der Lysophosphatidylcholinanteil bei den adulten PAP Patienten gegenüber den juvenilen PAP Patienten signifikant erhöht war.

Diphosphatidylcholin (PC 32:0), das laut Literatur mit ca. 65 % den höchsten Anteil der Phosphatidylfraktion bilden soll, war in unseren Proben der PAP Patienten im Vergleich zu den Kontrollproben nicht signifikant erhöht. Der Anteil der Sphingomyelinspezies war in den Proben der PAP Patienten im Vergleich zu den Kontrollpatienten signifikant erhöht, wobei die dehydrierten Sphingomyelinspezies in den Proben der Kontrollgruppen signifikant höhere Anteile zeigten. Bezogen auf die absoluten Konzentrationen fanden sich in den BALF Proben der PAP Patienten sowohl signifikant höhere Dihydroxy-SPM als auch SPM Konzentrationen.

Bei der Analyse der Ceramid- und Glucosylceramidfraktion zeigten die Proben der PAP Patienten sowohl absolut signifikant erhöhte Konzentrationen, als auch bezogen auf den Anteil an der Gesamphospholipidfraktion in %.

Die Untersuchung der Cholesterolfraktion zeigte signifikant erhöhte Ceramidesterkonzentrationen im Vergleich zu den Bronchitisproben, die Konzentration an freiem Cholesterol war in den Proben der PAP Patienten gegenüber beiden Kontrollgruppen signifikant erhöht. Auffällig war, dass die gesättigten Cholesterolester bei den PAP Patienten nur ca. 40 %, im Vergleich zu ca. 80 % bei den Kontrollpatienten der Gesamfraktion bildeten. Dieser Unterschied ist hauptsächlich auf den hohen Anteil (ca. 75 %) der Spezies CE 20:0 an der Gesamfraktion in den Proben der Kontrollen zurückzuführen. In den Proben der PAP Patienten war die Fraktion des gesättigten CE 16:0 mit ca. 20 % bei den juvenilen und ca. 40 % bei den adulten PAP Patienten am größten.

#### **IV.4 Analyse von fibrillären SP-C Aggregaten in der Lunge**

Das extrem hydrophobe Surfactantprotein C, mit einer Größe von 4 kDa, stabilisiert nicht nur den Surfactantfilm in den Alveolen bei der Kompression und Expansion während der Atmung sondern moduliert auch die Phospholipidaufnahme in die Typ-II-Pneumozyten. Unter physiologischen Bedingungen liegt SP-C in einer  $\alpha$ -Helix vor, welche durch die Einbettung in die Phospholipiddoppelmembran stabilisiert ist. In vitro Versuche konnten zeigen, dass die Entfernung der beiden Palmitoylreste oder hohe SP-C Konzentrationen in wässrig organischen Lösungen zu einer irreversiblen

Umstrukturierung der  $\alpha$ -Helix Form in eine  $\beta$ -Faltblatt Struktur führt<sup>38,40</sup>. Diese  $\beta$ -Faltblatt Struktur ermöglicht eine Bildung von fibrillären Aggregaten, die sowohl in vitro, als auch bei Patienten mit pulmonaler Alveolarproteinose beschrieben wurden.

In dieser Arbeit sollte die bei Gustafsson et al.<sup>25</sup> beschriebene Methode zur Isolation und Detektion von Amyloidfibrillen optimiert werden, um den routinemäßigen Nachweis von Fibrillen als einen weiteren Parameter zur Diagnosestellung einer pulmonalen Alveolarproteinose einsetzen zu können. Hierfür wurden die BALF Proben von ausgewählten juvenilen- und adulten PAP Patienten mittels verschiedener Modifikationen der unter II.D.6 beschriebenen Methode aufgereinigt und anschließend mittels Western Blot Analyse und der Kongorotfärbung nach Puchtler<sup>62</sup> detektiert.

Zunächst wurde die Konzentration an SDS in der Waschlösung variiert. Eine 1 %ige SDS Lösung stellte sich als optimal heraus, da höhere konzentrierte SDS Waschlösungen zu einer Auflösung der fibrillären Aggregate führten.

Des weiteren wurde untersucht, ob sich durch mehrmaliges Waschen des Pellets das Muster der detektierten SP-C Banden im Pellet und Überstand verändert. Bei mehrmaligem Waschen nahm die Intensität der mittels Western Blot detektierten SP-C Banden deutlich zu, was sich durch eine Auflösung der Aggregate begründet.

Insgesamt konnte bei der zytologischen Untersuchung der mit Kongorot angefärbten Fibrillen nur bei einem juvenilen PAP Patienten eindeutig Fibrillen mit Amyloidstruktur nachgewiesen werden (siehe Abb.III.D.4.4). Nur diese Amyloidfibrillen zeigen unter polarisiertem Licht eine grün fluoreszierende Doppelbrechung. Die bei den anderen Patienten sichtbar werdende weißliche Doppelbrechung ist lediglich ein Zeichen für fibrilläre Aggregate, die nicht aus Amyloid bestehen. Da alle Patientenproben gleich isoliert und detektiert wurden gehen wir davon aus, dass nicht bei allen PAP Patienten Amyloidfibrillen ausgebildet werden und dass durch einen negativen Amyloidfibrillennachweis eine PAP Erkrankung nicht ausgeschlossen werden kann.

## V Zusammenfassung

Pulmonale Alveolarproteinosen sind seltene Erkrankungen, die durch eine Störung in der Surfactanthomöostase verursacht sind. Allen Patienten ist eine Anhäufung von protein- und lipidhaltigen Material in den Alveolaren gemein. Ursächlich sind bei Erwachsenen vor allem anti-GM-CSF Autoantikörper verantwortlich, diese spielen bei den kindlichen Formen kaum eine Rolle, hingegen sind hier in Einzelfällen Mutationen im Surfactantprotein B oder C Metabolismus beschrieben worden, meist sind die Ursachen jedoch unbekannt.

Ziel dieser Arbeit war die detaillierte Analyse der bronchoalveolären Surfactantanhäufungen an einem grossen Patientenkollektiv. Dazu wurden die biochemischen Parameter Gesamtprotein, Surfactantprotein (SP) SP-A, SP-B, SP-C SP-D sowie die Lipidzusammensetzung untersucht. Der Nachweis von GM-CSF Autoantikörpern erlaubte eine ätiologische Einteilung. Die Ergebnisse bei den Patienten mit juveniler und adulter pulmonaler Alveolarproteinose wurden den Werten eines Kontrollkollektivs aus lungengesunden Kindern und Bronchitispatienten gegenübergestellt. Die einzelnen Parameter wurden hinsichtlich ihrer Konzentration in der Lavageflüssigkeit, bezogen auf den Gesamtproteingehalt sowie in Relation zum Körpergewicht dargestellt und zwischen den Patientengruppen verglichen.

Die Proben der juvenilen und adulten PAP Patienten zeigten im Vergleich zu den Kontrollgruppen erhöhte Gesamtprotein- und Surfactantproteinkonzentrationen pro ml Spülportion. In Relation zum Körpergewicht war die Konzentration an Gesamtprotein, SP-A, SP-B und SP-C in den BALF Proben der juvenilen PAP Patienten im Vergleich zu den adulten PAP Patienten signifikant erhöht, bezogen auf die Proteinmenge wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Proben der PAP Patienten und Kontrollgruppen detektiert. Die Titer der GM-CSF Autoantikörper in der BALF und im Serum von PAP Patienten korrelierten signifikant, wobei alle untersuchten Proben der juvenilen PAP Patienten im Gegensatz zu den Proben der adulten PAP Patienten keine erhöhten Titer aufwiesen. Die zusätzlich untersuchten 5 BALF Proben von Bronchitispatienten zeigten keine erhöhten GM-CSF Autoantikörpertiter.

Ferner wurden die Auswaschkinetik der Parameter des Surfactantsystems in den Spülportionen der therapeutischen bronchoalveolären Lavage untersucht. Es konnte eine überwiegend hyperbole Auswaschkinetik gezeigt werden. Der Auswasch von

SP-A und SP-D unterschied sich von demjenigen von SP-B und SP-C. Dies deutet auf Unterschiede in der pulmonalen Verteilung dieser Surfactantproteine hin.

Für das Lipidprofil wurde massenspektrometrisch der Gehalt an Cholesterolestern, freiem Cholesterol, Sphingomyelin, Di-hydroxy-Sphingomyelin, Ceramid und Glucosyl-ceramid und an den Phospholipiden Phosphatidylcholin, Lysophosphatidylcholin, Phosphatidylserin, Phosphatidylglycerol, Phosphatidylinositol und Phosphatidylethanolamin sowie deren Fettsäurespezies bestimmt.

Die Konzentration an Cholesterolestern, freiem Cholesterol, Sphingomyelin, Di-hydroxy-Sphingomyelin, Ceramid und Glucosyl-ceramid und an den Gesamtphospholipiden war in den BALF Proben der juvenilen und adulten PAP Patienten im Vergleich zu den Kontrollgruppen signifikant erhöht. Auch bei Untersuchung der einzelnen Phospholipidspezies zeigten die Proben der PAP Patienten signifikant höhere PC-, LPC-, PS-, PG-, PI- und PE-Konzentrationen in der BALF als die Proben der Kontrollgruppen.

Die Bildung von fibrillären Aggregaten aus SP-C bei pulmonaler Alveolarproteinose wurde in der Literatur aus in vitro Experimenten und anhand der BALF Proben von einem adulten PAP Patienten beschrieben. Um dies an einem grösseren Kollektiv zu untersuchen, wurde einerseits fibrilläres SP-C nach Aufreinigung und anschließender Detektion über ein Western Blot Verfahren nachgewiesen und andererseits durch zytologische Färbung mit Kongorot direkt nach Fibrillen gesucht. Sowohl bei juvenilen als auch bei adulten PAP Patienten konnte die Bildung von fibrillären Aggregaten aus SP-C durch die Untersuchung verschiedener, jedoch hochangereicherter BALF Proben nachgewiesen werden. Allerdings liessen sich zytologisch kaum grössere Fibrillenmengen nachweisen. Daher spielen fibrilläre Aggregate als entscheidende pathogenitische intraalveoläre Faktoren eher eine untergeordnete Rolle.

Die hier erhobenen Daten beschreiben erstmals im Detail die Zusammensetzung von alveolärem Surfactant bei juveniler und adulter pulmonaler Alveolarproteinose bezüglich der vier relevanten Surfactantproteine SP-A, SP-B, SP-C und SP-D sowie der Lipidzusammensetzung. Die Daten erlauben eine phänotypische Einordnung des Surfactants bei pulmonaler Alveolarproteinose.

## VI ANHANG

### VI.1 Literaturverzeichnis

1. Adachi, H., H. Hayashi, H. Sato, K. Dempo, and T. Akino. 1989. Characterization of phospholipids accumulated in pulmonary-surfactant compartments of rats intratracheally exposed to silica. *Biochem.J.* 262:781-786.
2. Almlen, A., G. Stichtenoth, B. Robertson, J. Johansson, and T. Curstedt. 2007. Concentration Dependence of a Poly-Leucine Surfactant Protein C Analogue on in vitro and in vivo Surfactant Activity. *Neonatology.* 92:194-200.
3. Auten, R. L., R. H. Watkins, D. L. Shapiro, and S. Horowitz. 1990. Surfactant apoprotein A (SP-A) is synthesized in airway cells. *Am.J.Respir.Cell Mol.Biol.* 3:491-496.
4. Baatz, J. E., Y. Zou, J. T. Cox, Z. Wang, and R. H. Notter. 2001. High-yield purification of lung surfactant proteins sp-b and sp-c and the effects on surface activity. *Protein Expr Purif.* 23:180-190.
5. Batenburg, J. J. 1992. Surfactant phospholipids: synthesis and storage. *Am.J.Physiol* 262:L367-L385.
6. Beck, D. C., M. Ikegami, C. L. Na, S. Zaltash, J. Johansson, J. A. Whitsett, and T. E. Weaver. 2000. The role of homodimers in surfactant protein B function in vivo. *J.Biol.Chem.* 275:3365-3370.
7. Bell, D. Y. and G. E. Hook. 1979. Pulmonary alveolar proteinosis: analysis of airway and alveolar proteins. *Am.Rev.Respir.Dis.* 119:979-990.
8. Bonfield, T. L., M. S. Kavuru, and M. J. Thomassen. 2002. Anti-GM-CSF titer predicts response to GM-CSF therapy in pulmonary alveolar proteinosis. *Clin.Immunol.* 105:342-350.
9. Bonfield, T. L., D. Russell, S. Burgess, A. Malur, M. S. Kavuru, and M. J. Thomassen. 2002. Autoantibodies against granulocyte macrophage colony-stimulating factor are diagnostic for pulmonary alveolar proteinosis. *Am.J.Respir.Cell Mol.Biol.* 27:481-486.
10. Brasch, F., J. Birzele, M. Ochs, S. H. Guttentag, O. D. Schoch, A. Boehler, M. F. Beers, K. M. Muller, S. Hawgood, and G. Johnen. 2004. Surfactant proteins in pulmonary alveolar proteinosis in adults. *Eur.Respir.J.* 24:426-435.
11. Brasch, F. and K. M. Muller. 2004. [Classification of pulmonary alveolar proteinosis in newborns, infants, and children]. *Pathologe* 25:299-309.
12. Bunger, H., L. Kaufner, and U. Pison. 2000. Quantitative analysis of hydrophobic pulmonary surfactant proteins by high-performance liquid chromatography with light-scattering detection. *J.Chromatogr.A* 870:363-369.

13. Carnovale, R., J. Zornoza, A. M. Goldman, and M. Luna. 1977. Pulmonary alveolar proteinosis: its association with hematologic malignancy and lymphoma. *Radiology* 122:303-306.
14. Chander, A. and A. B. Fisher. 1990. Regulation of lung surfactant secretion. *Am.J.Physiol* 258:L241-L253.
15. Cordonnier, C., J. Fleury-Feith, E. Escudier, K. Atassi, and J. F. Bernaudin. 1994. Secondary alveolar proteinosis is a reversible cause of respiratory failure in leukemic patients. *Am.J.Respir.Crit Care Med.* 149:788-794.
16. Creuwels, L. A., L. M. van Golde, and H. P. Haagsman. 1997. The pulmonary surfactant system: biochemical and clinical aspects. *Lung* 175:1-39.
17. Crouch, E., A. Persson, and D. Chang. 1993. Accumulation of surfactant protein D in human pulmonary alveolar proteinosis. *Am.J.Pathol.* 142:241-248.
18. Curstedt, T., J. Johansson, P. Persson, A. Eklund, B. Robertson, B. Lowenadler, and H. Jornvall. 1990. Hydrophobic surfactant-associated polypeptides: SP-C is a lipopeptide with two palmitoylated cysteine residues, whereas SP-B lacks covalently linked fatty acyl groups. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 87:2985-2989.
19. Doyle, I. R., K. G. Davidson, H. A. Barr, T. E. Nicholas, K. Payne, and J. Pfitzner. 1998. Quantity and structure of surfactant proteins vary among patients with alveolar proteinosis. *Am.J.Respir.Crit Care Med.* 157:658-664.
20. Griese, M. 1999. Pulmonary surfactant in health and human lung diseases: state of the art. *Eur.Respir.J.* 13:1455-1476.
21. Griese, M., M. Bahuau, and M. Tredano. 2001. Pulmonale Alveolarproteinosen: Molekulare Grundlagen und Konsequenzen für Diagnostik und Therapie. *Monatsschr.Kinderheilkd.*
22. Griese, M., T. Nicolai, M. Bahuau, and M. Tredano. 2002. Molekulare Grundlagen und Klinik der pulmonalen Alveolarproteinosen. *Dtsch Ärzteblatt.*
23. Griese, M., S. Schumacher, M. Tredano, M. Steinecker, A. Braun, S. Guttentag, M. F. Beers, and M. Bahuau. 2005. Expression profiles of hydrophobic surfactant proteins in children with diffuse chronic lung disease. *Respir.Res.* 6:80.
24. Gustafsson, M., W. J. Griffiths, E. Furusjo, and J. Johansson. 2001. The palmitoyl groups of lung surfactant protein C reduce unfolding into a fibrillogenic intermediate. *J.Mol.Biol.* 310:937-950.
25. Gustafsson, M., J. Thyberg, J. Naslund, E. Eliasson, and J. Johansson. 1999. Amyloid fibril formation by pulmonary surfactant protein C. *FEBS Lett.* 464:138-142.
26. Haagsman, H. P. 2002. Structural and functional aspects of the collectin SP-A. *Immunobiology* 205:476-489.

27. Haagsman, H. P., R. H. Elfring, B. L. van Buel, and W. F. Voorhout. 1991. The lung lectin surfactant protein A aggregates phospholipid vesicles via a novel mechanism. *Biochem.J.* 275 ( Pt 1):273-276.
28. Haagsman, H. P. and L. M. van Golde. 1991. Synthesis and assembly of lung surfactant. *Annu.Rev.Physiol* 53:441-464.
29. Haagsman, H. P., R. T. White, J. Schilling, K. Lau, B. J. Benson, J. Golden, S. Hawgood, and J. A. Clements. 1989. Studies of the structure of lung surfactant protein SP-A. *Am.J.Physiol* 257:L421-L429.
30. Hawgood, S. 1989. Pulmonary surfactant apoproteins: a review of protein and genomic structure. *Am.J.Physiol* 257:L13-L22.
31. Hawgood, S. 2004. Surfactant protein B: structure and function. *Biol.Neonate* 85:285-289.
32. Hawgood, S., B. J. Benson, J. Schilling, D. Damm, J. A. Clements, and R. T. White. 1987. Nucleotide and amino acid sequences of pulmonary surfactant protein SP 18 and evidence for cooperation between SP 18 and SP 28-36 in surfactant lipid adsorption. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 84:66-70.
33. Hawgood, S., H. Efrati, J. Schilling, and B. J. Benson. 1985. Chemical characterization of lung surfactant apoproteins: amino acid composition, N-terminal sequence and enzymic digestion. *Biochem.Soc.Trans.* 13:1092-1096.
34. Hawgood, S., D. Latham, J. Borchelt, D. Damm, T. White, B. Benson, and J. R. Wright. 1993. Cell-specific posttranslational processing of the surfactant-associated protein SP-B. *Am.J.Physiol* 264:L290-L299.
35. Honda, Y., T. Fujishima, Y. Imai, H. Takahashi, Y. Kuroki, T. Akino, and S. Abe. 1996. [Surfactant protein A in bronchoalveolar lavage fluid from patients with idiopathic interstitial pneumonia]. *Nihon Kyobu Shikkan Gakkai Zasshi* 34:1326-1330.
36. Honda, Y., Y. Kuroki, E. Matsuura, H. Nagae, H. Takahashi, T. Akino, and S. Abe. 1995. Pulmonary surfactant protein D in sera and bronchoalveolar lavage fluids. *Am.J.Respir.Crit Care Med.* 152:1860-1866.
37. Honda, Y., H. Takahashi, N. Shijubo, Y. Kuroki, and T. Akino. 1993. Surfactant protein-A concentration in bronchoalveolar lavage fluids of patients with pulmonary alveolar proteinosis. *Chest* 103:496-499.
38. Johansson, J. 1998. Structure and properties of surfactant protein C. *Biochim.Biophys.Acta* 1408:161-172.
39. Johansson, J. 2001. Membrane properties and amyloid fibril formation of lung surfactant protein C. *Biochem.Soc.Trans.* 29:601-606.
40. Johansson, J. 2003. Molecular determinants for amyloid fibril formation: lessons from lung surfactant protein C. *Swiss.Med.Wkly.* 133:275-282.

41. Johansson, J., T. Curstedt, and H. Jornvall. 1991. Surfactant protein B: disulfide bridges, structural properties, and kringle similarities. *Biochemistry* 30:6917-6921.
42. Johansson, J., H. Jornvall, and T. Curstedt. 1992. Human surfactant polypeptide SP-B. Disulfide bridges, C-terminal end, and peptide analysis of the airway form. *FEBS Lett.* 301:165-167.
43. Johansson, J., T. E. Weaver, and L. O. Tjernberg. 2004. Proteolytic generation and aggregation of peptides from transmembrane regions: lung surfactant protein C and amyloid beta-peptide. *Cell Mol.Life Sci.* 61:326-335.
44. Kerwin, J. L., A. R. Tuininga, and L. H. Ericsson. 1994. Identification of molecular species of glycerophospholipids and sphingomyelin using electrospray mass spectrometry. *J.Lipid Res.* 35:1102-1114.
45. Kitamura, T., N. Tanaka, J. Watanabe, Uchida, S. Kanegasaki, Y. Yamada, and K. Nakata. 1999. Idiopathic pulmonary alveolar proteinosis as an autoimmune disease with neutralizing antibody against granulocyte/macrophage colony-stimulating factor. *J.Exp.Med.* 190:875-880.
46. Kosacka, M., T. Dyla, and R. Jankowska. 2004. [Alveolar proteinosis after professional exposure to cotton and linen dust, successfully treated with whole lung lavage--a case report]. *Pneumonol.Alergol.Pol.* 72:217-220.
47. Kramer, H. J., R. Schmidt, A. Gunther, G. Becker, Y. Suzuki, and W. Seeger. 1995. ELISA technique for quantification of surfactant protein B (SP-B) in bronchoalveolar lavage fluid. *Am.J.Respir.Crit Care Med.* 152:1540-1544.
48. Ladeb, S., J. Fleury-Feith, E. Escudier, V. N. Tran, J. F. Bernaudin, and C. Cordonnier. 1996. Secondary alveolar proteinosis in cancer patients. *Support.Care Cancer* 4:420-426.
49. Latzin, P., M. Tredano, Y. Wust, J. de Blic, T. Nicolai, B. Bewig, F. Stanzel, D. Kohler, M. Bahuau, and M. Griese. 2005. Anti-GM-CSF antibodies in paediatric pulmonary alveolar proteinosis. *Thorax* 60:39-44.
50. Liebisch, G., M. Binder, R. Schifferer, T. Langmann, B. Schulz, and G. Schmitz. 2006. High throughput quantification of cholesterol and cholesteryl ester by electrospray ionization tandem mass spectrometry (ESI-MS/MS). *Biochim.Biophys.Acta* 1761:121-128.
51. Liebisch, G., W. Drobnik, B. Lieser, and G. Schmitz. 2002. High-throughput quantification of lysophosphatidylcholine by electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Clin.Chem.* 48:2217-2224.
52. Nogee, L. M., D. E. de Mello, L. P. Dehner, and H. R. Colten. 1993. Brief report: deficiency of pulmonary surfactant protein B in congenital alveolar proteinosis. *N.Engl.J.Med.* 328:406-410.

53. Nogee, L. M., S. E. Wert, S. A. Proffit, W. M. Hull, and J. A. Whitsett. 2000. Allelic heterogeneity in hereditary surfactant protein B (SP-B) deficiency. *Am.J.Respir.Crit Care Med.* 161:973-981.
54. Ogasawara, Y., Y. Kuroki, and T. Akino. 1992. Pulmonary surfactant protein D specifically binds to phosphatidylinositol. *J.Biol.Chem.* 267:21244-21249.
55. Onodera, T., M. Nakamura, T. Sato, and T. Akino. 1983. Biochemical characterization of pulmonary washings of patients with alveolar proteinosis, interstitial pneumonitis and alveolar cell carcinoma. *Tohoku J.Exp.Med.* 139:245-263.
56. Oosterlaken-Dijksterhuis, M. A., H. P. Haagsman, L. M. van Golde, and R. A. Demel. 1991. Characterization of lipid insertion into monomolecular layers mediated by lung surfactant proteins SP-B and SP-C. *Biochemistry* 30:10965-10971.
57. Paschen, C., K. Reiter, F. Stanzel, H. Teschler, and M. Griese. 2005. Therapeutic lung lavages in children and adults. *Respir.Res.* 6:138.
58. Pastrana, B., A. J. Mautone, and R. Mendelsohn. 1991. Fourier transform infrared studies of secondary structure and orientation of pulmonary surfactant SP-C and its effect on the dynamic surface properties of phospholipids. *Biochemistry* 30:10058-10064.
59. Phelps, D. S. and J. Floros. 1991. Localization of pulmonary surfactant proteins using immunohistochemistry and tissue in situ hybridization. *Exp.Lung Res.* 17:985-995.
60. Poulain, F. R., L. Allen, M. C. Williams, R. L. Hamilton, and S. Hawgood. 1992. Effects of surfactant apolipoproteins on liposome structure: implications for tubular myelin formation. *Am.J.Physiol* 262:L730-L739.
61. Prakash, U. B., S. S. Barham, H. A. Carpenter, D. E. Dines, and H. M. Marsh. 1987. Pulmonary alveolar phospholipoproteinosis: experience with 34 cases and a review. *Mayo Clin.Proc.* 62:499-518.
62. Puchtler, H. and F. Sweat. 1965. Congo red as a stain for fluorescence microscopy of amyloid. *J.Histochem.Cytochem.* 13:693-694.
63. Qanbar, R. and F. Possmayer. 1994. A quantitative method for detecting surfactant-associated protein C in pulmonary surfactant. *Anal.Biochem.* 216:262-270.
64. ROSEN, S. H., B. CASTLEMAN, and A. A. LIEBOW. 1958. Pulmonary alveolar proteinosis. *N.Engl.J.Med.* 258:1123-1142.
65. Ruben, F. L. and T. S. Talamo. 1986. Secondary pulmonary alveolar proteinosis occurring in two patients with acquired immune deficiency syndrome. *Am.J.Med.* 80:1187-1190.

66. Schmidt, R., W. Steinhilber, C. Ruppert, C. Daum, F. Grimminger, W. Seeger, and A. Gunther. 2002. An ELISA technique for quantification of surfactant apoprotein (SP)-C in bronchoalveolar lavage fluid. *Am.J.Respir.Crit Care Med.* 165:470-474.
67. Selecky, P. A., K. Wasserman, J. R. Benfield, and M. Lippmann. 1977. The clinical and physiological effect of whole-lung lavage in pulmonary alveolar proteinosis: a ten-year experience. *Ann.Thorac.Surg.* 24:451-461.
68. Seymour, J. F. and J. J. Presneill. 2002. Pulmonary alveolar proteinosis: progress in the first 44 years. *Am.J.Respir.Crit Care Med.* 166:215-235.
69. Shah, P. L., D. Hansell, P. R. Lawson, K. B. Reid, and C. Morgan. 2000. Pulmonary alveolar proteinosis: clinical aspects and current concepts on pathogenesis. *Thorax* 55:67-77.
70. Stults, J. T., P. R. Griffin, D. D. Lesikar, A. Naidu, B. Moffat, and B. J. Benson. 1991. Lung surfactant protein SP-C from human, bovine, and canine sources contains palmityl cysteine thioester linkages. *Am.J.Physiol* 261:L118-L125.
71. ten Brinke, A., L. M. van Golde, and J. J. Batenburg. 2002. Palmitoylation and processing of the lipopeptide surfactant protein C. *Biochim.Biophys.Acta* 1583:253-265.
72. Tredano, M., J. de Blic, M. Griese, J. C. Fournet, J. Elion, and M. Bahuau. 2001. Clinical biological and genetic heterogeneity of the inborn errors of pulmonary surfactant metabolism. *Clin.Chem.Lab Med.* 39:90-108.
73. Tredano, M., M. Griese, F. Brasch, S. Schumacher, J. de Blic, S. Marque, C. Houdayer, J. Elion, R. Couderc, and M. Bahuau. 2004. Mutation of SFTPC in infantile pulmonary alveolar proteinosis with or without fibrosing lung disease. *Am.J.Med.Genet.A* 126:18-26.
74. Tredano, M., R. M. van Elburg, A. G. Kaspers, L. J. Zimmermann, C. Houdayer, P. Aymard, W. M. Hull, J. A. Whitsett, J. Elion, M. Griese, and M. Bahuau. 1999. Compound SFTPB 1549C-->GAA (121ins2) and 457delC heterozygosity in severe congenital lung disease and surfactant protein B (SP-B) deficiency. *Hum.Mutat.* 14:502-509.
75. van Eijk, M., C. G. De Haas, and H. P. Haagsman. 1995. Quantitative analysis of pulmonary surfactant proteins B and C. *Anal.Biochem.* 232:231-237.
76. van Golde, L. M., J. J. Batenburg, and B. Robertson. 1988. The pulmonary surfactant system: biochemical aspects and functional significance. *Physiol Rev.* 68:374-455.
77. van Iwaarden, J. F., H. Shimizu, P. H. Van Golde, D. R. Voelker, and L. M. Van Golde. 1992. Rat surfactant protein D enhances the production of oxygen radicals by rat alveolar macrophages. *Biochem.J* 286 ( Pt 1):5-8.

78. Vandenbussche, G., A. Clercx, T. Curstedt, J. Johansson, H. Jornvall, and J. M. Ruyschaert. 1992. Structure and orientation of the surfactant-associated protein C in a lipid bilayer. *Eur.J.Biochem.* 203:201-209.
79. Williams, M. C., S. Hawgood, and R. L. Hamilton. 1991. Changes in lipid structure produced by surfactant proteins SP-A, SP-B, and SP-C. *Am.J.Respir.Cell Mol.Biol.* 5:41-50.
80. Wustneck, N., R. Wustneck, J. Perez-Gil, and U. Pison. 2003. Effects of oligomerization and secondary structure on the surface behavior of pulmonary surfactant proteins SP-B and SP-C. *Biophys.J.* 84:1940-1949.
81. Young, S. L., S. A. Kremers, J. S. Apple, J. D. Crapo, and G. W. Brumley. 1981. Rat lung surfactant kinetics biochemical and morphometric correlation. *J.Appl.Physiol* 51:248-253.



**Protein ( $\mu\text{g}/\text{ml}/\text{kg}$ )**

	<b>PAP juvenil 1.FI.</b>		<b>PAP adult 1.FI/Pool</b>		<b>Bronchitis Pool</b>		<b>Kontrollen Pool</b>	
	<b>Pj01</b>	85,10	<b>Pa01</b>	18,71	<b>B01</b>	3,00	<b>C01</b>	4,00
	<b>Pj02</b>	164,44	<b>Pa02</b>	4,90	<b>B02</b>	10,00	<b>C02</b>	3,00
	<b>Pj03</b>	16,98	<b>Pa03</b>	3,56	<b>B03</b>	5,00	<b>C03</b>	7,00
	<b>Pj04</b>	32,47	<b>Pa04</b>	95,00	<b>B04</b>	11,00	<b>C04</b>	7,00
	<b>Pj05</b>	222,86	<b>Pa05</b>	6,00	<b>B05</b>	45,00	<b>C05</b>	4,00
	<b>Pj06</b>	57,41	<b>Pa06</b>	54,00	<b>B06</b>	20,00	<b>C06</b>	10,00
	<b>Pj07</b>	139,74	<b>Pa07</b>	4,00	<b>B07</b>	24,00	<b>C07</b>	14,00
	<b>Pj08</b>	89,88	<b>Pa08</b>	4,00	<b>B08</b>	74,00	<b>C08</b>	8,00
	<b>Pj09</b>	86,43	<b>Pa09</b>	32,00	<b>B09</b>	13,00	<b>C09</b>	6,00
	<b>Pj10</b>	257,03	<b>Pa10</b>	13,00	<b>B10</b>	10,00	<b>C10</b>	1,00
	<b>Pj11</b>	64,36	<b>Pa11</b>	18,00	<b>B11</b>	23,00	<b>C11</b>	3,00
	<b>Pj12</b>	149,89	<b>Pa12</b>	22,00	<b>B12</b>	37,00	<b>C12</b>	4,00
	<b>Pj13</b>	329,67	<b>Pa13</b>	4,00	<b>B13</b>	24,00	<b>C13</b>	3,00
	<b>Pj14</b>	29,33	<b>Pa14</b>	86,00	<b>B14</b>	29,00	<b>C14</b>	2,00
	<b>Pj15</b>	174,93	<b>Pa15</b>	33,00	<b>B15</b>	39,00	<b>C15</b>	2,00
	<b>Pj16</b>	325,11	<b>Pa16</b>	16,00			<b>C16</b>	2,00
	<b>Pj17</b>	302,24						
	<b>Pj18</b>	144,43						
	<b>Pj19</b>	65,75						
	<b>Pj20</b>	261,02						
<b>Minimum</b>		16,98		3,56		1		3
<b>25% Percentile</b>		65,06		4,45		2,5		10
<b>Median</b>		142,1		17,00		4		23
<b>75% Percentile</b>		239,9		32,50		7		37
<b>Maximum</b>		329,7		95,00		14		74
<b>Mittelwert (MW)</b>		150		25,89		5		24,47
<b>Standardabweichung</b>		101,9		28,79		3,483		18,63
<b>Standardfehler</b>		22,78		7,20		0,8708		4,81
<b>Unteres 95% CI (MW)</b>		102,3		10,54		3,144		14,15
<b>Oberes 95% CI (MW)</b>		197,6		41,23		6,856		34,78



**SP-A (µg/ml)**

	PAP juvenil 1.FI.		PAP adult 1.FI/Pool		Bronchitis Pool		Kontrollen Pool	
	Pj01	74,69	Pa01	736,07	B01	0,45	C01	2,09
	Pj02	31,44	Pa02	1492,00	B02	0,83	C02	17,73
	Pj03	17,17	Pa03	20,37	B03	14,53	C03	9,94
	Pj04	94,12	Pa04	6629,10	B04	5,36	C04	4,50
	Pj05	42,20	Pa05	4990,00	B05	6,01	C05	6,05
	Pj06	58,66	Pa06	1425,16	B06	5,34	C06	8,07
	Pj07	95,38	Pa07	31,76	B07	3,28	C07	10,29
	Pj08	48,62	Pa08	24,63	B08	3,64	C08	12,30
	Pj09	88,83	Pa09	1450,50	B09	7,84	C09	9,89
	Pj10	48,39	Pa10	33,52	B10	4,24	C10	2,28
	Pj11	25,64	Pa11	180,80	B11	6,30	C11	
	Pj12	54,77	Pa12	415,90	B12	4,18	C12	
	Pj13	94,89	Pa13	15,35	B13	3,08	C13	
	Pj14	94,11	Pa14	1319,50	B14	6,64	C14	
	Pj15	58,66	Pa15	723,60	B15	6,00	C15	
	Pj16	38,56	Pa16	150,50			C16	
	Pj17	46,26						
	Pj18	26,86						
	Pj19	33,67						
	Pj20	83,38						
<b>Minimum</b>		17,17		15,35		2,09		0,45
<b>25% Percentile</b>		36,12		32,64		3,39		3,28
<b>Median</b>		51,7		569,8		8,98		5,34
<b>75% Percentile</b>		86,11		1438		11,3		6,3
<b>Maximum</b>		95,38		6629		17,73		14,53
<b>Mittelwert (MW)</b>		57,82		1227		8,314		5,181
<b>Standardabweichung</b>		26,34		1900		4,813		3,304
<b>Standardfehler</b>		5,889		475,0		1,522		0,8532
<b>Unteres 95% CI (MW)</b>		45,49		215,1		4,871		3,351
<b>Oberes 95% CI (MW)</b>		70,14		2240		11,76		7,011

**SP-A (µg/ml/kg)**

	PAP juvenil 1.FI.		PAP adult 1.FI/Pool		Bronchitis Pool		Kontrollen Pool	
	Pj01	5,15	Pa01	10,52	B01	0,01	C01	0,16
	Pj02	6,99	Pa02	26,64	B02	0,04	C02	0,89
	Pj03	3,99	Pa03	0,36	B03	0,27	C03	0,88
	Pj04	3,14	Pa04	118,38	B04	0,30	C04	0,41
	Pj05	10,05	Pa05	62,38	B05	0,75	C05	0,55
	Pj06	2,27	Pa06	15,66	B06	0,59	C06	0,95
	Pj07	8,15	Pa07	0,45	B07	0,23	C07	1,47
	Pj08	5,93	Pa08	0,31	B08	0,59	C08	1,23
	Pj09	12,69	Pa09	20,72	B09	0,44	C09	0,90
	Pj10	12,84	Pa10	0,47	B10	0,24	C10	0,06
	Pj11	2,33	Pa11	1,61	B11	0,53	C11	
	Pj12	6,09	Pa12	3,78	B12	0,52	C12	
	Pj13	31,63	Pa13	0,19	B13	0,26	C13	
	Pj14	7,02	Pa14	22,36	B14	0,60	C14	
	Pj15	4,31	Pa15	9,05	B15	0,60	C15	
	Pj16	8,20	Pa16	2,21			C16	
	Pj17	6,90						
	Pj18	3,84						
	Pj19	3,18						
	Pj20	14,13						
<b>Minimum</b>		2,27		0,19		0,06		0,01
<b>25% Percentile</b>		3,915		0,46		0,285		0,24
<b>Median</b>		6,495		6,415		0,885		0,44
<b>75% Percentile</b>		9,125		21,54		1,09		0,59
<b>Maximum</b>		31,63		118,4		1,47		0,75
<b>Mittelwert (MW)</b>		7,942		18,44		0,75		0,398
<b>Standardabweichung</b>		6,584		38,85		0,4506		0,222
<b>Standardfehler</b>		1,472		7,79		0,1425		0,05733
<b>Unteres 95% CI (MW)</b>		4,86		1,84		0,4276		0,275
<b>Oberes 95% CI (MW)</b>		11,02		35,05		1,072		0,521

SP-A / Protein ( $\mu\text{g}/\mu\text{g}$ )

	PAP juvenil 1.FI.		PAP adult 1.FI/Pool		Bronchitis Pool		Kontrollen Pool	
	Pj01	0,06	Pa01	0,56	B01	0,01	C01	0,05
	Pj02	0,04	Pa02	5,44	B02	0,00	C02	0,31
	Pj03	0,24	Pa03	0,10	B03	0,06	C03	0,13
	Pj04	0,10	Pa04	1,25	B04	0,03	C04	0,06
	Pj05	0,05	Pa05	10,44	B05	0,02	C05	0,13
	Pj06	0,18	Pa06	0,29	B06	0,03	C06	0,10
	Pj07	0,06	Pa07	0,10	B07	0,01	C07	0,11
	Pj08	0,07	Pa08	0,07	B08	0,01	C08	0,16
	Pj09	0,15	Pa09	0,64	B09	0,03	C09	0,15
	Pj10	0,05	Pa10	0,04	B10	0,02	C10	0,05
	Pj11	0,04	Pa11	0,09	B11	0,02	C11	
	Pj12	0,04	Pa12	0,17	B12	0,01	C12	
	Pj13	0,10	Pa13	0,05	B13	0,01	C13	
	Pj14	0,24	Pa14	0,26	B14	0,02	C14	
	Pj15	0,02	Pa15	0,27	B15	0,02	C15	
	Pj16	0,03	Pa16	0,14			C16	
	Pj17	0,02						
	Pj18	0,03						
	Pj19	0,05						
	Pj20	0,05						
<b>Minimum</b>		0,02		0,04		0,05		0,00
<b>25% Percentile</b>		0,04		0,10		0,05		0,01
<b>Median</b>		0,05		0,22		0,12		0,02
<b>75% Percentile</b>		0,10		0,60		0,16		0,03
<b>Maximum</b>		0,24		10,44		0,31		0,06
<b>Mittelwert (MW)</b>		0,08		1,244		0,12		0,02
<b>Standardabweichung</b>		0,07		2,79		0,08		0,01
<b>Standardfehler</b>		0,02		0,70		0,02		0,00
<b>Unteres 95% CI (MW)</b>		0,05		-0,24		0,07		0,01
<b>Oberes 95% CI (MW)</b>		0,11		2,73		0,18		0,03

## SP-B (ng/ml)

	PAP juvenil 1.FI.		PAP adult 1.FI/Pool		Bronchitis Pool		Kontrollen Pool	
	Pj01	5005,64	Pa01	1713,22	B01	105,25	C01	178,29
	Pj02	4903,62	Pa02	372,01	B02	210,86	C02	
	Pj03	485,90	Pa03	225,89	B03	651,30	C03	1003,26
	Pj04	3988,11	Pa04	5439,29	B04	419,22	C04	
	Pj05	1574,55	Pa05	1009,22	B05	715,22	C05	142,23
	Pj06	584,08	Pa06	6065,17	B06	247,00	C06	
	Pj07	1944,76	Pa07	1438,21	B07	301,00	C07	1449,81
	Pj08	4010,08	Pa08	1395,42	B08	158,00	C08	
	Pj09	2074,91	Pa09	6406,19	B09	70,00	C09	
	Pj10	3447,32	Pa10	1634,68	B10	78,00	C10	
	Pj11	1103,78	Pa11	1739,05	B11	29,00	C11	1097,59
	Pj12	5092,92	Pa12	3463,58	B12	790,00	C12	301,57
	Pj13	2665,69	Pa13	482,41	B13	482,00	C13	1067,51
	Pj14	1094,32	Pa14	3407,36	B14	48,00	C14	445,82
	Pj15	4681,04	Pa15	4929,69	B15	72,00	C15	305,86
	Pj16	4407,97	Pa16	3295,10			C16	196,69
	Pj17	4645,86						
	Pj18	4045,63						
	Pj19	3274,00						
	Pj20	6251,61						
<b>Minimum</b>		485,90		225,9		142,20		29,00
<b>25% Percentile</b>		1760,00		1202		187,50		72,00
<b>Median</b>		3718,00		1726		375,80		210,90
<b>75% Percentile</b>		4663,00		4197		1083,00		482,00
<b>Maximum</b>		6252,00		6406		1450,00		790,00
<b>Mittelwert (MW)</b>		3264,00		2689		618,90		291,80
<b>Standardabweichung</b>		1710,00		2075		482,70		259,40
<b>Standardfehler</b>		382,50		518,9		152,60		66,98
<b>Unteres 95% CI (MW)</b>		2464		1583		273,6		148,1
<b>Oberes 95% CI (MW)</b>		4065		3794		964,2		435,5

**SP-B (ng/ml/kg)**

	PAP juvenil 1.FI.		PAP adult 1.FI/Pool		Bronchitis Pool		Kontrollen Pool	
	Pj01	345,22	Pa01	24,47	B01	3,40	C01	13,71
	Pj02	1089,69	Pa02	6,64	B02	9,58	C02	
	Pj03	113,00	Pa03	4,03	B03	12,06	C03	88,78
	Pj04	132,94	Pa04	97,13	B04	23,29	C04	
	Pj05	374,89	Pa05	12,62	B05	89,40	C05	12,93
	Pj06	22,64	Pa06	66,65	B06	27,44	C06	
	Pj07	166,22	Pa07	20,55	B07	21,50	C07	207,12
	Pj08	489,03	Pa08	17,44	B08	25,48	C08	
	Pj09	296,42	Pa09	91,52	B09	3,89	C09	
	Pj10	914,41	Pa10	22,70	B10	4,38	C10	
	Pj11	100,34	Pa11	15,53	B11	2,46	C11	43,90
	Pj12	565,88	Pa12	31,49	B12	98,75	C12	17,74
	Pj13	888,56	Pa13	6,03	B13	40,17	C13	42,70
	Pj14	81,67	Pa14	57,75	B14	4,36	C14	26,22
	Pj15	344,19	Pa15	61,62	B15	7,20	C15	10,55
	Pj16	937,87	Pa16	48,46			C16	5,62
	Pj17	693,41						
	Pj18	577,95						
	Pj19	308,87						
	Pj20	1059,59						
<b>Minimum</b>		22,64		4,030		5,62		2,46
<b>25% Percentile</b>		149,60		14,08		11,74		4,36
<b>Median</b>		360,10		23,59		21,98		12,06
<b>75% Percentile</b>		791,00		59,69		66,34		27,44
<b>Maximum</b>		1090,00		97,13		207,10		98,75
<b>Mittelwert (MW)</b>		475,10		36,54		46,93		24,89
<b>Standardabweichung</b>		348,80		30,22		61,47		30,27
<b>Standardfehler</b>		77,99		7,555		19,44		7,82
<b>Unteres 95% CI (MW)</b>		311,90		20,44		2,95		8,13
<b>Oberes 95% CI (MW)</b>		638,40		52,64		90,90		41,66

**SP-B / Protein (ng/µg)**

	PAP juvenil 1.FI.		PAP adult 1.FI/Pool		Bronchitis Pool		Kontrollen Pool	
	Pj01	4,06	Pa01	1,31	B01	1,13	C01	3,83
	Pj02	2,35	Pa02	1,36	B02	0,98	C02	
	Pj03	1,72	Pa03	1,13	B03	2,52	C03	13,01
	Pj04	4,09	Pa04	1,02	B04	2,08	C04	
	Pj05	1,68	Pa05	2,11	B05	2,00	C05	3,01
	Pj06	1,75	Pa06	1,23	B06	1,39	C06	
	Pj07	1,19	Pa07	4,64	B07	0,89	C07	14,90
	Pj08	5,44	Pa08	4,04	B08	0,34	C08	
	Pj09	3,43	Pa09	2,84	B09	0,30	C09	
	Pj10	3,56	Pa10	1,75	B10	0,44	C10	
	Pj11	1,56	Pa11	0,88	B11	0,10	C11	14,71
	Pj12	3,78	Pa12	1,45	B12	2,71	C12	4,57
	Pj13	2,70	Pa13	1,72	B13	1,69	C13	15,25
	Pj14	2,78	Pa14	0,67	B14	0,15	C14	11,73
	Pj15	1,97	Pa15	1,86	B15	0,19	C15	5,46
	Pj16	2,88	Pa16	3,08			C16	3,39
	Pj17	2,29						
	Pj18	4,00						
	Pj19	4,70						
	Pj20	4,06						
<b>Minimum</b>		1,19		0,6700		3,01		0,10
<b>25% Percentile</b>		1,86		1,180		3,61		0,30
<b>Median</b>		2,83		1,585		8,60		0,98
<b>75% Percentile</b>		4,03		2,475		14,81		2,00
<b>Maximum</b>		5,44		4,640		15,25		2,71
<b>Mittelwert (MW)</b>		3,00		1,943		8,99		1,13
<b>Standardabweichung</b>		1,19		1,144		5,34		0,90
<b>Standardfehler</b>		0,27		0,2861		1,69		0,23
<b>Unteres 95% CI (MW)</b>		2,44		1,333		5,17		0,63
<b>Oberes 95% CI (MW)</b>		3,56		2,553		12,80		1,62

## SP-C (ng/ml)

	PAP juvenil 1.FI.		PAP adult 1.FI/Pool		Bronchitis Pool		Kontrollen Pool	
	Pj01	1329,90	Pa01	4441,07	B01	266,65	C01	51,93
	Pj02	5061,96	Pa02	885,80	B02	677,71	C02	
	Pj03	619,74	Pa03	614,40	B03	694,90	C03	147,26
	Pj04	1568,84	Pa04	3305,84	B04	876,56	C04	
	Pj05	1270,67	Pa05	1121,10	B05	1193,33	C05	190,03
	Pj06	789,14	Pa06	3369,40	B06	247,00	C06	
	Pj07	1940,00	Pa07	1563,54	B07	301,00	C07	179,75
	Pj08	1509,46	Pa08	2584,37	B08	93,00	C08	
	Pj09	2101,41	Pa09	3041,78	B09	22,00	C09	
	Pj10	2563,41	Pa10	1898,63	B10	74,00	C10	
	Pj11	923,15	Pa11	1895,75	B11	23,00	C11	257,15
	Pj12	2187,69	Pa12	2849,09	B12	4,00	C12	218,44
	Pj13	1988,35	Pa13	640,03	B13	0,00	C13	92,60
	Pj14	1677,96	Pa14	2671,58	B14	23,00	C14	62,27
	Pj15	3486,79	Pa15	2963,32	B15	695,00	C15	51,42
	Pj16	2163,55	Pa16	1681,68			C16	63,52
	Pj17	2541,02						
	Pj18	2036,79						
	Pj19	3803,94						
	Pj20	2758,47						
<b>Minimum</b>		619,70		614,4		51,42		0,00
<b>25% Percentile</b>		1420,00		1342		57,10		23,00
<b>Median</b>		2013,00		2242		119,90		247,00
<b>75% Percentile</b>		2552,00		3003		204,20		694,90
<b>Maximum</b>		5062,00		4441		257,20		1193,00
<b>Mittelwert (MW)</b>		2116,00		2220		131,40		346,10
<b>Standardabweichung</b>		1073,00		1107		76,75		383,50
<b>Standardfehler</b>		239,90		276,8		24,27		99,03
<b>Unteres 95% CI (MW)</b>		1614,00		1631		76,53		133,70
<b>Oberes 95% CI (MW)</b>		2618,00		2810		186,30		558,50

## SP-C (ng/ml/kg)

	PAP juvenil 1.FI.		PAP adult 1.FI/Pool		Bronchitis Pool		Kontrollen Pool	
	Pj01	91,72	Pa01	63,44	B01	8,60	C01	3,99
	Pj02	1124,88	Pa02	15,82	B02	30,81	C02	
	Pj03	144,13	Pa03	11,06	B03	12,87	C03	13,03
	Pj04	52,29	Pa04	59,03	B04	48,70	C04	
	Pj05	302,54	Pa05	14,01	B05	149,17	C05	17,28
	Pj06	30,59	Pa06	37,03	B06	27,44	C06	
	Pj07	165,81	Pa07	22,34	B07	21,50	C07	25,68
	Pj08	184,08	Pa08	32,30	B08	15,00	C08	
	Pj09	300,20	Pa09	43,45	B09	1,22	C09	
	Pj10	679,95	Pa10	26,37	B10	4,16	C10	
	Pj11	83,92	Pa11	16,93	B11	1,95	C11	10,29
	Pj12	243,08	Pa12	25,90	B12	0,50	C12	12,85
	Pj13	662,78	Pa13	8,00	B13	0,00	C13	3,70
	Pj14	125,22	Pa14	45,28	B14	2,09	C14	3,66
	Pj15	256,38	Pa15	37,04	B15	69,50	C15	1,77
	Pj16	460,33	Pa16	24,73			C16	1,81
	Pj17	379,26						
	Pj18	290,97						
	Pj19	358,86						
	Pj20	467,54						
<b>Minimum</b>		30,59		8,000		1,77		0,00
<b>25% Percentile</b>		134,70		16,38		2,74		1,95
<b>Median</b>		273,70		26,14		7,14		12,87
<b>75% Percentile</b>		419,80		40,25		15,16		30,81
<b>Maximum</b>		1125,00		63,44		25,68		149,20
<b>Mittelwert (MW)</b>		320,20		30,17		9,41		26,23
<b>Standardabweichung</b>		264,30		16,46		7,91		39,45
<b>Standardfehler</b>		59,10		4,116		2,50		10,19
<b>Unteres 95% CI (MW)</b>		196,50		21,40		3,75		4,39
<b>Oberes 95% CI (MW)</b>		443,90		38,94		15,07		48,08

**SP-C / Protein (ng/ $\mu$ g)**

	PAP juvenil 1.FI.		PAP adult 1.FI/Pool		Bronchitis Pool		Kontrollen Pool	
	Pj01	1,08	Pa01	2,25	B01	2,85	C01	1,12
	Pj02	2,43	Pa02	41,18	B02	3,16	C02	
	Pj03	2,19	Pa03	81,67	B03	2,69	C03	1,91
	Pj04	1,61	Pa04	0,62	B04	4,35	C04	
	Pj05	1,36	Pa05	2,35	B05	3,34	C05	4,02
	Pj06	2,37	Pa06	0,68	B06	1,39	C06	
	Pj07	1,19	Pa07	5,04	B07	0,89	C07	1,85
	Pj08	2,05	Pa08	7,49	B08	0,20	C08	
	Pj09	3,47	Pa09	1,35	B09	0,09	C09	
	Pj10	2,65	Pa10	2,03	B10	0,42	C10	
	Pj11	1,30	Pa11	0,96	B11	0,08	C11	3,45
	Pj12	1,62	Pa12	1,19	B12	0,01	C12	3,31
	Pj13	2,01	Pa13	2,28	B13	0,00	C13	1,32
	Pj14	4,27	Pa14	0,53	B14	0,07	C14	1,64
	Pj15	1,47	Pa15	1,12	B15	1,79	C15	0,92
	Pj16	1,42	Pa16	1,57			C16	1,10
	Pj17	1,25						
	Pj18	2,01						
	Pj19	5,46						
	Pj20	1,79						
<b>Minimum</b>		1,08		0,53		0,92		0,00
<b>25% Percentile</b>		1,39		1,04		1,11		0,08
<b>Median</b>		1,90		1,80		1,75		0,89
<b>75% Percentile</b>		2,40		3,70		3,38		2,85
<b>Maximum</b>		5,46		81,67		4,02		4,35
<b>Mittelwert (MW)</b>		2,15		9,52		2,06		1,42
<b>Standardabweichung</b>		1,11		21,64		1,12		1,49
<b>Standardfehler</b>		0,25		5,41		0,35		0,39
<b>Unteres 95% CI (MW)</b>		1,63		-2,01		1,27		0,59
<b>Oberes 95% CI (MW)</b>		2,67		21,05		2,86		2,25

**SP-D ( $\mu$ g/ml)**

	PAP juvenil 1.FI.		PAP adult 1.FI/Pool		Bronchitis Pool		Kontrollen Pool	
	Pj01	4,24	Pa01	0,600	B01	0,02	C01	0,72
	Pj02	0,17	Pa02	0,190	B02	0,02	C02	0,22
	Pj03	0,10	Pa03	6,210	B03	0,11	C03	0,83
	Pj04	2,58	Pa04	1,190	B04	0,15	C04	0,39
	Pj05	0,55	Pa05	0,330	B05	0,07	C05	0,27
	Pj06	5,20	Pa06	0,950	B06	0,14	C06	0,31
	Pj07	4,07	Pa07	0,590	B07	0,08	C07	0,34
	Pj08	0,71	Pa08	1,060	B08	0,06	C08	0,24
	Pj09	0,54	Pa09	0,410	B09	0,08	C09	0,43
	Pj10	6,99	Pa10	0,330	B10	0,03	C10	0,56
	Pj11	1,70	Pa11	0,950	B11	0,09	C11	
	Pj12	5,79	Pa12	0,300	B12	0,11	C12	
	Pj13	4,17	Pa13	0,330	B13	0,13	C13	
	Pj14	0,23	Pa14	1,880	B14	0,07	C14	
	Pj15	0,07	Pa15	0,430	B15	0,04	C15	
	Pj16	0,85	Pa16	0,760			C16	
	Pj17	3,81						
	Pj18	0,48						
	Pj19	0,44						
	Pj20	3,64						
<b>Minimum</b>		0,07		0,19		0,22		0,02
<b>25% Percentile</b>		0,46		0,33		0,26		0,04
<b>Median</b>		1,28		0,60		0,37		0,08
<b>75% Percentile</b>		4,12		1,01		0,64		0,11
<b>Maximum</b>		6,99		6,21		0,83		0,15
<b>Mittelwert (MW)</b>		2,32		1,03		0,43		0,08
<b>Standardabweichung</b>		2,22		1,45		0,21		0,04
<b>Standardfehler</b>		0,50		0,36		0,07		0,01
<b>Unteres 95% CI (MW)</b>		1,28		0,26		0,28		0,06
<b>Oberes 95% CI (MW)</b>		3,36		1,80		0,58		0,10

SP-D ( $\mu\text{g}/\text{ml}/\text{kg}$ )

	PAP juvenil 1.FI.		PAP adult 1.FI/Pool		Bronchitis Pool		Kontrollen Pool	
	Pj01	0,290	Pa01	0,009	B01	0,001	C01	0,050
	Pj02	0,040	Pa02	0,003	B02	0,001	C02	0,010
	Pj03	0,020	Pa03	0,111	B03	0,002	C03	0,070
	Pj04	0,090	Pa04	0,021	B04	0,008	C04	0,030
	Pj05	0,130	Pa05	0,004	B05	0,008	C05	0,020
	Pj06	0,200	Pa06	0,010	B06	0,015	C06	0,040
	Pj07	0,350	Pa07	0,008	B07	0,006	C07	0,050
	Pj08	0,090	Pa08	0,013	B08	0,010	C08	0,020
	Pj09	0,080	Pa09	0,006	B09	0,005	C09	0,040
	Pj10	1,850	Pa10	0,005	B10	0,002	C10	0,010
	Pj11	0,150	Pa11	0,008	B11	0,007	C11	
	Pj12	0,640	Pa12	0,003	B12	0,014	C12	
	Pj13	1,390	Pa13	0,004	B13	0,011	C13	
	Pj14	0,020	Pa14	0,032	B14	0,007	C14	
	Pj15	0,010	Pa15	0,005	B15	0,004	C15	
	Pj16	0,180	Pa16	0,011			C16	
	Pj17	0,570						
	Pj18	0,070						
	Pj19	0,040						
	Pj20	0,620						
<b>Minimum</b>		0,0100		0,0030		0,0100		0,0010
<b>25% Percentile</b>		0,0550		0,0045		0,0150		0,0020
<b>Median</b>		0,1400		0,0080		0,0350		0,0070
<b>75% Percentile</b>		0,4600		0,0120		0,0500		0,0100
<b>Maximum</b>		1,8500		0,1109		0,0700		0,0150
<b>Mittelwert (MW)</b>		0,3415		0,0158		0,0340		0,0067
<b>Standardabweichung</b>		0,4862		0,0265		0,0196		0,0044
<b>Standardfehler</b>		0,1087		0,0067		0,0062		0,0011
<b>Unteres 95% CI (MW)</b>		0,1140		0,0017		0,0200		0,0043
<b>Oberes 95% CI (MW)</b>		0,5690		0,0299		0,0480		0,0092

SP-D / Protein ( $\mu\text{g}/\mu\text{g}$ )

	PAP juvenil 1.FI.		PAP adult 1.FI/Pool		Bronchitis Pool		Kontrollen Pool	
	Pj01	0,0034	Pa01	0,0005	B01	0,0002	C01	0,0155
	Pj02	0,0001	Pa02	0,0007	B02	0,0001	C02	0,0038
	Pj03	0,0003	Pa03	0,0312	B03	0,0004	C03	0,0107
	Pj04	0,0026	Pa04	0,0002	B04	0,0007	C04	0,0048
	Pj05	0,0006	Pa05	0,0007	B05	0,0002	C05	0,0057
	Pj06	0,0156	Pa06	0,0002	B06	0,0008	C06	0,0037
	Pj07	0,0025	Pa07	0,0019	B07	0,0002	C07	0,0035
	Pj08	0,0010	Pa08	0,0031	B08	0,0001	C08	0,0031
	Pj09	0,0009	Pa09	0,0002	B09	0,0004	C09	0,0066
	Pj10	0,0072	Pa10	0,0003	B10	0,0002	C10	0,0114
	Pj11	0,0024	Pa11	0,0005	B11	0,0003	C11	
	Pj12	0,0043	Pa12	0,0001	B12	0,0004	C12	
	Pj13	0,0042	Pa13	0,0012	B13	0,0005	C13	
	Pj14	0,0006	Pa14	0,0004	B14	0,0002	C14	
	Pj15	0,0000	Pa15	0,0002	B15	0,0001	C15	
	Pj16	0,0006	Pa16	0,0007			C16	
	Pj17	0,0019						
	Pj18	0,0005						
	Pj19	0,0006						
	Pj20	0,0024						
<b>Minimum</b>		0,0000		0,0001		0,0031		0,0001
<b>25% Percentile</b>		0,0006		0,0002		0,0036		0,0002
<b>Median</b>		0,0015		0,0005		0,0053		0,0002
<b>75% Percentile</b>		0,0030		0,00095		0,0111		0,0004
<b>Maximum</b>		0,0156		0,0312		0,0155		0,0008
<b>Mittelwert (MW)</b>		0,0026		0,0026		0,0069		0,0003
<b>Standardabweichung</b>		0,0036		0,0077		0,0042		0,0002
<b>Standardfehler</b>		0,0008		0,0019		0,0013		0,0001
<b>Unteres 95% CI (MW)</b>		0,0009		-0,0014		0,0039		0,0002
<b>Oberes 95% CI (MW)</b>		0,0043		0,0067		0,0099		0,0004

**B Anhang Auswasch (Gesamtlavage)****Gesamtprotein ( $\mu\text{g/ml}$ )**

	PAP juvenil		PAP adult		Kontrollen	Lipidpneumonitis	
	dBALF_Pool	tBALF	dBALF_Pool	tBALF	dBALF_Pool	dBALF_Pool	tBALF
	531,19	1057,45	1612,03	1309,40	46,50	116,40	217,99
	1998,13	1065,38	1368,67	538,00	57,50	155,99	
	1322,87	554,38	321,94	274,15	77,10		
	1591,27	622,73	134,60	199,30	81,50		
	1638,42	982,68		569,42	47,30		
	3713,51	1344,51		153,55	84,70		
	218,31	134,35		768,14	97,30		
	247,00	222,53			77,10		
	324,30	132,02			65,10		
	196,32	297,51			49,00		
	285,33	79,26			74,60		
	200,00	114,40			66,00		
	209,73	122,96			70,00		
	248,93	100,84			38,00		
	164,58	57,94			56,00		
	660,43	130,18			61,00		
	208,17	74,43					
	1041,60	3123,63					
	1026,66	3830,65					
	572,99	295,15					
	130,60	154,56					
Minimum	130,6	57,94	134,60	153,60	38,00	116,40	218,00
25% Percentile	209	118,7	228,30	199,30	52,50		
Median	324,3	222,5	845,30	538,00	65,55	136,20	218,00
75% Percentile	1182	1020	1490,00	768,10	77,10		
Maximum	3714	3831	1612,00	1309,00	97,30	156,00	218,00
Mittelwert	787,20	690,40	859,30	544,60	65,54	136,20	218,00
Standardabweichung	880,10	1012,00	739,40	404,30	16,13	27,99	0,00
Standardfehler	192,00	220,90	369,70	152,80	4,03	19,80	0,00
Unteres 95% CI (MW)	386,60	229,50	-317,20	170,60	56,95	-115,30	-115,30
Oberes 95% CI (MW)	1188,00	1151,00	2036,00	918,50	74,14	387,70	387,70

**Gesamtprotein absolute Auswaschmenge (mg)**

	PAP juvenil		PAP adult		Kontrollen	Lipidpneumonitis	
	dBALF_Pool	tBALF	dBALF_Pool	tBALF	dBALF_Pool	dBALF_Pool	tBALF
	19,12	3685,33	248,25	18069,72	0,56	0,58	244,65
	71,93	3142,34	205,30	7585,80	2,73	2,81	
	47,62	1725,51	54,09	1765,53	1,73		
	57,29	2204,61	21,40	3487,75	1,39		
	58,98	2559,37		15374,33	0,99		
	133,69	4915,14		3070,96	1,78		
	7,86	264,09		15362,70	1,22		
	8,89	622,80			1,08		
	11,67	377,89			1,11		
	7,07	538,76			3,19		
	10,27	383,80			3,21		
	7,20	383,77			1,49		
	7,55	546,80			2,59		
	8,96	311,78			1,48		
	5,92	205,30			4,20		
	23,78	242,53			3,36		
	7,49	199,39					
	20,83	638,26					
	19,51	1166,33					
	8,59	277,15					
	1,63	159,31					
Minimum	1,63	159,30	21,40	1766,00	0,56	0,58	244,70
25% Percentile	7,52	270,60	37,75	3071,00	1,17		
Median	10,27	538,80	129,70	7586,00	1,61	1,70	244,70
75% Percentile	35,70	1965,00	226,80	15374,00	2,96		
Maximum	133,70	4915,00	248,30	18070,00	4,20	2,81	244,70
Mittelwert	25,99	1169,00	132,30	9245,00	2,01	1,70	244,70
Standardabweichung	31,95	1358,00	111,30	6866,00	1,06	1,58	0,00
Standardfehler	6,97	296,40	55,67	2595,00	0,26	1,12	0,00
Unteres 95% CI (MW)	11,45	550,80	-44,91	2895,00	1,44	-12,47	-12,47
Oberes 95% CI (MW)	40,54	1787,00	309,40	15595,00	2,57	15,86	15,86

**Gesamtprotein / kg Körpergewicht ( $\mu\text{g/ml/kg}$ )**

	PAP juvenil		PAP adult		Kontrollen	Lipidpneumonitis	
	dBALF_Pool	tBALF	dBALF_Pool	tBALF	dBALF_Pool	dBALF_Pool	tBALF
	45,40	90,38	23,03	18,71	3,58	8,95	16,77
	170,78	91,06	19,55	7,69	2,88	12,00	
	91,23	38,23	5,75	4,90	6,82		
	109,74	42,95	2,40	3,56	7,41		
	109,23	65,51		10,17	4,30		
	247,57	89,63		1,92	9,96		
	15,06	9,27		8,44	13,90		
	22,45	20,23			7,71		
	29,48	12,00			5,92		
	15,71	23,80			1,36		
	19,68	5,47			2,98		
	17,39	9,95			3,88		
	18,24	10,69			2,80		
	17,78	7,20			2,24		
	11,76	4,14			1,93		
	60,04	11,83			1,74		
	18,92	6,77					
	231,47	694,14					
	228,15	851,26					
	133,25	68,64					
	30,37	35,94					
Minimum	11,76	4,14	2,40	1,92	1,36	8,95	16,77
25% Percentile	18,01	9,61	4,08	3,56	2,52		
Median	30,37	23,80	12,65	7,69	3,73	10,48	16,77
75% Percentile	121,50	79,13	21,29	10,17	7,12		
Maximum	247,60	851,30	23,03	18,71	13,90	12,00	16,77
Mittelwert	78,27	104,20	12,68	7,91	4,96	10,48	16,77
Standardabweichung	79,92	225,60	10,13	5,57	3,46	2,16	0,00
Standardfehler	17,44	49,23	5,07	2,10	0,86	1,53	0,00
Unteres 95% CI (MW)	41,89	1,54	-3,44	2,76	3,12	-8,90	-8,90
Oberes 95% CI (MW)	114,70	206,90	28,81	13,06	6,81	29,85	29,85

**SP-A ( $\mu\text{g/ml}$ )**

	PAP juvenil		PAP adult		Kontrollen	Lipidpneumonitis	
	dBALF_Pool	tBALF	dBALF_Pool	tBALF	dBALF_Pool	dBALF_Pool	tBALF
	46,92	493,89	268,52	736,07	2,09	15,43	70,98
	17,33	56,47	287,80	566,13	17,73	38,94	
	63,90	126,38	976,84	1492,00	9,94		
	845,34	212,36	13,90	20,37	4,50		
	298,43	173,61		3321,58	6,05		
	1851,00	459,34		2567,92	8,07		
	13,99	30,61		530,56	10,29		
	13,88	9,33			12,30		
	10,92	17,06			9,89		
	21,34	44,85			2,28		
	20,90	13,17					
	17,05	9,36					
	26,48	40,68					
	39,88	233,80					
	536,58	121,10					
	41,28	26,85					
Minimum	10,92	9,33	13,90	20,37	2,09	15,43	70,98
25% Percentile	17,19	21,96	141,20	530,60	3,39		
Median	33,18	50,66	278,20	736,10	8,98	27,19	70,98
75% Percentile	181,20	193,00	632,30	2568,00	11,29		
Maximum	1851,00	493,90	976,80	3322,00	17,73	38,94	70,98
Mittelwert	241,60	129,30	386,80	1319,00	8,31	27,19	70,98
Standardabweichung	489,60	154,30	412,70	1212,00	4,81	16,62	0,00
Standardfehler	122,40	38,57	206,40	458,10	1,52	11,76	0,00
Unteres 95% CI (MW)	-19,34	47,09	-270,00	198,20	4,87	-122,20	-122,20
Oberes 95% CI (MW)	502,50	211,50	1043,00	2440,00	11,76	176,50	176,50

**SP-A / Gesamtprotein ( $\mu\text{g}/\mu\text{g}$ )**

	PAP juvenil		PAP adult		Kontrollen	Lipidpneumonitis	
	dBALF_Pool	tBALF	dBALF_Pool	tBALF	dBALF_Pool	dBALF_Pool	tBALF
	0,09	0,40	0,17	0,56	0,04	0,13	0,40
	0,01	0,15	0,21	1,05	0,31	0,25	
	0,05	0,18	3,03	5,44	0,13		
	0,53	0,27	0,10	0,10	0,06		
	0,18	0,25		15,71	0,13		
	0,50	0,37		28,84	0,10		
	0,06	0,03		1,07	0,11		
	0,04	0,10			0,16		
	0,05	0,13			0,15		
	0,10	0,28			0,05		
	0,08	0,15					
	0,10	0,16					
	0,03	0,01					
	0,04	0,07					
	0,94	0,44					
	0,32	0,17					
Minimum	0,01	0,01	0,10	0,10	0,04	0,13	0,40
25% Percentile	0,05	0,12	0,14	0,56	0,06		
Median	0,09	0,17	0,19	1,07	0,12	0,19	0,40
75% Percentile	0,25	0,28	1,62	15,71	0,16		
Maximum	0,94	0,44	3,03	28,84	0,31	0,25	0,40
Mittelwert	0,20	0,20	0,88	7,54	0,12	0,19	0,40
Standardabweichung	0,26	0,13	1,44	10,90	0,08	0,08	0,00
Standardfehler	0,06	0,03	0,72	4,12	0,02	0,06	0,00
Unteres 95% CI (MW)	0,06	0,13	-1,41	-2,54	0,07	-0,57	-0,57
Oberes 95% CI (MW)	0,33	0,27	3,16	17,62	0,18	0,95	0,95

**SP-A absolute Auswaschmenge (mg)**

	PAP juvenil		PAP adult		Kontrollen	Lipidpneumonitis	
	dBALF_Pool	tBALF	dBALF_Pool	tBALF	dBALF_Pool	dBALF_Pool	tBALF
	1,69	1779,68	41,35	10157,78	0,10	0,08	31,24
	0,62	169,24	43,17	7982,36	1,02	0,70	
	2,30	392,23	164,11	9608,48	0,77		
	30,43	764,05	2,21	356,51	0,37		
	10,74	333,82		89682,66	0,29		
	66,64	1628,10		51358,33	0,68		
	0,50	85,10		51358,33	1,00		
	0,50	26,90			0,95		
	0,39	48,95			0,64		
	0,77	200,34			0,11		
	0,75	41,19					
	0,61	32,71					
	0,53	8,49					
	0,76	66,31					
	8,05	114,10					
	0,52	27,40					
Minimum	0,39	8,49	2,21	356,50	0,10	0,08	31,24
25% Percentile	0,53	36,95	21,78	7982,00	0,20		
Median	0,76	99,60	42,26	10158,00	0,66	0,39	31,24
75% Percentile	5,18	363,00	103,60	51358,00	0,98		
Maximum	66,64	1780,00	164,10	89683,00	1,02	0,70	31,24
Mittelwert	7,86	357,40	62,71	31501,00	0,59	0,39	31,24
Standardabweichung	17,45	561,10	70,19	33246,00	0,36	0,44	0,00
Standardfehler	4,36	140,30	35,10	12566,00	0,11	0,31	0,00
Unteres 95% CI (MW)	-1,44	58,40	-48,98	753,30	0,34	-3,55	-3,55
Oberes 95% CI (MW)	17,16	656,40	174,40	62248,00	0,85	4,33	4,33

**SP-A / kg Körpergewicht (µg/ml/kg)**

	PAP juvenil		PAP adult		Kontrollen	Lipidpneumonitis	
	dBALF_Pool	tBALF	dBALF_Pool	tBALF	dBALF_Pool	dBALF_Pool	tBALF
	4,01	42,21	3,84	10,52	0,16	1,19	5,46
	1,48	4,83	4,11	8,09	0,89	3,00	
	4,41	8,72	17,44	26,64	0,88		
	58,30	14,65	0,25	0,36	0,41		
	19,90	11,57		65,50	0,55		
	123,40	30,62		29,25	0,95		
	1,27	2,78		5,83	1,47		
	1,26	0,85			1,23		
	0,95	1,27			0,90		
	1,86	3,90			0,06		
	1,49	0,94					
	1,22	0,67					
	5,88	9,04					
	8,86	51,95					
	124,79	28,16					
	9,60	6,24					
Minimum	0,95	0,67	0,25	0,36	0,06	1,19	5,46
25% Percentile	1,38	2,03	2,05	5,83	0,29		
Median	4,21	7,48	3,98	10,52	0,89	2,10	5,46
75% Percentile	14,75	21,41	10,78	29,25	1,09		
Maximum	124,80	51,95	17,44	65,50	1,47	3,00	5,46
Mittelwert	23,04	13,65	6,41	20,88	0,75	2,10	5,46
Standardabweichung	41,92	15,97	7,56	22,41	0,45	1,28	0,00
Standardfehler	10,48	3,99	3,78	8,47	0,14	0,91	0,00
Unteres 95% CI (MW)	0,71	5,14	-5,62	0,16	0,43	-9,40	-9,40
Oberes 95% CI (MW)	45,38	22,16	18,44	41,61	1,07	13,59	13,59

**SP-B (ng/ml)**

	PAP juvenil		PAP adult		Kontrollen	Lipidpneumonitis	
	dBALF_Pool	tBALF	dBALF_Pool	tBALF	dBALF_Pool	dBALF_Pool	tBALF
	577,02	1736,05	1144,13	1713,22	2,09	15,43	70,98
	1347,71	975,37	1124,34	522,56	17,73	38,94	
	1383,40	735,01	403,09	372,01	9,94		
	1620,79	850,11	278,31	225,89	4,50		
	843,62	1108,34		1119,25	6,05		
	1074,81	1016,68		380,36	8,07		
	651,04	618,36		1252,51	10,29		
	1327,03	612,25			12,30		
	509,29	494,41			9,89		
	805,49	779,05			2,28		
	1569,03	1308,77					
	719,80	738,71					
	1746,26	2338,24					
	868,79	578,32					
	351,84	374,36					
	247,23	383,54					
Minimum	10,92	9,33	278,30	225,90	142,20	261,70	364,50
25% Percentile	17,19	21,96	340,70	372,00	187,50		
Median	33,18	50,66	763,70	522,60	375,80	261,70	364,50
75% Percentile	181,20	193,00	1134,00	1253,00	1083,00		
Maximum	1851,00	493,90	1144,00	1713,00	1450,00	261,70	364,50
Mittelwert	241,60	129,30	737,50	798,00	618,90	261,70	364,50
Standardabweichung	489,60	154,30	461,00	563,70	482,70	0,00	0,00
Standardfehler	122,40	38,57	230,50	213,10	152,60	0,00	0,00
Unteres 95% CI (MW)	-19,34	47,09	3,84	276,60	273,60	3,06	3,06
Oberes 95% CI (MW)	502,50	211,50	1471,00	1319,00	964,20	91,28	91,28

**SP-B / Gesamtprotein (ng/µg)**

	PAP juvenil		PAP adult		Kontrollen	Lipidpneumonitis	
	dBALF_Pool	tBALF	dBALF_Pool	tBALF	dBALF_Pool	dBALF_Pool	tBALF
	1,09	2,23	0,71	1,31	0,04	0,13	0,40
	0,67	1,15	0,82	0,97	0,31	0,25	
	1,05	1,51	1,25	1,36	0,13		
	1,02	1,20	2,07	1,13	0,06		
	0,23	1,21		3,85	0,13		
	4,35	4,66		2,64	0,10		
	2,01	35,66		1,56	0,11		
	4,65	8,34			0,16		
	2,55	27,47			0,15		
	3,84	34,89			0,05		
	6,30	16,35					
	4,37	14,50					
	1,68	0,86					
	0,85	0,16					
	0,61	1,29					
	1,89	2,34					
Minimum	0,01	0,01	0,71	0,97	3,01	1,68	1,62
25% Percentile	0,05	0,12	0,77	1,13	3,53		
Median	0,09	0,17	1,04	1,36	8,60	1,68	1,62
75% Percentile	0,25	0,28	1,66	2,64	14,81		
Maximum	0,94	0,44	2,07	3,85	15,25	1,68	1,62
Mittelwert	0,20	0,20	1,21	1,83	8,90		
Standardabweichung	0,26	0,13	0,62	1,04	5,30	0,00	0,00
Standardfehler	0,06	0,03	0,31	0,39	1,68	0,00	0,00
Unteres 95% CI (MW)	0,06	0,13	0,23	0,87	5,11	3,06	3,06
Oberes 95% CI (MW)	0,33	0,27	2,20	2,80	12,69	91,28	91,28

**SP-B absolute Auswaschmenge ( $\mu\text{g}$ )**

	PAP juvenil		PAP adult		Kontrollen	Lipidpneumonitis	
	dBALF_Pool	tBALF	dBALF_Pool	tBALF	dBALF_Pool	dBALF_Pool	tBALF
	20,77	6579,62	41,35	10157,78	0,10	0,08	31,24
	48,52	2914,41	43,17	7982,36	1,02	0,70	
	49,80	2013,19	164,11	9608,48	0,77		
	58,35	2807,08	2,21	356,51	0,37		
	30,37	4228,31		89682,66	0,29		
	38,69	2980,91		51358,33	0,68		
	23,44	1787,06		51358,33	1,00		
	47,77	2952,24			0,95		
	18,33	1684,46			0,64		
	29,00	3400,56			0,11		
	56,49	3906,67					
	25,91	2603,20					
	34,93	495,58					
	16,51	168,29					
	5,28	351,83					
	3,09	405,02					
Minimum	0,39	8,49	44,25	2396,00	2,14	4,71	408,30
25% Percentile	0,53	36,95	55,99	3953,00	4,89		
Median	0,76	99,60	118,20	7607,00	17,23	4,71	408,30
75% Percentile	5,18	363,00	172,40	30220,00	31,22		
Maximum	66,64	1780,00	176,20	48848,00	47,20	4,71	408,30
Mittelwert	7,86	357,40	114,20	17719,00	18,50		
Standardabweichung	17,45	561,10	67,98	17292,00	14,88	0,00	0,00
Standardfehler	4,36	140,30	33,99	6536,00	4,71	0,00	0,00
Unteres 95% CI (MW)	-1,44	58,40	6,04	1727,00	7,85	3,06	3,06
Oberes 95% CI (MW)	17,16	656,40	222,40	33712,00	29,14	91,28	91,28

**SP-B / kg Körpergewicht ( $\mu\text{g/ml/kg}$ )**

	PAP juvenil		PAP adult		Kontrollen	Lipidpneumonitis	
	dBALF_Pool	tBALF	dBALF_Pool	tBALF	dBALF_Pool	dBALF_Pool	tBALF
	49,32	148,38	3,84	10,52	0,16	1,19	5,46
	115,19	83,37	4,11	8,09	0,89	3,00	
	95,41	50,69	17,44	26,64	0,88		
	111,78	58,63	0,25	0,36	0,41		
	56,24	73,89		65,50	0,55		
	97,71	92,43		29,25	0,95		
	59,19	56,21		5,83	1,47		
	91,52	42,22			1,23		
	44,29	42,99			0,90		
	70,04	67,74			0,06		
	112,07	93,48					
	51,41	52,76					
	388,06	519,61					
	193,06	128,52					
	81,82	87,06					
	57,50	89,20					
Minimum	44,29	42,22	4,97	4,03	5,62	20,13	28,04
25% Percentile	56,87	54,49	6,09	4,75	11,74		
Median	86,67	78,63	11,63	7,47	21,98	20,13	28,04
75% Percentile	111,90	92,96	16,20	19,99	67,56		
Maximum	388,10	519,60	16,34	24,47	207,10	20,13	28,04
Mittelwert	104,70	105,40	11,14	11,59	47,17		
Standardabweichung	84,28	114,30	5,91	8,03	61,66	0,00	0,00
Standardfehler	21,07	28,58	2,96	3,03	19,50	0,00	0,00
Unteres 95% CI (MW)	59,75	44,54	1,74	4,16	3,06	3,06	3,06
Oberes 95% CI (MW)	149,60	166,40	20,55	19,01	91,28	91,28	91,28

**SP-C (ng/ml)**

	PAP juvenil		PAP adult		Kontrollen	Lipidpneumonitis	
	dBALF_Pool	tBALF	dBALF_Pool	tBALF	dBALF_Pool	dBALF_Pool	tBALF
	288,01	1585,53	2106,07	4441,07	105,25	726,19	836,97
	1865,31	1826,52	2085,20	1009,77	210,86		
	3005,15	1902,16	869,98	885,80	651,30		
	2470,49	2827,02	392,97	614,40	419,22		
	2254,52	2344,34		1285,87	715,22		
	1611,83	1565,82		479,17			
	640,36	551,28		897,41			
	950,34	723,05					
	674,29	746,63			247,00		
	905,07	665,53					
	628,60	445,60			78,00		
	1224,61	1204,46			790,00		
	2406,20	5157,93			482,00		
	2424,69	1582,40			48,00		
	1653,90	935,38			72,00		
	1018,25	957,28			737,00		
Minimum	288,00	445,60	393,00	479,20	48,00	726,20	837,00
25% Percentile	789,70	734,80	631,50	614,40	91,63		
Median	1418,00	1385,00	1478,00	897,40	333,10	726,20	837,00
75% Percentile	2330,00	1864,00	2096,00	1286,00	683,30		
Maximum	3005,00	5158,00	2106,00	4441,00	790,00	726,20	837,00
Mittelwert	1501,00	1564,00	1364,00	1373,00	379,70	726,20	837,00
Standardabweichung	826,10	1173,00	867,50	1378,00	287,90	0,00	0,00
Standardfehler	206,50	293,40	433,80	520,80	83,10	0,00	0,00
Unteres 95% CI (MW)	1061,00	938,50	-16,86	99,06	196,80	10,78	10,78
Oberes 95% CI (MW)	1942,00	2189,00	2744,00	2648,00	562,60	38,74	38,74

**SP-C / Gesamtprotein (ng/ $\mu$ g)**

	PAP juvenil		PAP adult		Kontrollen	Lipidpneumonitis	
	dBALF_Pool	tBALF	dBALF_Pool	tBALF	dBALF_Pool	dBALF_Pool	tBALF
	0,54	1,48	4,75	2,25	2,26	4,66	3,87
	0,93	1,78	4,80	18,41	3,67		
	2,27	4,28	35,70	41,18	8,45		
	1,55	3,53	127,24	81,67	5,14		
	0,61	2,76		3,82	15,12		
	6,53	7,50		4,19			
	1,97	4,69		1,63			
	3,33	10,97					
	3,37	6,86			3,79		
	4,32	5,24					
	2,53	5,31			1,05		
	7,44	24,03			11,97		
	2,31	1,88			6,89		
	2,36	0,53			1,26		
	2,89	3,30			1,29		
	7,80	5,45			12,08		
Minimum	0,54	0,53	4,75	1,63	1,05	4,66	3,87
25% Percentile	1,76	2,32	4,78	2,25	1,78		
Median	2,45	4,49	20,25	4,19	4,47	4,66	3,87
75% Percentile	3,85	6,16	81,47	41,18	10,21		
Maximum	7,80	24,03	127,20	81,67	15,12	4,66	3,87
Mittelwert	3,17	5,60	43,12	21,88	6,08	4,66	3,87
Standardabweichung	2,27	5,57	57,94	29,98	4,83	0,00	0,00
Standardfehler	0,57	1,39	28,97	11,33	1,40	0,00	0,00
Unteres 95% CI (MW)	1,96	2,63	-49,08	-5,85	3,01	10,78	10,78
Oberes 95% CI (MW)	4,38	8,57	135,30	49,61	9,15	38,74	38,74

**SP-C absolute Auswaschmenge ( $\mu\text{g}$ )**

	PAP juvenil		PAP adult		Kontrollen	Lipidpneumonitis	
	dBALF_Pool	tBALF	dBALF_Pool	tBALF	dBALF_Pool	dBALF_Pool	tBALF
	10,37	6009,17	324,33	61286,83	1,26	13,07	939,80
	67,15	5412,19	312,78	14237,82	10,02		
	108,19	5809,48	146,16	5704,57	14,65		
	88,94	9334,81	62,48	10752,05	7,13		
	81,16	8943,65		34718,53	15,02		
	58,03	4390,21		9583,32			
	23,05	1581,24		34999,01			
	34,21	3493,94					
	24,27	2543,78			4,20		
	32,58	2905,05					
	22,63	1351,13			3,35		
	44,09	4244,53			17,78		
	48,12	1088,74			17,83		
	46,07	283,82			1,87		
	24,81	879,78			5,40		
	12,73	724,89			40,54		
Minimum	10,37	283,80	62,48	5705,00	1,26	13,07	939,80
25% Percentile	23,66	1220,00	104,30	9583,00	3,78		
Median	39,15	3199,00	229,50	14238,00	8,58	13,07	939,80
75% Percentile	62,59	5611,00	318,60	34999,00	16,40		
Maximum	108,20	9335,00	324,30	61287,00	40,54	13,07	939,80
Mittelwert	45,40	3687,00	211,40	24469,00	11,59	13,07	939,80
Standardabweichung	28,56	2829,00	128,40	20158,00	10,96	0,00	0,00
Standardfehler	7,14	707,20	64,20	7619,00	3,16	0,00	0,00
Unteres 95% CI (MW)	30,18	2180,00	7,11	5826,00	4,63	10,78	10,78
Oberes 95% CI (MW)	60,62	5195,00	415,80	43112,00	18,55	38,74	38,74

**SP-C / kg Körpergewicht ( $\mu\text{g}/\text{ml}/\text{kg}$ )**

	PAP juvenil		PAP adult		Kontrollen	Lipidpneumonitis	
	dBALF_Pool	tBALF	dBALF_Pool	tBALF	dBALF_Pool	dBALF_Pool	tBALF
	24,62	135,52	30,09	63,44	8,10	55,86	64,38
	159,43	156,11	29,79	14,43	10,54		
	207,25	131,18	15,54	15,82	57,64		
	170,38	194,97	7,02	10,97	38,11		
	150,30	156,29		22,96	65,02		
	146,53	142,35		5,99			
	58,21	50,12		9,86			
	65,54	49,87					
	58,63	64,92			22,45		
	78,70	57,87					
	44,90	31,83			3,12		
	87,47	86,03			46,47		
	534,71	1146,21			19,28		
	538,82	351,65			2,82		
	384,63	217,53			2,48		
	236,80	222,62			21,06		
Minimum	24,62	31,83	7,02	5,99	2,48	55,86	64,38
25% Percentile	62,09	61,40	11,28	9,86	5,61		
Median	148,40	138,90	22,67	14,43	20,17	55,86	64,38
75% Percentile	222,00	206,30	29,94	22,96	42,29		
Maximum	538,80	1146,00	30,09	63,44	65,02	55,86	64,38
Mittelwert	184,20	199,70	20,61	20,50	24,76	55,86	64,38
Standardabweichung	164,60	265,80	11,32	19,68	22,00	0,00	0,00
Standardfehler	41,16	66,46	5,66	7,44	6,35	0,00	0,00
Unteres 95% CI (MW)	96,46	58,05	2,60	2,30	10,78	10,78	10,78
Oberes 95% CI (MW)	271,90	341,30	38,63	38,69	38,74	38,74	38,74

**SP-D ( $\mu\text{g/ml}$ )**

	PAP juvenil		PAP adult		Kontrollen	Lipidpneumonitis	
	dBALF_Pool	tBALF	dBALF_Pool	tBALF	dBALF_Pool	dBALF_Pool	tBALF
	0,08	0,34	0,54	0,60	0,72	0,10	0,50
	0,50	0,44	0,51	0,77	0,22	0,10	
	0,90	0,63	0,22	0,19	0,83		
	0,57	0,23	4,92	6,21	0,39		
	0,42	0,30		0,51	0,27		
	0,53	0,67		0,38	0,31		
	0,85	0,50		0,42	0,34		
	0,39	0,63			0,24		
	0,31	0,22			0,43		
	0,11	0,45			0,56		
	0,30	0,17					
	1,08	0,50					
	0,97	0,43					
	0,37	0,57					
	0,16	0,07					
	0,91	0,24					
	0,26	0,18					
	0,22	0,76					
	0,21	1,17					
	0,42	0,28					
	0,60	0,26					
Minimum	0,08	0,07	0,22	0,19	0,22	0,10	0,50
25% Percentile	0,24	0,24	0,37	0,38	0,26		
Median	0,42	0,43	0,53	0,51	0,37	0,10	0,50
75% Percentile	0,73	0,60	2,73	0,77	0,64		
Maximum	1,08	1,17	4,92	6,21	0,83	0,10	0,50
Mittelwert	0,48	0,43	1,55	1,30	0,43	0,10	0,50
Standardabweichung	0,30	0,25	2,25	2,17	0,21	0,00	0,00
Standardfehler	0,07	0,06	1,13	0,82	0,07	0,00	0,00
Unteres 95% CI (MW)	0,35	0,32	-2,04	-0,71	0,28	0,10	0,10
Oberes 95% CI (MW)	0,62	0,55	5,13	3,31	0,58	0,10	0,10

**SP-D / Gesamtprotein ( $\mu\text{g}/\mu\text{g}$ )**

	PAP juvenil		PAP adult		Kontrollen	Lipidpneumonitis	
	dBALF_Pool	tBALF	dBALF_Pool	tBALF	dBALF_Pool	dBALF_Pool	tBALF
	0,16	0,56	0,34	0,46	15,49	0,82	2,18
	0,25	1,30	0,37	1,44	3,78	0,64	
	0,68	2,08	0,67	0,70	10,71		
	0,36	0,55	36,57	31,16	4,80		
	0,25	0,37		1,70	5,74		
	0,14	1,46		3,60	3,70		
	3,88	3,95		1,49	3,52		
	1,56	2,83			3,06		
	0,96	2,14			6,65		
	0,54	1,59			11,44		
	1,05	2,09					
	5,39	4,94					
	4,65	4,76					
	1,50	7,33					
	1,00	1,30					
	1,38	2,15					
	1,24	2,03					
	0,22	0,27					
	0,20	0,31					
	0,73	1,05					
	4,59	1,67					
Minimum	0,14	0,27	0,34	0,46	3,06	0,64	2,18
25% Percentile	0,25	0,80	0,35	0,70	3,61		
Median	0,96	1,68	0,52	1,49	5,27	0,73	2,18
75% Percentile	1,53	2,49	18,62	3,60	11,08		
Maximum	5,39	7,33	36,57	31,16	15,49	0,82	2,18
Mittelwert	1,46	2,13	9,49	5,79	6,89	0,73	2,18
Standardabweichung	1,65	1,79	18,06	11,23	4,23	0,13	0,00
Standardfehler	0,36	0,39	9,03	4,25	1,34	0,09	0,00
Unteres 95% CI (MW)	0,71	1,32	-19,24	-4,60	3,87	-0,42	-0,42
Oberes 95% CI (MW)	2,22	2,94	38,22	16,18	9,91	1,87	1,87

**SP-D absolute Auswaschmenge ( $\mu\text{g}$ )**

	PAP juvenil		PAP adult		Kontrollen	Lipidpneumonitis	
	dBALF_Pool	tBALF	dBALF_Pool	tBALF	dBALF_Pool	dBALF_Pool	tBALF
	3,02	1214,66	83,47	8259,30	8,64	0,48	555,39
	17,88	1302,35	76,42	10902,40	10,31	1,79	
	32,38	1870,92	36,48	1232,04	18,58		
	20,50	789,53	782,66	108669,80	6,65		
	15,00	715,32		13729,73	5,70		
	19,06	2548,13		7577,53	6,58		
	30,51	997,00		16238,70	4,28		
	13,87	1775,71			3,30		
	11,20	625,32			7,35		
	3,79	804,32			36,43		
	10,74	842,92					
	38,79	1704,04					
	35,09	1889,59					
	13,40	1709,33					
	5,90	251,04					
	32,92	448,88					
	9,26	459,83					
	4,50	159,49					
	3,94	361,88					
	6,27	264,24					
	7,49	266,17					
Minimum	3,02	159,50	36,48	1232,00	3,30	0,48	555,40
25% Percentile	6,09	405,40	56,45	7578,00	4,99		
Median	13,40	804,30	79,95	10902,00	7,00	1,14	555,40
75% Percentile	25,51	1707,00	433,10	16239,00	14,45		
Maximum	38,79	2548,00	782,70	108670,00	36,43	1,79	555,40
Mittelwert	15,98	1000,00	244,80	23801,00	10,78	1,14	555,40
Standardabweichung	11,52	684,20	359,20	37731,00	9,97	0,93	0,00
Standardfehler	2,51	149,30	179,60	14261,00	3,15	0,66	0,00
Unteres 95% CI (MW)	10,73	688,60	-326,80	-11094,00	3,65	-7,19	-7,19
Oberes 95% CI (MW)	21,22	1311,00	816,30	58697,00	17,91	9,46	9,46

**SP-D / kg Körpergewicht (µg/ml/kg)**

	PAP juvenil		PAP adult		Kontrollen	Lipidpneumonitis	
	dBALF_Pool	tBALF	dBALF_Pool	tBALF	dBALF_Pool	dBALF_Pool	tBALF
	0,01	0,03	0,01	0,01	0,06	0,01	0,04
	0,04	0,04	0,01	0,01	0,01	0,01	
	0,06	0,04	0,00	0,00	0,07		
	0,04	0,02	0,09	0,11	0,04		
	0,03	0,02		0,01	0,02		
	0,04	0,04		0,00	0,04		
	0,06	0,03		0,00	0,05		
	0,04	0,06			0,02		
	0,03	0,02			0,04		
	0,01	0,04			0,02		
	0,02	0,01					
	0,09	0,04					
	0,08	0,04					
	0,03	0,04					
	0,01	0,01					
	0,08	0,02					
	0,02	0,02					
	0,05	0,17					
	0,05	0,26					
	0,10	0,07					
	0,14	0,06					
Minimum	0,01	0,01	0,00	0,00	0,01	0,01	0,04
25% Percentile	0,03	0,02	0,01	0,00	0,02		
Median	0,04	0,04	0,01	0,01	0,04	0,01	0,04
75% Percentile	0,07	0,05	0,05	0,01	0,06		
Maximum	0,14	0,26	0,09	0,11	0,07	0,01	0,04
Mittelwert	0,05	0,05	0,03	0,02	0,04	0,01	0,04
Standardabweichung	0,03	0,06	0,04	0,04	0,02	0,00	0,00
Stabdardfehler	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,00	0,00
Unteres 95% CI (MW)	0,03	0,02	-0,04	-0,01	0,02	0,01	0,01
Oberes 95% CI (MW)	0,06	0,08	0,09	0,06	0,05	0,01	0,01

**Auswaschkinetik  
Protein**

Patient	Lavage	Spülportion	Volumen (ml)	Konzentration (µg/ml)	Auswaschmenge (mg)	Konzentration/Körpergewicht (µg/ml/kg)
Pj01	1.10.2001 re	dBALF_Pool	36	218,31	7859	15,06
		tBALF_FI.1	515	247,81	127622	17,09
		tBALF_FI.2	490	108,31	53072	7,47
		tBALF_FI.3	485	105,79	51308	7,30
		tBALF_FI.4	425	75,50	32088	5,21
05.06.2000 re		dBALF_Pool	36	247,00	8892	22,45
		tBALF_FI.1	421	525,31	221156	47,76
		tBALF_FI.2	480	266,20	127776	24,20
		tBALF_FI.3	494	184,75	91267	16,80
		tBALF_FI.4	489	139,14	68039	12,65
		tBALF_FI.5	475	115,82	55015	10,53
		tBALF_FI.6	573	103,93	59552	9,45
07.06.2000 li		dBALF_Pool	36	324,30	11675	29,48
		tBALF_FI.1	474	318,79	151106	28,98
		tBALF_FI.2	472	233,25	110094	21,20
		tBALF_FI.3	490	71,98	35270	6,54
		tBALF_FI.4	488	48,83	23829	4,44
		tBALF_FI.5	486	59,80	29063	5,44
		tBALF_FI.6	480	59,44	28531	5,40
11.12.2000 re		dBALF_Pool	36	196,32	7068	15,71
		tBALF_FI.1	420	309,52	129998	24,76
		tBALF_FI.2	397	282,91	112315	22,63
		tBALF_FI.3	500	450,31	225155	36,02
		tBALF_FI.4	484	147,29	71288	11,78

Patient	Lavage	Spülportion	Volumen (ml)	Konzentration (µg/ml)	Auswaschmenge (mg)	Konzentration/Körpergewicht (µg/ml/kg)
	09.05.2001 li	dBALF_Pool	36	285,33	10272	19,68
		tBALF_FI.1	492	215,05	105805	14,83
		tBALF_FI.2	500	88,30	44150	6,09
		tBALF_FI.3	500	80,62	40310	5,56
		tBALF_FI.4	485	41,03	19900	2,83
		tBALF_FI.5	490	96,47	47270	6,65
		tBALF_FI.6	500	56,68	28340	3,91
		tBALF_FI.7	390	47,95	18701	3,31
		tBALF_FI.8	480	81,36	39053	5,61
		tBALF_FI.9	460	47,58	21887	3,28
		tBALF_FI.10	490	37,52	18385	2,59
	25.09.2000 re	dBALF_Pool	36	200,00	7200	17,39
		tBALF_FI.1	458	267,45	122492	23,26
		tBALF_FI.2	475	116,95	55551	10,17
		tBALF_FI.3	490	83,88	41101	7,29
		tBALF_FI.4	475	86,74	41202	7,54
		tBALF_FI.5	512	108,12	55357	9,40
		tBALF_FI.6	487	93,44	45505	8,13
		tBALF_FI.7	510	44,24	22562	3,85
	27.09.2000 li	dBALF_Pool	36	209,73	7550	18,24
		tBALF_FI.1	495	427,05	211390	37,13
		tBALF_FI.2	520	154,36	80267	13,42
		tBALF_FI.3	500	123,47	61735	10,74
		tBALF_FI.4	510	108,04	55100	9,39
		tBALF_FI.5	490	61,84	30302	5,38
		tBALF_FI.6	485	60,54	29362	5,26
		tBALF_FI.7	460	61,96	28502	5,39
		tBALF_FI.8	485	64,47	31268	5,61
		tBALF_FI.9	420	44,95	18879	3,91
	18.06.2001 re	dBALF_Pool	36	248,93	8961	17,78
		tBALF_FI.1	540	282,85	152739	20,20
		tBALF_FI.2	520	103,87	54012	7,42
		tBALF_FI.3	435	59,82	26022	4,27
		tBALF_FI.4	480	54,40	26112	3,89
		tBALF_FI.5	590	53,93	31819	3,85
		tBALF_FI.6	420	50,19	21080	3,59
	20.06.2001 li	dBALF_Pool	36	164,58	5925	11,76
		tBALF_FI.1	535	154,41	82609	11,03
		tBALF_FI.2	480	40,01	19205	2,86
		tBALF_FI.3	500	42,11	21055	3,01
		tBALF_FI.4	484	56,67	27428	4,05
		tBALF_FI.5	425	54,47	23150	3,89
		tBALF_FI.6	500	29,16	14580	2,08
		tBALF_FI.7	600	28,78	17268	2,06
	6.11.2000 re	dBALF_Pool	36	660,43	23775	60,04
		tBALF_FI.1	420	294,04	123497	26,73
		tBALF_FI.3	590	122,27	72139	11,12
		tBALF_FI.5	580	69,83	40501	6,35
		tBALF_FI.7	185	34,58	6397	3,14
	8.11.2000 li	dBALF_Pool	36	208,17	7494	18,92
		tBALF_FI.1	502	181,18	90952	16,47
		tBALF_FI.3	569	74,60	42447	6,78
		tBALF_FI.5	591	40,51	23941	3,68
		tBALF_FI.7	597	44,41	26513	4,04
		tBALF_FI.9	494	31,45	15536	2,86
<b>Pj02</b>	27.06.2001 re	dBALF_Pool	36	531,19	19123	45,40
		tBALF_FI.1	400	3874,63	1549852	331,16
		tBALF_FI.2	250	2498,40	624600	213,54
		tBALF_FI.3	300	1411,36	423408	120,63
		tBALF_FI.4	270	893,97	241372	76,41
		tBALF_FI.5	320	511,95	163824	43,76
		tBALF_FI.6	550	489,42	269181	41,83
		tBALF_FI.7	550	311,38	171259	26,61

Patient	Lavage	Spülportion	Volumen (ml)	Konzentration (µg/ml)	Auswaschmenge (mg)	Konzentration/Körpergewicht (µg/ml/kg)
		tBALF_FI.8	550	267,23	146977	22,84
		tBALF_FI.9	300	140,51	42153	12,01
		tBALF_FI.10	300	175,69	52707	15,02
	29.06.2001 li	dBALF_Pool	36	1998,13	71933	170,78
		tBALF_FI.1	485	3725,83	1807028	318,45
		tBALF_FI.2	500	1372,39	686195	117,30
		tBALF_FI.3	508	500,55	254279	42,78
		tBALF_FI.4	495	381,56	188872	32,61
		tBALF_FI.5	500	212,85	106425	18,19
		tBALF_FI.6	500	199,09	99545	17,02
	08.08.2002 re	dBALF_Pool	36	1322,87	47623	91,23
		tBALF_FI.1	540	1887,06	1019012	130,14
		tBALF_FI.2	541	691,56	374134	47,69
		tBALF_FI.3	483	362,21	174947	24,98
		tBALF_FI.4	495	172,14	85209	11,87
		tBALF_FI.5	490	105,58	51734	7,28
		tBALF_FI.6	190	107,74	20471	7,43
	08.08.2002 li	dBALF_Pool	36	1591,27	57286	109,74
		tBALF_FI.1	485	1607,05	779419	110,83
		tBALF_FI.2	600	944,30	566580	65,12
		tBALF_FI.3	500	617,67	308835	42,60
		tBALF_FI.4	508	526,04	267228	36,28
		tBALF_FI.5	507	324,09	164314	22,35
		tBALF_FI.6	502	166,37	83518	11,47
		tBALF_FI.7	200	173,58	34716	11,97
	29.11.2002 re	dBALF_Pool	36	1638,42	58983	109,23
		tBALF_FI.1	720	2028,74	1460693	135,25
		tBALF_FI.2	400	1087,20	434880	72,48
		tBALF_FI.3	500	625,49	312745	41,70
		tBALF_FI.4	400	499,15	199660	33,28
		tBALF_FI.5	225	672,84	151389	44,86
	29.11.2002 li	dBALF_Pool	36	3713,51	133686	247,57
		tBALF_FI.1	450	4523,00	2035350	301,53
		tBALF_FI.2	600	2293,09	1375854	152,87
		tBALF_FI.3	600	1009,85	605910	67,32
		tBALF_FI.4	555	689,27	382545	45,95
		tBALF_FI.5	600	458,60	275160	30,57
		tBALF_FI.6	590	332,07	195921	22,14
		tBALF_FI.7	420	105,72	44402	7,05
<b>Pj03</b>	04.12.2002 re	dBALF_Pool	20	1041,60	21	231,47
		tBALF_FI.1	115	2082,26	238	462,72
		tBALF_FI.2	96	4165,00	400	925,56
	05.12.2002 li	dBALF_Pool	19	1026,66	20	228,15
		tBALF_FI.1	39	2482,48	97	551,66
		tBALF_FI.2	59	4470,80	264	993,51
		tBALF_FI.3	37	5975,38	221	1327,86
		tBALF_FI.4	42	4088,78	172	908,62
		tBALF_FI.5	19	2128,67	40	473,04
		tBALF_FI.6	34	4308,27	146	957,39
		tBALF_FI.7	37	4108,28	152	912,95
		tBALF_FI.8	24	3082,55	74	685,01
<b>Pj04</b>	07.12.2001 re	dBALF_Pool	15	572,99	9	133,25
		tBALF_FI.1	463	447,89	207	104,16
		tBALF_FI.2	490	142,41	70	33,12
	19.12.2001 li	dBALF_Pool	13	130,60	2	30,37
		tBALF_FI.1	249	282,94	70	65,80
		tBALF_FI.2	262	123,80	32	28,79
		tBALF_FI.3	300	83,68	25	19,46
		tBALF_FI.4	245	127,81	31	29,72
<b>Pa01</b>	12.3.2001 li	dBALF_Pool	154	1612,03	248	23,03
		tBALF_Pool	13800	1309,40	18070	18,71
	15.3.2001 re	dBALF_Pool	150	1368,67	205	19,55
		tBALF_Pool	14100	538,00	7586	7,69

Patient	Lavage	Spülportion	Volumen (ml)	Konzentration (µg/ml)	Auswaschmenge (mg)	Konzentration/Körpergewicht (µg/ml/kg)
<b>Pa02</b>	19.2.2001 li	dBALF_Pool	168	321,94	54	5,75
		tBALF_Pool	6440	274,15	1766	4,90
<b>Pa03</b>	23.4.2002 re	dBALF_Pool	159	134,60	21	2,40
		tBALF_Pool	17500	199,30	3488	3,56
<b>Pa04</b>	31.08.2004	tBALF_FI.1	1000	5318,10	5318	94,97
		tBALF_FI.2	1000	3107,80	3108	55,50
		tBALF_FI.3	1000	1504,30	1504	26,86
		tBALF_FI.4	1000	1403,90	1404	25,07
		tBALF_FI.5	1000	830,60	831	14,83
		tBALF_FI.6	1000	455,72	456	8,14
		tBALF_FI.7	1000	324,20	324	5,79
		tBALF_FI.8	1000	257,92	258	4,61
		tBALF_FI.9	1000	257,16	257	4,59
		tBALF_FI.10	1000	170,30	170	3,04
		tBALF_FI.11	1000	140,46	140	2,51
		tBALF_FI.12	1000	139,88	140	2,50
		tBALF_FI.13	1000	131,34	131	2,35
		tBALF_FI.14	1000	113,32	113	2,02
		tBALF_FI.15	1000	103,74	104	1,85
		tBALF_FI.16	1000	94,50	95	1,69
		tBALF_FI.17	1000	102,08	102	1,82
		tBALF_FI.18	1000	112,66	113	2,01
		tBALF_FI.19	1000	89,29	89	1,59
		tBALF_FI.20	1000	103,97	104	1,86
		tBALF_FI.21	1000	92,16	92	1,65
		tBALF_FI.22	1000	89,01	89	1,59
		tBALF_FI.23	1000	83,13	83	1,48
		tBALF_FI.24	1000	81,50	82	1,46
		tBALF_FI.25	1000	88,14	88	1,57
		tBALF_FI.26	1000	88,37	88	1,58
		tBALF_FI.27	1000	90,78	91	1,62
<b>Pa05</b>	5.5.2003 li	tBALF_FI.1	1000	477,90	478	5,97
		tBALF_FI.2	1000	419,48	419	5,24
		tBALF_FI.3	1000	368,72	369	4,61
		tBALF_FI.4	1000	379,59	380	4,74
		tBALF_FI.5	1000	274,04	274	3,43
		tBALF_FI.6	1000	233,89	234	2,92
		tBALF_FI.7	1000	126,39	126	1,58
		tBALF_FI.8	1000	111,85	112	1,40
		tBALF_FI.9	1000	93,09	93	1,16
		tBALF_FI.10	1000	68,73	69	0,86
		tBALF_FI.11	1000	83,78	84	1,05
		tBALF_FI.12	1000	66,96	67	0,84
		tBALF_FI.13	1000	51,58	52	0,64
		tBALF_FI.14	1000	45,62	46	0,57
		tBALF_FI.15	1000	45,58	46	0,57
		tBALF_FI.16	1000	61,03	61	0,76
		tBALF_FI.17	1000	40,21	40	0,50
		tBALF_FI.18	1000	51,71	52	0,65
		tBALF_FI.19	1000	40,70	41	0,51
		<b>Pa06</b>	2.10.2003 re	tBALF_FI.20	1000	30,11
tBALF_FI.1	1000			4919,80	4920	54,06
tBALF_FI.3	1000			2602,03	2602	28,59
tBALF_FI.5	1000			2339,02	2339	25,70
tBALF_FI.7	1000			1323,38	1323	14,54
tBALF_FI.9	1000			1487,43	1487	16,35
tBALF_FI.11	1000			536,65	537	5,90
tBALF_FI.13	1000			632,03	632	6,95
tBALF_FI.15	1000			397,03	397	4,36
tBALF_FI.17	1000			285,78	286	3,14
tBALF_FI.19	1000	184,77	185	2,03		
tBALF_FI.21	1000	57,44	57	0,63		
tBALF_FI.23	1000	70,91	71	0,78		

Patient	Lavage	Spülportion	Volumen (ml)	Konzentration (µg/ml)	Auswaschmenge (mg)	Konzentration/Körpergewicht (µg/ml/kg)
		tBALF_FI.25	1000	61,21	61	0,67
		tBALF_FI.27	1000	60,48	60	0,66
		tBALF_FI.29	1000	85,53	86	0,94
		tBALF_FI.31	1000	69,03	69	0,76
		tBALF_FI.33	1000	82,03	82	0,90
		tBALF_FI.35	1000	63,78	64	0,70
		tBALF_FI.37	1000	50,55	51	0,56
		tBALF_FI.39	1000	53,82	54	0,59
<b>C01</b>	08.12.1998	dBALF_Pool	12,0	46,50	1	3,58
<b>C02</b>	17.12.1994	dBALF_Pool	47,5	57,50	3	2,88
<b>C03</b>	22.02.1999	dBALF_Pool	22,5	77,10	2	6,82
<b>C04</b>	26.01.1999	dBALF_Pool	17	81,50	1	7,41
<b>C05</b>	24.02.1999	dBALF_Pool	21	47,30	1	4,30
<b>C06</b>	25.02.1999	dBALF_Pool	21	84,70	2	9,96
<b>C07</b>	01.03.1999	dBALF_Pool	12,5	97,30	1	13,90
<b>C08</b>	02.03.1999	dBALF_Pool	14	77,10	1	7,71
<b>C09</b>	12.10.1999	dBALF_Pool	17	65,10	1	5,92
<b>C10</b>	07.12.2000	dBALF_Pool	65	49,00	3	1,36
<b>C11</b>	29.05.2001	dBALF_Pool	43	74,60	3	2,98
<b>C12</b>	07.06.2002	dBALF_Pool	23	66,00	1	3,88
<b>C13</b>	03.07.2001	dBALF_Pool	37	70,00	3	2,80
<b>C14</b>	18.07.2001	dBALF_Pool	39	38,00	1	2,24
<b>C15</b>	12.02.2002	dBALF_Pool	75	56,00	4	1,93
<b>C16</b>	20.07.2001	dBALF_Pool	55	61,00	3	1,74
<b>Lj01</b>	17.05.2001 li	dBALF_Pool	5			
	21.11.2001 re	dBALF_Pool	18			
		tBALF_FI.1	552			
		tBALF_FI.2	580			

## SP-A

Patient	Lavage	Spülportion	Volumen (ml)	Konzentration (µg/ml)	Auswaschmenge/ Gesamtprotein (µg/µg)	Auswaschmenge (µg)	Konzentration/ Körpergewicht (µg/ml/kg)
<b>Pj01</b>	1.10.2001 re	dBALF_Pool	36				
		tBALF_FI.1	515				
		tBALF_FI.2	490				
		tBALF_FI.3	485				
		tBALF_FI.4	425				
	05.06.2000 re	dBALF_Pool	36	13,99	0,06	504	1,27
		tBALF_FI.1	421	80,15	0,15	33743	7,29
		tBALF_FI.2	480	39,26	0,15	18845	3,57
		tBALF_FI.3	494	22,15	0,12	10942	2,01
		tBALF_FI.4	489	14,20	0,10	6944	1,29
		tBALF_FI.5	475	14,06	0,12	6680	1,28
		tBALF_FI.6	573	13,86	0,13	7943	1,26
	07.06.2000 li	dBALF_Pool	36	13,88	0,04	500	1,26
		tBALF_FI.1	474	16,68	0,05	7906	1,52
		tBALF_FI.2	472	10,18	0,04	4805	0,93
		tBALF_FI.3	490	10,21	0,14	5001	0,93
		tBALF_FI.4	488	10,24	0,21	4997	0,93
		tBALF_FI.5	486	4,67	0,08	2270	0,42
		tBALF_FI.6	480	4,00	0,07	1920	0,36
	11.12.2000 re	dBALF_Pool	36				
		tBALF_FI.1	420				
		tBALF_FI.2	397				
		tBALF_FI.3	500				
		tBALF_FI.4	484				
	09.05.2001 li	dBALF_Pool	36				
		tBALF_FI.1	492				
		tBALF_FI.2	500				
		tBALF_FI.3	500				

Patient	Lavage	Spülportion	Volumen (ml)	Konzentration (µg/ml)	Auswaschmenge/ Gesamtprotein (µg/µg)	Auswaschmenge (µg)	Konzentration/ Körpergewicht (µg/ml/kg)
		tBALF_FI.4	485				
		tBALF_FI.5	490				
		tBALF_FI.6	500				
		tBALF_FI.7	390				
		tBALF_FI.8	480				
		tBALF_FI.9	460				
		tBALF_FI.10	490				
	25.09.2000 re	dBALF_Pool	36	10,92	0,05	393	0,95
		tBALF_FI.1	458	29,22	0,11	13381	2,54
		tBALF_FI.2	475	11,30	0,10	5368	0,98
		tBALF_FI.3	490	12,60	0,15	6176	1,10
		tBALF_FI.4	475	10,89	0,13	5174	0,95
		tBALF_FI.5	512	2,54	0,02	1300	0,22
		tBALF_FI.6	487	31,26	0,33	15225	2,72
		tBALF_FI.7	510	4,56	0,10	2324	0,40
	27.09.2000 li	dBALF_Pool	36	21,34	0,10	768	1,86
		tBALF_FI.1	495	189,60	0,44	93854	16,49
		tBALF_FI.2	520	67,76	0,44	35234	5,89
		tBALF_FI.3	500	32,44	0,26	16219	2,82
		tBALF_FI.4	510	39,79	0,37	20293	3,46
		tBALF_FI.5	490	11,32	0,18	5548	0,98
		tBALF_FI.6	485	14,05	0,23	6813	1,22
		tBALF_FI.7	460	19,68	0,32	9053	1,71
		tBALF_FI.8	485	17,75	0,28	8610	1,54
		tBALF_FI.9	420	11,23	0,25	4717	0,98
	18.06.2001 re	dBALF_Pool	36	20,90	0,08	752	1,49
		tBALF_FI.1	540	30,64	0,11	16543	2,19
		tBALF_FI.2	520	13,03	0,13	6773	0,93
		tBALF_FI.3	435	7,18	0,12	3122	0,51
		tBALF_FI.4	480	6,70	0,12	3217	0,48
		tBALF_FI.5	590	14,81	0,27	8735	1,06
		tBALF_FI.6	420	6,68	0,13	2804	0,48
	20.06.2001 li	dBALF_Pool	36	17,05	0,10	614	1,22
		tBALF_FI.1	535	23,59	0,15	12618	1,68
		tBALF_FI.2	480	8,00	0,20	3838	0,57
		tBALF_FI.3	500	7,61	0,18	3806	0,54
		tBALF_FI.4	484	10,79	0,19	5221	0,77
		tBALF_FI.5	425	9,77	0,18	4151	0,70
		tBALF_FI.6	500	3,80	0,13	1900	0,27
		tBALF_FI.7	600	1,95	0,07	1172	0,14
	6.11.2000 re	dBALF_Pool	36				
		tBALF_FI.1	420				
		tBALF_FI.3	590				
		tBALF_FI.5	580				
		tBALF_FI.7	185				
	8.11.2000 li	dBALF_Pool	36				
		tBALF_FI.1	502				
		tBALF_FI.3	569				
		tBALF_FI.5	591				
		tBALF_FI.7	597				
		tBALF_FI.9	494				
<b>Pj02</b>	27.06.2001 re	dBALF_Pool	36	46,92	0,09	1689	4,01
		tBALF_FI.1	400	2708,00	0,70	1083200	231,45
		tBALF_FI.2	250	900,34	0,36	225085	76,95
		tBALF_FI.3	300	409,08	0,29	122724	34,96
		tBALF_FI.4	270	297,25	0,33	80256	25,41
		tBALF_FI.5	320	144,30	0,28	46175	12,33
		tBALF_FI.6	550	113,32	0,23	62325	9,69
		tBALF_FI.7	550	76,97	0,25	42332	6,58
		tBALF_FI.8	550	122,77	0,46	67523	10,49
		tBALF_FI.9	300	77,01	0,55	23104	6,58
		tBALF_FI.10	300	89,86	0,51	26957	7,68

Patient	Lavage	Spülportion	Volumen (ml)	Konzentration (µg/ml)	Auswaschmenge/ Gesamtprotein (µg/µg)	Auswaschmenge (µg)	Konzentration/ Körpergewicht (µg/ml/kg)
	29.06.2001 li	dBALF_Pool	36	17,33	0,01	624	1,48
		tBALF_Fl.1	485	36,21	0,01	17559	3,09
		tBALF_Fl.2	500	25,21	0,02	12603	2,15
		tBALF_Fl.3	508	95,71	0,19	48621	8,18
		tBALF_Fl.4	495	81,52	0,21	40350	6,97
		tBALF_Fl.5	500	52,35	0,25	26173	4,47
		tBALF_Fl.6	500	47,86	0,24	23930	4,09
	08.08.2002 re	dBALF_Pool	36	63,90	0,05	2300	4,41
		tBALF_Fl.1	540	530,36	0,28	286395	36,58
		tBALF_Fl.2	541	117,96	0,17	63816	8,14
		tBALF_Fl.3	483	55,84	0,15	26972	3,85
		tBALF_Fl.4	495	9,57	0,06	4737	0,66
		tBALF_Fl.5	490	6,13	0,06	3005	0,42
		tBALF_Fl.6	190	38,43	0,36	7302	2,65
	08.08.2002 li	dBALF_Pool	36	845,34	0,53	30432	58,30
		tBALF_Fl.1	485	722,47	0,45	350398	49,83
		tBALF_Fl.2	600	390,56	0,41	234337	26,94
		tBALF_Fl.3	500	126,07	0,20	63037	8,69
		tBALF_Fl.4	508	109,44	0,21	55596	7,55
		tBALF_Fl.5	507	66,53	0,21	33730	4,59
		tBALF_Fl.6	502	41,94	0,25	21054	2,89
		tBALF_Fl.7	200	29,47	0,17	5894	2,03
	29.11.2002 re	dBALF_Pool	36	298,43	0,18	10744	19,90
		tBALF_Fl.1	720	11,79	0,01	8487	0,79
		tBALF_Fl.2	400	263,91	0,24	105565	17,59
		tBALF_Fl.3	500	220,73	0,35	110363	14,72
		tBALF_Fl.4	400	147,36	0,30	58944	9,82
		tBALF_Fl.5	225	224,28	0,33	50463	14,95
	29.11.2002 li	dBALF_Pool	36	1851,00	0,50	66636	123,40
		tBALF_Fl.1	450	1822,00	0,40	819900	121,47
		tBALF_Fl.2	600	639,60	0,28	383760	42,64
		tBALF_Fl.3	600	279,27	0,28	167560	18,62
		tBALF_Fl.4	555	210,30	0,31	116717	14,02
		tBALF_Fl.5	600	99,64	0,22	59786	6,64
		tBALF_Fl.6	590	66,26	0,20	39094	4,42
		tBALF_Fl.7	420	98,28	0,93	41279	6,55
<b>Pj03</b>	04.12.2002 re	dBALF_Pool	20	26,48	0,03	530	5,88
		tBALF_Fl.1	115	36,50	0,02	4179	8,11
		tBALF_Fl.2	96	44,87	0,01	4308	9,97
	05.12.2002 li	dBALF_Pool	19	39,88	0,04	758	8,86
		tBALF_Fl.1	39	41,74	0,02	1628	9,28
		tBALF_Fl.2	59	134,13	0,03	7914	29,81
		tBALF_Fl.3	37	165,42	0,03	6121	36,76
		tBALF_Fl.4	42	505,90	0,12	21248	112,42
		tBALF_Fl.5	19	369,67	0,17	7024	82,15
		tBALF_Fl.6	34	254,02	0,06	8637	56,45
		tBALF_Fl.7	37	319,65	0,08	11827	71,03
		tBALF_Fl.8	24	79,84	0,03	1916	17,74
<b>Pj04</b>	07.12.2001 re	dBALF_Pool	15	536,58	0,94	8049	124,79
		tBALF_Fl.1	463	169,58	0,38	78515	39,44
		tBALF_Fl.2	490	72,63	0,51	35588	16,89
	19.12.2001 li	dBALF_Pool	13	41,28	0,32	516	9,60
		tBALF_Fl.1	249	44,75	0,16	11143	10,41
		tBALF_Fl.2	262	29,96	0,24	7849	6,97
		tBALF_Fl.3	300	7,18	0,09	2155	1,67
		tBALF_Fl.4	245	25,50	0,20	6248	5,93
<b>Pa01</b>	12.3.2001 li	dBALF_Pool	154	268,52	0,17	41352	3,84
		tBALF_Pool	13800	736,07	0,56	10157776	10,52
	15.3.2001 re	dBALF_Pool	150	287,80	0,21	43170	4,11
		tBALF_Pool	14100	566,13	1,05	7982363	8,09
<b>Pa02</b>	19.2.2001 li	dBALF_Pool	168	976,84	3,03	164108	17,44
		tBALF_Pool	6440	1492,00	5,44	9608480	26,64

Patient	Lavage	Spülportion	Volumen (ml)	Konzentration (µg/ml)	Auswaschmenge/ Gesamtprotein (µg/µg)	Auswaschmenge (µg)	Konzentration/ Körpergewicht (µg/ml/kg)
Pa03	23.4.2002 re	dBALF_Pool	159	13,90	0,10	2210	0,25
		tBALF_Pool	17500	20,37	0,10	356507	0,36
Pa04	31.08.2004	tBALF_FI.1	1000	6629,10	1,25	6629100	118,38
		tBALF_FI.2	1000	2454,00	0,79	2454000	43,82
		tBALF_FI.3	1000	2740,00	1,82	2740000	48,93
		tBALF_FI.4	1000				
		tBALF_FI.5	1000				
		tBALF_FI.6	1000				
		tBALF_FI.7	1000	3890,00	12,00	3890000	69,46
		tBALF_FI.8	1000				
		tBALF_FI.9	1000				
		tBALF_FI.10	1000	6320,00	37,11	6320000	112,86
		tBALF_FI.11	1000				
		tBALF_FI.12	1000				
		tBALF_FI.13	1000	5210,00	39,67	5210000	93,04
		tBALF_FI.14	1000				
		tBALF_FI.15	1000				
		tBALF_FI.16	1000	3880,00	41,06	3880000	69,29
		tBALF_FI.17	1000				
		tBALF_FI.18	1000				
		tBALF_FI.19	1000	1072,00	12,01	1072000	19,14
		tBALF_FI.20	1000				
		tBALF_FI.21	1000				
		tBALF_FI.22	1000	818,00	9,19	818000	14,61
		tBALF_FI.23	1000				
		tBALF_FI.24	1000				
		tBALF_FI.25	1000				
		tBALF_FI.26	1000				
		tBALF_FI.27	1000	202,70	2,23	202700	3,62
Pa05	5.5.2003 li	tBALF_FI.1	1000	4990,00	10,44	4990000	62,38
		tBALF_FI.2	1000				
		tBALF_FI.3	1000	1228,75	3,33	1228750	15,36
		tBALF_FI.4	1000				
		tBALF_FI.5	1000	1072,50	3,91	1072500	13,41
		tBALF_FI.6	1000				
		tBALF_FI.7	1000	2949,90	23,34	2949900	36,87
		tBALF_FI.8	1000				
		tBALF_FI.9	1000				
		tBALF_FI.10	1000	3574,00	52,00	3574000	44,68
		tBALF_FI.11	1000				
		tBALF_FI.12	1000	4930,00	73,63	4930000	61,63
		tBALF_FI.13	1000				
		tBALF_FI.14	1000				
		tBALF_FI.15	1000	1610,00	35,32	1610000	20,13
		tBALF_FI.16	1000				
		tBALF_FI.17	1000				
		tBALF_FI.18	1000	2450,00	47,38	2450000	30,63
		tBALF_FI.19	1000				
		tBALF_FI.20	1000	306,10	10,17	306100	3,83
Pa06	2.10.2003 re	tBALF_FI.1	1000	1425,16	0,29	1425160	15,66
		tBALF_FI.3	1000				
		tBALF_FI.5	1000	1237,47	0,53	1237470	13,60
		tBALF_FI.7	1000				
		tBALF_FI.9	1000	1237,47	0,83	1237470	13,60
		tBALF_FI.11	1000				
		tBALF_FI.13	1000	225,70	0,36	225700	2,48
		tBALF_FI.15	1000				
		tBALF_FI.17	1000	251,60	0,88	251600	2,76
tBALF_FI.19	1000						
tBALF_FI.21	1000	146,90	2,56	146900	1,61		
tBALF_FI.23	1000						
tBALF_FI.25	1000						

Patient	Lavage	Spülportion	Volumen (ml)	Konzentration (µg/ml)	Auswaschmenge/ Gesamtprotein (µg/µg)	Auswaschmenge (µg)	Konzentration/ Körpergewicht (µg/ml/kg)
		tBALF_FI.27	1000	72,00	1,19	72000	0,79
		tBALF_FI.29	1000				
		tBALF_FI.31	1000	80,15	1,16	80150	0,88
		tBALF_FI.33	1000				
		tBALF_FI.35	1000				
		tBALF_FI.37	1000				
		tBALF_FI.39	1000	98,57	1,83	98570	1,08
<b>C01</b>	08.12.1998	dBALF_Pool	12,0	2,09	0,04	0,10	0,16
<b>C02</b>	17.12.1994	dBALF_Pool	47,5	17,73	0,31	1,02	0,89
<b>C03</b>	22.02.1999	dBALF_Pool	22,5	9,94	0,13	0,77	0,88
<b>C04</b>	26.01.1999	dBALF_Pool	17	4,50	0,06	0,37	0,41
<b>C05</b>	24.02.1999	dBALF_Pool	21	6,05	0,13	0,29	0,55
<b>C06</b>	25.02.1999	dBALF_Pool	21	8,07	0,10	0,68	0,95
<b>C07</b>	01.03.1999	dBALF_Pool	12,5	10,29	0,11	1,00	1,47
<b>C08</b>	02.03.1999	dBALF_Pool	14	12,30	0,16	0,95	1,23
<b>C09</b>	12.10.1999	dBALF_Pool	17	9,89	0,15	0,64	0,90
<b>C10</b>	07.12.2000	dBALF_Pool	65	2,28	0,05	0,11	0,06
<b>C11</b>	29.05.2001	dBALF_Pool	43				
<b>C12</b>	07.06.2002	dBALF_Pool	23				
<b>C13</b>	03.07.2001	dBALF_Pool	37				
<b>C14</b>	18.07.2001	dBALF_Pool	39				
<b>C15</b>	12.02.2002	dBALF_Pool	75				
<b>C16</b>	20.07.2001	dBALF_Pool	55				
<b>Lj01</b>	17.05.2001 li	dBALF_Pool	5	15,43	0,13	0,08	1,19
	21.11.2001 re	dBALF_Pool	18	38,94	0,25	0,70	3,00
		tBALF_FI.1	552	56,59	0,19	31,24	4,35
		tBALF_FI.2	580	85,36	0,60	49,51	6,57

## SP-B

Patient	Lavage	Spülportion	Volumen (ml)	Konzentration (ng/ml)	Auswaschmenge/ Gesamtprotein (ng/µg)	Auswaschmenge (µg)	Konzentration/ Körpergewicht (ng/ml/kg)
<b>Pj01</b>	1.10.2001 re	dBALF_Pool	36				
		tBALF_FI.1	515				
		tBALF_FI.2	490				
		tBALF_FI.3	485				
		tBALF_FI.4	425				
	05.06.2000 re	dBALF_Pool	36	1074,81	4,35	38,69	97,71
		tBALF_FI.1	421	2690,07	5,12	1132,52	244,55
		tBALF_FI.2	480	817,62	3,07	392,46	74,33
		tBALF_FI.3	494	672,40	3,64	332,16	61,13
		tBALF_FI.4	489	696,46	5,01	340,57	63,31
		tBALF_FI.5	475	670,80	5,79	318,63	60,98
		tBALF_FI.6	573	552,75	5,32	316,73	50,25
	07.06.2000 li	dBALF_Pool	36	651,04	2,01	23,44	59,19
		tBALF_FI.1	474	1262,60	3,96	598,47	114,78
		tBALF_FI.2	472	743,04	3,19	350,72	67,55
		tBALF_FI.3	490	566,02	7,86	277,35	51,46
		tBALF_FI.4	488	421,19	8,63	205,54	38,29
		tBALF_FI.5	486	403,56	6,75	196,13	36,69
		tBALF_FI.6	480	313,74	5,28	150,59	28,52
	11.12.2000 re	dBALF_Pool	36				
		tBALF_FI.1	420				
		tBALF_FI.2	397				
		tBALF_FI.3	500				
		tBALF_FI.4	484				
	09.05.2001 li	dBALF_Pool	36	1327,03	4,65	47,77	91,52
		tBALF_FI.1	492	1555,83	7,23	765,47	107,30
		tBALF_FI.2	500	880,83	9,98	440,42	60,75
		tBALF_FI.3	500	651,31	8,08	325,66	44,92
		tBALF_FI.4	485	611,77	14,91	296,71	42,19

Patient	Lavage	Spülportion	Volumen (ml)	Konzentration (ng/ml)	Auswaschmenge/ Gesamtprotein (ng/µg)	Auswaschmenge (µg)	Konzentration/ Körpergewicht (ng/ml/kg)
		tBALF_FI.5	490	508,36	5,27	249,09	35,06
		tBALF_FI.6	500	656,72	11,59	328,36	45,29
		tBALF_FI.7	390	618,54	12,90	241,23	42,66
		tBALF_FI.8	480	172,08	2,12	82,60	11,87
		tBALF_FI.9	460	204,55	4,30	94,09	14,11
		tBALF_FI.10	490	262,48	7,00	128,62	18,10
	25.09.2000 re	dBALF_Pool	36	509,29	2,55	18,33	44,29
		tBALF_FI.1	458	1005,60	3,76	460,56	87,44
		tBALF_FI.2	475	555,69	4,75	263,95	48,32
		tBALF_FI.3	490	414,54	4,94	203,13	36,05
		tBALF_FI.4	475	403,56	4,65	191,69	35,09
		tBALF_FI.5	512	292,23	2,70	149,62	25,41
		tBALF_FI.6	487				
		tBALF_FI.7	510	294,84	6,66	150,37	25,64
	27.09.2000 li	dBALF_Pool	36	805,49	3,84	29,00	70,04
		tBALF_FI.1	495	1385,38	3,24	685,76	120,47
		tBALF_FI.2	520	1149,48	7,45	597,73	99,95
		tBALF_FI.3	500	796,30	6,45	398,15	69,24
		tBALF_FI.4	510	744,30	6,89	379,59	64,72
		tBALF_FI.5	490				
		tBALF_FI.6	485				
		tBALF_FI.7	460	403,19	6,51	185,47	35,06
		tBALF_FI.8	485				
		tBALF_FI.9	420	195,65	4,35	82,17	17,01
	18.06.2001 re	dBALF_Pool	36	1569,03	6,30	56,49	112,07
		tBALF_FI.1	540	2394,92	8,47	1293,26	171,07
		tBALF_FI.2	520	1182,91	11,39	615,12	84,49
		tBALF_FI.3	435	1205,85	20,16	524,54	86,13
		tBALF_FI.4	480	1051,90	19,34	504,91	75,14
		tBALF_FI.5	590	1054,25	19,55	622,00	75,30
		tBALF_FI.6	420	962,78	19,18	404,37	68,77
	20.06.2001 li	dBALF_Pool	36	719,80	4,37	25,91	51,41
		tBALF_FI.1	535	1006,23	6,52	538,33	71,87
		tBALF_FI.2	480	869,53	21,73	417,37	62,11
		tBALF_FI.3	500	749,86	17,81	374,93	53,56
		tBALF_FI.4	484	682,12	12,04	330,15	48,72
		tBALF_FI.5	425	621,18	11,40	264,00	44,37
		tBALF_FI.6	500				
		tBALF_FI.7	600	503,32	17,49	301,99	35,95
	6.11.2000 re	dBALF_Pool	36				
		tBALF_FI.1	420				
		tBALF_FI.3	590				
		tBALF_FI.5	580				
		tBALF_FI.7	185				
	8.11.2000 li	dBALF_Pool	36				
		tBALF_FI.1	502				
		tBALF_FI.3	569				
		tBALF_FI.5	591				
		tBALF_FI.7	597				
		tBALF_FI.9	494				
<b>Pj02</b>	27.06.2001 re	dBALF_Pool	36	577,02	1,09	20,77	49,32
		tBALF_FI.1	400	2867,36	0,74	1146,94	245,07
		tBALF_FI.2	250	2505,13	1,00	626,28	214,11
		tBALF_FI.3	300	2448,64	1,73	734,59	209,29
		tBALF_FI.4	270				
		tBALF_FI.5	320	1751,78	3,42	560,57	149,72
		tBALF_FI.6	550	1131,93	2,31	622,56	96,75
		tBALF_FI.7	550				
		tBALF_FI.8	550	944,38	3,53	519,41	80,72
		tBALF_FI.9	300				
		tBALF_FI.10	300	503,10	2,86	150,93	43,00
	29.06.2001 li	dBALF_Pool	36	1347,71	0,67	48,52	115,19

Patient	Lavage	Spülportion	Volumen (ml)	Konzentration (ng/ml)	Auswaschmenge/ Gesamtprotein (ng/µg)	Auswaschmenge (µg)	Konzentration/ Körpergewicht (ng/ml/kg)
		tBALF_FI.1	485	2366,06	0,64	1147,54	202,23
		tBALF_FI.2	500	1747,82	1,27	873,91	149,39
		tBALF_FI.3	508	758,83	1,52	385,48	64,86
		tBALF_FI.4	495	561,74	1,47	278,06	48,01
		tBALF_FI.5	500	246,81	1,16	123,40	21,09
		tBALF_FI.6	500	170,97	0,86	85,48	14,61
	08.08.2002 re	dBALF_Pool	36	1383,40	1,05	49,80	95,41
		tBALF_FI.1	540	2075,85	1,10	1120,96	143,16
		tBALF_FI.2	541	1219,62	1,76	659,81	84,11
		tBALF_FI.3	483	523,03	1,44	252,62	36,07
		tBALF_FI.4	495	217,93	1,27	107,88	15,03
		tBALF_FI.5	490	214,27	2,03	104,99	14,78
		tBALF_FI.6	190	159,36	1,48	30,28	10,99
	08.08.2002 li	dBALF_Pool	36	1620,79	1,02	58,35	111,78
		tBALF_FI.1	485	1392,45	0,87	675,34	96,03
		tBALF_FI.2	600	1698,47	1,80	1019,08	117,14
		tBALF_FI.3	500	902,69	1,46	451,34	62,25
		tBALF_FI.4	508	590,08	1,12	299,76	40,70
		tBALF_FI.5	507	382,95	1,18	194,16	26,41
		tBALF_FI.6	502				
		tBALF_FI.7	200	134,05	0,77	26,81	9,24
	29.11.2002 re	dBALF_Pool	36				
		tBALF_FI.1	720				
		tBALF_FI.2	400				
		tBALF_FI.3	500				
		tBALF_FI.4	400				
		tBALF_FI.5	225				
	29.11.2002 li	dBALF_Pool	36	843,62	0,23	30,37	56,24
		tBALF_FI.1	450	1908,05	0,42	858,62	127,20
		tBALF_FI.2	600	1621,36	0,71	972,81	108,09
		tBALF_FI.3	600	1592,06	1,58	955,24	106,14
		tBALF_FI.4	555	818,96	1,19	454,52	54,60
		tBALF_FI.5	600	462,39	1,01	277,43	30,83
		tBALF_FI.6	590				
		tBALF_FI.7	420	247,21	2,34	103,83	16,48
<b>Pj03</b>	04.12.2002 re	dBALF_Pool	20	1746,26	1,68	34,93	388,06
		tBALF_FI.1	115	2520,75	1,21	288,63	560,17
		tBALF_FI.2	96	2155,73	0,52	206,95	479,05
	05.12.2002 li	dBALF_Pool	19	868,79	0,85	16,51	193,06
		tBALF_FI.1	39	1114,79	0,45	43,48	247,73
		tBALF_FI.2	59	777,45	0,17	45,87	172,77
		tBALF_FI.3	37		0,00		
		tBALF_FI.4	42				
		tBALF_FI.5	19	277,94	0,13	5,28	61,76
		tBALF_FI.6	34	282,37	0,07	9,60	62,75
		tBALF_FI.7	37				
		tBALF_FI.8	24	439,06	0,14	10,54	97,57
<b>Pj04</b>	07.12.2001 re	dBALF_Pool	15	351,84	0,61	81,82	5,28
		tBALF_FI.1	463	557,00	1,24	129,53	257,89
		tBALF_FI.2	490	191,72	1,35	44,59	93,94
	19.12.2001 li	dBALF_Pool	13	480,93	1,70	111,84	119,75
		tBALF_FI.1	249	346,13	2,80	80,50	90,69
		tBALF_FI.2	262				
		tBALF_FI.3	300	323,56	2,53	75,25	79,27
		tBALF_FI.4	245				
<b>Pa01</b>	12.3.2001 li	dBALF_Pool	154	1144,13	0,71	176,20	16,34
		tBALF_Pool	13800	1713,22	1,31	23642,49	24,47
	15.3.2001 re	dBALF_Pool	150	1124,34	0,82	168,65	16,06
		tBALF_Pool	14100	522,56	0,97	7368,08	7,47
<b>Pa02</b>	19.2.2001 li	dBALF_Pool	168	403,09	1,25	67,72	7,20
		tBALF_Pool	6440	372,01	1,36	2395,74	6,64
<b>Pa03</b>	23.4.2002 re	dBALF_Pool	159	278,31	2,07	44,25	4,97

Patient	Lavage	Spülportion	Volumen (ml)	Konzentration (ng/ml)	Auswaschmenge/ Gesamtprotein (ng/µg)	Auswaschmenge (µg)	Konzentration/ Körpergewicht (ng/ml/kg)
		tBALF_Pool	17500	225,89	1,13	3953,08	4,03
<b>Pa04</b>	31.08.2004	tBALF_FI.1	1000	1684,22	0,32	1684,22	30,08
		tBALF_FI.2	1000				
		tBALF_FI.3	1000	2249,73	1,50	2249,73	40,17
		tBALF_FI.4	1000				
		tBALF_FI.5	1000	1664,62	2,00	1664,62	29,73
		tBALF_FI.6	1000				
		tBALF_FI.7	1000				
		tBALF_FI.8	1000	1840,23	7,13	1840,23	32,86
		tBALF_FI.9	1000				
		tBALF_FI.10	1000				
		tBALF_FI.11	1000				
		tBALF_FI.12	1000	1151,43	8,23	1151,43	20,56
		tBALF_FI.13	1000				
		tBALF_FI.14	1000	609,44	5,38	609,44	10,88
		tBALF_FI.15	1000				
		tBALF_FI.16	1000				
		tBALF_FI.17	1000				
		tBALF_FI.18	1000				
		tBALF_FI.19	1000	339,78	3,81	339,78	6,07
		tBALF_FI.20	1000				
		tBALF_FI.21	1000				
		tBALF_FI.22	1000				
		tBALF_FI.23	1000	292,38	3,52	292,38	5,22
		tBALF_FI.24	1000				
		tBALF_FI.25	1000				
		tBALF_FI.26	1000	241,44	2,73	241,44	4,31
		tBALF_FI.27	1000				
<b>Pa05</b>	5.5.2003 li	tBALF_FI.1	1000	807,19	1,69	807,19	10,09
		tBALF_FI.2	1000	696,23	1,66	696,23	8,70
		tBALF_FI.3	1000				
		tBALF_FI.4	1000				
		tBALF_FI.5	1000	281,16	1,03	281,16	3,51
		tBALF_FI.6	1000	526,97	2,25	526,97	6,59
		tBALF_FI.7	1000				
		tBALF_FI.8	1000				
		tBALF_FI.9	1000	248,92	2,67	248,92	3,11
		tBALF_FI.10	1000				
		tBALF_FI.11	1000				
		tBALF_FI.12	1000				
		tBALF_FI.13	1000	218,02	4,23	218,02	2,73
		tBALF_FI.14	1000				
		tBALF_FI.15	1000				
		tBALF_FI.16	1000				
		tBALF_FI.17	1000	145,31	3,61	145,31	1,82
		tBALF_FI.18	1000				
		tBALF_FI.19	1000				
		tBALF_FI.20	1000	119,11	3,96	119,11	1,49
<b>Pa06</b>	2.10.2003 re	tBALF_FI.1	1000	2570,88	0,52	2570,88	28,25
		tBALF_FI.3	1000	2597,11	1,00	2597,11	28,54
		tBALF_FI.5	1000	2241,55	0,96	2241,55	24,63
		tBALF_FI.7	1000	1541,33	1,16	1541,33	16,94
		tBALF_FI.9	1000	1429,11	0,96	1429,11	15,70
		tBALF_FI.11	1000				
		tBALF_FI.13	1000				
		tBALF_FI.15	1000				
		tBALF_FI.17	1000	365,27	1,28	365,27	4,01
		tBALF_FI.19	1000				
		tBALF_FI.21	1000				
		tBALF_FI.23	1000				
		tBALF_FI.25	1000	184,44	3,01	184,44	2,03
		tBALF_FI.27	1000				

Patient	Lavage	Spülportion	Volumen (ml)	Konzentration (ng/ml)	Auswaschmenge/ Gesamtprotein (ng/µg)	Auswaschmenge (µg)	Konzentration/ Körpergewicht (ng/ml/kg)
		tBALF_FI.29	1000				
		tBALF_FI.31	1000	176,97	2,56	176,97	1,94
		tBALF_FI.33	1000				
		tBALF_FI.35	1000	165,91	2,60	165,91	1,82
		tBALF_FI.37	1000				
		tBALF_FI.39	1000				
<b>C01</b>	08.12.1998	dBALF_Pool	12,0	178,29	3,83	2,14	13,71
<b>C02</b>	17.12.1994	dBALF_Pool	47,5				
<b>C03</b>	22.02.1999	dBALF_Pool	22,5				
<b>C04</b>	26.01.1999	dBALF_Pool	17	1003,26	12,31	17,06	91,21
<b>C05</b>	24.02.1999	dBALF_Pool	21	142,23	3,01	2,99	12,93
<b>C06</b>	25.02.1999	dBALF_Pool	21				
<b>C07</b>	01.03.1999	dBALF_Pool	12,5	1449,81	14,90	18,12	207,12
<b>C08</b>	02.03.1999	dBALF_Pool	14				
<b>C09</b>	12.10.1999	dBALF_Pool	17				
<b>C10</b>	07.12.2000	dBALF_Pool	65				
<b>C11</b>	29.05.2001	dBALF_Pool	43	1097,59	14,71	47,20	43,90
<b>C12</b>	07.06.2002	dBALF_Pool	23	301,57	4,57	6,79	17,74
<b>C13</b>	03.07.2001	dBALF_Pool	37	1067,51	15,25	39,50	42,70
<b>C14</b>	18.07.2001	dBALF_Pool	39	445,82	11,73	17,39	26,22
<b>C15</b>	12.02.2002	dBALF_Pool	75	305,86	5,46	22,94	10,55
<b>C16</b>	20.07.2001	dBALF_Pool	55	196,69	3,22	10,82	5,62
<b>Lj01</b>	17.05.2001 li	dBALF_Pool	5				
	21.11.2001 re	dBALF_Pool	18	261,70	1,68	4,71	20,13
		tBALF_FI.1	552	519,78	1,77	286,92	39,98
		tBALF_FI.2	580	209,30	1,47	121,39	16,10

## SP-C

Patient	Lavage	Spülportion	Volumen (ml)	Konzentration (ng/ml)	Auswaschmenge/ Gesamtprotein (ng/µg)	Auswaschmenge (µg)	Konzentration/ Körpergewicht (ng/ml/kg)
<b>Pj01</b>	1.10.2001 re	dBALF_Pool	36				
		tBALF_FI.1	515				
		tBALF_FI.2	490				
		tBALF_FI.3	485				
		tBALF_FI.4	425				
	05.06.2000 re	dBALF_Pool	36	1611,83	6,53	58,03	146,53
		tBALF_FI.1	421	3628,02	6,91	1527,39	329,82
		tBALF_FI.2	480	1453,55	5,46	697,70	132,14
		tBALF_FI.3	494	1071,37	5,80	529,26	97,40
		tBALF_FI.4	489	1348,87	9,69	659,60	122,62
		tBALF_FI.5	475	1106,96	9,56	525,81	100,63
		tBALF_FI.6	573	786,12	7,56	450,45	71,47
	07.06.2000 li	dBALF_Pool	36	640,36	1,97	23,05	58,21
		tBALF_FI.1	474	1011,27	3,17	479,34	91,93
		tBALF_FI.2	472	1075,48	4,61	507,63	97,77
		tBALF_FI.3	490	442,52	6,15	216,84	40,23
		tBALF_FI.4	488	306,02	6,27	149,34	27,82
		tBALF_FI.5	486	225,55	3,77	109,62	20,50
		tBALF_FI.6	480	246,83	4,15	118,48	22,44
	11.12.2000 re	dBALF_Pool	36				
		tBALF_FI.1	420				
		tBALF_FI.2	397				
		tBALF_FI.3	500				
		tBALF_FI.4	484				
	09.05.2001 li	dBALF_Pool	36	950,34	3,33	34,21	65,54
		tBALF_FI.1	492	1034,22	4,81	508,84	71,33
		tBALF_FI.2	500	912,41	10,33	456,20	62,92
		tBALF_FI.3	500	534,86	6,63	267,43	36,89
		tBALF_FI.4	485	700,52	17,07	339,75	48,31
		tBALF_FI.5	490	951,89	9,87	466,43	65,65

Patient	Lavage	Spülportion	Volumen (ml)	Konzentration (ng/ml)	Auswaschmenge/ Gesamtprotein (ng/µg)	Auswaschmenge (µg)	Konzentration/ Körpergewicht (ng/ml/kg)
		tBALF_FI.6	500	737,12	13,00	368,56	50,84
		tBALF_FI.7	390	442,98	9,24	172,76	30,55
		tBALF_FI.8	480	607,70	7,47	291,69	41,91
		tBALF_FI.9	460	634,85	13,34	292,03	43,78
		tBALF_FI.10	490	673,96	17,96	330,24	46,48
	25.09.2000 re	dBALF_Pool	36	674,29	3,37	24,27	58,63
		tBALF_FI.1	458	1217,83	4,55	557,77	105,90
		tBALF_FI.2	475	1001,84	8,57	475,87	87,12
		tBALF_FI.3	490	868,06	10,35	425,35	75,48
		tBALF_FI.4	475	654,19	7,54	310,74	56,89
		tBALF_FI.5	512	487,37	4,51	249,53	42,38
		tBALF_FI.6	487				
		tBALF_FI.7	510	250,51	5,66	127,76	21,78
	27.09.2000 li	dBALF_Pool	36	905,07	4,32	32,58	78,70
		tBALF_FI.1	495	1384,03	3,24	685,09	120,35
		tBALF_FI.2	520	774,34	5,02	402,66	67,33
		tBALF_FI.3	500	601,01	4,87	300,51	52,26
		tBALF_FI.4	510	487,62	4,51	248,69	42,40
		tBALF_FI.5	490				
		tBALF_FI.6	485				
		tBALF_FI.7	460	456,20	7,36	209,85	39,67
		tBALF_FI.8	485				
		tBALF_FI.9	420	289,99	6,45	121,80	25,22
	18.06.2001 re	dBALF_Pool	36	628,60	2,53	22,63	44,90
		tBALF_FI.1	540	887,53	3,14	479,26	63,39
		tBALF_FI.2	520	450,80	4,34	234,42	32,20
		tBALF_FI.3	435	406,85	6,80	176,98	29,06
		tBALF_FI.4	480	324,09	5,96	155,56	23,15
		tBALF_FI.5	590	300,44	5,57	177,26	21,46
		tBALF_FI.6	420	303,91	6,06	127,64	21,71
	20.06.2001 li	dBALF_Pool	36	1224,61	7,44	44,09	87,47
		tBALF_FI.1	535	1566,34	10,14	837,99	111,88
		tBALF_FI.2	480	1295,61	32,38	621,89	92,54
		tBALF_FI.3	500	1160,92	27,57	580,46	82,92
		tBALF_FI.4	484	1058,49	18,68	512,31	75,61
		tBALF_FI.5	425	1166,34	21,41	495,69	83,31
		tBALF_FI.6	500				
		tBALF_FI.7	600	979,08	34,02	587,45	69,93
	6.11.2000 re	dBALF_Pool	36				
		tBALF_FI.1	420				
		tBALF_FI.3	590				
		tBALF_FI.5	580				
		tBALF_FI.7	185				
	8.11.2000 li	dBALF_Pool	36				
		tBALF_FI.1	502				
		tBALF_FI.3	569				
		tBALF_FI.5	591				
		tBALF_FI.7	597				
		tBALF_FI.9	494				
<b>Pj02</b>	27.06.2001 re	dBALF_Pool	36	288,01	0,54	10,37	24,62
		tBALF_FI.1	400	3495,96	0,90	1398,38	298,80
		tBALF_FI.2	250	2917,80	1,17	729,45	249,38
		tBALF_FI.3	300	2071,85	1,47	621,56	177,08
		tBALF_FI.4	270				
		tBALF_FI.5	320	1119,47	2,19	358,23	95,68
		tBALF_FI.6	550	803,62	1,64	441,99	68,69
		tBALF_FI.7	550				
		tBALF_FI.8	550	490,73	1,84	269,90	41,94
		tBALF_FI.9	300				
		tBALF_FI.10	300	199,30	1,13	59,79	17,03
	29.06.2001 li	dBALF_Pool	36	1865,31	0,93	67,15	159,43
		tBALF_FI.1	485	4780,50	1,28	2318,54	408,59

Patient	Lavage	Spülportion	Volumen (ml)	Konzentration (ng/ml)	Auswaschmenge/ Gesamtprotein (ng/µg)	Auswaschmenge (µg)	Konzentration/ Körpergewicht (ng/ml/kg)
		tBALF_FI.2	500	3917,88	2,85	1958,94	334,86
		tBALF_FI.3	508	990,29	1,98	503,07	84,64
		tBALF_FI.4	495	719,50	1,89	356,15	61,50
		tBALF_FI.5	500	329,95	1,55	164,98	28,20
		tBALF_FI.6	500	221,02	1,11	110,51	18,89
	08.08.2002 re	dBALF_Pool	36	3005,15	2,27	108,19	207,25
		tBALF_FI.1	540	6135,99	3,25	3313,43	423,17
		tBALF_FI.2	541	2098,05	3,03	1135,05	144,69
		tBALF_FI.3	483	1266,51	3,50	611,72	87,35
		tBALF_FI.4	495	566,04	3,29	280,19	39,04
		tBALF_FI.5	490	710,89	6,73	348,34	49,03
		tBALF_FI.6	190	635,50	5,90	120,74	43,83
	08.08.2002 li	dBALF_Pool	36	2470,49	1,55	88,94	170,38
		tBALF_FI.1	485	7526,21	4,68	3650,21	519,05
		tBALF_FI.2	600	4219,38	4,47	2531,63	290,99
		tBALF_FI.3	500	1816,47	2,94	908,23	125,27
		tBALF_FI.4	508	2075,62	3,95	1054,41	143,15
		tBALF_FI.5	507	921,24	2,84	467,07	63,53
		tBALF_FI.6	502				
		tBALF_FI.7	200	403,19	2,32	80,64	27,81
	29.11.2002 re	dBALF_Pool	36				
		tBALF_FI.1	720				
		tBALF_FI.2	400				
		tBALF_FI.3	500				
		tBALF_FI.4	400				
		tBALF_FI.5	225				
	29.11.2002 li	dBALF_Pool	36	2254,52	0,61	81,16	150,30
		tBALF_FI.1	450	3850,79	0,85	1732,86	256,72
		tBALF_FI.2	600	2948,50	1,29	1769,10	196,57
		tBALF_FI.3	600	3726,72	3,69	2236,03	248,45
		tBALF_FI.4	555	1961,61	2,85	1088,69	130,77
		tBALF_FI.5	600	969,39	2,11	581,63	64,63
		tBALF_FI.6	590				
		tBALF_FI.7	420	609,03	5,76	255,79	40,60
<b>Pj03</b>	04.12.2002 re	dBALF_Pool	20	2406,20	2,31	48,12	534,71
		tBALF_FI.1	115	5319,77	2,55	609,11	1182,17
		tBALF_FI.2	96	4996,09	1,20	479,62	1110,24
	05.12.2002 li	dBALF_Pool	19	2424,69	2,36	46,07	538,82
		tBALF_FI.1	39	1897,33	0,76	74,00	421,63
		tBALF_FI.2	59	1601,78	0,36	94,50	355,95
		tBALF_FI.3	37				
		tBALF_FI.4	42				
		tBALF_FI.5	19	1816,90	0,85	34,52	403,76
		tBALF_FI.6	34	1849,42	0,43	62,88	410,98
		tBALF_FI.7	37				
		tBALF_FI.8	24	746,59	0,24	17,92	165,91
<b>Pj04</b>	07.12.2001 re	dBALF_Pool	15	1653,90	2,89	24,81	384,63
		tBALF_FI.1	463	1366,48	3,05	632,68	317,79
		tBALF_FI.2	490	504,29	3,54	247,10	117,28
	19.12.2001 li	dBALF_Pool	13	1481,46	5,24	368,88	344,53
		tBALF_FI.1	249	903,36	7,30	236,68	210,08
		tBALF_FI.2	262				
		tBALF_FI.3	300	487,02	3,81	119,32	113,26
		tBALF_FI.4	245				
<b>Pa01</b>	12.3.2001 li	dBALF_Pool	154	2106,07	4,75	324,33	30,09
		tBALF_Pool	13800	4441,07	2,25	61286,83	63,44
	15.3.2001 re	dBALF_Pool	150	2085,20	4,80	312,78	29,79
		tBALF_Pool	14100	1009,77	18,41	14237,82	14,43
<b>Pa02</b>	19.2.2001 li	dBALF_Pool	168	869,98	35,70	146,16	15,54
		tBALF_Pool	6440	885,80	41,18	5704,57	15,82
<b>Pa03</b>	23.4.2002 re	dBALF_Pool	159	392,97	127,24	62,48	7,02
		tBALF_Pool	17500	614,40	81,67	10752,05	10,97

Patient	Lavage	Spülportion	Volumen (ml)	Konzentration (ng/ml)	Auswaschmenge/ Gesamtprotein (ng/µg)	Auswaschmenge (µg)	Konzentration/ Körpergewicht (ng/ml/kg)
<b>Pa04</b>	31.08.2004	tBALF_FI.1	1000	3057,53	0,57	3057,53	54,60
		tBALF_FI.2	1000				
		tBALF_FI.3	1000	2410,85	1,60	2410,85	43,05
		tBALF_FI.4	1000				
		tBALF_FI.5	1000	1897,17	2,28	1897,17	33,88
		tBALF_FI.6	1000				
		tBALF_FI.7	1000				
		tBALF_FI.8	1000	1569,99	6,09	1569,99	28,04
		tBALF_FI.9	1000				
		tBALF_FI.10	1000				
		tBALF_FI.11	1000				
		tBALF_FI.12	1000	1087,96	7,78	1087,96	19,43
		tBALF_FI.13	1000				
		tBALF_FI.14	1000	649,11	5,73	649,11	11,59
		tBALF_FI.15	1000				
		tBALF_FI.16	1000				
		tBALF_FI.17	1000				
		tBALF_FI.18	1000				
		tBALF_FI.19	1000	460,94	5,16	460,94	8,23
		tBALF_FI.20	1000				
		tBALF_FI.21	1000				
		tBALF_FI.22	1000				
		tBALF_FI.23	1000	233,49	2,81	233,49	4,17
		tBALF_FI.24	1000				
		tBALF_FI.25	1000				
		tBALF_FI.26	1000	205,82	2,33	205,82	3,68
		tBALF_FI.27	1000				
<b>Pa05</b>	5.5.2003 li	tBALF_FI.1	1000	752,32	1,57	752,32	9,40
		tBALF_FI.2	1000	855,10	2,04	855,10	10,69
		tBALF_FI.3	1000				
		tBALF_FI.4	1000				
		tBALF_FI.5	1000	367,24	1,34	367,24	4,59
		tBALF_FI.6	1000	555,02	2,37	555,02	6,94
		tBALF_FI.7	1000				
		tBALF_FI.8	1000				
		tBALF_FI.9	1000	483,33	5,19	483,33	6,04
		tBALF_FI.10	1000				
		tBALF_FI.11	1000				
		tBALF_FI.12	1000				
		tBALF_FI.13	1000	276,42	5,36	276,42	3,46
		tBALF_FI.14	1000				
		tBALF_FI.15	1000				
		tBALF_FI.16	1000				
		tBALF_FI.17	1000	288,66	7,18	288,66	3,61
		tBALF_FI.18	1000				
		tBALF_FI.19	1000				
		tBALF_FI.20	1000	255,23	8,48	255,23	3,19
<b>Pa06</b>	2.10.2003 re	tBALF_FI.1	1000	1679,92	0,34	1679,92	18,46
		tBALF_FI.3	1000	1272,31	0,49	1272,31	13,98
		tBALF_FI.5	1000	1546,90	0,66	1546,90	17,00
		tBALF_FI.7	1000	1208,68	0,91	1208,68	13,28
		tBALF_FI.9	1000	1391,23	0,94	1391,23	15,29
		tBALF_FI.11	1000				
		tBALF_FI.13	1000				
		tBALF_FI.15	1000				
		tBALF_FI.17	1000	320,74	1,12	320,74	3,52
		tBALF_FI.19	1000				
tBALF_FI.21	1000						
tBALF_FI.23	1000						
tBALF_FI.25	1000	236,45	3,86	236,45	2,60		
tBALF_FI.27	1000						
tBALF_FI.29	1000						

Patient	Lavage	Spülportion	Volumen (ml)	Konzentration (ng/ml)	Auswaschmenge/ Gesamtprotein (ng/µg)	Auswaschmenge (µg)	Konzentration/ Körpergewicht (ng/ml/kg)
		tBALF_FI.31	1000	234,02	3,39	234,02	2,57
		tBALF_FI.33	1000				
		tBALF_FI.35	1000	186,44	2,92	186,44	2,05
		tBALF_FI.37	1000				
		tBALF_FI.39	1000				
<b>C01</b>	08.12.1998	dBALF_Pool	12,0	105,25	2,26	1,26	8,10
<b>C02</b>	17.12.1994	dBALF_Pool	47,5	210,86	3,67	10,02	10,54
<b>C03</b>	22.02.1999	dBALF_Pool	22,5	651,30	8,45	14,65	57,64
<b>C04</b>	26.01.1999	dBALF_Pool	17	419,22	5,14	7,13	38,11
<b>C05</b>	24.02.1999	dBALF_Pool	21	715,22	15,12	15,02	65,02
<b>C06</b>	25.02.1999	dBALF_Pool	21				
<b>C07</b>	01.03.1999	dBALF_Pool	12,5				
<b>C08</b>	02.03.1999	dBALF_Pool	14				
<b>C09</b>	12.10.1999	dBALF_Pool	17	247,00	3,79	4,20	22,45
<b>C10</b>	07.12.2000	dBALF_Pool	65				
<b>C11</b>	29.05.2001	dBALF_Pool	43	78,00	1,05	3,35	3,12
<b>C12</b>	07.06.2002	dBALF_Pool	23	790,00	11,97	17,78	46,47
<b>C13</b>	03.07.2001	dBALF_Pool	37	482,00	6,89	17,83	19,28
<b>C14</b>	18.07.2001	dBALF_Pool	39	48,00	1,26	1,87	2,82
<b>C15</b>	12.02.2002	dBALF_Pool	75	72,00	1,29	5,40	2,48
<b>C16</b>	20.07.2001	dBALF_Pool	55	737,00	12,08	40,54	21,06
<b>Lj01</b>	17.05.2001 li	dBALF_Pool	5				
	21.11.2001 re	dBALF_Pool	18	726,19	4,66	13,07	55,86
		tBALF_FI.1	552	1110,03	3,78	612,74	85,39
		tBALF_FI.2	580	563,90	3,96	327,06	43,38

**SP-D**

Patient	Lavage	Spülportion	Volumen (ml)	Konzentration (µg/ml)	Auswaschmenge/ Gesamtprotein (ng/µg)	Auswaschmenge (µg)	Konzentration/ Körpergewicht (µg/ml/kg)
<b>Pj01</b>	1.10.2001 re	dBALF_Pool	36	0,85	3,883	30,51	0,06
		tBALF_FI.1	515	0,59	2,395	305,70	0,04
		tBALF_FI.2	490	0,83	7,641	405,52	0,06
		tBALF_FI.3	485	0,56	5,263	270,05	0,04
		tBALF_FI.4	425	0,04	0,490	15,73	0,00
	05.06.2000 re	dBALF_Pool	36	0,39	1,560	13,87	0,04
		tBALF_FI.1	421	1,53	2,906	642,70	0,14
		tBALF_FI.2	480	0,82	3,092	395,14	0,07
		tBALF_FI.3	494	0,44	2,405	219,53	0,04
		tBALF_FI.4	489	0,36	2,586	175,94	0,03
		tBALF_FI.5	475	0,34	2,930	161,22	0,03
		tBALF_FI.6	573	0,32	3,042	181,18	0,03
	07.06.2000 li	dBALF_Pool	36	0,31	0,960	11,20	0,03
		tBALF_FI.1	474	0,37	1,160	175,29	0,03
		tBALF_FI.2	472	0,29	1,239	136,41	0,03
		tBALF_FI.3	490	0,32	4,457	157,19	0,03
		tBALF_FI.4	488	0,16	3,178	75,74	0,01
		tBALF_FI.5	486	0,11	1,769	51,42	0,01
		tBALF_FI.6	480	0,06	1,026	29,28	0,01
	11.12.2000 re	dBALF_Pool	36	0,11	0,536	3,79	0,01
		tBALF_FI.1	420	0,49	1,583	205,80	0,04
		tBALF_FI.2	397	0,41	1,443	162,06	0,03
		tBALF_FI.3	500	0,58	1,289	290,20	0,05
		tBALF_FI.4	484	0,30	2,052	146,26	0,02
	09.05.2001 li	dBALF_Pool	36	0,30	1,045	10,74	0,02
		tBALF_FI.1	492	0,32	1,471	155,67	0,02
		tBALF_FI.2	500	0,66	7,477	330,10	0,05
		tBALF_FI.3	500	0,08	0,985	39,70	0,01
		tBALF_FI.4	485	0,11	2,559	50,93	0,01
		tBALF_FI.5	490	0,16	1,654	78,20	0,01

Patient	Lavage	Spülportion	Volumen (ml)	Konzentration (µg/ml)	Auswaschmenge/ Gesamtprotein (ng/µg)	Auswaschmenge (µg)	Konzentration/ Körpergewicht (µg/ml/kg)
		tBALF_FI.6	500	0,17	2,925	82,90	0,01
		tBALF_FI.7	390	0,04	0,772	14,43	0,00
		tBALF_FI.8	480	0,12	1,413	55,20	0,01
		tBALF_FI.9	460	0,08	1,635	35,79	0,01
		tBALF_FI.10	490				
	25.09.2000 re	dBALF_Pool	36	1,08	5,388	38,79	0,09
		tBALF_FI.1	458	0,69	2,567	314,41	0,06
		tBALF_FI.2	475	0,59	5,064	281,30	0,05
		tBALF_FI.3	490	0,31	3,750	154,14	0,03
		tBALF_FI.4	475	0,73	8,423	347,03	0,06
		tBALF_FI.5	512	0,54	4,951	274,07	0,05
		tBALF_FI.6	487	0,46	4,879	222,03	0,04
		tBALF_FI.7	510	0,22	4,922	111,06	0,02
	27.09.2000 li	dBALF_Pool	36	0,97	4,647	35,09	0,08
		tBALF_FI.1	495	0,75	1,767	373,60	0,07
		tBALF_FI.2	520	0,50	3,250	260,88	0,04
		tBALF_FI.3	500	0,43	3,465	213,89	0,04
		tBALF_FI.4	510	0,39	3,576	197,06	0,03
		tBALF_FI.5	490	0,33	5,362	162,48	0,03
		tBALF_FI.6	485	0,33	5,481	160,92	0,03
		tBALF_FI.7	460	0,46	7,419	211,46	0,04
		tBALF_FI.8	485	0,38	5,954	186,18	0,03
		tBALF_FI.9	420	0,29	6,522	123,13	0,03
	18.06.2001 re	dBALF_Pool	36	0,37	1,496	13,40	0,03
		tBALF_FI.1	540	0,78	2,760	421,51	0,06
		tBALF_FI.2	520	0,69	6,676	360,58	0,05
		tBALF_FI.3	435	0,77	12,922	336,26	0,06
		tBALF_FI.4	480	0,51	9,338	243,84	0,04
		tBALF_FI.5	590	0,44	8,243	262,30	0,03
		tBALF_FI.6	420	0,20	4,025	84,85	0,01
	20.06.2001 li	dBALF_Pool	36	0,16	0,997	5,90	0,01
		tBALF_FI.1	535	0,15	0,987	81,57	0,01
		tBALF_FI.2	480	0,08	1,995	38,30	0,01
		tBALF_FI.3	500	0,05	1,297	27,30	0,00
		tBALF_FI.4	484	0,10	1,690	46,35	0,01
		tBALF_FI.5	425	0,07	1,203	27,85	0,00
		tBALF_FI.6	500	0,03	1,145	16,70	0,00
		tBALF_FI.7	600	0,02	0,752	12,98	0,00
	6.11.2000 re	dBALF_Pool	36	0,91	1,385	32,92	0,08
		tBALF_FI.1	420	0,42	1,412	174,37	0,04
		tBALF_FI.3	590	0,27	2,202	158,84	0,02
		tBALF_FI.5	580	0,17	2,457	99,51	0,02
		tBALF_FI.7	185	0,09	2,526	16,16	0,01
	8.11.2000 li	dBALF_Pool	36	0,26	1,236	9,26	0,02
		tBALF_FI.1	502	0,60	3,332	303,08	0,05
		tBALF_FI.3	569	0,03	0,453	19,24	0,00
		tBALF_FI.5	591	0,10	2,483	59,45	0,01
		tBALF_FI.7	597	0,07	1,594	42,25	0,01
		tBALF_FI.9	494	0,07	2,305	35,81	0,01
<b>Pj02</b>	27.06.2001 re	dBALF_Pool	36	0,08	0,158	3,02	0,01
		tBALF_FI.1	400	0,46	0,118	183,54	0,04
		tBALF_FI.2	250	0,51	0,206	128,68	0,04
		tBALF_FI.3	300	0,70	0,498	211,05	0,06
		tBALF_FI.4	270	0,37	0,417	100,76	0,03
		tBALF_FI.5	320	0,38	0,749	122,64	0,03
		tBALF_FI.6	550	0,44	0,903	243,13	0,04
		tBALF_FI.7	550	0,17	0,547	93,67	0,01
		tBALF_FI.8	550	0,08	0,314	46,08	0,01
		tBALF_FI.9	300	0,13	0,936	39,44	0,01
		tBALF_FI.10	300	0,15	0,867	45,68	0,01
	29.06.2001 li	dBALF_Pool	36	0,50	0,249	17,88	0,04
		tBALF_FI.1	485	0,45	0,121	218,47	0,04

Patient	Lavage	Spülportion	Volumen (ml)	Konzentration (µg/ml)	Auswaschmenge/ Gesamtprotein (ng/µg)	Auswaschmenge (µg)	Konzentration/ Körpergewicht (µg/ml/kg)
		tBALF_FI.2	500	0,21	0,152	104,58	0,02
		tBALF_FI.3	508	0,32	0,634	161,30	0,03
		tBALF_FI.4	495	0,47	1,238	233,89	0,04
		tBALF_FI.5	500	0,59	2,768	294,63	0,05
		tBALF_FI.6	500	0,58	2,908	289,49	0,05
	08.08.2002 re	dBALF_Pool	36	0,90	0,680	32,38	0,06
		tBALF_FI.1	540	0,99	0,524	534,45	0,07
		tBALF_FI.2	541	1,07	1,542	577,03	0,07
		tBALF_FI.3	483	0,61	1,677	293,44	0,04
		tBALF_FI.4	495	0,46	2,697	229,83	0,03
		tBALF_FI.5	490	0,38	3,604	186,45	0,03
		tBALF_FI.6	190	0,26	2,429	49,72	0,02
	08.08.2002 li	dBALF_Pool	36	0,57	0,358	20,50	0,04
		tBALF_FI.1	485	0,28	0,172	133,93	0,02
		tBALF_FI.2	600	0,34	0,359	203,62	0,02
		tBALF_FI.3	500	0,32	0,518	160,13	0,02
		tBALF_FI.4	508	0,18	0,334	89,29	0,01
		tBALF_FI.5	507	0,18	0,542	89,12	0,01
		tBALF_FI.6	502	0,16	0,956	79,80	0,01
		tBALF_FI.7	200	0,17	0,969	33,64	0,01
	29.11.2002 re	dBALF_Pool	36	0,42	0,254	15,00	0,03
		tBALF_FI.1	720	0,36	0,178	260,67	0,02
		tBALF_FI.2	400	0,31	0,283	123,14	0,02
		tBALF_FI.3	500	0,38	0,605	189,32	0,03
		tBALF_FI.4	400	0,25	0,507	101,14	0,02
		tBALF_FI.5	225	0,18	0,271	41,06	0,01
	29.11.2002 li	dBALF_Pool	36	0,53	0,143	19,06	0,04
		tBALF_FI.1	450	0,98	0,216	440,18	0,07
		tBALF_FI.2	600	0,86	0,377	518,62	0,06
		tBALF_FI.3	600	0,68	0,675	409,00	0,05
		tBALF_FI.4	555	0,56	0,813	311,19	0,04
		tBALF_FI.5	600	0,52	1,141	313,99	0,03
		tBALF_FI.6	590	0,53	1,605	314,46	0,04
		tBALF_FI.7	420	0,57	5,421	240,70	0,04
<b>Pj03</b>	04.12.2002 re	dBALF_Pool	20	0,22	0,216	4,50	0,05
		tBALF_FI.1	115	0,72	0,344	81,99	0,16
		tBALF_FI.2	96	0,81	0,194	77,50	0,18
	05.12.2002 li	dBALF_Pool	19	0,21	0,202	3,94	0,05
		tBALF_FI.1	39	0,49	0,199	19,25	0,11
		tBALF_FI.2	59	1,85	0,415	109,40	0,41
		tBALF_FI.3	37	1,82	0,305	67,37	0,40
		tBALF_FI.4	42	1,42	0,347	59,62	0,32
		tBALF_FI.5	19	1,04	0,488	19,75	0,23
		tBALF_FI.6	34	1,10	0,256	37,56	0,25
		tBALF_FI.7	37	0,75	0,183	27,82	0,17
		tBALF_FI.8	24	0,88	0,285	21,12	0,20
<b>Pj04</b>	07.12.2001 re	dBALF_Pool	15	0,42	0,730	6,27	0,10
		tBALF_FI.1	463	0,39	0,860	178,32	0,09
		tBALF_FI.2	490	0,18	1,231	85,92	0,04
	19.12.2001 li	dBALF_Pool	13	0,60	4,589	7,49	0,14
		tBALF_FI.1	249	0,45	1,588	111,90	0,10
		tBALF_FI.2	262	0,22	1,769	57,39	0,05
		tBALF_FI.3	300	0,10	1,252	31,44	0,02
		tBALF_FI.4	245	0,27	2,090	65,44	0,06
<b>Pa01</b>	12.3.2001 li	dBALF_Pool	154	0,54	0,336	83,47	0,01
		tBALF_Pool	13800	0,60	0,457	8259,30	0,01
	15.3.2001 re	dBALF_Pool	150	0,51	0,372	76,42	0,01
		tBALF_Pool	14100	0,77	1,437	10902,40	0,01
<b>Pa02</b>	19.2.2001 li	dBALF_Pool	168	0,22	0,674	36,48	0,00
		tBALF_Pool	6440	0,19	0,698	1232,04	0,00
<b>Pa03</b>	23.4.2002 re	dBALF_Pool	159	4,92	36,571	782,66	0,09
		tBALF_Pool	17500	6,21	31,158	108669,75	0,11

Patient	Lavage	Spülportion	Volumen (ml)	Konzentration (µg/ml)	Auswaschmenge/ Gesamtprotein (ng/µg)	Auswaschmenge (µg)	Konzentration/ Körpergewicht (µg/ml/kg)
<b>Pa04</b>	31.08.2004	tBALF_FI.1	1000	1,19	0,223	1185,00	0,02
		tBALF_FI.2	1000	0,45	0,144	447,50	0,01
		tBALF_FI.3	1000	0,60	0,397	597,50	0,01
		tBALF_FI.4	1000				
		tBALF_FI.5	1000				
		tBALF_FI.6	1000				
		tBALF_FI.7	1000	0,97	3,001	972,89	0,02
		tBALF_FI.8	1000				
		tBALF_FI.9	1000				
		tBALF_FI.10	1000	0,84	4,907	835,68	0,01
		tBALF_FI.11	1000				
		tBALF_FI.12	1000				
		tBALF_FI.13	1000	0,47	3,558	467,30	0,01
		tBALF_FI.14	1000				
		tBALF_FI.15	1000				
		tBALF_FI.16	1000	0,27	2,869	271,08	0,00
		tBALF_FI.17	1000				
		tBALF_FI.18	1000				
		tBALF_FI.19	1000	0,15	1,630	145,50	0,00
		tBALF_FI.20	1000				
		tBALF_FI.21	1000				
		tBALF_FI.22	1000				
		tBALF_FI.23	1000				
		tBALF_FI.24	1000	0,07	0,878	71,53	0,00
		tBALF_FI.25	1000				
		tBALF_FI.26	1000				
		tBALF_FI.27	1000	0,09	1,004	91,10	0,00
<b>Pa05</b>	5.5.2003 li	tBALF_FI.1	1000	0,33	0,684	326,99	0,00
		tBALF_FI.2	1000	0,39	0,923	387,02	0,00
		tBALF_FI.3	1000	0,40	1,091	402,25	0,01
		tBALF_FI.4	1000	0,46	1,207	458,08	0,01
		tBALF_FI.5	1000				
		tBALF_FI.6	1000				
		tBALF_FI.7	1000	0,38	3,017	381,26	0,00
		tBALF_FI.8	1000				
		tBALF_FI.9	1000				
		tBALF_FI.10	1000				
		tBALF_FI.11	1000	0,41	4,920	412,23	0,01
		tBALF_FI.12	1000	0,45	6,720	449,96	0,01
		tBALF_FI.13	1000				
		tBALF_FI.14	1000	0,28	6,041	275,57	0,00
		tBALF_FI.15	1000				
		tBALF_FI.16	1000				
		tBALF_FI.17	1000				
		tBALF_FI.18	1000				
		tBALF_FI.19	1000	0,32	7,777	316,53	0,00
		tBALF_FI.20	1000				
<b>Pa06</b>	2.10.2003 re	tBALF_FI.1	1000	0,95	0,193	949,01	0,01
		tBALF_FI.3	1000				
		tBALF_FI.5	1000	0,75	0,323	754,83	0,01
		tBALF_FI.7	1000				
		tBALF_FI.9	1000	0,57	0,386	574,04	0,01
		tBALF_FI.11	1000				
		tBALF_FI.13	1000	0,39	0,622	393,15	0,00
		tBALF_FI.15	1000				
		tBALF_FI.17	1000	0,39	1,365	390,08	0,00
		tBALF_FI.19	1000				
		tBALF_FI.21	1000				
		tBALF_FI.23	1000	0,26	3,680	260,93	0,00
		tBALF_FI.25	1000				
tBALF_FI.27	1000	0,19	3,154	190,76	0,00		
tBALF_FI.29	1000						

Patient	Lavage	Spülportion	Volumen (ml)	Konzentration (µg/ml)	Auswaschmenge/ Gesamtprotein (ng/µg)	Auswaschmenge (µg)	Konzentration/ Körpergewicht (µg/ml/kg)
		tBALF_FI.31	1000	0,16	2,296	158,50	0,00
		tBALF_FI.33	1000				
		tBALF_FI.35	1000				
		tBALF_FI.37	1000				
		tBALF_FI.39	1000	0,08	1,414	76,10	0,00
<b>C01</b>	08.12.1998	dBALF_Pool	12,0	0,72	15,490	8,64	0,06
<b>C02</b>	17.12.1994	dBALF_Pool	47,5	0,22	3,776	10,31	0,01
<b>C03</b>	22.02.1999	dBALF_Pool	22,5	0,83	10,712	18,58	0,07
<b>C04</b>	26.01.1999	dBALF_Pool	17	0,39	4,803	6,65	0,04
<b>C05</b>	24.02.1999	dBALF_Pool	21	0,27	5,736	5,70	0,02
<b>C06</b>	25.02.1999	dBALF_Pool	21	0,31	3,702	6,58	0,04
<b>C07</b>	01.03.1999	dBALF_Pool	12,5	0,34	3,516	4,28	0,05
<b>C08</b>	02.03.1999	dBALF_Pool	14	0,24	3,056	3,30	0,02
<b>C09</b>	12.10.1999	dBALF_Pool	17	0,43	6,645	7,35	0,04
<b>C10</b>	07.12.2000	dBALF_Pool	65	0,56	11,439	36,43	0,02
<b>C11</b>	29.05.2001	dBALF_Pool	43				
<b>C12</b>	07.06.2002	dBALF_Pool	23				
<b>C13</b>	03.07.2001	dBALF_Pool	37				
<b>C14</b>	18.07.2001	dBALF_Pool	39				
<b>C15</b>	12.02.2002	dBALF_Pool	75				
<b>C16</b>	20.07.2001	dBALF_Pool	55				
<b>Lj01</b>	17.05.2001 li	dBALF_Pool	5	0,10	0,817	0,48	0,01
	21.11.2001 re	dBALF_Pool	18	0,10	0,637	1,79	0,01
		tBALF_FI.1	552	0,72	2,461	398,88	0,06
		tBALF_FI.2	580	0,27	1,896	156,51	0,02

### C Analyse der Lipidfraktion der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit

#### Lipide gesamt (nmol/ml)

PAP juvenil		PAP adult		Bronchitis		Kontrollen	
<b>Pj01</b>	558,30	<b>Pa01</b>	121,80	<b>B01</b>	31,40	<b>C01</b>	164,10
<b>Pj02</b>	1021,60	<b>Pa02</b>	45,30	<b>B02</b>	67,00	<b>C02</b>	33,50
<b>Pj03</b>	111,40	<b>Pa03</b>	32,50	<b>B03</b>	21,20	<b>C11</b>	54,10
<b>Pj04</b>	5514,60	<b>Pa04</b>	1386,50	<b>B04</b>	62,90	<b>C12</b>	12,90
<b>Pj05</b>	2333,10	<b>Pa05</b>	209,50	<b>B05</b>	29,20	<b>C13</b>	39,00
<b>Pj06</b>	750,20	<b>Pa06</b>	3352,10	<b>B06</b>	95,00	<b>C14</b>	21,00
<b>Pj07</b>	1793,80	<b>Pa07</b>	118,60	<b>B07</b>	93,90	<b>C15</b>	23,80
<b>Pj08</b>	1505,80	<b>Pa08</b>	280,30	<b>B08</b>	54,20	<b>C17</b>	15,40
<b>Pj09</b>	129,00	<b>Pa09</b>	1577,40	<b>B09</b>	30,80	<b>C18</b>	29,40
<b>Pj10</b>	1158,70	<b>Pa10</b>	143,80	<b>B10</b>	30,70	<b>C19</b>	34,50
<b>Pj11</b>	727,40	<b>Pa11</b>	293,00	<b>B11</b>	68,30	<b>C20</b>	19,80
<b>Pj12</b>	2215,10	<b>Pa12</b>	3275,90	<b>B12</b>	65,60	<b>C21</b>	32,40
<b>Pj13</b>	2253,90	<b>Pa13</b>	129,00	<b>B13</b>	27,70	<b>C22</b>	42,00
<b>Pj14</b>	1019,00	<b>Pa14</b>	2201,50	<b>B14</b>	73,00	<b>C23</b>	25,30
<b>Pj15</b>	2264,40	<b>Pa15</b>	505,80	<b>B15</b>	35,30	<b>C24</b>	21,20
<b>Pj16</b>	3841,10					<b>C25</b>	20,90
<b>Pj17</b>	313,00					<b>C26</b>	30,30
<b>Pj18</b>	1824,50						
<b>Pj19</b>	1420,80						

**PC (nmol/ml)**

PAP juvenil		PAP adult		Bronchitis		Kontrollen	
Pj01	270,90	Pa01	37,30	B01	21,90	C01	91,20
Pj02	680,70	Pa02	16,90	B02	47,60	C02	17,50
Pj03	48,90	Pa03	13,10	B03	13,20	C11	37,40
Pj04	2550,90	Pa04	650,80	B04	49,40	C12	4,50
Pj05	1394,90	Pa05	107,20	B05	20,00	C13	25,00
Pj06	504,00	Pa06	1476,70	B06	71,00	C14	12,20
Pj07	1036,40	Pa07	73,90	B07	72,60	C15	14,80
Pj08	1060,80	Pa08	190,30	B08	41,10	C17	7,90
Pj09	68,00	Pa09	720,40	B09	19,50	C18	20,10
Pj10	750,60	Pa10	75,30	B10	19,70	C19	22,50
Pj11	449,30	Pa11	164,20	B11	49,30	C20	11,40
Pj12	1338,10	Pa12	1631,80	B12	47,30	C21	21,90
Pj13	1393,00	Pa13	74,30	B13	18,80	C22	31,60
Pj14	725,90	Pa14	642,70	B14	55,50	C23	17,00
Pj15	1377,50	Pa15	183,30	B15	24,20	C24	13,90
Pj16	2061,50					C25	13,40
Pj17	113,50					C26	19,60
Pj18	1257,70						
Pj19	1021,60						

**LPC (nmol/ml)**

PAP juvenil		PAP adult		Bronchitis		Kontrollen	
Pj01	42,80	Pa01	12,80	B01	0,50	C01	6,40
Pj02	21,80	Pa02	2,30	B02	0,40	C02	0,90
Pj03	1,40	Pa03	1,50	B03	0,60	C11	1,00
Pj04	318,10	Pa04	101,70	B04	0,30	C12	0,30
Pj05	24,50	Pa05	10,40	B05	0,30	C13	0,50
Pj06	9,80	Pa06	204,70	B06	1,00	C14	0,40
Pj07	36,50	Pa07	2,10	B07	0,80	C15	0,40
Pj08	22,70	Pa08	5,90	B08	0,40	C17	0,40
Pj09	3,20	Pa09	91,20	B09	0,40	C18	0,20
Pj10	11,70	Pa10	4,30	B10	0,20	C19	0,30
Pj11	16,40	Pa11	14,50	B11	0,70	C20	0,30
Pj12	69,10	Pa12	168,60	B12	0,40	C21	0,40
Pj13	47,50	Pa13	2,60	B13	0,20	C22	0,20
Pj14	12,00	Pa14	18,50	B14	0,40	C23	0,10
Pj15	78,10	Pa15	4,20	B15	0,20	C24	0,30
Pj16	153,10					C25	0,50
Pj17	12,40					C26	0,40
Pj18	26,00						
Pj19	19,00						

**PE (nmol/ml)**

PAP juvenil		PAP adult		Bronchitis		Kontrollen	
Pj01	3,40	Pa01	2,00	B01	1,40	C01	2,80
Pj02	15,60	Pa02	1,40	B02	2,70	C02	1,80
Pj03	2,00	Pa03	1,00	B03	1,10	C11	2,10
Pj04	35,30	Pa04	10,40	B04	2,40	C12	1,00
Pj05	52,40	Pa05	3,00	B05	1,40	C13	1,50
Pj06	11,80	Pa06	22,50	B06	3,40	C14	1,30
Pj07	17,00	Pa07	3,00	B07	2,90	C15	1,10
Pj08	30,40	Pa08	5,60	B08	2,10	C17	1,00
Pj09	2,90	Pa09	11,00	B09	1,40	C18	1,40
Pj10	37,00	Pa10	2,60	B10	1,60	C19	1,60
Pj11	8,90	Pa11	4,90	B11	2,70	C20	0,90
Pj12	32,20	Pa12	23,50	B12	2,90	C21	1,70
Pj13	30,90	Pa13	2,10	B13	1,60	C22	1,70
Pj14	13,70	Pa14	6,70	B14	2,70	C23	1,50
Pj15	22,50	Pa15	2,20	B15	1,90	C24	1,00
Pj16	32,20					C25	1,10
Pj17	5,80					C26	1,60
Pj18	31,70						
Pj19	22,90						

**PI (nmol/ml)**

PAP juvenil		PAP adult		Bronchitis		Kontrollen	
Pj01	19,80	Pa01	4,20	B01	0,90	C01	7,50
Pj02	38,80	Pa02	2,70	B02	2,00	C02	1,90
Pj03	5,50	Pa03	1,40	B03	0,40	C11	2,50
Pj04	38,10	Pa04	27,20	B04	1,50	C12	0,60
Pj05	57,80	Pa05	11,50	B05	0,60	C13	1,80
Pj06	31,00	Pa06	27,50	B06	3,40	C14	0,50
Pj07	66,90	Pa07	5,60	B07	4,20	C15	0,80
Pj08	55,80	Pa08	14,10	B08	1,10	C17	0,60
Pj09	7,80	Pa09	22,00	B09	1,00	C18	1,30
Pj10	23,80	Pa10	8,90	B10	0,70	C19	1,50
Pj11	24,50	Pa11	12,20	B11	2,30	C20	0,80
Pj12	58,10	Pa12	33,00	B12	2,20	C21	1,10
Pj13	39,30	Pa13	5,10	B13	1,10	C22	1,40
Pj14	25,30	Pa14	51,20	B14	2,50	C23	0,60
Pj15	28,10	Pa15	20,10	B15	1,20	C24	0,60
Pj16	45,60					C25	0,50
Pj17	18,90					C26	0,60
Pj18	53,60						
Pj19	31,40						

**PS (nmol/ml)**

PAP juvenil		PAP adult		Bronchitis		Kontrollen	
Pj01	12,30	Pa01	7,70	B01	1,80	C01	6,40
Pj02	17,20	Pa02	3,80	B02	2,50	C02	2,90
Pj03	3,20	Pa03	2,30	B03	1,60	C11	2,10
Pj04	126,00	Pa04	22,30	B04	1,90	C12	2,50
Pj05	56,30	Pa05	5,80	B05	1,40	C13	2,40
Pj06	15,40	Pa06	46,90	B06	2,80	C14	2,20
Pj07	40,00	Pa07	4,70	B07	2,70	C15	2,10
Pj08	33,50	Pa08	8,00	B08	2,40	C17	1,50
Pj09	5,90	Pa09	20,70	B09	1,70	C18	1,80
Pj10	30,70	Pa10	5,30	B10	2,40	C19	2,30
Pj11	15,90	Pa11	9,20	B11	3,00	C20	2,10
Pj12	43,80	Pa12	46,00	B12	2,50	C21	1,90
Pj13	52,70	Pa13	4,20	B13	1,70	C22	1,30
Pj14	17,10	Pa14	26,40	B14	2,60	C23	2,00
Pj15	37,50	Pa15	8,90	B15	1,70	C24	1,60
Pj16	62,60					C25	1,60
Pj17	17,70					C26	1,60
Pj18	37,20						
Pj19	33,50						

**PG (nmol/ml)**

PAP juvenil		PAP adult		Bronchitis		Kontrollen	
Pj01	15,20	Pa01	2,80	B01	1,00	C01	4,00
Pj02	17,30	Pa02	1,30	B02	2,30	C02	1,30
Pj03	2,10	Pa03	1,00	B03	0,70	C11	1,90
Pj04	174,00	Pa04	38,60	B04	2,20	C12	0,50
Pj05	56,30	Pa05	5,40	B05	1,00	C13	1,10
Pj06	23,90	Pa06	147,60	B06	3,10	C14	0,70
Pj07	55,20	Pa07	3,80	B07	3,30	C15	0,80
Pj08	61,50	Pa08	6,30	B08	2,00	C17	0,60
Pj09	3,40	Pa09	53,30	B09	0,80	C18	1,00
Pj10	30,50	Pa10	3,00	B10	1,10	C19	1,10
Pj11	23,00	Pa11	8,20	B11	2,30	C20	0,70
Pj12	76,00	Pa12	108,70	B12	1,90	C21	1,20
Pj13	65,70	Pa13	3,10	B13	0,90	C22	1,50
Pj14	37,20	Pa14	40,70	B14	2,50	C23	0,80
Pj15	55,60	Pa15	5,40	B15	1,40	C24	0,70
Pj16	130,00					C25	0,80
Pj17	6,30					C26	1,00
Pj18	56,50						
Pj19	55,40						

**SPM (nmol/ml)**

PAP juvenil		PAP adult		Bronchitis		Kontrollen	
Pj01	38,80	Pa01	19,00	B01	0,60	C01	7,30
Pj02	32,20	Pa02	2,80	B02	1,20	C02	0,70
Pj03	1,10	Pa03	2,40	B03	0,30	C11	0,60
Pj04	312,20	Pa04	97,40	B04	0,60	C12	0,20
Pj05	51,10	Pa05	12,30	B05	0,40	C13	0,20
Pj06	7,20	Pa06	237,60	B06	1,40	C14	0,30
Pj07	82,30	Pa07	2,80	B07	0,60	C15	0,20
Pj08	20,00	Pa08	7,10	B08	0,40	C17	0,30
Pj09	5,90	Pa09	71,90	B09	0,60	C18	0,50
Pj10	21,20	Pa10	6,30	B10	0,50	C19	0,50
Pj11	20,40	Pa11	16,80	B11	0,80	C20	0,20
Pj12	57,60	Pa12	287,00	B12	1,00	C21	0,50
Pj13	64,20	Pa13	4,50	B13	0,20	C22	0,40
Pj14	9,10	Pa14	145,20	B14	0,80	C23	0,10
Pj15	90,10	Pa15	25,40	B15	0,70	C24	0,20
Pj16	148,40					C25	0,20
Pj17	32,00					C26	0,50
Pj18	20,50						
Pj19	13,40						

**Dihydro SPM (nmol/ml)**

PAP juvenil		PAP adult		Bronchitis		Kontrollen	
Pj01	1,50	Pa01	0,80	B01	0,10	C01	0,30
Pj02	3,10	Pa02	0,10	B02	0,00	C02	0,00
Pj03	0,00	Pa03	0,10	B03	0,10	C11	0,10
Pj04	8,20	Pa04	2,80	B04	0,00	C12	0,00
Pj05	3,30	Pa05	0,40	B05	0,00	C13	0,00
Pj06	0,10	Pa06	8,60	B06	0,00	C14	0,00
Pj07	2,90	Pa07	0,20	B07	0,10	C15	0,10
Pj08	0,30	Pa08	0,30	B08	0,00	C17	0,00
Pj09	0,40	Pa09	1,40	B09	0,00	C18	0,00
Pj10	2,30	Pa10	0,30	B10	0,10	C19	0,30
Pj11	1,30	Pa11	0,40	B11	0,30	C20	0,00
Pj12	3,10	Pa12	8,20	B12	0,00	C21	0,00
Pj13	4,00	Pa13	0,30	B13	0,00	C22	0,20
Pj14	0,10	Pa14	6,00	B14	0,00	C23	0,00
Pj15	7,40	Pa15	1,30	B15	0,00	C24	0,00
Pj16	6,80					C25	0,10
Pj17	1,80					C26	0,00
Pj18	0,30						
Pj19	0,30						

**Cer (nmol/ml)**

PAP juvenil		PAP adult		Bronchitis		Kontrollen	
Pj01	2,30	Pa01	0,90	B01	0,00	C01	0,40
Pj02	3,10	Pa02	0,20	B02	0,10	C02	0,00
Pj03	0,10	Pa03	0,20	B03	0,00	C11	0,00
Pj04	19,90	Pa04	5,70	B04	0,10	C12	0,00
Pj05	12,50	Pa05	0,70	B05	0,00	C13	0,00
Pj06	0,50	Pa06	14,70	B06	0,20	C14	0,00
Pj07	5,40	Pa07	0,20	B07	0,10	C15	0,00
Pj08	1,70	Pa08	0,40	B08	0,00	C17	0,00
Pj09	0,30	Pa09	8,10	B09	0,10	C18	0,00
Pj10	3,50	Pa10	0,40	B10	0,10	C19	0,00
Pj11	1,50	Pa11	1,20	B11	0,10	C20	0,00
Pj12	4,60	Pa12	15,20	B12	0,10	C21	0,00
Pj13	5,40	Pa13	0,30	B13	0,00	C22	0,00
Pj14	0,90	Pa14	64,90	B14	0,10	C23	0,00
Pj15	31,00	Pa15	7,90	B15	0,10	C24	0,00
Pj16	23,70					C25	0,00
Pj17	2,50					C26	0,00
Pj18	1,60						
Pj19	0,80						

**GluCer (nmol/ml)**

PAP juvenil		PAP adult		Bronchitis		Kontrollen	
Pj01	0,80	Pa01	0,20	B01	0,00	C01	0,10
Pj02	0,70	Pa02	0,00	B02	0,00	C02	0,00
Pj03	0,00	Pa03	0,00	B03	0,00	C11	0,00
Pj04	6,40	Pa04	1,40	B04	0,00	C12	0,00
Pj05	5,30	Pa05	0,20	B05	0,00	C13	0,00
Pj06	0,20	Pa06	4,50	B06	0,00	C14	0,00
Pj07	1,50	Pa07	0,00	B07	0,00	C15	0,00
Pj08	1,00	Pa08	0,10	B08	0,00	C17	0,00
Pj09	0,10	Pa09	3,10	B09	0,00	C18	0,00
Pj10	1,20	Pa10	0,10	B10	0,00	C19	0,00
Pj11	0,60	Pa11	0,30	B11	0,00	C20	0,00
Pj12	2,10	Pa12	4,80	B12	0,00	C21	0,00
Pj13	2,40	Pa13	0,10	B13	0,00	C22	0,00
Pj14	0,40	Pa14	8,40	B14	0,00	C23	0,00
Pj15	2,90	Pa15	1,20	B15	0,00	C24	0,00
Pj16	8,10					C25	0,00
Pj17	0,60					C26	0,00
Pj18	0,80						
Pj19	0,60						

**Chol (nmol/ml)**

PAP juvenil		PAP adult		Bronchitis		Kontrollen	
Pj01	31,90	Pa01	5,10	B01	1,50	C01	10,00
Pj02	93,00	Pa02	6,30	B02	3,70	C02	1,90
Pj03	37,40	Pa03	3,70	B03	1,70	C11	2,00
Pj04	424,60	Pa04	81,30	B04	1,60	C12	1,70
Pj05	258,60	Pa05	15,30	B05	1,90	C13	2,20
Pj06	85,20	Pa06	293,80	B06	3,10	C14	1,70
Pj07	134,60	Pa07	9,00	B07	1,70	C15	1,60
Pj08	62,40	Pa08	17,50	B08	1,70	C17	1,60
Pj09	12,60	Pa09	210,20	B09	2,30	C18	1,40
Pj10	106,40	Pa10	19,20	B10	2,20	C19	1,80
Pj11	60,00	Pa11	15,60	B11	2,60	C20	1,60
Pj12	158,30	Pa12	150,30	B12	2,60	C21	1,50
Pj13	196,00	Pa13	11,80	B13	1,50	C22	1,60
Pj14	90,90	Pa14	171,60	B14	2,40	C23	1,50
Pj15	83,90	Pa15	43,50	B15	1,50	C24	1,40
Pj16	408,20					C25	1,60
Pj17	41,30					C26	3,20
Pj18	131,30						
Pj19	67,80						

**FC (nmol/ml)**

PAP juvenil		PAP adult		Bronchitis		Kontrollen	
Pj01	115,00	Pa01	26,70	B01	1,40	C01	26,40
Pj02	83,40	Pa02	6,90	B02	3,60	C02	4,20
Pj03	8,50	Pa03	5,50	B03	1,20	C11	3,90
Pj04	1454,70	Pa04	339,80	B04	2,30	C12	1,50
Pj05	308,40	Pa05	35,80	B05	1,70	C13	3,90
Pj06	55,10	Pa06	848,70	B06	3,90	C14	1,50
Pj07	295,50	Pa07	12,50	B07	4,20	C15	1,70
Pj08	141,00	Pa08	22,90	B08	2,40	C17	1,40
Pj09	16,80	Pa09	356,80	B09	2,20	C18	1,50
Pj10	112,30	Pa10	16,50	B10	1,70	C19	2,40
Pj11	99,70	Pa11	42,40	B11	3,40	C20	1,50
Pj12	347,70	Pa12	772,10	B12	3,80	C21	1,70
Pj13	327,60	Pa13	19,40	B13	1,40	C22	2,00
Pj14	77,60	Pa14	1007,30	B14	2,70	C23	1,40
Pj15	431,50	Pa15	198,60	B15	1,70	C24	1,30
Pj16	727,70					C25	1,00
Pj17	52,80					C26	1,60
Pj18	185,40						
Pj19	144,10						

**Alkyl PE (nmol/ml)**

PAP juvenil		PAP adult		Bronchitis		Kontrollen	
Pj01	3,50	Pa01	2,30	B01	0,20	C01	1,50
Pj02	14,70	Pa02	0,50	B02	0,90	C02	0,30
Pj03	1,20	Pa03	0,40	B03	0,20	C11	0,40
Pj04	46,00	Pa04	7,00	B04	0,60	C12	0,10
Pj05	51,70	Pa05	1,30	B05	0,30	C13	0,20
Pj06	6,00	Pa06	18,50	B06	1,60	C14	0,20
Pj07	19,50	Pa07	0,80	B07	0,80	C15	0,20
Pj08	14,50	Pa08	1,90	B08	0,50	C17	0,10
Pj09	1,60	Pa09	7,20	B09	0,80	C18	0,10
Pj10	27,70	Pa10	1,70	B10	0,60	C19	0,30
Pj11	6,00	Pa11	3,20	B11	0,70	C20	0,20
Pj12	24,20	Pa12	26,60	B12	0,90	C21	0,30
Pj13	25,10	Pa13	1,30	B13	0,20	C22	0,30
Pj14	8,80	Pa14	11,80	B14	0,80	C23	0,20
Pj15	18,30	Pa15	3,90	B15	0,70	C24	0,10
Pj16	33,20					C25	0,10
Pj17	7,30					C26	0,20
Pj18	21,90						
Pj19	10,00						

### **VI.3 Danksagung**

Mein ganz besonderer Dank gilt meinen Doktorvater Herrn Prof. Dr. Matthias Griese für die Überlassung des Themas, die hervorragende Betreuung, die kontinuierliche Unterstützung und die hilfreichen Ideen während der Erstellung dieser Arbeit.

Bei den ständigen Mitarbeitern der Arbeitsgruppe Griese Frau Andrea Schams und Frau Stefanie Gruschka, sowie Herrn Dr. Markus Woischnik möchte ich mich herzlich für die Unterstützung und Hilfestellung in der Entwicklung und Durchführung von Methoden im Labor bedanken, sowie bei allen Mitdoktoranden und anderen Mitarbeitern der Arbeitsgruppe Griese für die nette Atmosphäre und die vielen schönen zusammen verbrachten Stunden.

Mein besonderer Dank gilt auch den Kliniken, die mir Material und klinische Informationen zur Verfügung gestellt haben oder die Messung bestimmter Parameter ausgeführt haben.

Zu guter Letzt möchte ich meiner Mutter und meinem Freund Christian Paschen für die Unterstützung und Motivation während der gesamten Zeit danken.

## VI.4 Lebenslauf

### PERSÖNLICHE DATEN

---

Name: Asli Pamir  
Geboren: 20.04.1978 in München  
Familienstand: ledig  
Staatsangehörigkeit: deutsch  
Anschrift: Blütenburgstraße 96a  
80636 München  
Telefon: 089/95426679  
Mobil: 0179/4615706  
E-Mail: asli.pamir@med.uni-muenchen.de

### STUDIUM

---

11/1998 – 09/2003 Ludwig-Maximilians-Universität München  
Pharmaziestudium  
Abschluss: 3. Staatsexamen 12/2004  
Approbation als Apothekerin 01/2005

### PRAKTIKA

---

11/2003– 04/2004 Städtisches Krankenhaus München Schwabing,  
Krankenhausapotheke  
04/2004 – 10/2004 Nibelungen Apotheke, München

### AU PAIR

---

09/1997 – 06/1998 Au Pair Aufenthalt in Paris

### SCHULAUSBILDUNG

---

09/1988 – 07/1997 Elsa - Brändström - Gymnasium München  
Abschluss: Allgemeine Hochschulreife

### SPRACHKENNTNISSE

---

Englisch gute Kenntnisse in Wort und Schrift  
Französisch gute Kenntnisse in Wort und Schrift