

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

Prof. Dr. med. D. Reinhardt

## **Lungensurfactant bei cystischer Fibrose**

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

vorgelegt von  
Robert Karl Essl

aus  
München

2004

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. M. Griese

Mitberichterstatter: Prof. Dr. H. Schulz  
Prof. Dr. J. Behr

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h. c. K. Peter

Tag der mündlichen Prüfung: 11.11.2004

---

## Inhaltsverzeichnis

I. Einleitung .....	5
II. Material und Methoden .....	11
A. Patienten .....	11
1. Ein- und Ausschlusskriterien der BEAT- Studie .....	11
2. Ablauf der BEAT- Studie .....	11
3. Durchführung der bronchoalveolären Lavage und Verarbeitung der Proben ..	12
4. Patientenkollektiv für die Untersuchung der biophysikalischen Parameter .....	14
a. Klinische Parameter und Genetik der Patienten .....	14
b. Mikrobiologischer Befund .....	16
B. Kontrollen .....	17
C. Arbeitstechniken .....	18
1. Gewinnung der LA- Fraktion .....	18
a. Material .....	18
b. Methode .....	18
2. Lipidextraktion nach Bligh- Dyer und Folch- Waschung .....	18
a. Material .....	18
b. Methode .....	19
3. Bestimmung der Phosphatkonzentration .....	20
a. Material .....	20
b. Herstellung gebeizter Reagenzgläser .....	21
c. Vorbereitung der Standards .....	21
d. Herstellung des Farbreagens .....	21
e. Vorbereitung der Proben .....	22
f. Durchführung der Messungen .....	22
4. Bestimmung der Proteinkonzentration .....	23
a. Material .....	23
b. Methode .....	23
5. Bestimmung der Konzentration von Surfactantprotein A .....	24
a. Material .....	24
b. Methode .....	24
6. Bestimmung der Konzentration von Surfactantprotein B .....	25
a. Material .....	25
b. Methode .....	25

7. Bestimmung der Konzentration von Surfactantprotein C .....	26
a. Material .....	26
b. Methode .....	26
8. Bestimmung der Konzentration von Surfactantprotein D .....	27
a. Material .....	27
b. Methode .....	27
9. Das pulsierende Blasensurfactometer: Messung der Oberflächenspannung ....	29
a. Material .....	29
b. Bubble- Puffer .....	29
c. Das pulsierende Blasensurfactometer .....	30
i) Funktionsweise .....	30
ii) Durchführung der Messungen .....	32
10. Das Kapillarsurfactometer: % Offen und initialer Druck .....	33
a. Material .....	33
b. Funktionsweise .....	33
c. Messung der Proben .....	35
11. Filtration der Überstände .....	36
a. Material .....	36
b. Methode .....	36
12. Statistik .....	38
III. Ergebnisse .....	39
A. Genauigkeit der biophysikalischen Messungen .....	39
1. Pulsierendes Blasensurfactometer .....	39
2. Kapillarsurfactometer .....	42
B. Vergleich zwischen Patienten mit cystischer Fibrose und gesunden Kindern .....	44
1. Zellzahlen und biochemische Parameter .....	44
2. Oberflächenspannung .....	48
3. % Offen und initialer Druck .....	49
C. Vergleich verschiedener Gruppierungen .....	50
1. Geschlecht .....	50
2. Studiengruppen .....	50
3. Mikrobiologie .....	56
a. Vergleich von Proben mit negativer und positiver Mikrobiologie .....	56

---

b. Vergleich von Staphylococcus aureus und Pseudomonas aeruginosa mit anderen Bakterien .....	58
c. Vergleich von Staphylococcus aureus mit Pseudomonas aeruginosa .....	61
d. Abbildungen .....	63
D. Korrelationen .....	73
1. Biophysik .....	73
a. Adsorption .....	73
b. Minimale Oberflächenspannung .....	78
c. % Offen .....	82
d. Initialer Druck .....	87
2. Zellzahlen der bronchoalveolären Lavage .....	89
a. Gesamtzellzahl .....	89
b. Die relative Granulozytenzahl .....	91
c. Die absolute Granulozytenzahl .....	95
3. Biochemische Parameter .....	98
a. Gesamtproteinkonzentration .....	98
b. Phospholipidkonzentration .....	100
c. Surfactantprotein A .....	102
d. Surfactantprotein B .....	104
e. Surfactantprotein C .....	106
f. Surfactantprotein D .....	107
4. Alter .....	109
5. Body Mass Index .....	111
E. Sequenzielle bronchoalveoläre Lavage .....	113
1. Unterschied zwischen den Verlaufgruppen und der Grundgesamtheit .....	113
2. Verlauf .....	114
a. Verlauf der biophysikalischen Parameter .....	116
b. Verlauf von Lungenfunktion und Body Mass Index .....	120
c. Verlauf der Zellzahlen .....	122
d. Verlauf der biochemischen Parameter .....	124
3. Einfluss des Therapiearmes auf den Verlauf .....	127
a. Biophysik .....	130
b. Lungenfunktion und Body Mass Index .....	132
c. Biochemische Parameter .....	134

---

F. Der Einfluss der Proteine der SA- Fraktion auf die Biophysik .....	137
1. Vergleich der Oberflächenspannungen .....	139
2. % Offen und initialer Druck .....	140
3. Abhängigkeit der Veränderungen von der Proteinkonzentration .....	141
G. Änderung der Biophysik von Rindersurfactant nach Proteinzugabe .....	142
1. Oberflächenspannung .....	143
a. Adsorption .....	144
b. Minimale Oberflächenspannung .....	145
2. % Offen und initialer Druck .....	146
IV. Diskussion und Zusammenfassung .....	148
V. Anhang .....	153
A. Tabellen .....	153
1. Genauigkeit der biophysikalischen Messungen .....	153
2. Kontrollgruppe .....	158
3. Patienten mit cystischer Fibrose .....	160
4. Der Einfluss der SA- Fraktion auf die Biophysik .....	180
5. Änderung der Biophysik von Rindersurfactant nach Proteinzugabe .....	184
B. Literaturverzeichnis .....	189
Danksagung .....	193
Lebenslauf .....	194

## I. Einleitung

### Cystische Fibrose

Cystische Fibrose, im deutschen Sprachraum auch Mukoviszidose genannt, ist eine autosomal rezessiv vererbte Erkrankung, die durch Veränderungen am CFTR Gen (Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator) verursacht wird. Sie zählt zu den häufigsten lebensverkürzenden Stoffwechselerkrankungen (mittleres Überleben 2001: 33,4 Jahre (Gibson et al., 2003)). Das CFTR Gen befindet sich auf dem langen Arm des Chromosoms 7. Mutationen dieses Gens wirken sich auf den Elektrolyttransport epithelialer Zellmembranen aus. Die Folge ist eine pathologische, hochvisköse Sekretion der exokrinen Drüsen mit konsekutiver Sekretretention und nachfolgender chronischer Entzündung. Davon betroffene Organe sind unter anderem das Pankreas, der Verdauungstrakt, das hepatobiliäre System, vor allem aber die Atmungsorgane (Donaldson et al., 2003; Gibson et al., 2003).

Die Atemwegsbeteiligung ist für einen Großteil der Morbidität und Mortalität bei cystischer Fibrose (CF) verantwortlich. Bei Neugeborenen mit cystischer Fibrose sind die Lungen zunächst steril und entzündungsfrei. Die pathologische Atemwegssekretion führt dort bald nach der Geburt zu gehäuft auftretenden bakteriellen Infektionen. Die Lunge reagiert auf diese zunächst akute Infektion mit einer überschießenden und verlängerten Entzündungsreaktion. Trotz dieser starken Entzündungsreaktion persistiert die Infektion. Durch die ständige Auseinandersetzung mit Mikroorganismen entsteht in den Bronchien eine von neutrophilen Granulozyten beherrschte chronische Entzündung. Der Entzündungsprozess beeinflusst wichtige Bestandteile der Atemwege, wie zum Beispiel die Surfactantproteine und -lipide, wodurch die Entzündung und Obstruktion weiter aufrechterhalten wird. Bei Fortschreiten der Lungenerkrankung finden auch Veränderungen auf makrostruktureller Ebene statt. Bronchiektasen, Zysten, Abszesse und Fibrosierungen des Lungenparenchyms sind die Folgen. Die Lungenerkrankung weist bei Patienten mit gleichem Genotyp eine große Variabilität auf. Viele der zu Grunde liegenden Mechanismen sind noch nicht bekannt (Armstrong et al., 1997; Donaldson et al., 2003; Gibson et al., 2003; Hohlfeld et al., 1997).

## Surfactant

Lungensurfactant (engl.: **surface active agent** (oberflächenaktive Substanz)) ist eine komplexe Emulsion aus verschiedenen Lipiden und Proteinen, die die Lungenalveolen und kleinen Atemwege als Flüssigkeitsfilm auskleidet. Surfactant kann durch bronchoalveoläre Lavage (BAL) gewonnen werden. Es bildet die Grenzfläche zwischen Luft und Lungengewebe und hat sowohl biophysikalische, als auch wichtige immunologische Funktionen. Als stark oberflächenaktive Substanz setzt das Surfactant die Oberflächenspannung herab und reduziert so die Atemarbeit, verhindert einen endexpiratorischen Kollaps der Lungenbläschen und hält die kleinen Atemwege bei normaler und forcierter Atmung offen. Außerdem schützt es die Lunge vor Verletzungen und vor Infektionen durch eingeatmete Mikroorganismen, indem es mit verschiedenen Zellen des Immunsystems und Krankheitserregern in Wechselwirkung tritt. Es erleichtert weiterhin den Abtransport von Fremdmaterial aus den Alveolen (Cassidy et al., 1999; Crouch, 1998; Enhorning, 1996; Frerking et al., 2001; Griese, 1999; Griese 2004; Kuroki et al., 1994; Wright, 1997).

Das Surfactant besteht zu etwa 90 % aus Lipiden, größtenteils Phospholipiden wie z. B. Dipalmitoylphosphatidylcholin (DPPC) (65 %) und Phosphatidylglycerol. Das DPPC ist hinsichtlich der Reduzierung der Oberflächenspannung der wichtigste Bestandteil des Surfactant. Über die Funktion der anderen Lipide (z. B. Cholesterin) ist nur wenig bekannt. Die Proteine stellen mit einem Anteil von zirka zehn Prozent die zweite wichtige Substanzgruppe des Surfactant dar. Darunter befinden sich die vier Surfactantproteine (SP-A, -B, -C, -D) und verschiedene Serumproteine, deren Hauptbestandteil Albumin ist. Die Surfactantproteine regeln die Bildung von Surfactant in den Alveolarzellen vom Typ II und Clarazellen, modulieren die Abwehrreaktionen der Lunge und unterstützen die biophysikalischen Surfactanteigenschaften. Die Surfactantproteine A und D sind hydrophil und werden auf Grund ihrer Struktur (sie besitzen kollagenartige und lektinartige Anteile) als Kollektine bezeichnet. Die Surfactantproteine B und C sind hydrophob.

Das SP-A kommt in erheblich größeren Mengen vor, als die anderen Surfactantproteine. Es ist in vitro an Phospholipide gebunden und beschleunigt deren Adsorption an die Luft- Wasser-Grenzfläche. Außerdem wirkt das SP-A dem die Oberflächenaktivität von Surfactant hemmenden Einfluss von Nichtsurfactantproteinen entgegen. Ferner wirkt es bei der Regulation der Surfactanthomöostase mit. Am bedeutsamsten sind jedoch die immunologischen Aufgaben des SP-A. So stimuliert es die makrophagen- und

lymphozytenabhängigen Abwehrfunktionen, bindet an ein breites Spektrum von Krankheitserregern und wirkt antimikrobiell.

Das andere Kollektin SP-D wird von Alveolarzellen Typ II und von Clarazellen gebildet. Es kann ebenso wie das SP-A an Lipide gebunden sein, liegt jedoch extrazellulär vorwiegend in seiner freien Form vor. Das SP-D bindet vor allem an gramnegative Bakterien an, interagiert mit Alveolarmakrophagen und steigert so die Abtötung von Bakterien. Es hat keine biophysikalische Funktion.

Die hydrophoben Surfactantproteine B und C werden ebenfalls von den Alveolarzellen Typ II (das SP-B auch von Clarazellen) gebildet. Sie sind für die Bildung und das Recycling des Surfactantfilms zuständig. Das SP-B beschleunigt die Bildung des oberflächenaktiven Phospholipidfilms an der Luft-Wasser Grenzfläche. Die Adsorptionsrate wird durch SP-B um den Faktor 150 gesteigert und kann durch Zugabe von Kalziumionen noch weiter beschleunigt werden.

Das SP-C wird als einziges Surfactantprotein ausschließlich von Typ II- Alveolarzellen produziert. Es ist für die Bildung und den Erhalt des Surfactantfilms zuständig, wobei die Hauptaufgabe im Erhalt und der Stabilisierung der Oberflächenaktivität liegt. Es beschleunigt die Adsorption der Phospholipide und erhöht die Widerstandsfähigkeit des Surfactant gegenüber hemmenden Serumproteinen. Sowohl das SP-C als auch das SP-B steigern die Phospholipidaufnahme der Typ II- Alveolarzellen.

(Crouch, 1998; Enhorning, 1996; Gardai et al., 2003; Griese, 1999; Griese, 2004; Kuroki et al., 1994; Wright, 1997)

### Surfactant bei cystischer Fibrose

Lungensurfactant spielt eine zentrale Rolle bei der biophysikalischen und immunologischen Integrität der Lunge (Frerking et al., 2001; Wright, 1997). Die Surfactantproteine B und C bilden zusammen mit den Phospholipiden normalerweise ein gut funktionierendes System, das die Durchgängigkeit der kleinen Atemwege und Alveolen (Enhorning, 1996; Griese, 1999) gewährleistet. Störungen der einzelnen Bestandteile dieses Systems können sich negativ auf die Atmungsorgane auswirken. So führt zum Beispiel ein angeborener SP-B Mangel zu Atemnot und baldigem Tod (Nogee et al., 1993). SP-C Mangelzustände oder biochemische Veränderungen dieses Proteins verursachen interstitielle Lungenerkrankungen (Nogee et al., 2001). Bei Kleinkindern, die Atemwegsinfektionen hatten, wurde ein Zusammenhang zwischen einer veränderten Phospholipidzusammensetzung und Lungenfunktionsstörungen

nachgewiesen (Mander et al., 2002). So können also Defekte der einzelnen Bestandteile die biophysikalischen Eigenschaften des Surfactant beeinflussen. Diese Mechanismen könnten auch zu den bereits früh auftretenden Lungenfunktionsstörungen der CF Patienten beitragen. Untersuchungen von Surfactant, das mittels BAL von CF Patienten gewonnen wurde, lieferten die nachstehenden Ergebnisse. Die minimale Oberflächenspannung (mit dem pulsierenden Blasensurfactometer gemessen) war bei dem Surfactant von Kleinkindern mit CF (mittleres Alter 22,7 Monate, Standardabweichung 14,5), unabhängig vom Vorhandensein einer Atemwegsinfektion, im Vergleich mit einer gesunden Kontrollgruppe nicht erhöht (Hull et al., 1997). Bei etwas älteren Kindern mit CF (mittleres Alter 7,5 Jahre, Spannweite 1 – 16 Jahre), die eine leicht verminderte Lungenfunktion hatten, ( $FEV_1$  82 % Soll, Spannweite 40 – 103 % Soll) war die minimale Oberflächenspannung bereits erhöht. Es wurden bei diesen Patienten weder Veränderungen an der Konzentration der Gesamphospholipide noch des Dipalmitoylphosphatidylcholins festgestellt (Mander et al., 2002; Postle et al., 1999). Hiermit vergleichbare Ergebnisse wurden auch bei älteren Kindern und jungen Erwachsenen gefunden (Griese et al., 1997). Diese Befunde lassen die Vermutung zu, dass bei Patienten mit CF die Störung der biophysikalischen Surfactanteigenschaften schon frühzeitig, aber erst sekundär auftritt.

Unbekannt ist noch, welche Rolle bei CF Patienten die Fähigkeit des Surfactant spielt, die kleinen Atemwege offen zu halten (Enhoring, 1996) und wieweit diesbezüglich Störungen bestehen. Es ist ebenfalls nicht bekannt, in welchen Konzentrationen die Surfactantproteine B und C bei CF Patienten vorliegen. Am schwerwiegendsten ist jedoch die Unklarheit über die Beziehung der einzelnen Parameter zur Lungenfunktion, zum Grad der Entzündung und zu bakteriellen Infektionen.

Wie schon erwähnt, besitzt das Surfactant neben den biophysikalischen Eigenschaften wichtige immunologische Aufgaben. So dienen die beiden Surfactantproteine A und D in der Lunge als Entzündungsregulatoren. Außerdem können sie an Endotoxine und an der Oberfläche verschiedener Viren, Bakterien und Pilze anbinden und an deren Beseitigung mitwirken (Crouch, 1998; Gardai et al., 2003; Wright, 1997). Defekte dieser Surfactantproteine wirken sich infolgedessen negativ auf die Immunität der Atemwege aus. So haben zum Beispiel SP-A und SP-D defiziente Mäuse eine schlechtere Clearance für Mikroorganismen und reagieren auf deren Anwesenheit mit einer verlängerten und zudem verstärkten Lungenentzündung. Deshalb ist zu vermuten, dass ein Mangel dieser Surfactantproteine auch zu der bei cystischer Fibrose beschriebenen gesteigerten und prolongierten Entzündungsreaktion beitragen könnte. Es wurden bereits

Konzentrationsveränderungen dieser Kollektine beschrieben: So zeigte sich beispielsweise bei Kleinkindern mit CF unabhängig vom Vorhandensein einer Lungenentzündung eine erhöhte Konzentration von SP-A (Hull et al., 1997), bei älteren Kindern und Erwachsenen mit CF wurden verminderte SP-A Konzentrationen festgestellt (Griese et al., 1997; Meyer et al., 2000; Postle et al., 1999). Außerdem wurde bei CF Patienten der proteolytische Abbau von SP-A beschrieben, wodurch die Hypothese unterstützt wird, dass die Entzündung in den Atemwegen dieser Patienten zu einer verminderten Funktion von SP-A beiträgt (von Bredow et al., 2001; Griese et al., 2001; Rubio et al., 2004). Des Weiteren wurden sowohl bei jungen CF Patienten (Noah et al., 2003) als auch bei CF Patienten mit bereits fortgeschrittener Lungenkrankheit (Postle et al., 1999) verminderte SP-D Konzentrationen nachgewiesen. Die Konzentration von SP-D korrelierte dabei negativ mit dem Grad der Entzündung. Diese Untersuchungen fanden allerdings während klinisch aktiven Phasen der Lungenkrankheit statt. Zusätzlich wurde die Fähigkeit SP-D abzubauen bei Proteasen, die aus Atemwegssekreten von CF Patienten stammten, nachgewiesen (von Bredow et al., 2003). Ungeklärt ist noch, ob die SP-D Konzentration bei CF primär normal ist, ob die Konzentration dieses Proteins nur mit dem Grad der Entzündung korreliert, oder ob sogar noch weitere Beziehungen zum Beispiel zur biophysikalischen Surfactantaktivität oder sogar zur Lungenfunktion bestehen. Unbekannt ist auch, wie sich die Konzentrationen der einzelnen Surfactantkomponenten und die biophysikalische Surfactantfunktion im Krankheitsverlauf verändern.

## Fragestellungen

Das Ziel der vorliegenden Untersuchung war es, die biophysikalischen und biochemischen Eigenschaften des Lungensurfactants in einer großen Gruppe von CF Patienten zu beschreiben, die in einem stabilen klinischen Zustand waren und deren Lungenfunktion im Normbereich lag. Außerdem sollten die Veränderungen der biochemischen und biophysikalischen Surfactantparameter, des Entzündungsgrades und der Lungenfunktion aufgedeckt und dargestellt werden, die während eines dreijährigen Zeitraumes stattfinden.

Wir stellten die Hypothese auf, dass die Surfactantfunktion die Lungenfunktion vorhersagen kann, speziell die Lungenfunktion der kleinen Atemwege, in welchen ein frühes entzündliches Infiltrat die biophysikalischen Eigenschaften beeinflusst. Zusätzlich interessierte uns, in welchen Konzentrationen die Surfactantproteine und die Phospholipide unter diesen Bedingungen vorlagen, wie hoch die Gesamtproteinkonzentration in der BAL- Flüssigkeit war und wie sich diese Parameter in dem Beobachtungszeitraum verändern würden.

## II. Material und Methoden

### A. Patienten

Die Proben der Patienten mit cystischer Fibrose wurden im Rahmen der BEAT- Studie (**B**ronchoalveolar Lavage for **E**valuation of **E**arly **A**nti-inflammatory **T**reatment) mittels bronchoalveolärer Lavage gewonnen. Die BEAT- Studie hatte die Aufgabe den Effekt von rhDNase (Pulmozyme) auf die endobronchiale Entzündung bei CF Patienten zu beurteilen. Diese Studie und die Untersuchung des Surfactantsystems wurden von den Ethikkommissionen der teilnehmenden Zentren (siehe unten) genehmigt. Die Patienten gaben ihr schriftliches Einverständnis.

#### 1. Ein- und Ausschlusskriterien der BEAT- Studie

Folgende Ein- und Ausschlusskriterien wurden für die Studie herangezogen:

- Alter > 5 Jahre.
- Einsekundenkapazität der Lungenfunktion ( $FEV_1$ ) > 80 % Soll; keine signifikanten Veränderungen im Monat vor Studienbeginn.
- Keine akute Atemwegsinfektion oder pulmonale Exazerbation während der letzten sechs Wochen vor Studienbeginn.
- Keine Therapie mit rhDNase zwei Monate vor Studienbeginn.
- Keine antientzündliche Behandlung mit z.B. Ibuprofen, inhalativen oder systemischen Kortikosteroiden,  $\alpha_1$ - Antitrypsin.
- Keine allergische bronchopulmonale Aspergillose.
- Keine starken pulmonalen oder körperlichen Einschränkungen.
- Keine schweren Organmanifestationen der cystischen Fibrose wie z.B. Leberzirrhose, Diabetes mellitus.

#### 2. Ablauf der BEAT- Studie

Die Patienten wurden von fünf Studienzentren betreut: Berlin, Essen, Hannover, Köln, München. Es wurden insgesamt 105 Patienten (53 männlich, 52 weiblich; Alter: 5 – 37 Jahre) rekrutiert. Diese Patienten wurden einer bronchoalveolären Lavage (BAL) unterzogen. Bei einem Anteil von mehr als zehn Prozent neutrophiler Granulozyten in der BAL Flüssigkeit nahmen die Patienten an der Randomisierung bezüglich des Therapiearms teil. 18 Patienten hatten eine geringere relative Granulozytenzahl und wurden deshalb nicht randomisiert. Sie nahmen weiterhin an der Studie teil und wurden auch die folgenden Male lavagiert. Von den

88 randomisierten Patienten wurden 49 dem Behandlungsarm mit rhDNAse (Pulmozyme) zugewiesen, 39 Patienten bekamen kein Pulmozyme.

Die Patienten wurden insgesamt dreimal im Abstand von jeweils 18 Monaten lavagiert. Bis zum Zeitpunkt der zweiten Lavage stiegen zehn, bis zur dritten Lavage insgesamt 40 Patienten aus der Studie aus.

### 3. Durchführung der bronchoalveolären Lavage und Verarbeitung der Proben

Die Patienten wurden in den jeweils zuständigen Zentren lavagiert. Es wurden flexible Bronchoskope mit einem Außendurchmesser von 4,9 mm verwendet, bzw. 3,5 mm bei Patienten unter 10 Jahre. Die Untersuchung wurde in vier Zentren in Lokalanästhesie unter Applikation von 2 – 4 ml 4 % Lidocainlösung vor Beginn der Bronchoskopie und zusätzlicher Gabe von 1 – 4 ml 2 % Lidocainlösung unmittelbar vor dem Einführen des Bronchoskops in die Trachea durchgeführt. In diesen Zentren wurden die Patienten unter Anwendung von Midazolam (0,2 – 0,3 mg/kg Körpergewicht; in zwei Zentren), Midazolam und Pethidin (0,5 mg/ kg Körpergewicht; in einem Zentrum) oder Propofol (2 mg/kg Körpergewicht; ein Zentrum) sediert. In einem Zentrum wurde die Bronchoskopie in Vollnarkose unter Verwendung von Lachgas und 2,5 Volumenprozent Halothan durchgeführt.

Es wurde die zum Oberlappen gehörende Lingula oder eines ihrer Segmente lavagiert. Dazu wurden je Fraktion 20 ml (Gesamtvolumen 3 ml/kg Körpergewicht), auf Körpertemperatur erwärmte physiologische Kochsalzlösung eingebracht. Bei Kindern unter 20 kg Körpergewicht wurde ein Volumen von nur drei mal 1 ml/kg Körpergewicht verwendet. Anschließend wurde die Flüssigkeit manuell aspiriert. Die erste gewonnene Fraktion wurde, da sie den großen Atemwegen zuzuordnen war getrennt bearbeitet und wurde in dieser Arbeit nicht betrachtet. Alle danach gewonnenen Fraktionen wurden gepoolt und für die Untersuchungen dieser Arbeit verwendet. Sie spiegeln die Situation der kleineren Atemwege und Alveolen wider.

Für die Durchführung der mikrobiologischen Untersuchung wurden jeweils 2 ml des gepoolten Materials verwendet. Keimzahlen von über  $10^5$  koloniebildenden Einheiten wurden als relevante Besiedlung gewertet. Nach der Entnahme des Materials für die Mikrobiologie wurde die Lavage durch eine Lage steriler Gaze gefiltert um Mucus zu entfernen. Zur Entfernung der Zellen wurde die Lavage zehn Minuten lang bei 500 g zentrifugiert. Zur Differenzierung der Zellen wurde ein Zellausstrich in May- Grünwald- Färbung angefertigt und 600 Zellen ausgezählt. Anschließend wurde die Lavage aliquotiert und bei -80 °C bis zur weiteren Verarbeitung (siehe Abbildung 1) eingefroren.

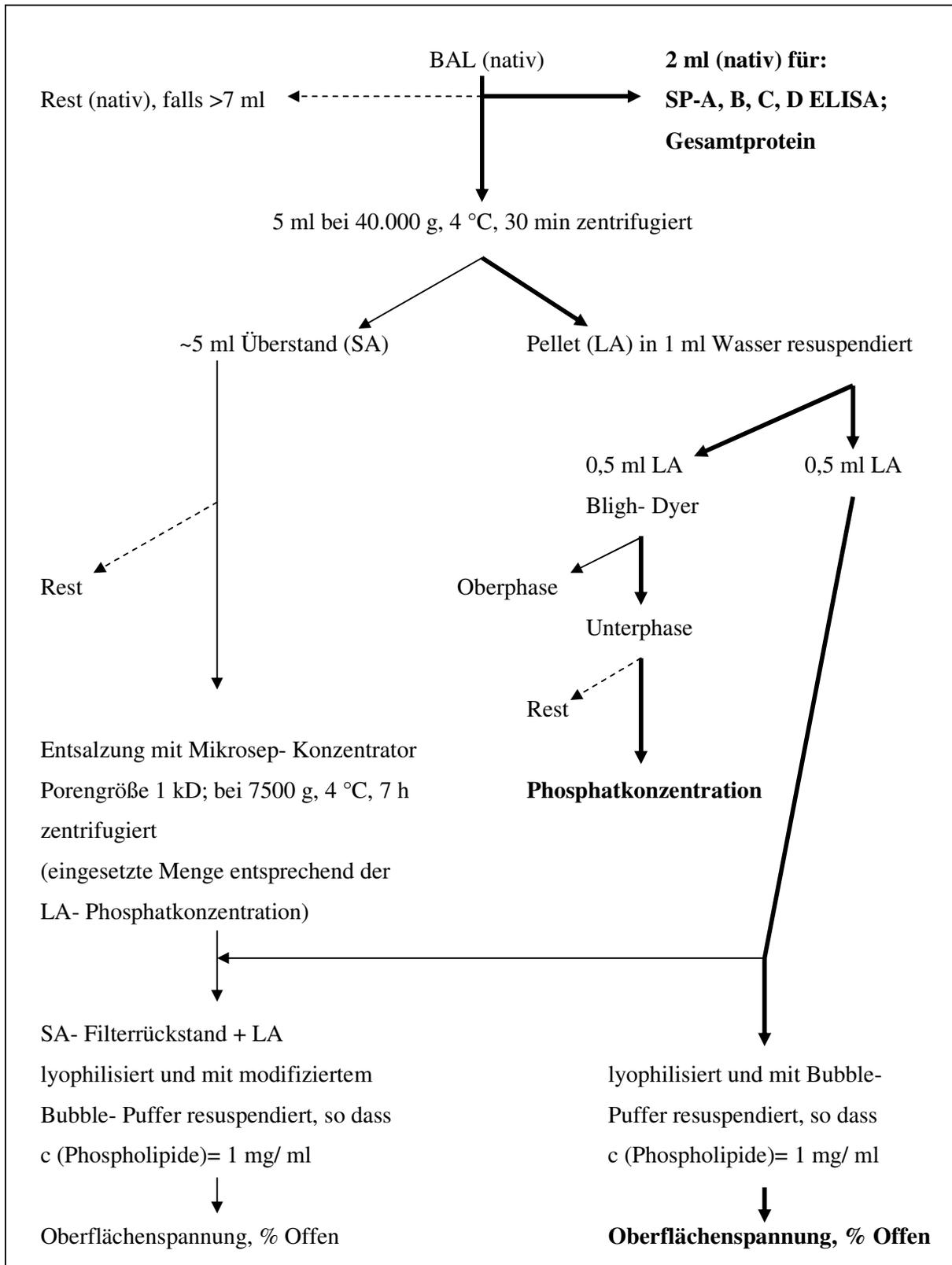


Abbildung 1: Schematische Darstellung der Probenaufarbeitung.

#### 4. Patientenkollektiv für die Untersuchung der biophysikalischen Parameter

Für die Untersuchung der biophysikalischen Eigenschaften war eine Menge von mindestens fünf Milliliter je Lavage erforderlich. Bei einem zu geringen Probenvolumen oder dem Fehlen der Lavage bis zum Abschluss der Messungen, wurden diese Proben nicht in die hier dargestellten Untersuchungen einbezogen. Bei Patienten, die keine rhDNAse erhielten, wurde dann auf die Proben des zweiten oder dritten Lavagezeitpunkts zurückgegriffen (siehe Tabelle im Anhang).

Es resultierte eine Gruppe von insgesamt 81 Patienten (43 weiblich, 38 männlich). Von diesen 81 Proben stammten 68 vom Zeitpunkt der ersten Lavage, zehn von der zweiten und drei von der dritten Lavage. Es wurden hiervon die Konzentrationen der einzelnen Surfactantbestandteile gemessen und die biophysikalischen Eigenschaften untersucht. Diese Gruppe wurde für den Vergleich mit einer lungengesunden Kontrollgruppe (n= 10) und für die Suche nach Korrelationen zwischen den einzelnen Parametern herangezogen. Für die Darstellung des zeitlichen Verlaufs wurden die Werte der Patienten verwendet, von denen ausreichend Lavagematerial aus allen drei Zeitpunkten zur Verfügung stand (siehe Ergebnisteil, siehe Tabelle im Anhang).

##### a. Klinische Parameter und Genetik der Patienten

Bei CF Patienten die älter als fünf Jahre sind werden regelmäßig Kontrollen der Lungenfunktion durchgeführt. Die Werte der Forcierten Vitalkapazität (FVC) und der Einsekundenkapazität ( $FEV_1$ ) können lange Zeit normale Werte aufweisen. Die frühesten Lungenveränderungen im Sinne einer obstruktiven Lungenerkrankung können bei den expiratorischen Flüssen bei kleinen Lungenvolumina ( $MEF_{25}$ ) nachgewiesen werden. Ebenso findet frühzeitig ein Anstieg des allerdings in dieser Arbeit nicht betrachteten Residualvolumens statt. Negative Einflüsse auf die Lungenfunktionsparameter haben ein schlechter Ernährungsstatus, Diabetes mellitus, Infektionen mit *Pseudomonas aeruginosa* oder *Burkholderia cepacia* und pulmonale Exazerbationen. Positiv wirken sich ein milder Genotyp und ein suffizientes Pankreas auf die Lungenfunktion aus (Gibson et al., 2003).

Die Lungenfunktionswerte der hier untersuchten Patienten wurden vor jeder Lungenlavage mittels Bodyplethysmographie ermittelt. Der Body Mass Index (BMI) wurde aus Körpergröße und -gewicht errechnet.

	Median (Spannweite)	Anzahl
Alter (Jahre)	11 (5 – 31)	81
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	16,36 (12,93 – 33,60)	81
FVC (%Soll)	96,1 (70,1 – 126,3)	67
FEV <sub>1</sub> (%Soll)	93,5 (52,0 – 121,1)	80
MEF <sub>25</sub> (%Soll)	60,4 (5,6 – 154,6)	79
MEF <sub>75/25</sub> (%Soll)	73,6 (18,8 – 169,3)	76

Tabelle 1: Lungenfunktionswerte, Größe und Ernährungsstatus der CF Patienten (Einzelwerte im Anhang).

Bei 68 der insgesamt 81 Patienten war die genetische Mutation bekannt. Bezüglich der Mutation D-F 508 waren 47 Patienten homozygot und 16 heterozygot. Bei fünf der für die D-F 508 Mutante heterozygoten Patienten war der Defekt des anderen Gens bekannt. Fünf der 68 Patienten hatten seltenere Mutationen (z. B. G551D, A455E). Bei dreizehn Patienten war die Mutation unbekannt (siehe Anhang).

### b. Mikrobiologischer Befund

Die am häufigsten bei CF Patienten nachgewiesenen Keime sind *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*, *Haemophilus influenzae*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Achromobacter xylosoxidans*, Aspergillen und Mykobakterien. Bis auf die Staphylokokken sind die genannten Keime opportunistische Krankheitserreger. *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, *Pseudomonas aeruginosa* sind bei CF oft schon frühzeitig nachweisbar (Gibson et al., 2003). Bei den hier untersuchten Patienten wurden in der BAL folgende Keime nachgewiesen:

	Anzahl der Patienten
Steril	18
Bakterien gesamt	62
<i>Staphylococcus aureus</i>	32
<i>Haemophilus influenzae</i>	17
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	20
andere Bakterien	17
Pilze gesamt	12
Aspergillus Spezies	4
Candida Spezies	8
andere Pilze	2
Keine Mikrobiologie vorhanden	1
Gesamt	81

Tabelle 2: Übersichtstabelle der mikrobiologischen Befunde der BAL- Flüssigkeit (detaillierte Auflistung im Anhang).

## B. Kontrollen

Die Kontrollproben stammten von zehn Kindern, die im Rahmen einer Operation im Hals-Nasen-Ohren Bereich (z.B. Adenotomie) einer bronchoalveolären Lavage unterzogen wurden. Drei der Kinder waren weiblich und sieben männlich. Das mittlere Alter der Kinder betrug 4,5 Jahre die Altersspanne war 1,5 bis 8,5 Jahre (siehe Anhang). Die Kontrollen hatten keine pulmonalen Erkrankungen. Es wurde keine Untersuchung der Lungenfunktion durchgeführt. Die Studie und die Untersuchung des Surfactantsystems wurden von der zuständigen Ethikkommission genehmigt. Die Patienten gaben ihr schriftliches Einverständnis.

## C. Arbeitstechniken

### 1. Gewinnung der LA- Fraktion

#### a. Material

- Aqua bidest. (H. Kerndl GmbH)
- Zentrifugenröhrchen (Beckmann)
- Zentrifuge (Beckmann Avanti J-30 I mit Rotor JA – 30.50)
- 15 ml Röhrchen, Greiner (Nr. 188271)
- 1,5 ml Eppendorf Reaktionsgefäße
- 2 ml Eppendorf Reaktionsgefäße

#### b. Methode

Durch eine Zentrifugation bei 28000 – 73000 g entsteht ein surfactantreiches Pellet (LA-Fraktion: engl. Large Aggregates) und ein Überstand der die niedermolekularen Bestandteile (SA- Fraktion: engl. Small Aggregates) der BAL- Flüssigkeit enthält (Griese, 1999).

Von der LA- Fraktion wurden in dieser Arbeit die Phosphatkonzentration, die Oberflächenspannung, und das % Offen bestimmt. Zur Trennung von SA- und LA- Fraktion wurden 5 ml jeder nativen BAL Probe 30 Minuten lang bei einer Temperatur von 4 °C mit 40000 g (entspricht 18185 Umdrehungen pro Minute) zentrifugiert. Der Überstand (SA-Fraktion) wurde in Greiner Röhrchen überführt und das Pellet (LA- Fraktion) in 1 ml Aqua bidest. resuspendiert. Anschließend wurde das resuspendierte Pellet in Eppendorf Reaktionsgefäße pipettiert und dabei das exakte Volumen neu bestimmt. Die Pellets und Überstände wurden bis zur weiteren Verwendung bei einer Temperatur von -80 °C gelagert.

### 2. Lipidextraktion nach Bligh- Dyer und Folch- Waschung

#### a. Material

- Methanol p. a. (Merck No. 1.06009.1000)
- Chloroform p. a. (Merck No. 1.02431.1000)
- Aqua bidest. (H. Kerndl GmbH)
- Pasteur Pipetten (Assistent, No. 567/2)
- Verschraubbare Reagenzgläser (Schott)
- Zentrifuge (Heraeus, Megafuge 1.0 R)
- Vortexer (Bender und Hobein AG, Vortexer Genie 2)

## b. Methode

Mit Hilfe der Lipidextraktion werden die lipophilen Probenbestandteile von den hydrophilen getrennt, um sie einzeln untersuchen zu können. Die lipophilen Bestandteile (z.B. Phospholipide, Surfactantprotein B und C) sind in der chloroformhaltigen Unterphase gelöst, die hydrophilen Stoffe (z.B. Surfactantproteine A und D) befinden sich in der methanol- und wasserhaltigen Oberphase. Alle verwendeten Glasgefäße wurden vor Gebrauch mit Chloroform gespült, um eventuelle Lipidrückstände zu entfernen.

Zu 0,5 ml des resuspendierten Pellet wurden 1,5 ml Wasser und 7,5 ml Chloroform-Methanol- Gemisch (1: 2) gegeben. Anschließend wurde zehn Minuten lang gevortext. Danach wurden 2,5 ml Chloroform und 2,5 ml Wasser zugefügt und wieder zehn Minuten gevortext, um eine Durchmischung der Phasen zu erreichen. Um die Phasen vollständig voneinander zu trennen, wurden die Proben bei Raumtemperatur zehn Minuten lang mit 2400 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert. Der Flüssigkeitsstand der Oberphase wurde am Röhrchen markiert. Danach wurde die Unterphase mit Hilfe einer Pasteurpipette in ein frisches Röhrchen abpipettiert (Bligh et al., 1959). Die Oberphase wurde mit der Folch Waschung reextrahiert. Die Herstellung der Unterphase nach Folch erfolgte stets am selben Tag frisch.

Chloroform	86 ml	172 ml
Methanol	14 ml	28 ml
Wasser	1 ml	2 ml

Tabelle 3: Rezept für die Folch Unterphase links für geringere, rechts für größere Mengen

Die Röhrchen wurden mit der Folch- Unterphase bis zur jeweiligen Markierung aufgefüllt und anschließend zehn Minuten gevortext. Danach wurden die Röhrchen bei Raumtemperatur 10 Minuten mit 2400 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert. Die Unterphasen wurden abpipettiert und zu den zuerst abgenommenen Unterphasen gegeben. Die Oberphase und die in manchen Fällen vorhandene Interphase wurden gemeinsam in ein anderes Röhrchen abpipettiert (Folch at al., 1957).

### 3. Bestimmung der Phosphatkonzentration

#### a. Material

- Schwefelsäure (Merck No. 1.00731.1000)
- Salpetersäure, rauchend 100 % (Merck No. 1.00455.1000)
- Methanol p. a. (Merck No. 1.06009.1000)
- Chloroform p. a. (Merck No. 1.02431.1000)
- Magnesiumnitrat  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  suprapur (Merck No. 1.05855.0050)
- Ammoniummolybdat (Sigma No. 12027-67-7)
- Salzsäure, rauchend (Merck No. 1.00317.1000)
- Malachitgrün (oxalat) (Gurr Ceristain 3404545)
- Triton X-100 (Sigma No. 9002-93-1)
- Kaliumhydrogenphosphat  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  z. A. (Merck No. 4873.1000)
- Aqua bidest. (H. Kerndl GmbH)
- Assipettor (Assistent)
- Hamiltonspritze (Shorewood)
- Reagenzgläser (Assistent No. 2775/14)
- Filterpapier
- Glastrichter
- Mikrotiterplatte (Greiner; 96 Vertiefungen, transparent)
- Anthos htIII Mikrotiterplattenleser (Anthos Labtec Instruments, Typ 12600)
- Vortexer (Bender und Hobein AG, Vortexer Genie 2)

Um die Oberflächenaktivität des Surfactant von unterschiedlichen Proben vergleichen zu können, wurden vor der Messung der Oberflächenspannung (siehe unten) alle Proben auf die Phospholipidkonzentration von 1 mg/ml eingestellt. Dazu erfolgte die Bestimmung der Phosphatkonzentration, aus der die Phospholipidkonzentration berechnet wurde.

Zur Messung der Phosphatkonzentration wurde das organische Phosphat der Unterphase (siehe Lipidextraktion) mittels Magnesiumnitrat über offener Bunsenbrennerflamme vollständig in anorganisches Phosphat überführt. Nach Zugabe des Färbereagenzes wurde die Extinktion photometrisch in Vierfachmessung bestimmt und daraus die Phosphatkonzentration berechnet (Duck-Chong, 1979).

### b. Herstellung gebeizter Reagenzgläser

Wegen der hohen Sensitivität der hier durchgeführten Phosphatbestimmung wurden die Reagenzgläser zuvor mit Beizlösung (konzentrierte Schwefelsäure und ca. 5 % konzentrierte Salpetersäure) befüllt und über Nacht stehen gelassen, um eventuell vorhandene Phosphatreste von der Glaswand zu entfernen. Die Reagenzgläser wurden dann dreimal mit Aqua bidest. gespült.

### c. Vorbereitung der Standards

Zur Herstellung der Stammlösung wurden 0,4387 g Kaliumhydrogenphosphat in 100 ml einmolarer Salzsäure gelöst. Von dieser Lösung wurden 100 µl abpipettiert und im Messkolben mit Salzsäure zu einem Volumen von 100 ml aufgefüllt.

Von einer Magnesiumnitrat- Lösung (10 % w/v in Methanol) wurden 30 µl in gebeizte Reagenzgläser pipettiert. Die Magnesiumnitrat- Lösung wurde bei einer Temperatur von 85 – 100 °C verdampft und anschließend über der offenen Bunsenbrennerflamme vollständig verbrannt. In die so vorbereiteten Reagenzgläser (drei für jede Standardkonzentration) wurden folgende Mengen an Stammlösung und einmolarer Salzsäure pipettiert:

Stammlösung (µl)	Salzsäure (µl)	Phosphatkonzentration (µg/µl)
0	1000	0
100	900	0,1
200	800	0,2
300	700	0,3
400	600	0,4
500	500	0,5

Tabelle 4: Verdünnungsreihe des Phosphatstandards.

### d. Herstellung des Farbreagens

Reagenz A: Herstellung einer 4,2 % Ammoniummolybdat- Lösung (w/v in 4,5 M Salzsäure).

Reagenz B: Herstellung einer 0,3 % Malachitgrün- Lösung (w/v in Aqua bidest.).

Reagenz C: 100 ml Reagenz A und 300 ml Reagenz B wurden gemischt, drei Stunden bei Raumtemperatur stehengelassen und entstandene Präzipitate anschließend mit einem Papierfilter entfernt.

### e. Vorbereitung der Proben

Die bei der Lipidextraktion gewonnenen Unterphasen wurden bei 40 °C unter der Zufuhr von gasförmigem Stickstoff eingedampft. Anschließend wurden sie in 1000 µl eines Gemisches aus Chloroform und Methanol (2: 1) resuspendiert. Von jeder Probe wurden in zwei gebeizte Reagenzgläser je 100 µl pipettiert. Nach Zugabe von 30 µl Magnesiumnitrat- Lösung (10 % w/v in Methanol) wurden die Proben bei 85 – 100 °C eingedampft. Danach wurde über offener Bunsenbrennerflamme das organische Phosphat (z.B. Phospholipide) vollständig in anorganisches Phosphat überführt. Nach Abkühlung der Reagenzgläser wurde das Phosphat in 1 ml einmolarer Salzsäure resuspendiert. Die Röhrchen wurden auf eine Temperatur von 90 – 95 °C erwärmt und 15 Minuten lang bei dieser Temperatur belassen. Im Wasserbad erfolgte die erneute Abkühlung auf Raumtemperatur. Anschließend wurden die Proben gevortext und 500 µl davon in gebeizte Reagenzgläser überführt.

### f. Durchführung der Messungen

Jeder Probe und jedem Standard wurde 15 µl Triton X-100 Lösung (1 % (w/v) in Aqua bidest.) zugegeben. Triton X-100 erhöht die Stabilität des Farbkomplexes und die Sensitivität der Messung.

#### Messung der Standards:

Zuerst wurden zur Errechnung der Standardkurve die Phosphatstandards in Sechsfachbestimmung je Konzentrationsstufe gemessen. Dazu wurde jeder Konzentrationsstufe 1 ml Reagenz C (siehe oben) zugegeben und anschließend wurden die Standards gevortext. Von jedem gefärbten Standard (drei je Konzentrationsstufe – siehe oben) wurden 280 µl in jeweils zwei Vertiefungen der Mikrotiterplatte gefüllt. Die Messung wurde im Photometer bei einer Wellenlänge von 650 nm durchgeführt. Aus diesen Werten wurde die Standardkurve per Computer mit dem Programm GraphPad Prism 3 errechnet (Abbildung 2).

#### Messung der Proben:

Nach Zugabe von 1 ml des Reagenz C wurden die Proben gevortext und 280 µl davon in je zwei Vertiefungen der Mikrotiterplatte gefüllt. So wurde die Phosphatkonzentration jeder Probe durch Vierfachmessung bestimmt. Die Messung erfolgte im Photometer bei einer Wellenlänge von 650 nm. Aus den gemessenen Absorptionswerten wurden über die zuvor erstellte Standardkurve (Abbildung 2) die Phosphatkonzentrationen mit dem Programm GraphPad Prism 3 am Computer berechnet.

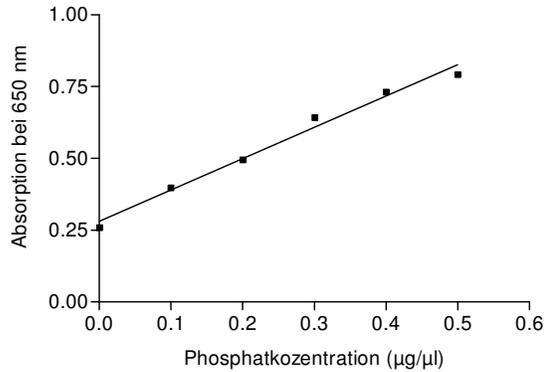


Abbildung 2: Beispiel einer Standardkurve

#### 4. Bestimmung der Proteinkonzentration (Bradford, 1975)

##### a. Material

- Bio-Rad Proteinassay Farbstoffkonzentrat (Bio-Rad Laboratories GmbH No.500-0006)
- Natriumchlorid (Merck No. 1.06404.1000)
- Phosphatpuffer (PBS):

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 1 l Wasser lösen und mit NaOH auf pH 7,4 einstellen

- Bovines Serum Albumin BSAV (Paesel + Lorei No. 100568)
- Aqua bidest (H. Kerndl GmbH)
- Mikrotiterplatte (Greiner; 96 Vertiefungen, transparent)
- Anthos htIII Mikrotiterplattenleser (Anthos Labtec Instruments, Typ 12600)
- Papierfilter
- Glastrichter

##### b. Methode

Das Bio-Rad Farbstoffkonzentrat wurde zuerst mit einem Papierfilter von Präzipitaten gereinigt und anschließend mit destilliertem Wasser 1: 5 verdünnt.

Als Standard wurde eine Verdünnungsreihe aus BSA (in PBS Puffer) mit folgenden Konzentrationen hergestellt: 5000 µg/ml, 2500 µg/ml, 1250 µg/ml, 625 µg/ml, 312,5 µg/ml,

156,3 µg/ml, 78 µg/ml. Von jeder Konzentrationsstufe der Proteinstandards wurden in zwei Vertiefungen der Mikrotiterplatte jeweils 5 µl pipettiert (Doppeltbestimmung). Die Proben wurden in Dreifachbestimmung gemessen: Von jeder Probe wurden 5 µl (bei sehr geringem Proteingehalt wurden 10 µl bzw. 20 µl verwendet) in je drei Vertiefungen der Mikrotiterplatte gefüllt und dazu 100 µl des verdünnten Färbereagens pipettiert. Die Konzentrationen wurden photometrisch bei einer Wellenlänge von 600 nm bestimmt.

## 5. Bestimmung der Konzentration von Surfactantprotein A

Die Bestimmung der SP-A Konzentrationen wurden von Mitarbeitern der Forschungsgruppe Lunge, München durchgeführt.

### a. Material

- Carbonatpuffer: 15 mM Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 35 mM NaHCO<sub>3</sub>, pH 9,6
- TBS- Puffer: 10 mM Tris, 140 mM NaCl, pH 7,4, 0,1 % Triton X
- Blockpuffer: 1 % BSA in TBS
- Substratpuffer: ABTS- Puffer (Boehringer No. 1112597)
- ABTS- Lösung: 10 mg ATBS, 10 µl H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30%, in 10 ml ABTS- Puffer

### b. Methode

Von der Probe wurden 0,2 ml zusammen mit 0,8 ml 1 mM EDTA in 10 mM Tris auf einen pH Wert von 7,4 eingestellt. Nach 1 min im Ultraschallbad wurde 0,1 ml Triton X (22%) zugegeben. Nach anschließendem Vortexen wurde 10 min bei 10000 g zentrifugiert. Die Standards wurden wie die Proben behandelt und anschließend BSA in einer Konzentration von 1% zugegeben.

In jedes Nöpfchen (Well) der Mikrotiterplatte wurde 100 µl des in Carbonatpuffer gelösten Antikörpers (PC-6 1 µg/ml Carbonatpuffer) pipettiert. Für die optimale Adsorption des Antikörpers an der Kunststoffoberfläche der Mikrotiterplatte wurde diese über Nacht bei 4 °C inkubiert. Um Verdunstung zu vermeiden wurde die Platte wie bei allen Arbeitsschritten mit Parafilm abgedeckt. Die Lösung und noch darin enthaltene Antikörper wurden dekantiert und verworfen. Um eine Bindung der nachfolgend zugefügten Proteine an die Festphase zu verhindern wurden die Wells mit 200 µl Blockpuffer befüllt. Das ganze wurde bei 37 °C eine Stunde belassen und anschließend dreimal mit TBS- Puffer gewaschen.

Anschließend wurden die Standards in zwei Verdünnungsreihen zur Bestimmung einer Standardkurve aufgetragen. Die Standards wurden dazu mit Blockpuffer verdünnt. Die Proben wurden ebenfalls als Verdünnungsreihe in Blockpuffer aufgetragen. Die Ausgangskonzentration wurde so gewählt, dass die Konzentration im Messbereich lag. Die Platte wurde zwei Stunden bei 37 °C inkubiert. Nach dreimaligem Waschen mit TBS- Puffer wurde ein polyklonaler Kaninchenantikörper gegen humanes rekombinantes SP-A aufgetragen. Er wurde 1 zu 100 in Blockpuffer verdünnt. Anschließend wurden 100 µl davon in jedes Well aufgetragen und eine Stunde bei 37 °C inkubiert. Zur Detektion des Intermediärkomplexes wurde Anti- Kaninchen- IgG von der Ziege verwendet. Es wurde 1 zu 5000 in Blockpuffer verdünnt und nach dreimaligem Waschen mit TBS- Puffer 100 µl davon in jedes Well pipettiert und eine Stunde bei 37 °C inkubiert. Nach der Inkubation wurde wieder dreimal mit TBS- Puffer gewaschen. Danach wurde in jedes Well 100 µl ABTS- Substrat pipettiert und nach 30- 60 min bei 405 nm gelesen.

## 6. Bestimmung der Konzentration von Surfactantprotein B

Die Bestimmung der SP-B Konzentrationen wurden von Mitarbeitern der Arbeitsgruppe von Dr. Reinhold Schmidt, Zentrum für Innere Medizin, Justus-Liebig-Universität Giessen durchgeführt.

### a. Material

- Phosphatpuffer (PBS): 12 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 3 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 150 mM NaCl, pH 7,4
- Verdünnungspuffer: PBS/Propanol (1:1; v/v)
- Vorwaschpuffer: Diisopropylether/Butanol (3:2; v/v)
- Waschpuffer: PBS, 0,5 % Tween 20, pH 7,4
- Blockpuffer: PBS, 1 % BSA (w/v), pH 7,4
- Substratpuffer: 60 mM Natriumacetat, 50 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, pH 4,2
- ABTS- Lösung: 20 mg ABTS und 10 µl H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30%) in 30 ml Substratpuffer

### b. Methode

Proben und Standards wurden zunächst eins zu eins mit Propanol gemischt und anschließend mit Verdünnungslösung auf die gewünschte Konzentration verdünnt. Jeweils 100 µl pro Well wurden anschließend auf die Mikrotiterplatten übertragen und bei 37 °C eingetrocknet. Um

die Adsorption an die Platten zu optimieren, wurden danach jeweils 100 µl Trifluorethanol zugegeben und wiederum bei 37 °C eingetrocknet. Zur Entfernung der Phospholipide wurde dann 20 min lang bei Raumtemperatur mit Vorwaschpuffer inkubiert, dekantiert und zweimal mit Waschpuffer gewaschen. Anschließend wurde zwei Stunden lang bei Raumtemperatur mit 200 µl Blockpuffer geblockt und dann dreimal mit Waschpuffer gewaschen. Mit dem SP-B-Primär- Antikörper (200 µl/Well in einer Konzentration von 1,5 µg/ml Blockpuffer) wurden die Platten dann für zwölf Stunden bei Raumtemperatur inkubiert und wiederum dreimal mit Waschpuffer gewaschen. Die SP-B- Sekundär- Antikörper wurden 1 zu 1000 in Blockpuffer gelöst und jeweils 200 µl/Well über drei Stunden vorsichtig bei Raumtemperatur geschüttelt. Erneut folgte dreimaliges Waschen mit dem Waschpuffer. Der AB- Komplex wurde nach Herstellervorschrift verdünnt, in einer Menge von 200 µl/Well aufgetragen und nach zweistündigem Schütteln bei Raumtemperatur durch dreimaliges Waschen mit Waschpuffer entfernt. Danach wurden 200 µl ABTS- Lösung pro Well einpipettiert, bei 4 °C über Nacht inkubiert und am nächsten Tag bei 450 nm abgelesen (Kraemer et al., 1995).

## 7. Bestimmung der Konzentration von Surfactantprotein C

Die Bestimmung der SP-C Konzentrationen wurden von Mitarbeitern der Arbeitsgruppe von Dr. Reinhold Schmidt, Zentrum für Innere Medizin, Justus-Liebig-Universität Giessen durchgeführt.

### a. Material

- Lösungsmischung: 2-Propanol/ H<sub>2</sub>O (80/20, v/v, pH 3,5)
- Waschpuffer: 50 mM Tris/ HCl, 0,05 % Tween 20, pH 7,4
- Blockpuffer: 50 mM Tris/ HCl, 1 % BSA (w/v), pH 7,6
- Substratpuffer: 60 mM Natriumacetat, 50 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, pH 4,2
- ABTS- Lösung: 20 mg ABTS und 10 µl H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>(30 %) in 30 ml Substratpuffer

### b. Methode

Die Proben wurden eins zu fünf (v/v), der SP-C- Standard seriell bis 3,125 ng/ml in Lösungsmischung verdünnt. Davon wurden jeweils 100 µl in die Mikrotiterplatten einpipettiert und über Nacht bei 37 °C getrocknet. Pro Well wurde dann 100 µl Trifluorethanol hinzugegeben und über drei Stunden bei 37 °C getrocknet, um das SP-C

optimal an die Oberfläche der Platte zu binden. Daraufhin wurden die Phospholipide mit Methanol ausgewaschen. 200 µl Methanol wurde pro Well hinzugegeben und die Platte 20 min lang vorsichtig bei Raumtemperatur geschüttelt. Das Lösungsmittel wurde entfernt und nochmals kurz mit Methanol, dann dreimal mit Waschpuffer gewaschen. Anschließend wurde mit jeweils 200 µl Blockpuffer pro Well für zwei Stunden bei Raumtemperatur geblockt und wiederum dreimal mit Waschpuffer gewaschen. Der SP-C- Primär- Antikörper, der 1:200 in Blockpuffer verdünnt worden war, wurde dann in einer Menge von jeweils 200 µl eingesetzt und konnte über einen Zeitraum von 12 bis 15 Stunden mit dem SP-C auf der Platte reagieren. Nach dreimaligem Waschen mit Waschpuffer wurde zwei Stunden lang mit 200 µl der 1:1000- Lösung der SP-C- Sekundär- Antikörper in Blockpuffer inkubiert. Nach erneutem dreimaligem Waschen wurden 200 µl des AB- Komplexes, der 1:50 in Blockpuffer verdünnt worden war, für zwei Stunden hinzugegeben. Auf dreimaliges Waschen folgte dann die Farbreaktion mit 200 µl ABTS- Lösung, die nach einer Nacht bei 4 °C am nächsten Tag bei 450 nm abgelesen wurde. (Schmidt et al., 2002)

## 8. Bestimmung der Konzentration von Surfactantprotein D

Die Bestimmung der SP-D Konzentrationen wurden von Mitarbeitern der Forschungsgruppe Lunge, München durchgeführt.

### a. Material

- Carbonatpuffer: 15 mM Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 35 mM NaHCO<sub>3</sub>, pH 9,6
- TBS/ TC- Puffer: 10 mM Tris, 140 mM NaCl, 5 mM CaCl<sub>2</sub>, pH 7,4, 0,1 % Triton-X
- Blockpuffer: 1 % BSA in TBS/ TC Puffer
- Substratpuffer: ABTS- Puffer (Boehringer No. 1112597)
- ABTS- Lösung: 10 mg ATBS, 10µl H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30%, in 10 ml ATBS- Puffer

### b. Methode

Von der Probe wurden 0,2 ml zusammen mit 0,8 ml 1 mM EDTA in 10 mM Tris auf einen pH Wert von 7,4 eingestellt. Nach 1 min im Ultraschallbad wurde 0,1 ml Triton X (22%) zugegeben. Anschließend wurde gevortext und dann 10 min bei 10000 g zentrifugiert. Die Standards wurden wie die Proben behandelt und anschließend BSA in einer Konzentration von 1% zugegeben.

In jedes Nöpfchen (Wells) der Mikrotiterplatte wurde 100 µl des in Carbonatpuffer gelösten Antikörpers (Crouch- Antikörper 1 zu 10000 in Carbonatpuffer) pipettiert. Für die optimale Adsorption des Antikörpers an der Kunststoffoberfläche der Mikrotiterplatte wurde diese über Nacht bei 4 °C inkubiert. Um Verdunstung zu vermeiden wurde die Platte wie bei allen Arbeitsschritten mit Parafilm abgedeckt. Die Lösung und noch darin enthaltene Antikörper wurden dekantiert und verworfen. Um eine Bindung der nachfolgend zugefügten Proteine an die Festphase zu verhindern wurden die Wells mit 200 µl Blockpuffer befüllt. Das ganze wurde bei 37 °C eine Stunde belassen und dann dreimal mit TBS/ TC- Puffer gewaschen.

Anschließend wurden die Standards in zwei Verdünnungsreihen zur Bestimmung einer Standardkurve aufgetragen. Die Standards wurden dazu mit Blockpuffer verdünnt. Die Proben wurden ebenfalls als Verdünnungsreihe in Blockpuffer aufgetragen. Die Ausgangskonzentration wurde so gewählt, dass die Konzentration im Messbereich lag.

Die Platte wurde zwei Stunden bei 37 °C inkubiert. Danach wurde dreimal mit TBS/ TC- Puffer gewaschen. Anschließend wurde in jedes Well 100 µl eines polyklonalen Mausantikörper gegen humanes rekombinantes SP-D (VI F 11 mouse- anti- SP-D) (Konzentration von 1 µg/ml Blockpuffer) pipettiert. Nach einer Inkubationszeit von einer Stunde bei 37 °C wurde dreimal mit TBS/ TC gewaschen. Zur Detektion des Intermediärkomplexes wurde ein mit Peroxidase konjugiertes Anti- Maus- IgG vom Kaninchen verwendet (Verdünnung von 10 µl in 10 ml Blockpuffer). Es wurden 100 µl davon in jedes Well pipettiert und eine Stunde bei 37 °C inkubiert. Nach der Inkubation wurde wieder dreimal mit TBS/ TC- Puffer gewaschen. Danach wurde in jedes Well 100 µl ABTS- Substrat pipettiert und nach 30 – 60 min bei 405 nm gelesen.

## 9. Das pulsierende Blasensurfactometer: Messung der Oberflächenspannung

### a. Material

- Natriumchlorid (Merck No. 1.06404.1000)
- HEPES (Sigma ECTNo. 230-907-9)
- EDTA disodium Salz plusone (Sigma 17-1324-01)
- Kalziumchlorid Dihydrat (Merck 1.02382.0500)
- Chloroform p. a. (Merck No. 1.02431.1000)
- Salzsäure rauchend (Merck No. 1.00317.1000)
- Natriumhydroxid (Merck No. 1.06498.1000)
- Als Standard- Surfactant: Rindersurfactant (Thomae)
- Aqua bidest. (H. Kerndl GmbH)
- Pulsating Bubble Surfactometer (Electronetics Corporation)
- Processed Sample Chambers (Electronetics Corporation bzw. General Transco, Inc. No. C28010083)
- Hamilton Spritze (Shorewood)
- Wasserbad, 37 °C
- pH- Meter
- Thermometer

### b. Bubble- Puffer

Die Oberflächenspannung wurde bei einer Phospholipidkonzentration von 1 mg/ml durchgeführt. Dazu wurde das 40000 g Pellet in der Vakuumzentrifuge lyophilisiert und anschließend mit einer entsprechender Menge des so genannten Bubble- Puffers resuspendiert. Die Messung der Oberflächenspannung erfolgte mit dem pulsierenden Blasensurfactometer. Es wurde eine wässrige Lösung folgender Substanzen hergestellt:

Natriumchlorid (58,44 g/mol)	140 mM
HEPES (238,3 g/mol)	10 mM
EDTA (372,2 g/mol)	0,5 mM
Kalziumchlorid (147,02 g/mol)	3,5 mM

Bei einer Temperatur von 37 °C wurde der pH- Wert mit Hilfe von Salzsäure und Natronlauge auf den Wert 6,9 eingestellt.

### c. Das pulsierende Blasensurfactometer

#### i) Funktionsweise:

Die Probenkammer (Abbildung 3) wurde mittels Hamiltonspritze mit 30  $\mu\text{l}$  der Testflüssigkeit befüllt. Um physiologische Bedingungen zu simulieren wurde die Probekammer in das 37 °C warme Wasserbad abgesenkt (Abbildung 4). Es fand kein Flüssigkeitsaustausch zwischen Wasserbad und Testflüssigkeit statt.



Abbildung 3: Probenkammer des pulsierenden Blasensurfactometers. Kapazität: 30  $\mu\text{l}$ .

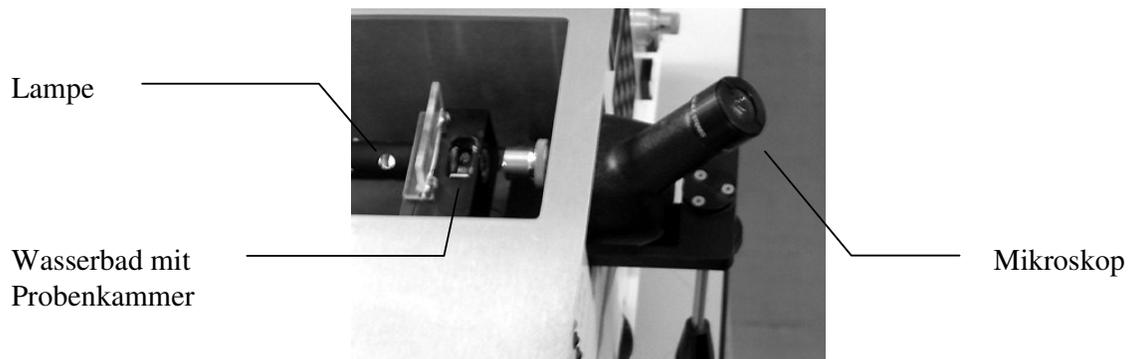


Abbildung 4: Pulsierendes Blasensurfactometer (Detailansicht).

Das pulsierende Blasensurfactometer maß die Druckdifferenz über einer zwischen zwei festgelegten Radien sinusförmig pulsierenden Blase. Diese Blase befand sich in der Testflüssigkeit innerhalb der Probenkammer. Sie wurde durch eine Vergrößerung des Innenvolumens der Probenkammer erzeugt und vor der Messung auf den kleineren Radius eingestellt (Abbildung 5 links). Durch sinusförmig wiederkehrende Veränderungen des Volumens wechselte die Blasengröße zwischen den zwei Radien (Abbildung 5). Die Blasengröße wurde während der Messung per Mikroskop optisch kontrolliert (Abbildung 4, 5) und bei Abweichungen korrigiert.

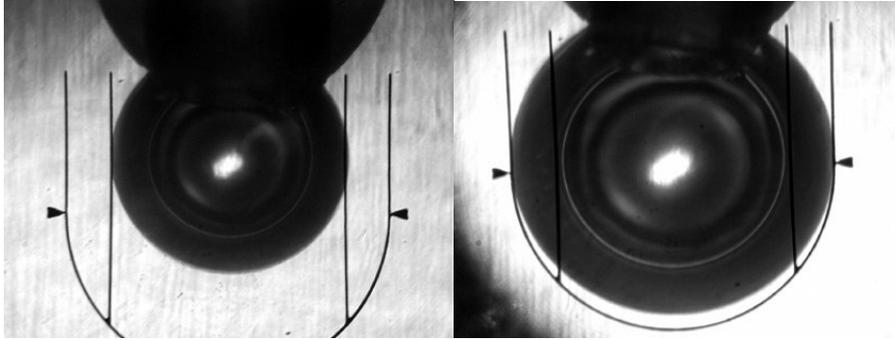


Abbildung 5: Blick durch das Mikroskop: links Blase mit minimalem, rechts mit maximalem Durchmesser.

Aus der gemessenen Druckdifferenz und dem bekanntem Blasenradius wurde vom Gerät die Oberflächenspannung über das LaPlace- Gesetz errechnet (Enhoring, 1977). Die Daten wurden direkt an einen Computer übermittelt und mit der Software WINBUBS ausgewertet.

Vor jedem Messtag wurde das Gerät mit 300 ml Aqua bidest gespült. Das dafür verwendete Wasser wurde zuvor 30 Minuten lang gekocht, um gelöste Gase weitgehend zu entfernen. Vor der Verwendung wurde das Spülwasser auf Raumtemperatur abgekühlt. Das pulsierende Blasensurfactometer wurde nach dem Spülen kalibriert. Zur Qualitätssicherung wurde zu Beginn eines jeden Messtages je eine Messung mit Wasser und Standard- Surfactant durchgeführt. Entsprachen die gemessenen Oberflächenspannungen von Wasser und Surfactant nicht den unten angegebenen Werten (Abbildung 6, 7), so erfolgte eine Überprüfung des Systems.

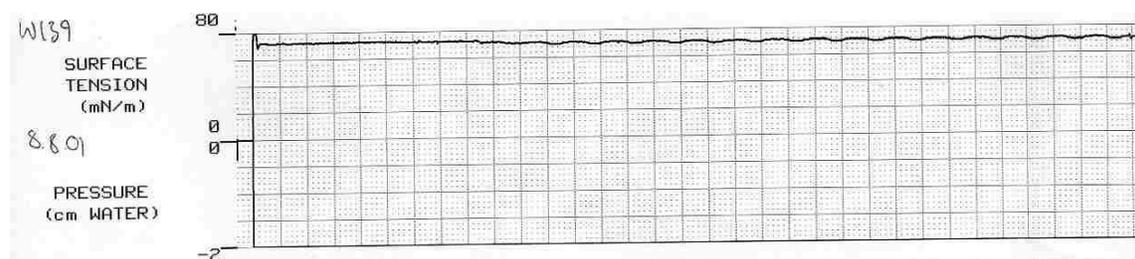


Abbildung 6: Messung der Oberflächenspannung von Wasser (Ausschnitt): die minimale Oberflächenspannung (obere Hälfte des Ausdrucks) von Wasser betrug  $70 \pm 2$  mN/m.

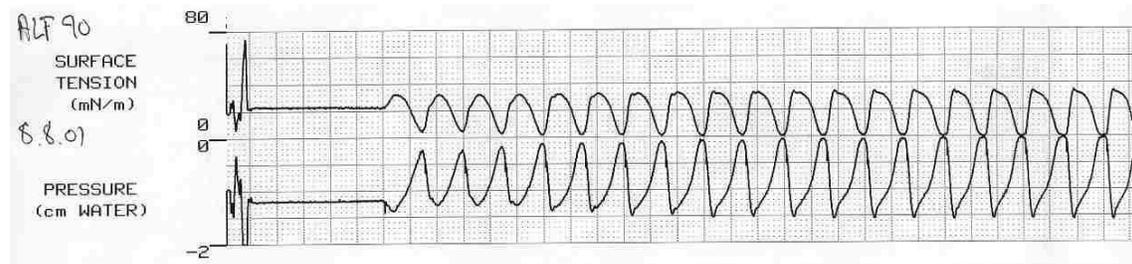


Abbildung 7: Messung der Oberflächenspannung bei Surfactant (Ausschnitt): die minimale Oberflächenspannung von Surfactant betrug  $0 + 2 \text{ mN/m}$ .

## ii) Durchführung der Messungen:

Die Bestimmung der Oberflächenspannung wurde am 40000 g Pellet durchgeführt. Es wurde zunächst in der Vakuumzentrifuge lyophilisiert und durch Zugabe einer entsprechenden Menge Bubble- Puffer auf eine Phospholipidkonzentration von 1 mg/ml eingestellt. Nach 30 Minuten Inkubation im 37 °C warmen Wasserbad wurde das Pellet 30 Sekunden lang zur vollständigen Homogenisierung gevortext. Für jede neue Messung wurde eine frische Probekammer verwendet. Die Probekammern wurden mittels Hamilton Spritze mit 30  $\mu\text{l}$  Probe befüllt und dann an der Halterung des Geräts angebracht. Die Hamilton Spritze wurde vor jedem Gebrauch mit Chloroform gespült, um Probereste zu entfernen.

Die Probekammer wurde in das 37 °C warme Wasserbad des Geräts abgesenkt. Zum Angleichen der Temperatur wurde die Messung erst nach zwei Minuten gestartet. Zu Beginn wurde die Oberflächenspannung nach der Adsorption gemessen (Abbildung 8). Die oberflächenaktiven Substanzen adsorbierten kurz nach dem Entstehen der Blase an der neu gebildeten Grenzfläche zwischen Luft und Flüssigkeit. Die kleinste, zehn Sekunden nach Start gemessene Oberflächenspannung war der Adsorptionswert. Danach pulsierte die Blase zwischen den festgelegten Radien. Die Messung erfolgte kontinuierlich über einen Zeitraum von fünf Minuten. Für die Auswertung wurden die Oberflächenspannungswerte bei minimalem Radius zum Zeitpunkt der ersten, fünften, zehnten, 20., 30., 40., und 100. Pulsation verwendet. Der Oberflächenspannungswert bei kleinstem Radius zum Zeitpunkt der 100. Pulsation wurde als minimale Oberflächenspannung bezeichnet.

Am Schluss wurden die Proben mit der Hamilton Spritze aus der Probekammer entfernt, in kleine Eppendorfer Röhrchen überführt und für die Messung im Kapillarsurfactometer (siehe unten) weiterverwendet.

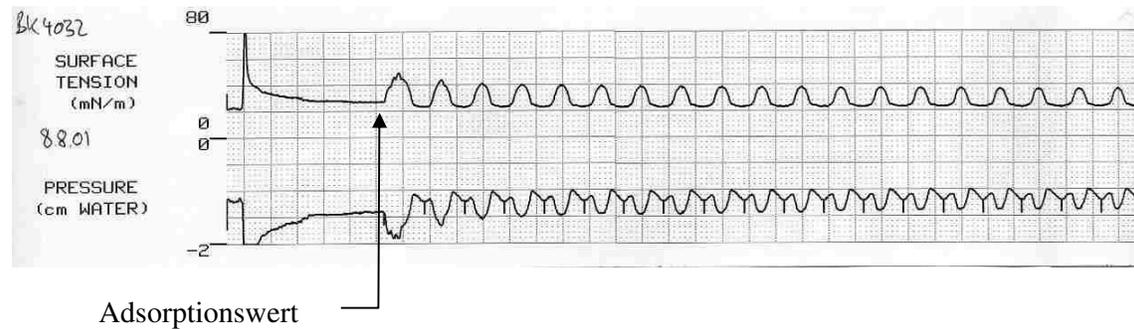


Abbildung 8: Messung der Oberflächenspannung einer Probe (Ausschnitt); Adsorption: 27,9 mN/m, minimale Oberflächenspannung: 22 mN/m (nicht abgebildet).

## 10. Das Kapillarsurfactometer: % Offen und initialer Druck

### a. Material

- Kapillarsurfactometer (Calmia Medical, Inc.)
- Glaskapillaren (Calmia Medical, Inc. No. CSGC – 500)
- Pipette 0,5  $\mu$ l (Calmia Medical, Inc.)
- Pipettenspitzen (Calmia Medical, Inc.)

### b. Funktionsweise

Der Flüssigkeitsfilm der die kleinen Atemwege auskleidet würde sie ohne funktionsfähiges Surfactant aufgrund der Oberflächenspannung verschließen: Zum einen durch das Kollabieren der flexiblen Atemwegswände, zum anderen durch die Formierung von Flüssigkeitssäulen welche die Lumina der Atemwege verschließen. Diese Mechanismen treten besonders bei kleinen Lungenvolumina (endexpiratorisch) in Kraft und führen u. a. zu einem erhöhten Atemwegswiderstand. Ein gut funktionierendes Surfactant reduziert die Oberflächenspannung, wirkt diesen Mechanismen entgegen und kann dadurch die kleinen Atemwege offen halten. Das Kapillarsurfactometer simuliert die Gegebenheiten der kleinen (peripheren) Bronchien und untersucht diese Eigenschaft des Surfactant. Durch die Verwendung starrer Kapillaren wurde der Verschluss durch die Flüssigkeitssäule isoliert betrachtet (Cassidy et al., 1999; Enhorning et al., 1996; Liu et al., 1991).

Die verwendeten Kapillaren wiesen in der Mitte eine Engstelle mit dem Innendurchmesser von 0,255 mm auf. Es wurden 0,5  $\mu$ l der Testflüssigkeit in die Engstelle der Kapillare pipettiert. Durch die Flüssigkeit wurde die Engstelle funktionell verschlossen (Abbildung 10

links). Die Kapillare wurde am Kapillarenhalter des Geräts aufgesteckt (Abbildung 9) und in das 37 °C warmes Wasserbad abgesenkt, wobei das freie Ende der Kapillare keinen Wasserkontakt hatte. Das Gerät erzeugte einen Luftstrom durch die Kapillare entgegen der Testflüssigkeit. Aufgrund des Verschlusses durch die Flüssigkeit wurde ein positiver Druck aufgebaut. Die Flüssigkeit wurde dadurch in den weitlumigen Teil der Kapillare vorgeschoben und dort an die Wand der Kapillare gedrückt (Abbildung 10 rechts), so dass dann die Luft ungehindert vorbeiströmen konnte. Der Druck fiel dadurch auf Werte um Null cm H<sub>2</sub>O ab.

Das Kapillarsurfactometer registrierte zwei Parameter. Zum einen den Druck, der zum erstmaligen Öffnen der Kapillare nötig war. Dieser Wert wurde als initialer Druck (Einheit cm H<sub>2</sub>O) bezeichnet. Der andere Parameter wird im englischen Schrifttum % Open genannt und wurde daher in dieser Arbeit als % Offen bezeichnet: das Verhältnis der Zeit während der die Kapillare offen war, zur gesamten Messdauer; multipliziert mit 100.

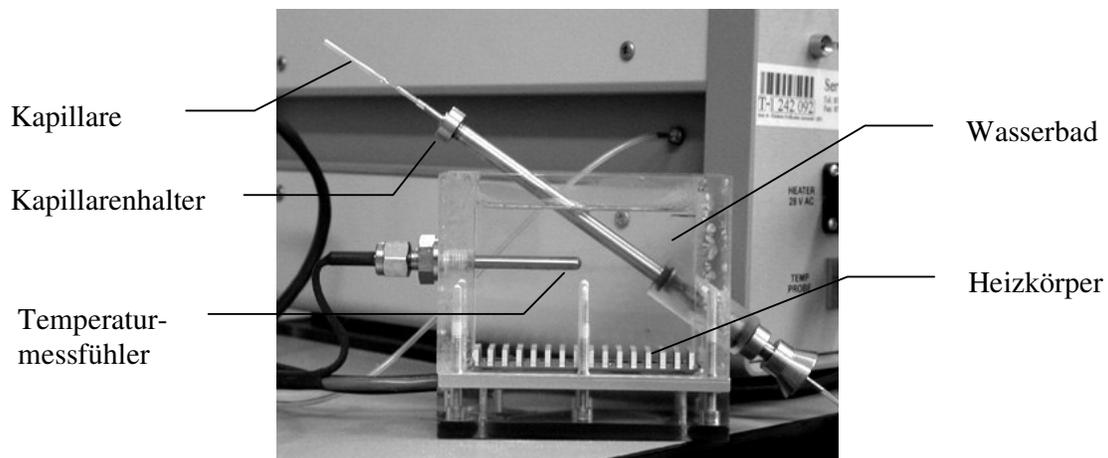


Abbildung 9: Probenbad des Kapillarsurfactometers.

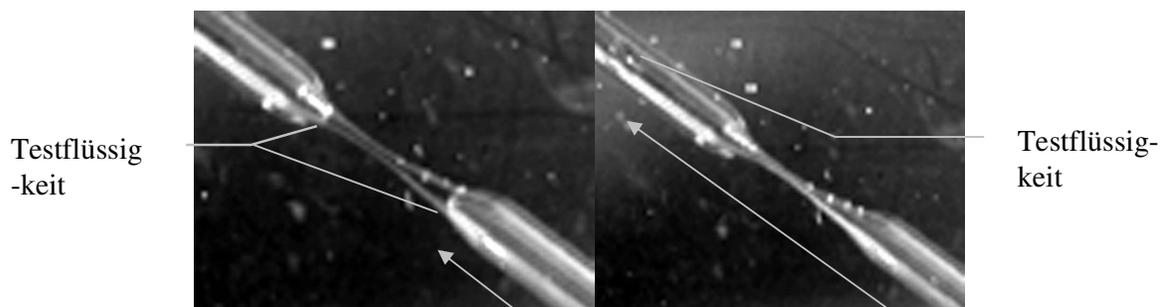


Abbildung 10: Die Engstelle der Kapillare während einer Messung. Links: Die Testflüssigkeit verschließt die Einengung; Rechts: Die Flüssigkeit wurde durch den Luftstrom (durch Pfeile dargestellt) in den breiteren Abschnitt verdrängt.

Bei der Untersuchung von reinem Surfactant blieb die Kapillare im Idealfall über die gesamte Messzeit von 120 Sekunden offen. Die Kapillare war somit 100 % Offen (Abbildung 12). Bestand die Testflüssigkeit hingegen aus einer Lösung ohne Oberflächenaktivität, dann blieb die Kapillare nicht offen: Die Flüssigkeit bewegte sich zurück in die Engstelle und verschloss sie wieder. Dies wiederholte sich bis zum Ende der Messung mehrfach. Daraus resultierte ein Wert von 0 % Offen (Abbildung 11).

Vor jedem Messtag wurde das Kapillarsurfactometer mit Hilfe des Kalibrierungsbades auf einen Druck von fünf cm H<sub>2</sub>O geeicht. Anschließend wurden zur Qualitätssicherung je drei Messungen mit Wasser und Standard- Surfactant durchgeführt.

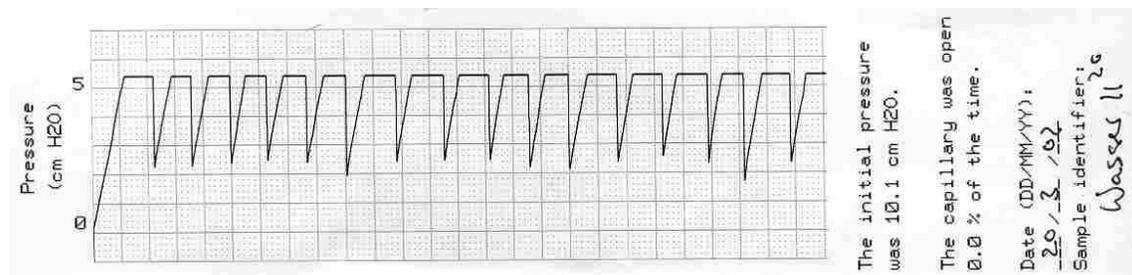


Abbildung 11: Beispiel einer Messung von Wasser mit dem Kapillarsurfactometer: Die Kapillare war hier 0,0 % der Messzeit offen, initialer Druck: 10,1 cm H<sub>2</sub>O.

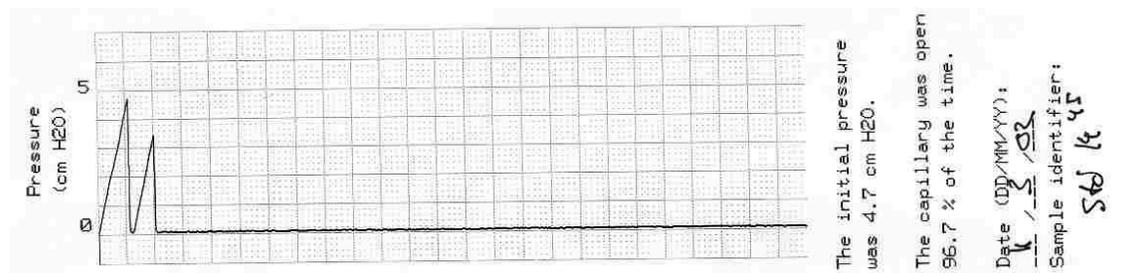


Abbildung 12 Beispiel einer Messung von Surfactant mit dem Kapillarsurfactometer: Die Kapillare war hier 96,7 % der Messzeit offen, initialer Druck: 4,7 cm H<sub>2</sub>O.

### c. Messung der Proben:

Die Proben wurden vor jeder Messung 30 Sekunden lang gevortext und anschließend 0,5 µl davon in die Engstelle der Kapillare pipettiert. Es wurden aufgrund der oftmals relativ hohen Standardabweichung bei jeder Probe mindestens drei Messungen (Abbildung 13) durchgeführt und aus diesen Werten das arithmetische Mittel gebildet.

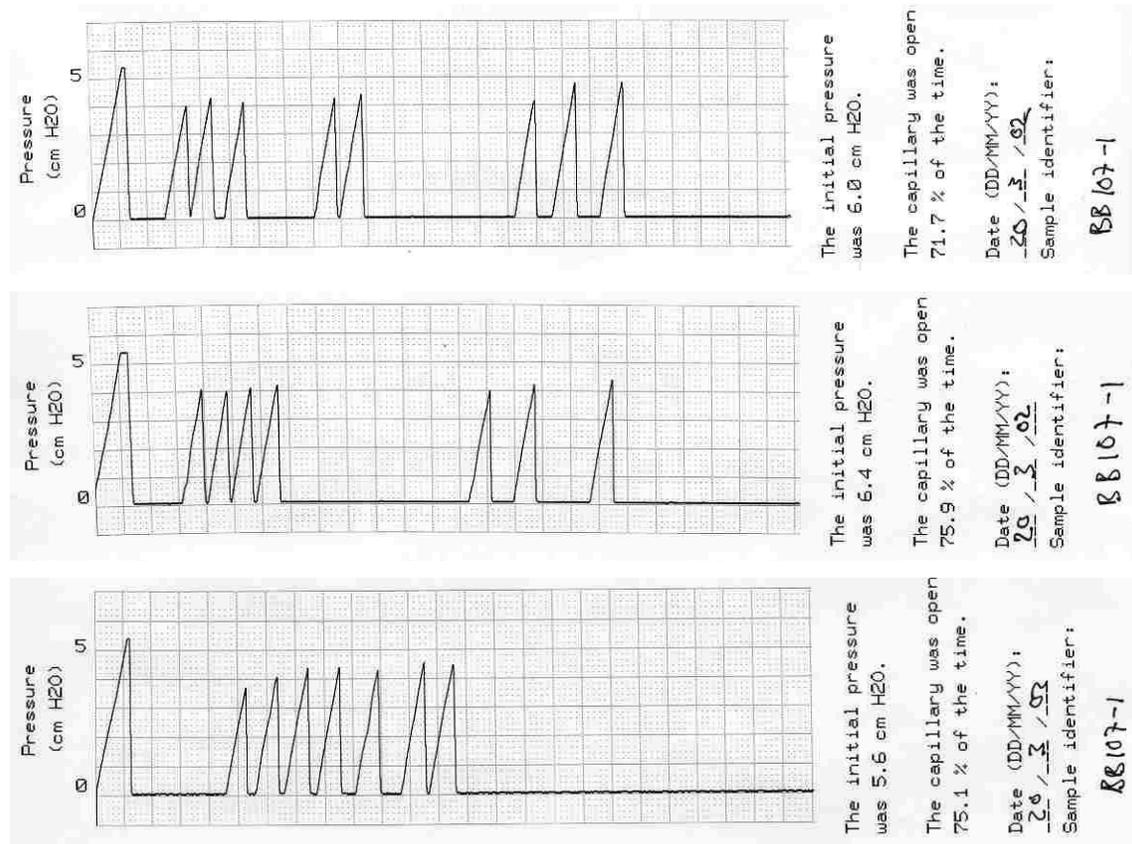


Abbildung 13: Messungen von BAL- Flüssigkeit eines CF Patienten mit dem Kapillarsurfactometer: Die Kapillare war im Mittel 74,2 % der Messzeit offen, Initialer Druck im Mittel: 6,0 cmH<sub>2</sub>O.

## 11. Filtration der Überstände

### a. Material

- Mikrosep- Mikrokonzentrator 1 kD (Filtron No.OD001C40)
- Zentrifuge (Beckmann Avanti J-30 I mit Rotor JLA – 16.250)

### b. Methode

Es wurde auch der Einfluss der im Überstand enthaltenen Proteine auf die Oberflächenaktivität des 40000 g Pellet untersucht werden. Die zum Lavagieren verwendete Kochsalzlösung befand sich ebenso wie die Proteine im Überstand. Da Salze wahrscheinlich die Oberflächenspannung von Surfactant herabsetzen können (bisher unveröffentlichte Daten der Forschungsgruppe Lunge, München), wurden die Überstände mit dem Mikrosep-Konzentrator weitgehend entsalzt. Die Membranen der verwendeten Konzentratoren

(Abbildung 14) waren für Moleküle mit einem Molekulargewicht von maximal 1 kD durchlässig. Entsprechend wurden Salze und andere niedermolekulare Substanzen filtriert und höhermolekulare Verbindungen (beispielsweise Proteine) von der Membran zurückgehalten. Damit war es möglich, den inhibitorischen Einfluss dieser Proteine auf die Surfactantaktivität isoliert zu betrachten.

Es wurde eine dem verwendeten Pelletvolumen äquivalente Menge an Überstand in den Vorlagebehälter (Abbildung 14) pipettiert. Bei 7500 g (6991 Umdrehungen pro Minute) und einer Temperatur von 4 °C wurde 9 Stunden lang zentrifugiert. Der Großteil der Flüssigkeit (durchschnittlich 87%) befand sich dann im Filtratbehälter (Abbildung 14, Tabelle 34). Um das Konzentrat (entsalzte SA- Fraktion) vollständig aus dem Vorlagegefäß zu gewinnen, wurde das mit dem Konzentratgefäß verschlossene Vorlagegefäß umgedreht und 2 Minuten lang bei 1600 Umdrehungen pro Minute und 4 °C rückzentrifugiert. Das Konzentrat wurde zu dem dazugehörigen 40000 g Pellet (LA- Fraktion) pipettiert.

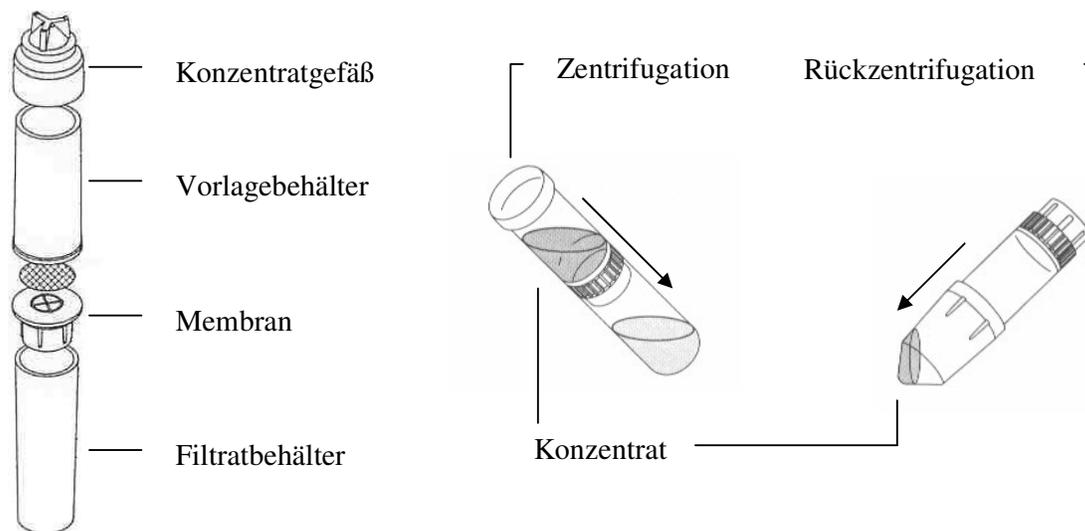


Abbildung 14: Mikrokonzentrat; Zentrifugation, Rückzentrifugation.

## 12. Statistik

Alle Lokalisationsmaße (Median, arithmetisches Mittel,) Streuungsmaße (Spannweite, Standardabweichung, ...) und statistische Tests wurden mit der Software Prism 3 der Firma GraphPad berechnet. Es wurden bevorzugt verteilungsfreie Maße wie Median und Spannweite angegeben, da nicht bei allen Parametern von einer Normalverteilung ausgegangen werden konnte. Bei manchen Abbildungen musste wegen Einschränkungen durch die Software auf parametrische Maße zurückgegriffen werden.

Bei Vergleichen von Lagemaßen verschiedener Gruppen wurde bei unabhängigen Gruppen der parameterfreie U- Test nach Mann- Whitney und bei abhängigen Stichproben der verteilungsfreie Wilcoxon- Test verwendet. Die Korrelationen wurden mit dem nicht parametrischen Spearman- Test auf Signifikanz geprüft. Die Nullhypothese wurde jeweils bei p- Werten  $< 0,05$  verworfen (Signifikanzniveau  $\alpha = 0,05$ ).

Mediane, Spannweiten und p- Werte wurden an den entsprechenden Stellen im Ergebnisteil wiedergegeben. Einzelwerte und weitere Lage- und Streuungsmaße sind im tabellarischen Anhang zu finden. Die Abbildungen wurden mit Hilfe der Software Prism 3 der Firma GraphPad und mit Excel von Microsoft erzeugt.

### III. Ergebnisse

#### A. Genauigkeit der biophysikalischen Messungen

Zur Qualitätssicherung wurden zu Beginn jedes Messtages im pulsierenden Blasensurfactometer je eine Messung mit destilliertem Wasser und Surfactant durchgeführt (siehe Methoden). Mit dem Kapillarsurfactometer wurden je drei bis vier Messungen mit Wasser und Surfactant durchgeführt. Aus den Einzelwerten wurden der Median und der Variationskoeffizient berechnet (Tabelle 5). In der grafischen Darstellung des % Offen und des initialen Drucks (Abbildung 19, 20) wurden das arithmetische Mittel und der Standardmessfehler der am jeweiligen Messtag gemessenen Einzelwerte verwendet (siehe Anhang).

Während des mehr als zweijährigen Zeitraumes waren die mit dem pulsierenden Blasensurfactometer Werte und die mit dem Kapillarsurfactometer gemessenen Werte adäquat und weitgehend stabil. Die wenigen Ausnahmen betrafen das Kapillarsurfactometer: Gegen Ende der Untersuchungen wurden hier für Wasser zu hohe Werte gemessen (Abbildung 19). Diese Werte standen mit Problemen bezüglich des Innendurchmessers der Kapillaren in Zusammenhang. Für die Messungen wurde eine andere Charge verwendet.

#### 1. Pulsierendes Blasensurfactometer

##### Wasser

	Adsorption	0,05 min	0,25 min	0,5 min	1,0 min	1,5 min	2,0 min	2,5 min	5,0 min
Anzahl	25	25	25	25	25	25	25	25	25
Minimum (mN/m)	68,4	68,1	66,9	68,9	68,2	68,2	58,3	67,4	66,5
Median (mN/m)	71,1	70,8	71,0	70,9	70,1	70,6	70,5	70,5	69,8
Maximum (mN/m)	76,5	75,2	74,1	73,0	72,3	73,8	71,9	72,8	71,5
Variationskoeffizient (%)	2,7	2,4	2,3	1,4	1,7	1,7	3,8	1,6	2,0

Tabelle 5: Oberflächenspannung von Wasser.

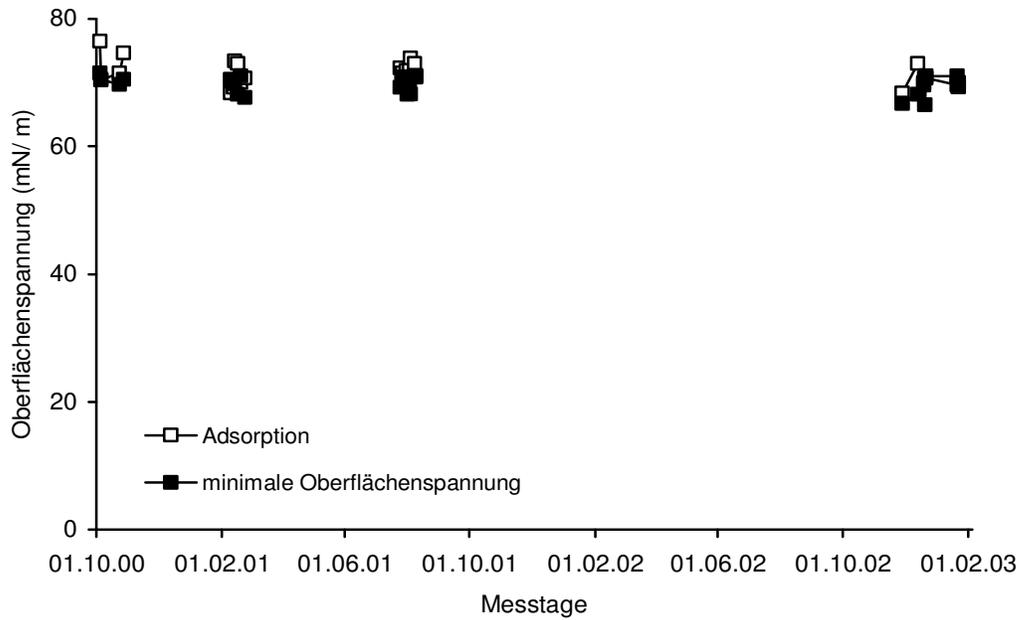


Abbildung 15: Adsorption und minimale Oberflächenspannung von Wasser an den jeweiligen Messtagen.

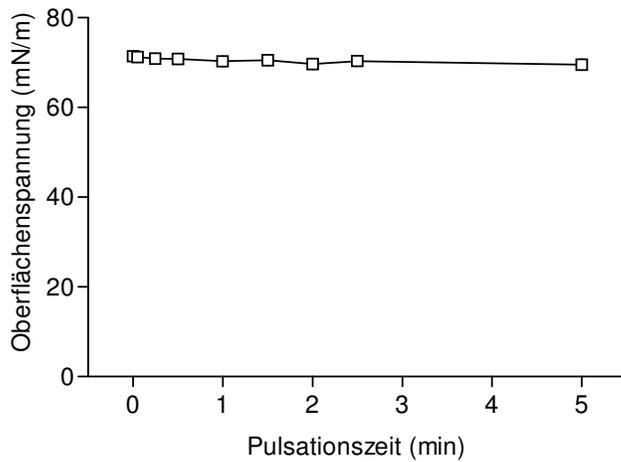


Abbildung 16: Oberflächenspannung von Wasser; arithmetisches Mittel, Standardmessfehler.

## Surfactant

	Adsorption	0,05 min	0,25 min	0,5 min	1,0 min	1,5 min	2,0 min	2,5 min	5,0 min
Anzahl	25	25	25	25	25	25	25	25	25
Minimum (mN/m)	21,4	2,3	0,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Median (mN/m)	23,3	23,3	4,3	3,6	2,3	1,5	1,1	0,8	0,8
Maximum (mN/m)	26,8	29,9	22,5	20,4	14,4	11,2	8,3	7,6	2,3
Variationskoeffizient (%)	4,8	20,2	94,6	105,7	106,7	115,8	113,7	122,4	82,9

Tabelle 6: Oberflächenspannung von Surfactant.

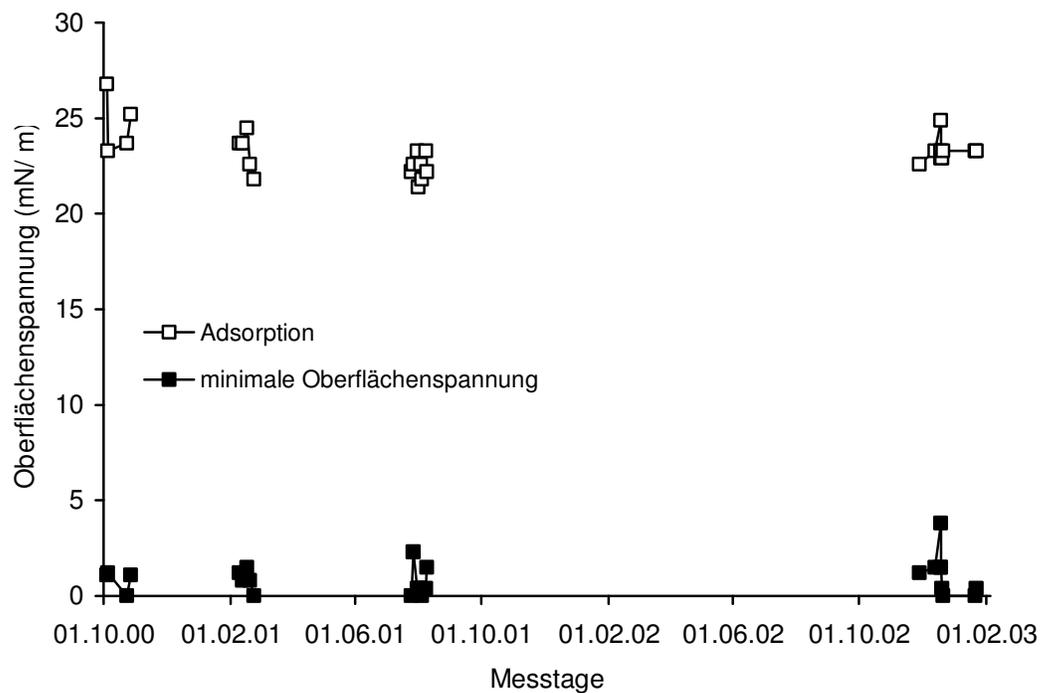


Abbildung 17: Adsorption und minimalen Oberflächenspannung von Surfactant an den jeweiligen Messtagen.

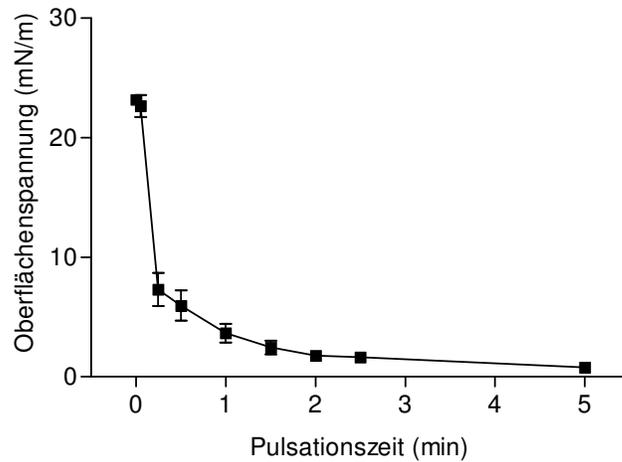


Abbildung 18: Oberflächenspannung von Surfactant; arithmetisches Mittel und Standardmessfehler.

## 2. Kapillarsurfactometer

	Wasser		Surfactant	
	% Offen	Initialer Druck (cm H <sub>2</sub> O)	% Offen	Initialer Druck (cm H <sub>2</sub> O)
Anzahl	25	25	25	25
Minimum (mN/m)	0,0	7,6	79,2	4,0
Median (mN/m)	0,4	9,4	93,0	4,8
Maximum (mN/m)	100,0	13,0	100,0	8,0
Variationskoeffizient (%)	240,2	13,1	5,2	18,3

Tabelle 7: % Offen und initialer Druck.

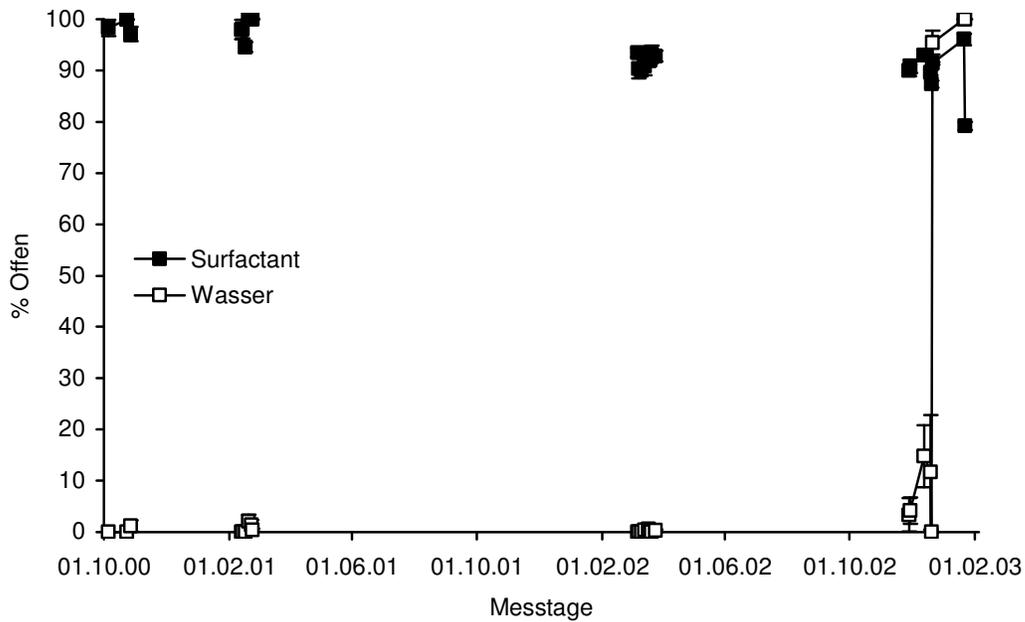


Abbildung 19: % Offen von Wasser und Surfactant an den jeweiligen Messtagen.

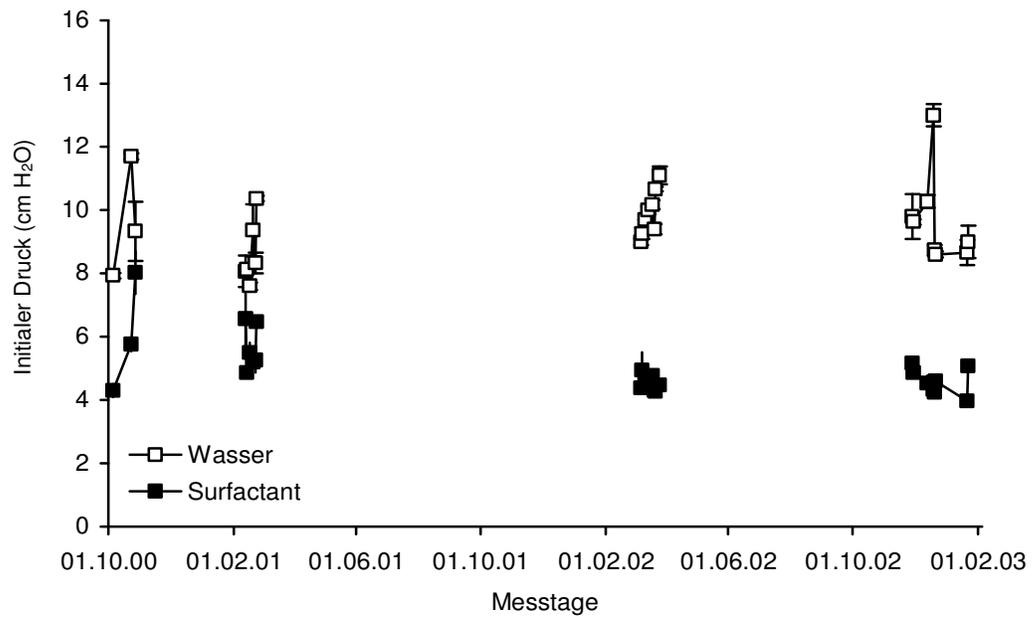


Abbildung 20: initialer Druck von Wasser und Surfactant an den jeweiligen Messtagen.

## B. Vergleich zwischen Patienten mit cystischer Fibrose und gesunden Kindern

Die bronchoalveolären Lavagen (BAL) der Patienten mit cystischer Fibrose wurden mit den Lavagen der lungengesunden Kontrollen bezüglich der Recovery der gepoolten Fraktionen, der Zellzahlen, der biochemischen und biophysikalischen Merkmale untersucht. Die Werte der Patienten mit cystischer Fibrose wurden mit den gesunden Kontrollen verglichen (Einzelwerte siehe Anhang).

### 1. Zellzahlen und biochemische Parameter

Die Patienten mit cystischer Fibrose waren signifikant älter als die gesunden Kontrollen. Hinsichtlich der Recovery der gepoolten Fraktionen unterschieden sich die beiden Gruppen nicht. Die Gruppe der CF Patienten hatte im Vergleich mit der Kontrollgruppe eine um ein vielfaches höhere Gesamtzellzahl. Die Granulozytenzahlen waren bei CF ebenfalls deutlich erhöht. (Abbildungen 23, 24).

Die Proteinkonzentration der nativen Lavage war bei den Patienten mit cystischer Fibrose verglichen mit den Kontrollen signifikant erhöht. Bei den CF Patienten war die Phospholipidkonzentration signifikant geringer als bei der Kontrollgruppe (Abbildung 25). Es lagen signifikante Unterschiede bezüglich der Konzentrationen der Surfactantproteine A und C vor. Die Konzentration von Surfactantprotein A war bei der Kontrollgruppe mehr als doppelt so hoch als bei den CF Patienten. Dagegen lag das Surfactantprotein C bei den Kontrollen in niedrigerer Konzentration vor. Die Unterschiede der Surfactantproteine B und D waren nicht signifikant (Abbildungen 26, 27).

	Kontrollen	Cystische Fibrose	p- Wert
Alter (Jahre)	4,5 (1,5 – 8,5), 10	11,0 (5,0 – 31,0), 81	< 0,0001 *
Recovery (%)	0,63 (0,40 - 0,86), 10	0,68 (0,0 - 0,99), 81	0,8342
Gesamtzellzahl (10 <sup>6</sup> /ml)	0,164 (0,072 – 0,330), 10	2,89 (0,010 – 159,0), 76	0,012 *
Neutrophile Granulozyten (%)	1,0 (0,6 – 8,0), 9	21,4 (0,3 – 91), 80	< 0,0001 *
Neutrophile Granulozyten (10 <sup>6</sup> /ml)	0,0017 (0,0 – 0,0092), 9	0,124 (0,0 – 132,0), 80	0,0005 *

Proteinkonzentration (µg/ml)	68,4 (38,0 – 153,9), 10	96,0 (23,9 – 511,5), 81	0,025 *
Phospholipidkonzentration (µg/ml)	87,0 (37,0 – 222,0), 10	37,8 (4,2 – 369,1), 79	0,0009 *
Surfactantprotein A (ng/ml)	8775 (2116 – 17733), 10	4141 (222,7 – 21811), 81	0,0296 *
Surfactantprotein B (ng/ml)	789,0 (253,1 – 1059), 10	567,3 (155,5 – 1434), 68	0,5752
Surfactantprotein C (ng/ml)	361,2 (203,0 – 963,9), 10	519,3 (37,0 – 1557), 68	0,0494 *
Surfactantprotein D (ng/ml)	7,4 (3,260 – 169,3), 10	5,4 (0,0 – 102,1), 81	0,0546

Tabelle 8: Vergleich von Patienten mit cystischer Fibrose mit Kontrollen; Median (Spannweite), Anzahl; \*statistisch signifikanter Mann-Whitney-Test.

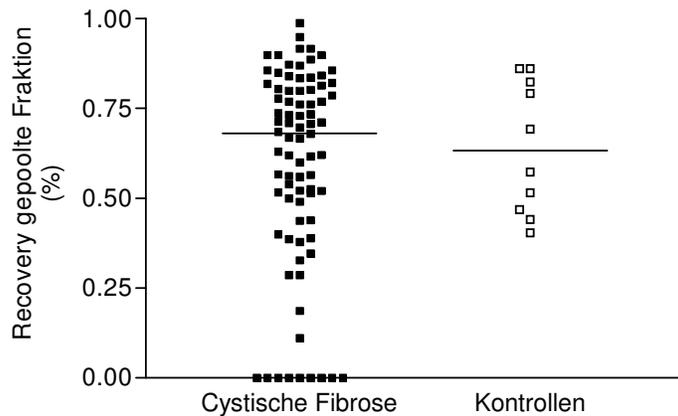


Abbildung 21: Recovery der gepoolten Fraktionen; Einzelwerte und Mediane von CF Patienten und gesunden Kontrollen.

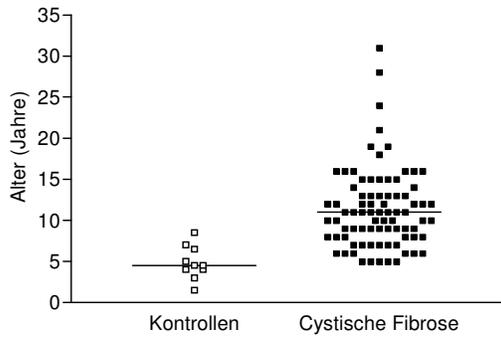


Abbildung 22: Alter; Einzelwerte und Mediane von Patienten mit cystischer Fibrose und gesunden Kontrollen.

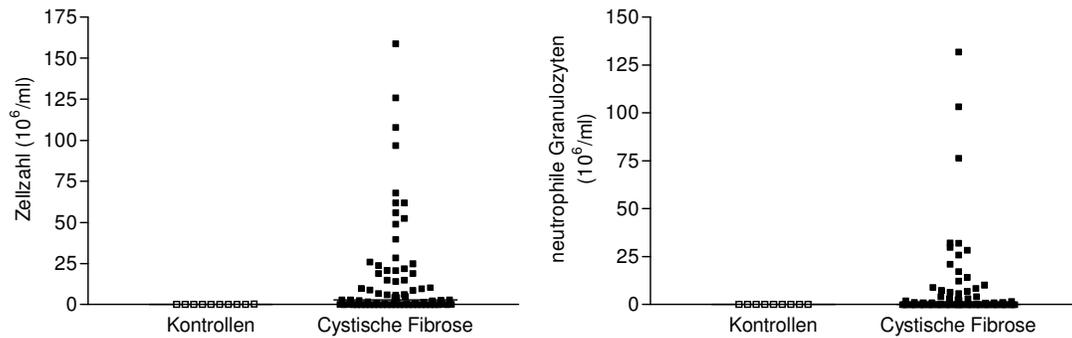


Abbildung 23: Zellzahl und absolute Granulozytenzahl; Einzelwerte und Mediane von Patienten mit cystischer Fibrose und Kontrollen.

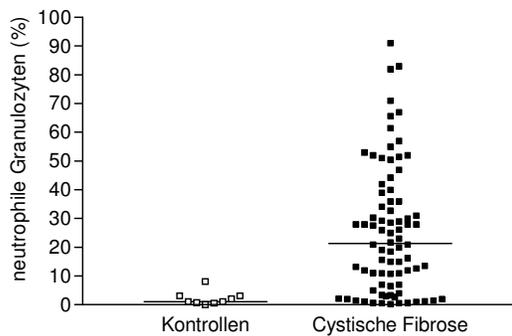


Abbildung 24: relative Granulozytenzahl; Einzelwerte und Mediane von Patienten mit cystischer Fibrose und Kontrollen.

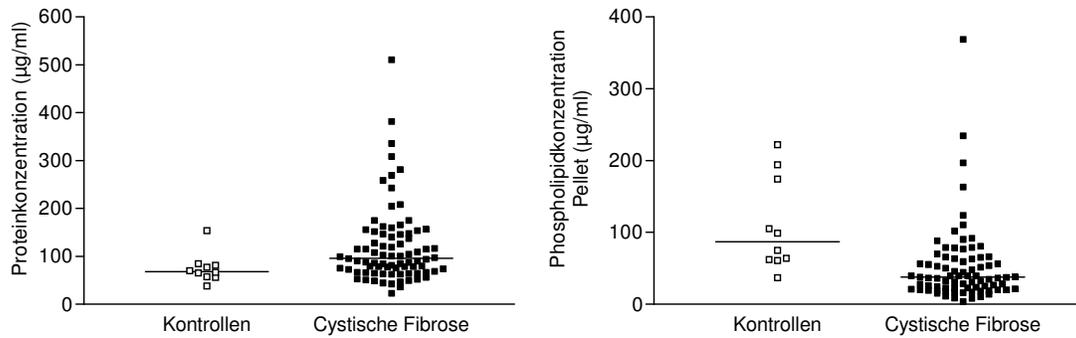


Abbildung 25: Proteinkonzentration der nativen Lavage, Phospholipidkonzentration; Einzelwerte und Mediane von Patienten mit cystischer Fibrose und Kontrollen.

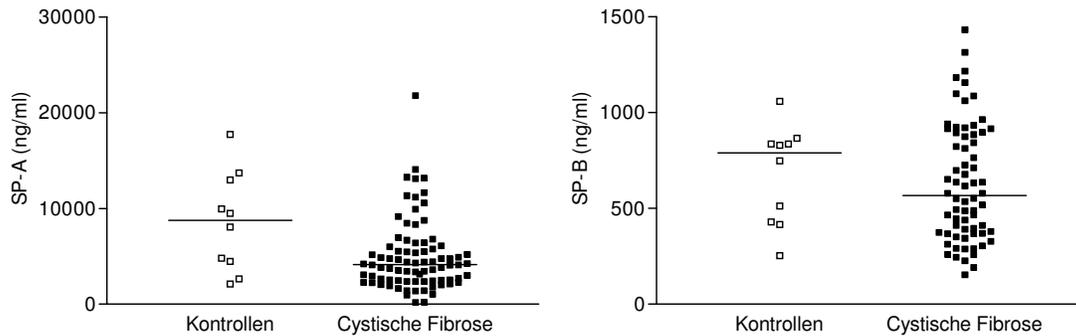


Abbildung 26: Konzentrationen der Surfactantproteine A und B; Einzelwerte und Mediane von Patienten mit cystischer Fibrose und Kontrollen.

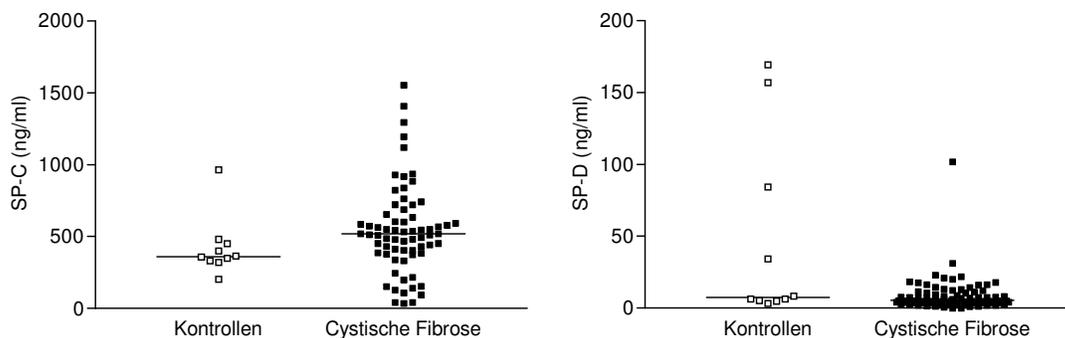


Abbildung 27: Konzentrationen der Surfactantproteine C und D; Einzelwerte und Mediane von Patienten mit cystischer Fibrose und Kontrollen.

## 2. Oberflächenspannung

Die mit dem pulsierenden Blasensurfactometer gemessenen Oberflächenspannungswerte des 40000 g Pellet waren bei den Kontrollen niedriger als bei den Patienten mit cystischer Fibrose. Dieser Unterschied war aber zu keinem Zeitpunkt der Messung am pulsierenden Blasensurfactometer statistisch signifikant (siehe Tabelle 9, Abbildung 28, 29).

Pulsationszeit (min)	Kontrollen (n= 10)	CF Patienten (n= 75)	p- Wert
0,00	35,8 (23,7 – 60,8)	45,1 (20,3 – 75,3)	0,179
0,05	35,2 (23,7 – 60,4)	45,1 (20,7 – 73,6)	0,190
0,25	23,7 (19,6 – 35,4)	22,9 (1,5 – 58,1)	0,677
0,50	22,9 (1,5 – 27,3)	22,1 (0,0 – 51,2)	0,897
1,00	22,1 (1,1 – 24,1)	21,0 (0,4 – 45,9)	0,738
1,50	20,4 (1,1 – 23,3)	20,7 (0,0 – 42,8)	0,437
2,00	19,2 (1,5 – 23,3)	20,7 (0,0 – 41,7)	0,394
2,50	17,8 (0,4 – 22,9)	20,3 (0,0 – 40,1)	0,210
5,00	12,0 (0,0 – 22,2)	19,9 (0,0 – 36,2)	0,069

Tabelle 9: Vergleich der Oberflächenspannungswerte in mN/m; Median (Spannweite); p-Wert des Mann-Whitney-Tests.

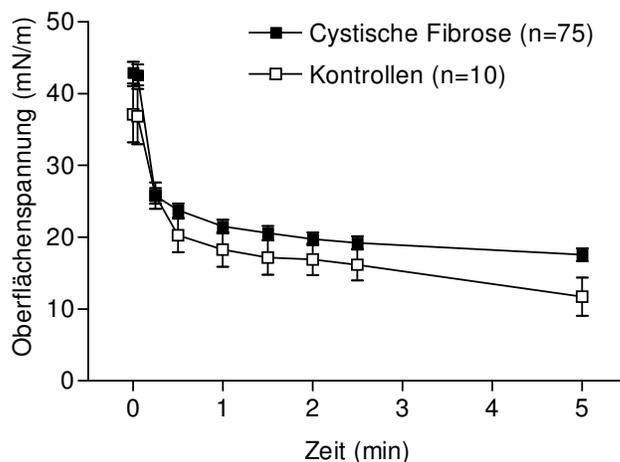


Abbildung 28: Oberflächenspannungswerte von gesunden Kontrollen und CF Patienten; arithmetisches Mittel und Standardmessfehler.

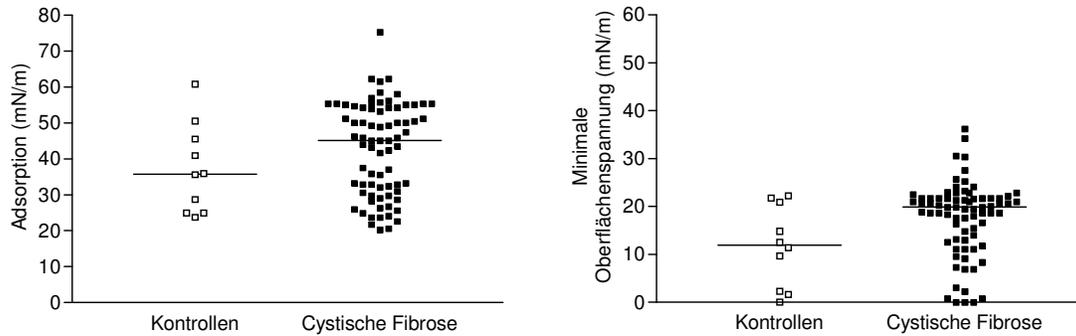


Abbildung 29: Adsorption und minimale Oberflächenspannung; Einzelwerte und Mediane von Patienten mit cystischer Fibrose und gesunden Kontrollen.

### 3. % Offen und initialer Druck

Die Werte des % Offen waren bei den Patienten mit CF deutlich und statistisch hochsignifikant niedriger als bei der Kontrollgruppe. Die initialen Drücke waren dementsprechend bei den CF Patienten höher als bei den Kontrollen. Dieser Abweichung war ebenfalls signifikant. (siehe Tabelle 10 und Abbildung 30).

	Kontrollen (n= 10)	CF Patienten (n= 79)	p- Wert
% Offen	96,9 (82,5 – 100,0)	7,8 (0,0 – 97,9)	< 0,0001 *
Initialer Druck (cm H <sub>2</sub> O)	6,4 (5,3 – 8,7)	7,8 (4,6 – 12,0)	0,029 *

Tabelle 10: % Offen und initialer Druck bei Kontrollen und Patienten mit cystischer Fibrose; Median (Spannweite); \*Signifikanter Mann- Whitney- Test.

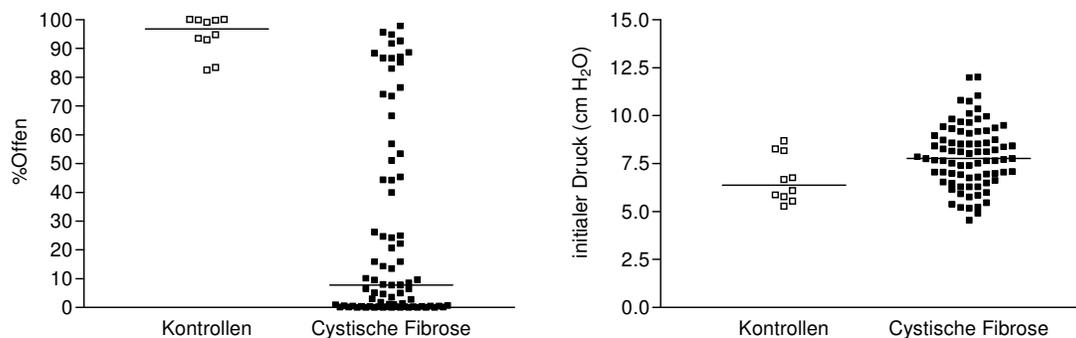


Abbildung 30: % Offen und initialer Druck; Einzelwerte und Mediane von Patienten mit cystischer Fibrose und Kontrollen.

## C. Vergleich verschiedener Gruppierungen

### 1. Geschlecht

Bezüglich aller hier untersuchten Parameter waren keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Geschlechtern nachweisbar.

### 2. Studiengruppen

Es stellte sich die Frage, ob sich die randomisierten Patienten von den Patienten die von der Randomisierung ausgeschlossen waren (relative Granulozytenzahl < 10% zum Zeitpunkt der ersten Lavage) bezüglich weiterer Merkmale unterschieden.

Die nicht randomisierten Patienten hatten erheblich niedrigere relative und absolute Zahlen neutrophiler Granulozyten in der BAL- Flüssigkeit (Abbildung 37). Die biophysikalischen Werte, die Werte der Lungenfunktion, der Body Mass Index, und das Alter beider Gruppen unterschieden sich nicht signifikant. Die Konzentration des Surfactantprotein A war bei den randomisierten Patienten signifikant höher als bei den nicht randomisierten Patienten (Abbildung 39). Die Werte der anderen Surfactantproteine unterschieden sich nur tendenziell, aber nicht statistisch signifikant. Sowohl die Proteinkonzentration als auch die Phospholipidkonzentration waren bei den randomisierten Patienten signifikant höher als bei den nicht randomisierten Patienten (Abbildung 41).

	Randomisiert	Nicht randomisiert	p- Wert
FVC (% Soll)	96,10 (70,13 - 120,70), 51	96,90 (77,99 - 126,30), 16	0,4667
FEV <sub>1</sub> (% Soll)	94,98 (51,97 - 121,10), 64	91,34 (83,64 - 119,20), 16	0,7867
MEF <sub>25</sub> (% Soll)	59,83 (5,60 - 154,60), 63	62,05 (17,75 - 93,98), 16	0,6299
MEF <sub>75/25</sub> (% Soll)	74,00 (18,83 - 169,30), 61	67,90 (47,73 - 128,20), 15	0,3594
Body Mass Index (kg/m <sup>2</sup> )	16,49 (12,93 - 27,25), 65	16,09 (14,61 - 33,60), 16	0,8263
Alter (Jahre)	11,0 (5,0 - 28,0), 65	11,0 (5,0 - 31,0), 16	0,8588

Adsorption (mN/m)	45,9 (20,3 - 62,3), 60	37,1 (24,1 - 75,3), 15	0,4040
Minimale Oberflächenspannung (mN/m)	20,0 (0,0 - 36,2), 60	15,5 (2,3 - 30,6), 15	0,3929
% Offen	4,1 (0,0 - 97,9), 64	16,0 (0,2 - 92,7), 15	0,0857
initialer Druck (cm H <sub>2</sub> O)	7,8 (4,6 - 12,0), 64	7,7 (5,4 - 12,0), 15	0,9253
Gesamtzellzahl (10 <sup>6</sup> /ml)	4,43 (0,01 - 159,0), 62	0,74 (0,02 - 15,15), 14	0,0759
Neutrophile Granulozyten (%)	28,00 (1,30 - 91,00), 65	1,50 (0,30 - 30,40), 15	<0,0001*
Neutrophile Granulozyten (10 <sup>6</sup> /ml)	0,575 (0,00 - 132,0), 64	0,0118 (0,00 - 4,32), 16	0,0003 *
SP-A (ng/ml)	4471,0 (222,7 - 21811), 65	3447,0 (1077,0 - 6460), 16	0,0444 *
SP-B (ng/ml)	609,5 (155,5 - 1434,0), 54	517,0 (227,5 - 918,5), 14	0,1518
SP-C (ng/ml)	513,8 (37,0 - 1557,0), 54	543,8 (340,0 - 1121,0), 14	0,5441
SP-D (ng/ml)	5,27 (0,0 - 31,35), 65	7,61 (2,05 - 102,1), 16	0,1821
Proteinkonzentration (µg/ml)	103,4 (36,9 - 511,5), 65	75,0 (23,9 - 152,3), 16	0,0030 *
Phospholipidkonzentration (µg/ml)	40,27 (8,83 - 369,1), 64	21,80 (4,20 - 44,79), 15	0,0026 *

Tabelle 11: Vergleich von randomisierten mit nicht randomisierten Patienten; Median (Spannweite), Anzahl; \*statistisch signifikanter Mann-Whitney-Test

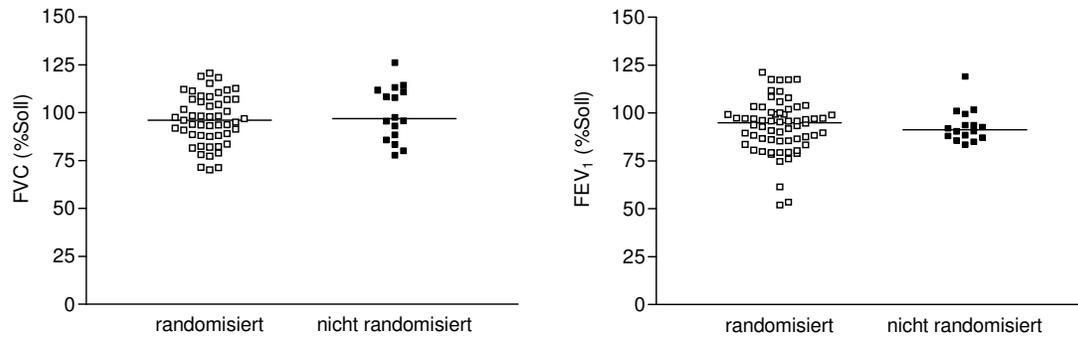


Abbildung 31: Einzelwerte der Vitalkapazität und der Einsekundenkapazität von randomisierten und nicht randomisierten Patienten.

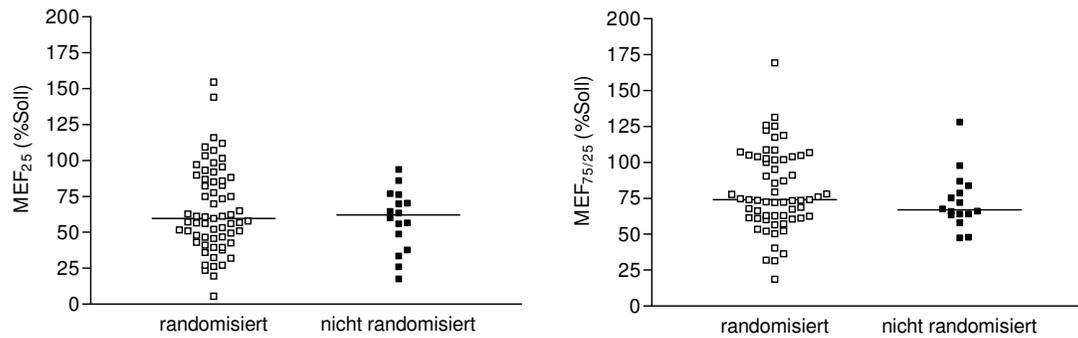


Abbildung 32: Einzelwerte des MEF<sub>25</sub> und des MEF<sub>75/25</sub> von randomisierten und nicht randomisierten Patienten.

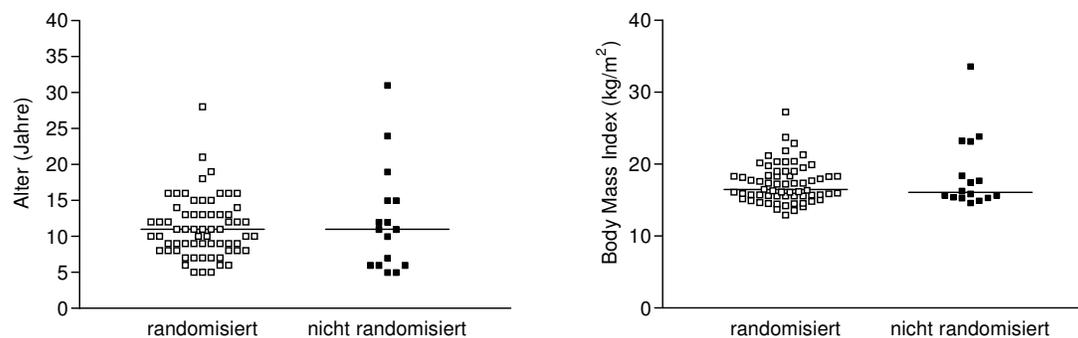


Abbildung 33: Einzelwerte des Alters und des Body Mass Index von randomisierten und nicht randomisierten Patienten.

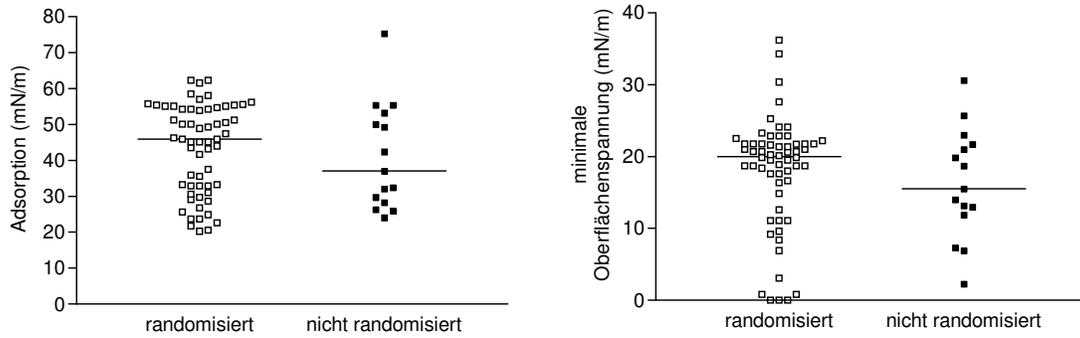


Abbildung 34: Einzelwerte der Adsorption und der minimalen Oberflächenspannung von randomisierten und nicht randomisierten Patienten.

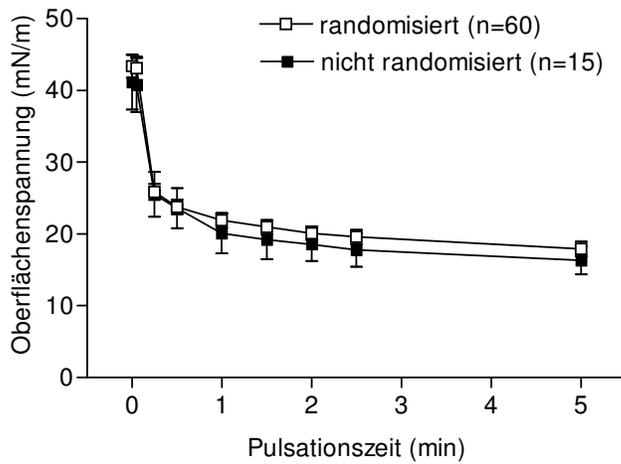


Abbildung 35: Vergleich der Oberflächenspannungen von randomisierten mit nicht randomisierten Patienten.

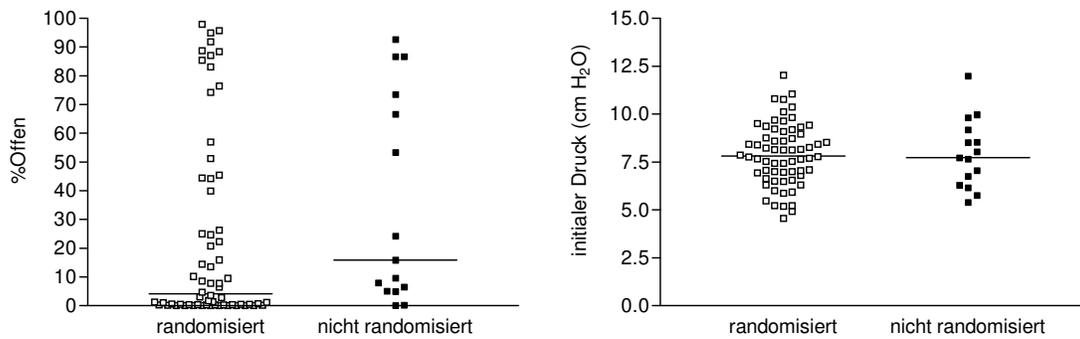


Abbildung 36: Einzelwerte des % Offen und des initialen Drucks von randomisierten und nicht randomisierten Patienten.

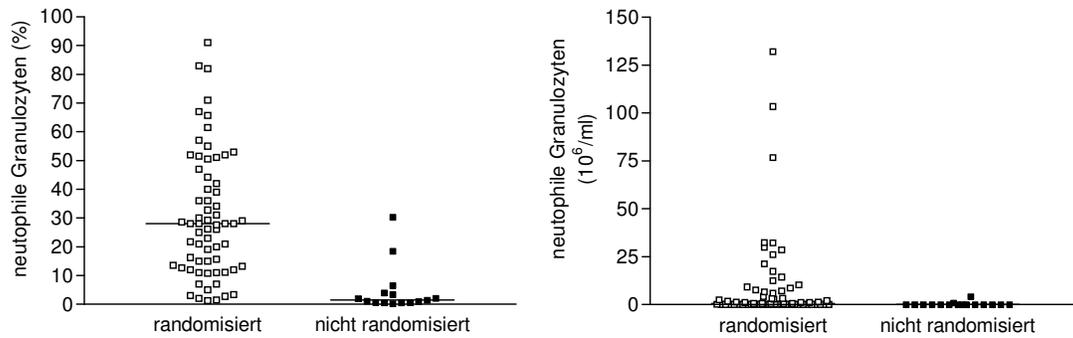


Abbildung 37: Einzelwerte der relativen und absoluten Granulozytenzahlen von randomisierten und nicht randomisierten Patienten. Die Unterschiede waren signifikant (Mann-Whitney-Test  $p < 0,05$ ).

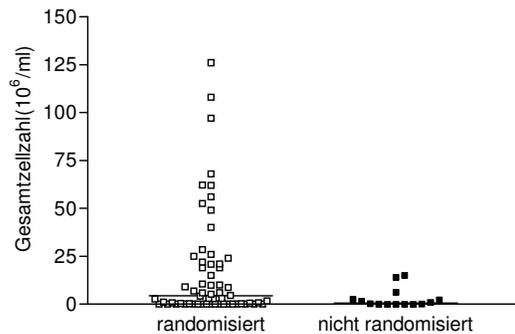


Abbildung 38: Einzelwerte der Gesamtzellzahlen von randomisierten und nicht randomisierten Patienten.

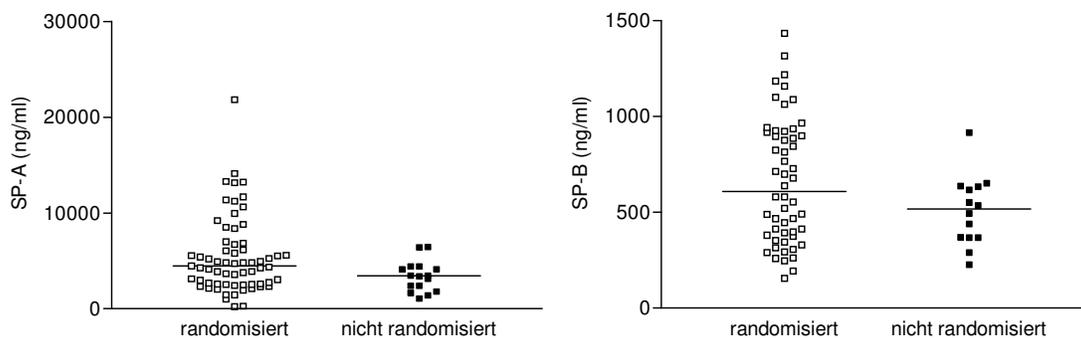


Abbildung 39: Einzelwerte der SP-A und SP-B Konzentrationen von randomisierten und nicht randomisierten Patienten. Der Unterschied bei der Konzentration des Surfactantprotein A war statistisch signifikant ( $p = 0,0444$ ).

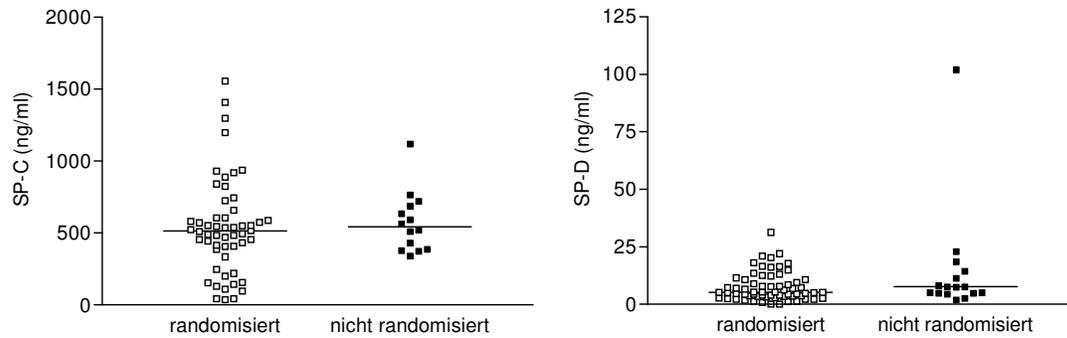


Abbildung 40: Einzelwerte der SP-C und SP-D Konzentrationen von randomisierten und nicht randomisierten Patienten.

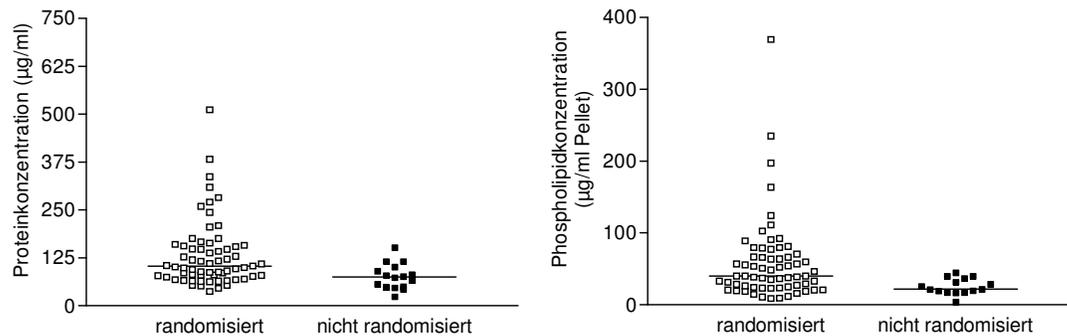


Abbildung 41: Einzelwerte der Proteinkonzentration und der Phospholipidkonzentration von randomisierten und nicht randomisierten Patienten. Die Unterschiede waren signifikant (Mann-Whitney-Test  $p < 0,05$ ).

### 3. Mikrobiologie

Es wurden die Patienten mit cystischer Fibrose bezüglich des mikrobiologischen Befundes der Lavage gruppiert. Dabei wurden zunächst die Patienten ohne Nachweis von Bakterien in der Lavage (negative Mikrobiologie) mit den Patienten verglichen, bei denen Bakterien oder Pilze in der Lavage nachgewiesen wurden (Tabelle 12, detaillierter mikrobiologischer Befund im Anhang).

#### a. Vergleich zwischen Proben mit positivem und negativem mikrobiologischen Befund

Die Einsekundenkapazität und der maximale expiratorische Fluss bei 25 % der Vitalkapazität waren bei den Patienten mit positivem mikrobiologischem Befund signifikant niedriger als bei steriler Lavage. Bei den anderen Lungenfunktionsparametern waren keine signifikanten Unterschiede nachweisbar. Der Body Mass Index und das Alter der Patienten beider Gruppen waren nicht signifikant verschieden.

Von den im pulsierenden Blasensurfactometer gemessenen Oberflächenspannungen waren die Werte der Adsorption und der ersten bis zehnten Pulsation bei den Patienten mit positiver Mikrobiologie gegenüber den Patienten mit negativem Befund erhöht. Diese Unterschiede waren jedoch nicht signifikant. Von der 20. bis zur 40. Pulsation waren die Unterschiede signifikant. Die Werte der 50. Pulsation und minimale Oberflächenspannung der Patienten mit positivem Befund waren ebenfalls erhöht, aber nicht statistisch signifikant. Das % Offen war bei Patienten mit positiver Mikrobiologie signifikant niedriger als bei Patienten mit steriler Lavage. Die initialen Drücke unterschieden sich nicht.

Die betrachteten Zellparameter waren bei den Patienten mit positivem mikrobiologischen Befund um ein vielfaches höher als bei den Patienten ohne Nachweis von Keimen. Diese Unterschiede waren auch statistisch signifikant.

Bei den Surfactantproteinen waren signifikante Unterschiede bei den Konzentrationen der Proteine B und D festzustellen. Bei positiver Mikrobiologie war die Konzentration von SP-B erhöht, die von SP-D verringert (Der Unterschied bei der Konzentration des Surfactantprotein D war auch nach Ausschluss eines Ausreißerwerts (102 ng/ml) signifikant). Sowohl die Gesamtproteinkonzentration, als auch die Phospholipidkonzentration waren bei den Patienten mit nachgewiesenem Keimbefall signifikant höher als bei steriler Lavage. Die Unterschiede bei den übrigen biochemischen Parametern waren nicht signifikant (Tabelle 12, Abbildungen 42 - 60).

	Keine bakterielle Besiedelung	Bakterielle Besiedelung	p- Wert
FVC (% Soll)	97,84 (70,13 - 120,70), 17	96,03 (71,34 - 126,30), 50	0,7241
FEV <sub>1</sub> (% Soll)	96,63 (85,22 - 117,50), 18	91,90 (51,97 - 121,10), 62	0,0345 *
MEF <sub>25</sub> (% Soll)	79,98 (17,75 - 154,60), 18	56,76 (5,60 - 144,10), 61	0,0191 *
MEF <sub>75/25</sub> (% Soll)	80,54 (48,09 - 128,20), 16	72,99 (18,83 - 169,30), 60	0,1852
Body Mass Index (kg/m <sup>2</sup> )	17,47 (14,49 - 23,27), 19	16,22 (12,93 - 33,60), 62	0,6278
Alter (Jahre)	11,00 (5,0 - 16,0), 19	11,0 (5,0 - 31,0), 62	0,5178
Adsorption (mN/m)	41,3 (20,6 - 58,5), 18	45,9 (20,3 - 75,3), 57	0,5515
Pulsation 1 (mN/m)	41,1 (20,7 - 58,1), 18	45,9 (20,7 - 73,6), 57	0,5351
Pulsation 5 (mN/m)	21,8 (4,7 - 40,9), 18	23,7 (1,5 - 58,1), 57	0,0952
Pulsation 10 (mN/m)	21,2 (6,4 - 35,9), 18	22,6 (0,0 - 51,2), 57	0,2102
Pulsation 20 (mN/m)	20,1 (3,7 - 29,1), 18	22,0 (0,4 - 45,9), 57	0,0286 *
Pulsation 30 (mN/m)	19,8 (4,3 - 24,5), 18	21,7 (0,0 - 42,8), 57	0,0426 *
Pulsation 40 (mN/m)	19,0 (4,8 - 22,2), 18	21,0 (0,0 - 41,7), 57	0,0465 *
Pulsation 50 (mN/m)	18,9 (3,3 - 21,8), 18	21,0 (0,0 - 40,1), 57	0,0515
Minimale Oberflächenspannung (mN/m)	17,6 (6,9 - 21,8), 18	20,6 (0,0 - 36,2), 57	0,0500

% Offen	22,3 (0,1 - 94,9), 19	4,1 (0,0 - 97,9), 60	0,0454 *
initialer Druck (cm H <sub>2</sub> O)	8,0 (5,2 - 10,1), 19	7,8 (4,6 - 12,0), 60	0,7875
Gesamtzellzahl (10 <sup>6</sup> /ml)	0,14 (0,02 - 68,00), 17	6,00 (0,01 - 159,00), 59	0,0004 *
Neutrophile Granulozyten (%)	3,5 (0,30 - 52,00), 19	28,00 (0,70 - 91,00), 61	0,0011 *
Neutrophile Granulozyten (10 <sup>6</sup> /ml)	0,015 (0,00 - 14,28), 18	0,81 (0,00 - 132,00), 62	0,0004 *
SP-A (ng/ml)	4124,0 (222,7 - 1204,0), 19	4292,0 (266,7 - 21811), 62	0,1339
SP-B (ng/ml)	392,5 (262,3 - 635,0), 15	679,5 (155,5 - 1434,0), 53	0,0057 *
SP-C (ng/ml)	494,5 (109,0 - 888,0), 15	535,4 (37,0 - 1557,0), 53	0,4331
SP-D (ng/ml)	7,8 (1,4 - 102,1), 19	5,0 (0,0 - 31,4), 62	0,0174 *
Proteinkonzentration (µg/ml)	79,0 (36,9 - 282,1), 19	104,4 (23,9 - 511,5), 62	0,0274 *
Phospholipidkonzentration (µg/ml)	26,7 (10,8 - 111,1), 19	40,2 (4,2 - 369,1), 60	0,0289 *

Tabelle 12: Vergleich von Patienten mit positiver und negativer Mikrobiologie; Median (Spannweite), Anzahl; \*statistisch signifikanter Mann-Whitney-Test.

#### b. Vergleich von Staphylococcus aureus und Pseudomonas aeruginosa mit anderen Bakterien

Ferner stellte sich die Frage, ob es innerhalb der Gruppe der Patienten mit positivem mikrobiologischen Befund Unterschiede gab. Dazu wurden die Patienten, bei denen Staphylococcus aureus (34 Patienten) oder Pseudomonas aeruginosa (20 Patienten) nachgewiesen wurden mit den Patienten verglichen, bei denen ausschließlich andere Keime (10 Patienten) gefunden wurden. Von den 52 Patienten mit Pseudomonas aeruginosa und Staphylococcus aureus waren zwei Patienten mit beiden Bakterien infiziert, 24 Patienten

hatten Koinfektionen mit anderen Keimen. Bei dreizehn dieser 24 Patienten wurde Haemophilus influenzae nachgewiesen.

Die Unterschiede zwischen den mit Pseudomonas oder Staphylokokken infizierten und den mit anderen Keimen infizierten Patienten waren bei keinem der überprüften Parameter statistisch signifikant (Tabelle 13, Abbildungen 42 - 60).

	Staphylococcus aureus und Pseudomonas aer.	Andere Keime	p- Wert
FVC (% Soll)	96,03 (71,34 - 119,00), 44	104,00 (77,35 - 126,30), 6	0,3785
FEV <sub>1</sub> (% Soll)	90,71 (51,97 - 121,10), 52	94,78 (61,43 - 119,20), 10	0,4160
MEF <sub>25</sub> (% Soll)	56,76 (5,60 - 144,10), 51	54,31 (19,66 - 98,36), 10	0,9147
MEF <sub>75/25</sub> (% Soll)	72,54 (18,83 - 169,30), 51	78,84 (31,57 - 125,20), 9	0,6193
Body Mass Index (kg/m <sup>2</sup> )	16,33 (12,93 - 27,25), 52	15,90 (14,52 - 33,60), 10	0,8557
Alter (Jahre)	11,0 (5,0 - 31,0), 52	9,0 (5,0 - 19,0), 10	0,5854
Adsorption (mN/m)	45,1 (20,3 - 75,3), 48	46,3 (26,0- 62,3), 9	0,6071
Pulsation 1 (mN/m)	44,9 (20,7 - 73,6), 48	46,3 (25,6 - 62,3), 9	0,6071
Pulsation 5 (mN/m)	23,6 (1,5 - 58,1), 48	25,3 (19,9 - 48,2), 9	0,2787
Pulsation 10 (mN/m)	22,4 (0,0 - 51,2), 48	23,8 (20,3 - 45,1), 9	0,2163
Pulsation 20 (mN/m)	21,7 (0,4 - 45,9), 48	22,9 (19,5 - 44,0), 9	0,2644
Pulsation 30 (mN/m)	21,6 (0,0 - 42,8), 48	22,0 (19,9 - 41,7), 9	0,2552

Pulsation 40 (mN/m)	21,2 (0,0 - 41,7), 48	20,7 (19,5 - 41,7), 9	0,3247
Pulsation 50 (mN/m)	20,9 (0,0 - 40,1), 48	21,0 (19,5 - 39,8), 9	0,3194
Minimale Oberflächenspannung (mN/m)	20,2 (0,0 - 36,2), 48	20,7 (18,7 - 34,3), 9	0,2506
% Offen	2,9 (0,0 - 95,7), 51	5,1 (0,0 - 97,9), 9	0,6193
initialer Druck (cm H <sub>2</sub> O)	7,7 (4,6 - 12,0), 51	8,3 (6,5 - 10,0), 9	0,8930
Gesamtzellzahl (10 <sup>6</sup> /ml)	6,00 (0,01 - 159,00), 49	4,53 (0,32 - 52,50), 10	0,9115
Neutrophile Granulozyten (%)	28,00 (1,30 - 91,00), 51	13,85 (0,70 - 61,50), 10	0,1919
Neutrophile Granulozyten (10 <sup>6</sup> /ml)	1,02 (0,00 - 132,00), 52	0,22 (0,019 - 29,93), 10	0,8109
SP-A (ng/ml)	4744,0 (266,7 - 21811), 52	3257,0 (2086,0 - 8496,0), 10	0,1459
SP-B (ng/ml)	712,5 (193,1 - 1434,0), 45	411,0 (155,5 - 942,5), 8	0,0607
SP-C (ng/ml)	545,2 (37,0 - 1557,0), 45	430,5 (43,5 - 930,0), 8	0,2142
SP-D (ng/ml)	4,9 (0,0 - 31,4), 52	5,1 (1,2 - 14,8), 10	0,9162
Proteinkonzentration (µg/ml)	109,4 (23,9 - 511,5), 52	78,8 (47,1 - 382,4), 10	0,3059
Phospholipidkonzentration (µg/ml)	40,3 (4,2 - 369,1), 51	36,9 (11,8 - 163,5), 9	0,9505

Tabelle 13: Vergleich von Patienten mit Staphylococcus aureus bzw. Pseudomonas aeruginosa mit anderen Keimen; Median (Spannweite), Anzahl; \*statistisch signifikanter Mann-Whitney-Test.

## c. Vergleich von Staphylococcus aureus mit Pseudomonas aeruginosa

Es stellte sich die Frage, ob sich die Werte der Patienten mit nachgewiesenem Staphylococcus aureus von den Patienten mit Pseudomonas aeruginosa- Besiedlung unterschieden. Es waren keine signifikanten Unterschiede festzustellen (Tabelle 14, Abbildungen 42 - 60).

	Staphylococcus aureus	Pseudomonas aeruginosa	p- Wert
FVC (% Soll)	95,96 (71,34 - 119,00), 27	95,96 (71,59 - 111,00), 19	0,4091
FEV <sub>1</sub> (% Soll)	89,99 (51,97 - 121,10), 34	91,32 (53,39 - 108,00), 20	0,8931
MEF <sub>25</sub> (% Soll)	56,03 (23,66 - 115,90), 33	58,84 (5,60 - 144,10), 20	0,9196
MEF <sub>75/25</sub> (% Soll)	72,38 (32,06 - 131,40), 33	72,46 (18,83 - 169,30), 20	0,8257
Body Mass Index (kg/m <sup>2</sup> )	16,78 (12,93 - 23,70), 34	16,22 (13,55 - 27,25), 20	0,9929
Alter (Jahre)	11,0 (5,0 - 28,0), 34	11,0 (5,0 - 31,0), 20	0,7268
Adsorption (mN/m)	47,6 (21,8 - 62,3), 32	36,4 (20,3 - 75,3), 18	0,1890
Pulsation 1 (mN/m)	49,8 (22,2 - 62,3), 30	39,0 (20,7 - 73,6), 16	0,2350
Pulsation 5 (mN/m)	23,4 (1,5 - 50,6), 30	24,5 (14,5 - 58,1), 16	0,9357
Pulsation 10 (mN/m)	22,6 (0,0 - 47,4), 30	21,1 (13,4 - 51,2), 16	0,9173
Pulsation 20 (mN/m)	21,9 (0,4 - 44,4), 30	20,5 (9,2 - 45,9), 16	0,8808
Pulsation 30 (mN/m)	21,7 (0,0 - 42,8), 30	19,9 (5,7 - 42,1), 16	0,9908
Pulsation 40 (mN/m)	21,3 (0,0 - 41,7), 30	19,5 (0,0 - 39,4), 16	0,9724

Pulsation 50 (mN/m)	21,0 (0,0 - 40,1), 30	19,7 (1,1 - 37,9), 16	0,9724
Minimale Oberflächenspannung (mN/m)	20,5 (0,0 - 36,2), 32	18,6 (0,0 - 30,6), 18	0,9516
% Offen	1,1 (0,0 - 91,9), 34	13,5 (0,0 - 95,7), 19	0,1260
initialer Druck (cm H <sub>2</sub> O)	7,8 (5,2 - 12,0), 34	7,5 (4,6 - 11,1), 19	0,2280
Gesamtzellzahl (10 <sup>6</sup> /ml)	9,95 (0,01 - 159,00), 32	0,75 (0,04 - 97,00), 19	0,0575
Neutrophile Granulozyten (%)	28,00 (1,30 - 91,00), 34	27,60 (1,50 - 67,00), 19	0,6697
Neutrophile Granulozyten (10 <sup>6</sup> /ml)	2,25 (0,00 - 132,00), 34	0,10 (0,00 - 21,15), 20	0,0691
SP-A (ng/ml)	4990,0 (995,1 - 21811), 34	3896,0 (266,7 - 14119), 20	0,3290
SP-B (ng/ml)	727,5 (193,1 - 1434,0), 31	580,0 (259,5 - 965,4), 15	0,1895
SP-C (ng/ml)	552,0 (37,0 - 1557,0), 31	483,9 (44,0 - 1121,0), 15	0,1138
SP-D (ng/ml)	4,9 (0,0 - 31,4), 34	5,0 (0,0 - 20,3), 20	0,8719
Proteinkonzentration (µg/ml)	116,6 (23,9 - 336,5), 34	102,6 (23,9 - 511,5), 20	0,5726
Phospholipidkonzentration (µg/ml)	47,5 (8,8 - 234,9), 34	35,3 (4,2 - 369,1), 19	0,4868

Tabelle 14: Vergleich von Patienten mit Staphylococcus aureus mit Pseudomonas aeruginosa; Median (Spannweite), Anzahl; \*statistisch signifikanter Mann-Whitney-Test.

## d. Abbildungen

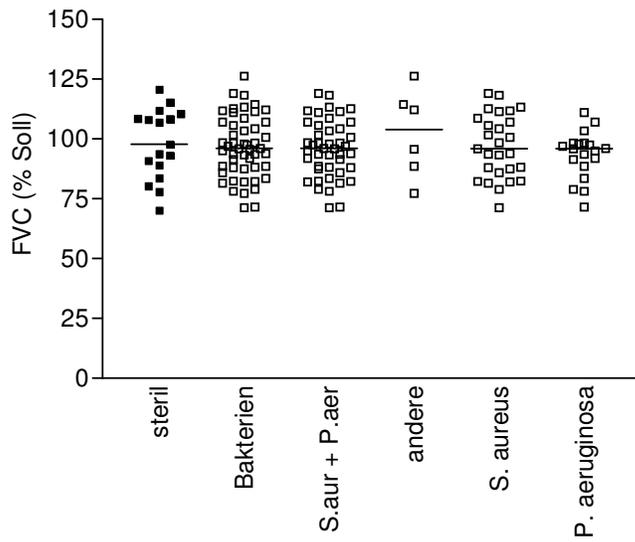


Abbildung 42: Einzelwerte der Vitalkapazität. Keine signifikanten Unterschiede.

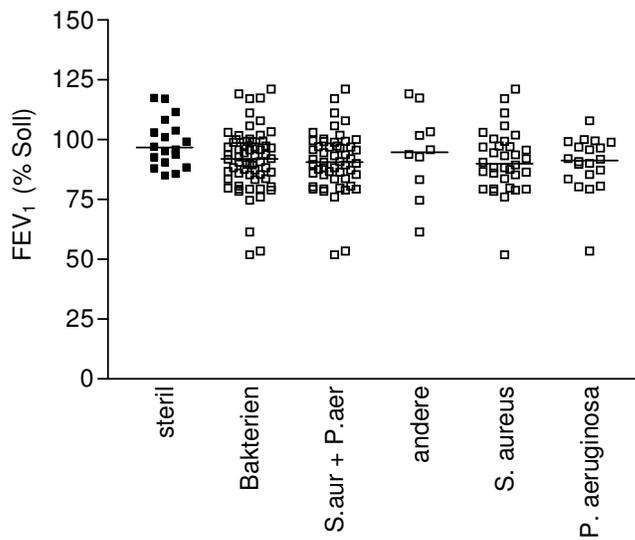


Abbildung 43: Einzelwerte der Einsekundenkapazität. Bei steriler Lavage signifikant höhere Werte als bei positiver Mikrobiologie (p= 0,0471).

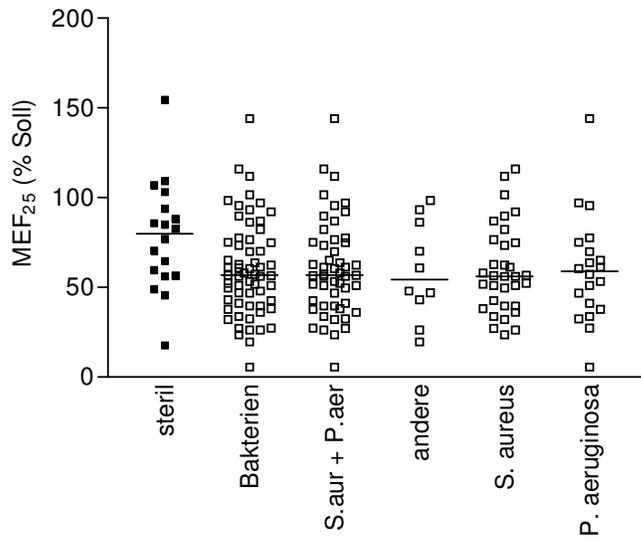


Abbildung 44: Einzelwerte des  $MEF_{25}$ . Bei steriler Lavage signifikant höhere Werte als bei positiver Mikrobiologie ( $p=0,0100$ ).

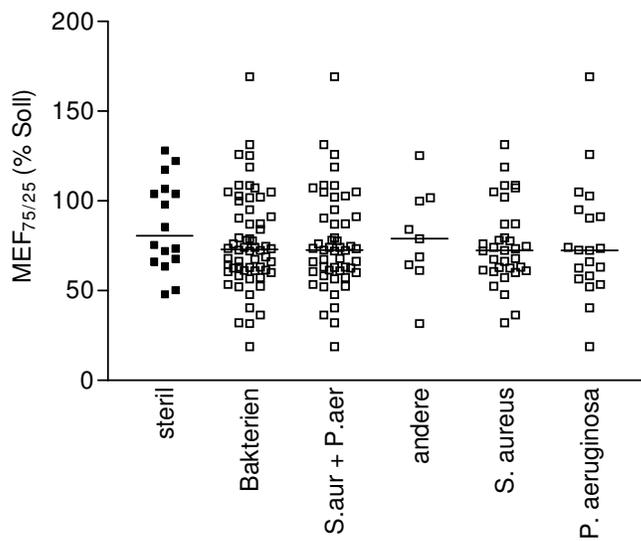


Abbildung 45: Einzelwerte des  $MEF_{75/25}$ . Keine signifikanten Unterschiede.

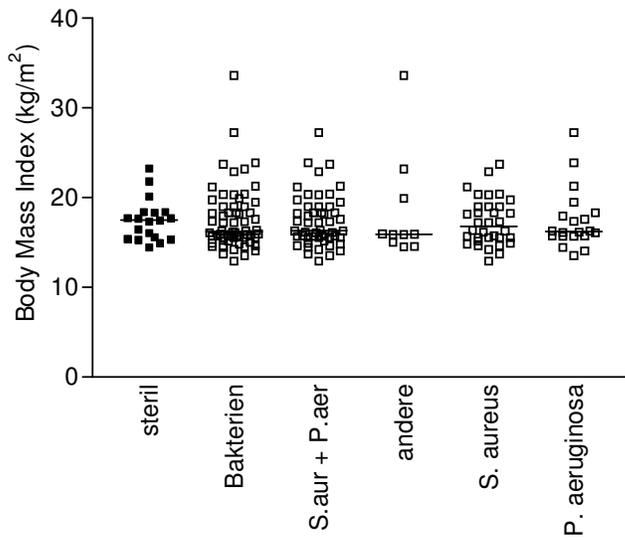


Abbildung 46: Einzelwerte des Body Mass Index. Keine signifikanten Unterschiede.

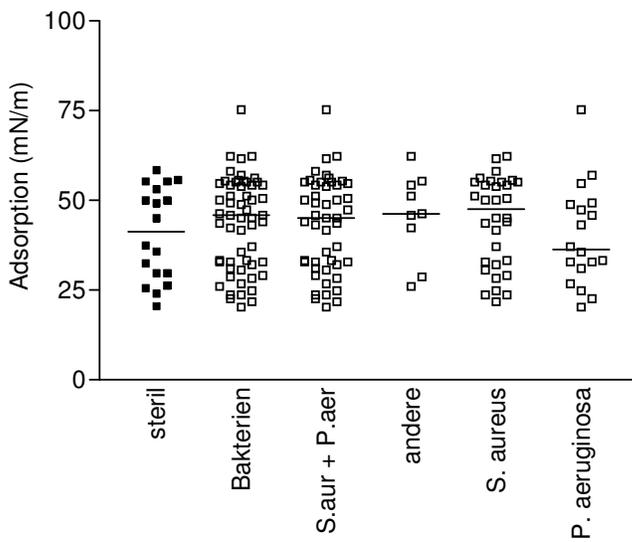


Abbildung 47: Einzelwerte der Adsorption. Keine signifikanten Unterschiede.

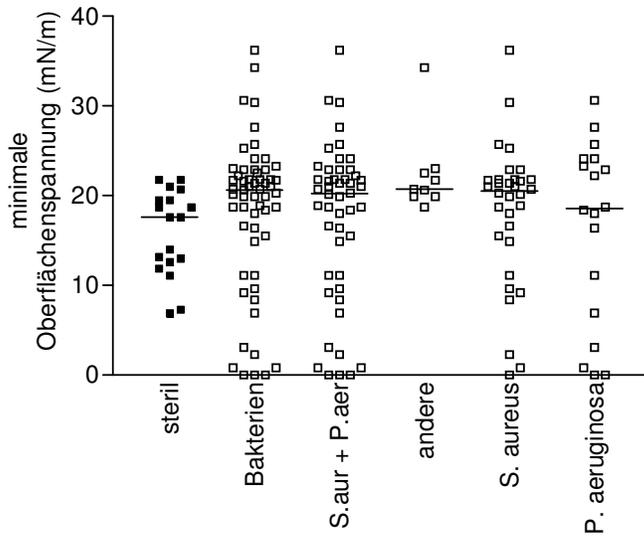


Abbildung 48: Einzelwerte der minimalen Oberflächenspannung. Bei steriler Lavage signifikant niedrigere Werte als bei positiver Mikrobiologie ( $p=0,0299$ ).

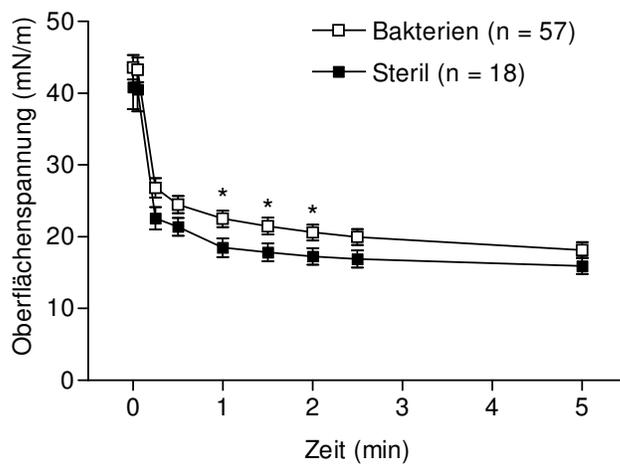


Abbildung 49: Oberflächenspannungswerte von Patienten mit steriler Lavage und von Patienten mit positiver Mikrobiologie (arithmetisches Mittel und Standardmessfehler). \*signifikanter Mann Whitney Test ( $p < 0,05$ ).

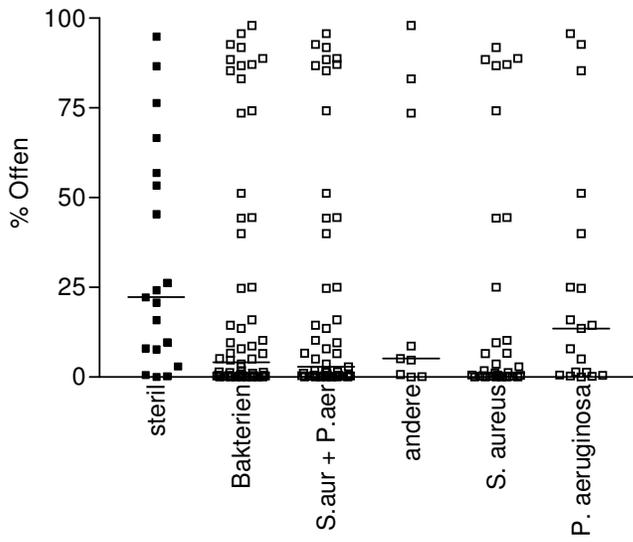


Abbildung 50: Einzelwerte des % Offen. Keine signifikanten Unterschiede.

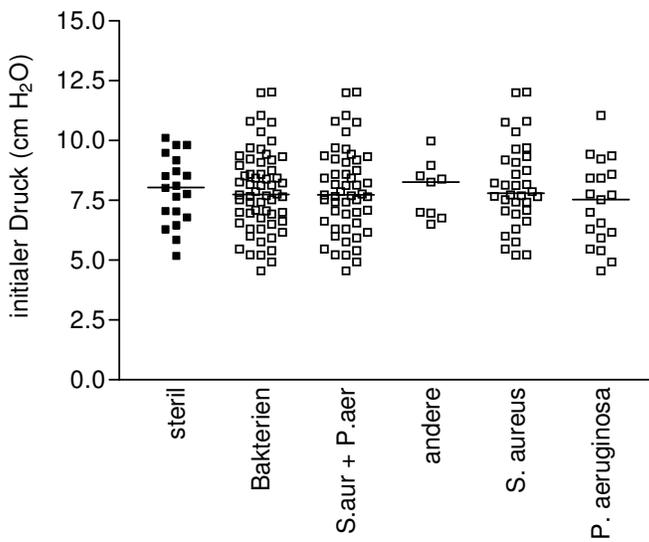


Abbildung 51: Einzelwerte des initialen Drucks. Keine signifikanten Unterschiede.

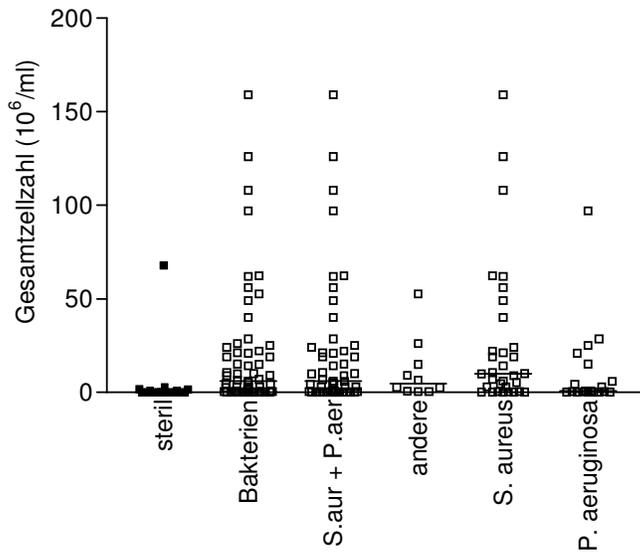


Abbildung 52: Einzelwerte der Gesamtzellzahl. Bei steriler Lavage signifikant niedrigere Werte als bei positiver Mikrobiologie ( $p=0,0004$ ).

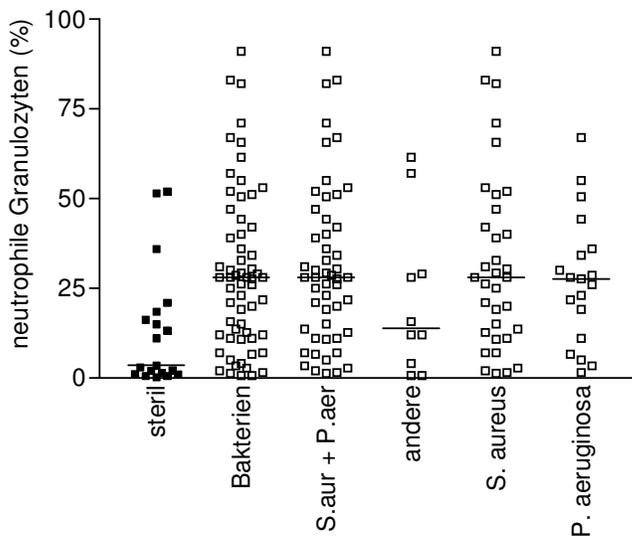


Abbildung 53: Einzelwerte der relativen Granulozytenzahl. Bei steriler Lavage signifikant niedrigere Werte als bei positiver Mikrobiologie ( $p=0,0021$ ).

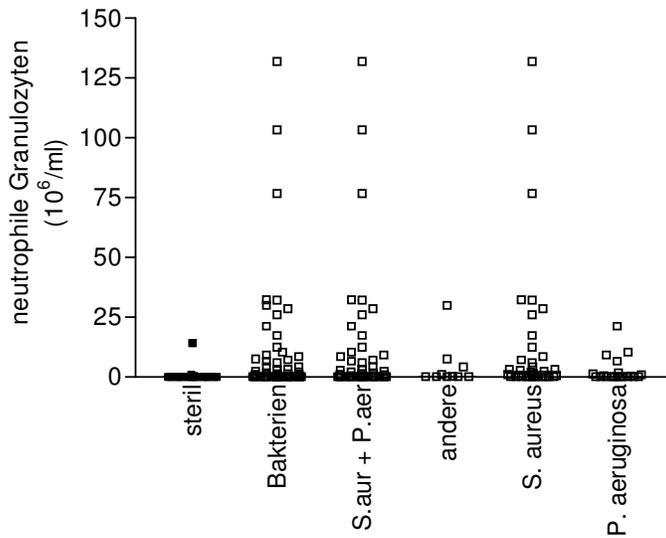


Abbildung 54: Einzelwerte der absoluten Granulozytenzahl. Bei steriler Lavage signifikant niedrigere Werte als bei positiver Mikrobiologie ( $p=0,0004$ ).

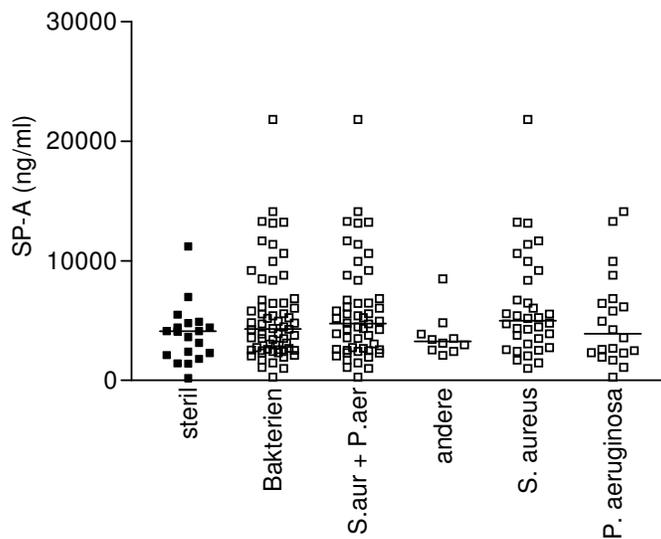


Abbildung 55: Einzelwerte der Konzentration des Surfactantprotein A. Keine signifikanten Unterschiede.

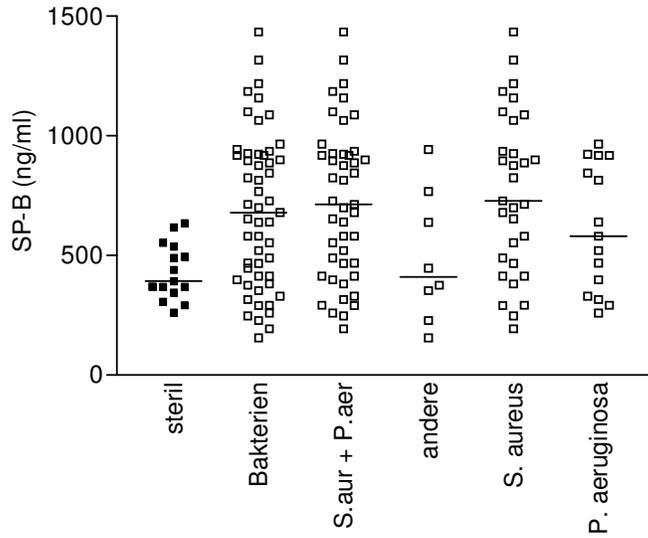


Abbildung 56: Einzelwerte der Konzentration des Surfactantprotein B. Signifikant höhere Werte bei nachgewiesenem *Staphylococcus aureus* als bei nachgewiesenem *Pseudomonas aeruginosa* ( $p=0,0497$ ).

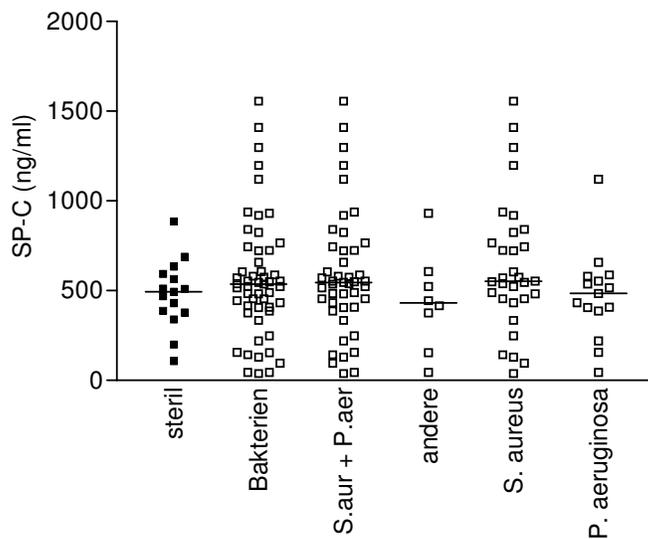


Abbildung 57: Einzelwerte der Konzentration des Surfactantprotein C. Keine signifikanten Unterschiede.

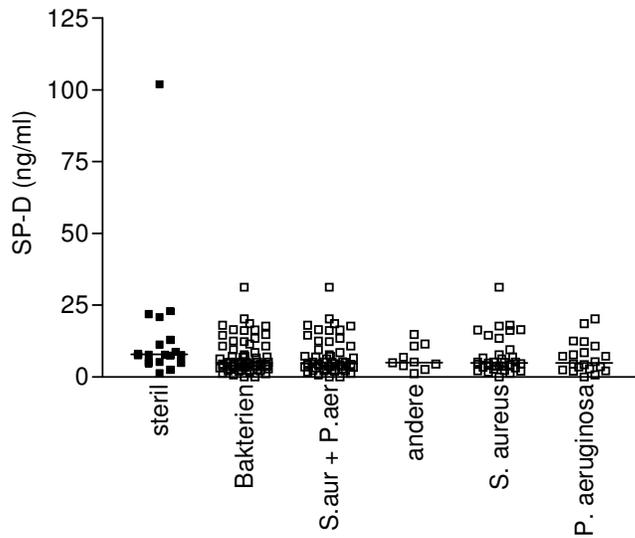


Abbildung 58: Einzelwerte der Konzentration des Surfactantprotein D. Bei steriler Lavage signifikant höhere Werte als bei positiver Mikrobiologie ( $p= 0,0144$ ). Nach Ausschluss des Ausreißerwerts bei 102 ng/ml blieb der Unterschied signifikant.

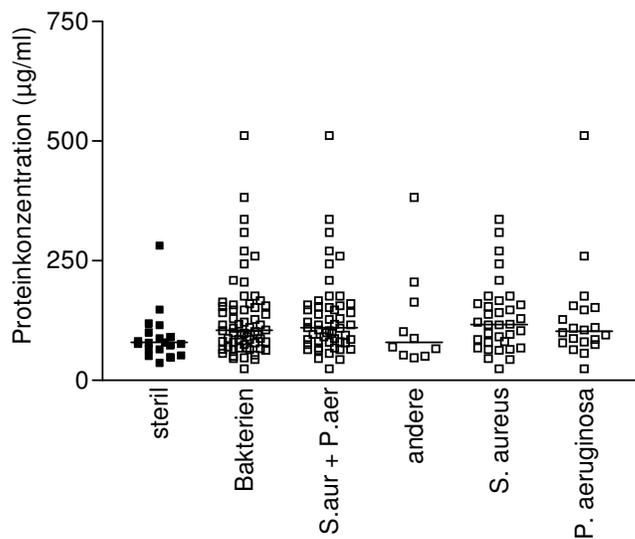


Abbildung 59: Einzelwerte der Proteinkonzentration. Keine signifikanten Unterschiede.

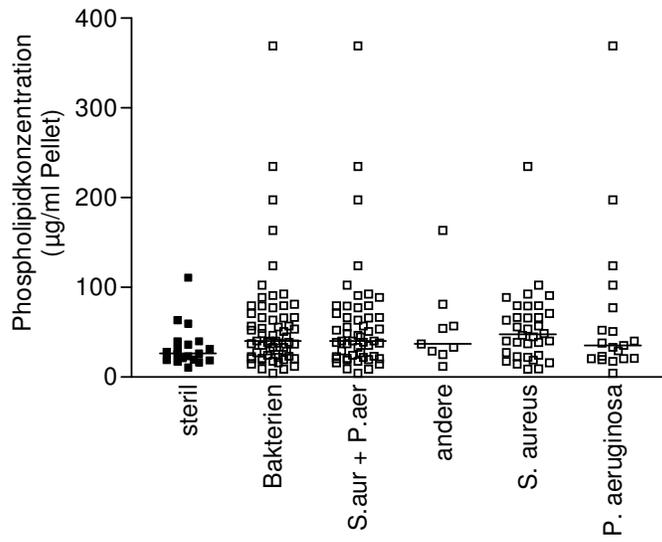


Abbildung 60: Einzelwerte der absoluten Granulozytenzahl. Bei steriler Lavage signifikant niedrigere Werte als bei positiver Mikrobiologie ( $p=0,0375$ ).

## D. Korrelationen

Die Anzahl der Wertepaare, die Werte des Korrelationskoeffizienten nach Spearman und die p- Werte sind der Tabelle des jeweiligen Abschnitts zu entnehmen. Die Einzelwerte sind im tabellarischen Anhang aufgeführt.

### 1. Biophysik

#### a. Adsorption

Die im pulsierenden Blasensurfactometer gemessene Adsorption war statistisch abhängig von der Recovery der gepoolten Fraktionen (rückgewonnenes Volumen der gepoolten Fraktionen dividiert durch das instillierte Volumen der gepoolten Fraktionen in Prozent). Die Adsorption korrelierte nicht mit den Werten der Lungenfunktion: forcierte Vitalkapazität (FVC), Forcierte Einsekundenkapazität ( $FEV_1$ ), Maximale expiratorische Atemstromstärke ( $MEF_{25}$ ,  $MEF_{75/25}$ ). Die Korrelationen mit dem Alter und dem Body Mass Index der Patienten waren statistisch signifikant (Abbildung 62, 63). Es bestanden statistisch signifikante Zusammenhänge mit den anderen biophysikalischen Parametern: Die Adsorption korrelierte hochsignifikant mit der minimalen Oberflächenspannung. Auch ein negativer Zusammenhang mit dem % Offen und eine positive Korrelation mit dem initialen Druck waren signifikant (Abbildung 64 – 66). Außerdem korrelierten die Adsorptionswerte statistisch signifikant mit der Gesamtzellzahl, mit der relativen und der absoluten Zahl der neutrophilen Granulozyten (Abbildung 67 – 69). Es bestanden keine signifikanten Zusammenhänge mit den biochemischen Parametern (siehe Tabelle 15).

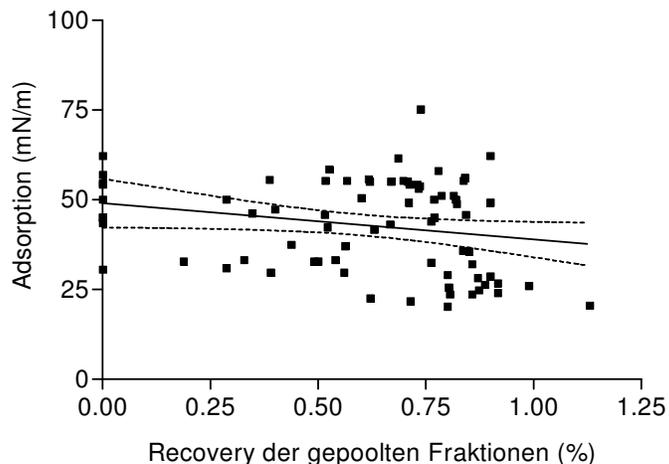


Abbildung 61: Streudiagramm von Recovery und Adsorption (Spearman  $p= 0,0181$ ) mit linearer Regressionskurve.

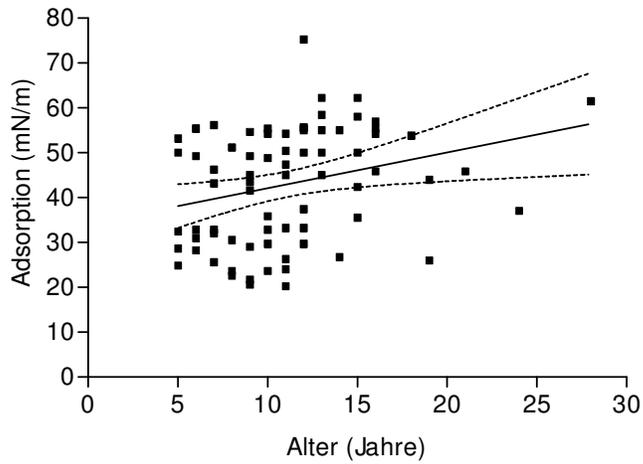


Abbildung 62: Streudiagramm von Adsorption und Alter (Spearman  $\rho = 0,0053$ ) mit linearer Regressionskurve.

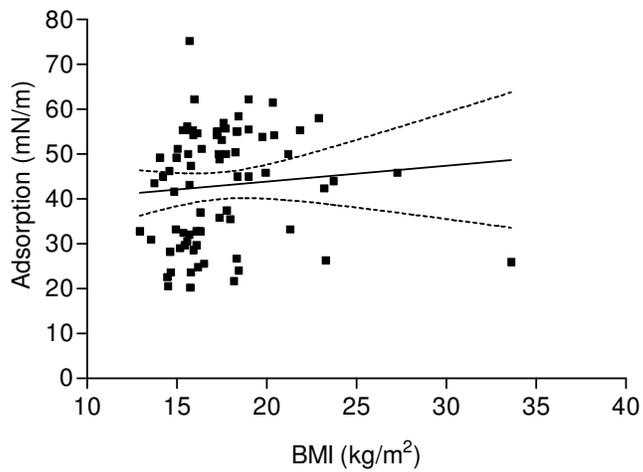


Abbildung 63: Streudiagramm von Adsorption und Body Mass Index (Spearman  $\rho = 0,031$ ) mit linearer Regressionskurve.

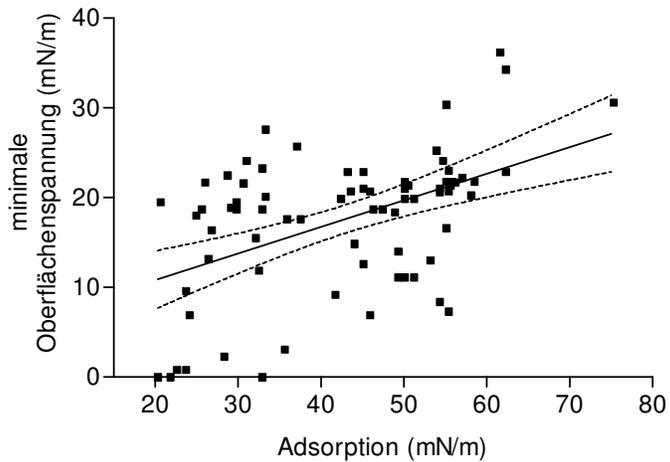


Abbildung 64: Streudiagramm von Adsorption und minimaler Oberflächenspannung (Spearman  $p < 0,0001$ ) mit linearer Regressionskurve.

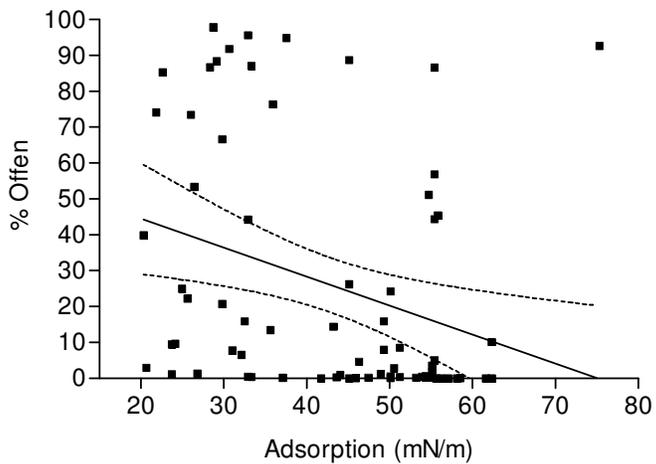


Abbildung 65: Streudiagramm von Adsorption und % Offen (Spearman  $p = 0,0002$ ) mit linearer Regressionskurve.

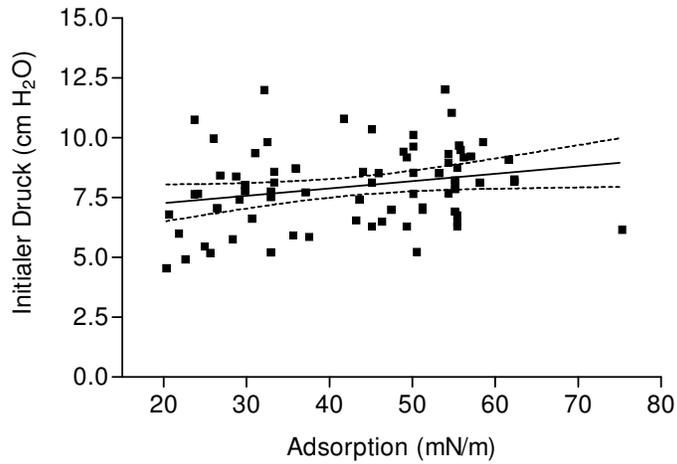


Abbildung 66: Streudiagramm von Adsorption und initialem Druck (Spearman  $p=0,021$ ) mit linearer Regressionskurve.

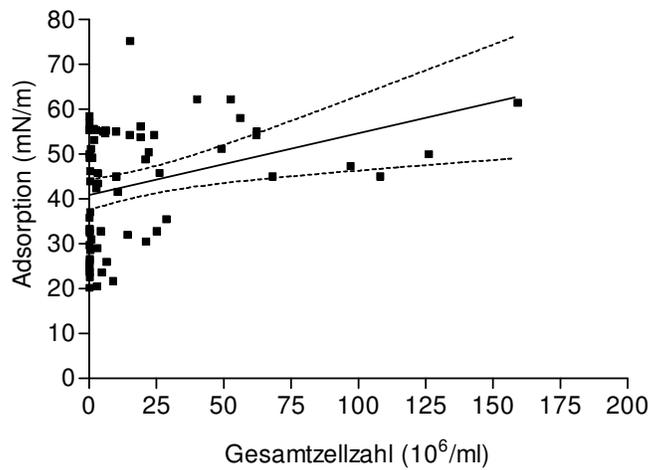


Abbildung 67: Streudiagramm von Adsorption und Gesamtzellzahl (Spearman  $p=0,009$ ) mit linearer Regressionskurve.

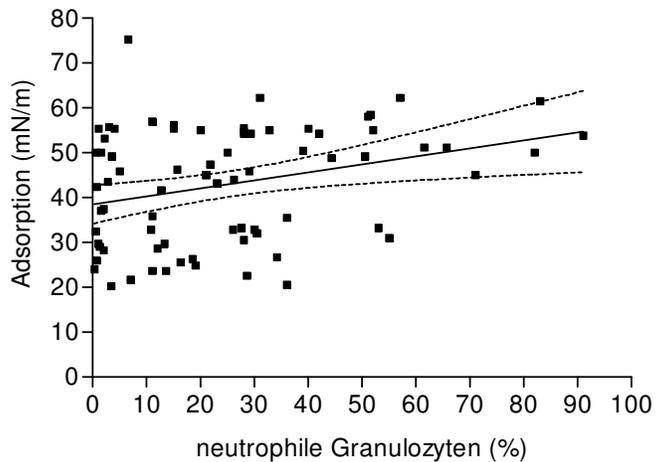


Abbildung 68: Streudiagramm von Adsorption und neutrophile Granulozyten (Spearman  $p=0,009$ ) mit linearer Regressionskurve.

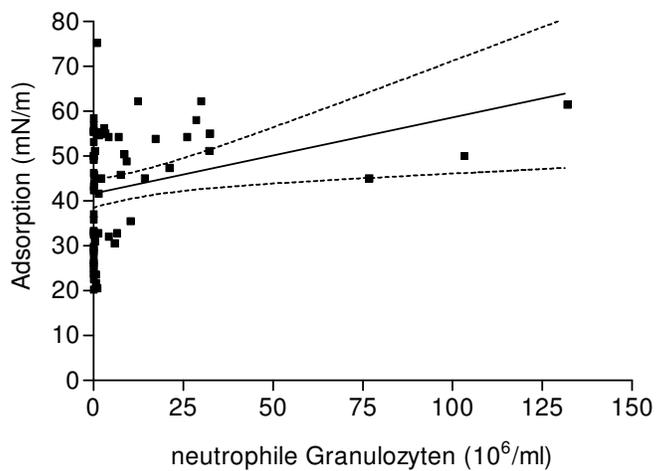


Abbildung 69: Streudiagramm von Adsorption und Zahl der neutrophile Granulozyten (Spearman  $p=0,002$ ) mit linearer Regressionskurve.

	Wertepaare	Spearman r	p- Wert
Recovery (%)	75	-0,2722	0,0181*
FVC (% Soll)	62	0,01645	0,8990
FEV <sub>1</sub> (% Soll)	74	-0,04200	0,7224
MEF <sub>25</sub> (% Soll)	73	-0,1825	0,1223
MEF <sub>75/25</sub> (% Soll)	71	-0,04421	0,7143
Body Mass Index (kg/m <sup>2</sup> )	75	0,2496	0,0308 *

Alter (Jahre)	75	0,3191	0,0053 *
Minimale Oberflächenspannung (mN/m)	75	0,4839	<0,0001 *
% Offen	73	-0,4232	0,0002 *
initialer Druck (cm H <sub>2</sub> O)	73	0,2704	0,0207 *
Gesamtzellzahl (10 <sup>6</sup> /ml)	70	0,3120	0,0086 *
Neutrophile Granulozyten (%)	75	0,2983	0,0093 *
Neutrophile Granulozyten (10 <sup>6</sup> /ml)	74	0,3531	0,0020 *
SP-A (ng/ml)	75	-0,1681	0,1493
SP-B (ng/ml)	64	-0,09380	0,4610
SP-C (ng/ml)	64	0,09353	0,4623
SP-D (ng/ml)	75	-0,1504	0,1978
Proteinkonzentration (µg/ml)	75	-0,08605	0,4629
Phospholipidkonzentration (µg/ml)	73	-0,07768	0,5136

Tabelle 15: Korrelationen der Adsorption; \*statistisch signifikant

### b. Minimale Oberflächenspannung

Die im pulsierenden Blasensurfactometer gemessene minimale Oberflächenspannung war statistisch abhängig von der Recovery der Bronchiallavage (Abbildung 70). Die minimale Oberflächenspannung korrelierte außerdem mit dem Alter der Patienten (Abbildung 71). Wie oben bereits beschrieben gab es einen statistisch hochsignifikanten Zusammenhang zwischen dem Adsorptionswert und der minimalen Oberflächenspannung (Abbildung 64). Signifikante Korrelationen mit den anderen biophysikalischen Parametern konnten nicht nachgewiesen werden. Die minimale Oberflächenspannung korrelierte außerdem mit der relativen Anzahl der neutrophilen Granulozyten (Abbildung 72). Mit den anderen Zellparametern bestand kein signifikanter Zusammenhang. Bei Betrachtung der biochemischen Parameter wurden signifikante Korrelationen zwischen der minimalen Oberflächenspannung und den Konzentrationen der Surfactantproteine A und D gefunden (Abbildung 73, 74)(siehe Tabelle 16).

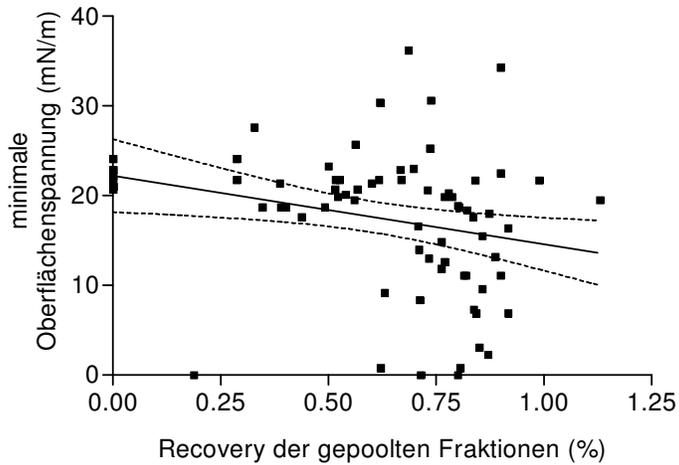


Abbildung 70: Streudiagramm der Recovery und der minimalen Oberflächenspannung (Spearman  $p = <0,0001$ ) mit linearer Regressionskurve.

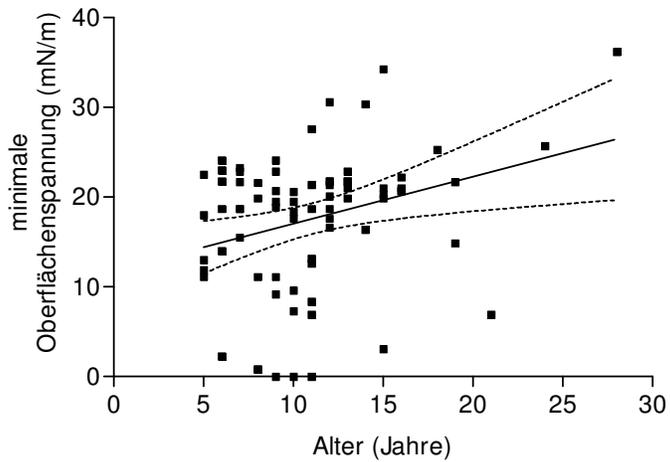


Abbildung 71: Streudiagramm der minimalen Oberflächenspannung und neutrophilen Granulozyten (Spearman  $p = 0,032$ ) mit linearer Regressionskurve.

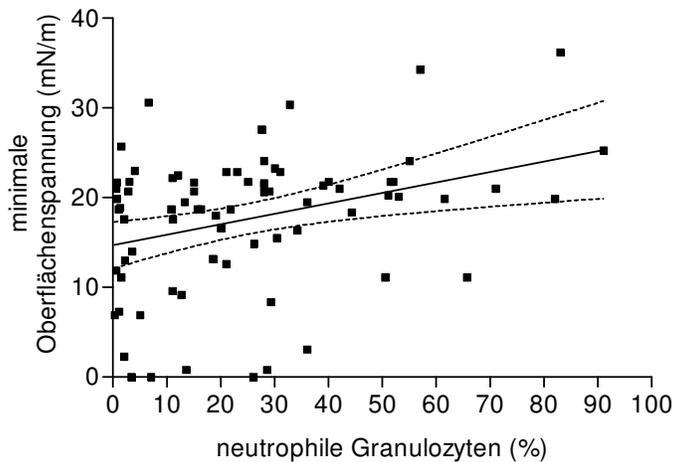


Abbildung 72: Streudiagramm der minimalen Oberflächenspannung und neutrophilen Granulozyten (Spearman  $p=0,010$ ) mit linearer Regressionskurve.

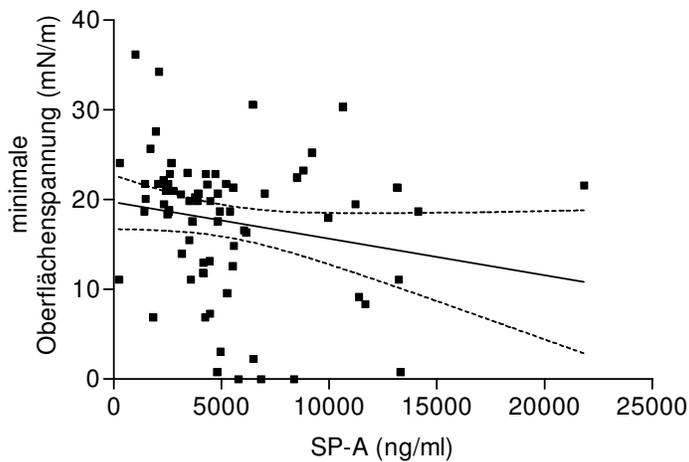


Abbildung 73: Streudiagramm der Konzentration von Surfactantprotein A und der minimalen Oberflächenspannung (Spearman  $p=0,007$ ) mit linearer Regressionskurve. Selbst nach Ausschluss des Wertes von Surfactantprotein A oberhalb 21811 ng/ml (oberhalb der vierfachen Standardabweichung) blieb diese Korrelation signifikant (Spearman  $r=-0,331$ ;  $p=0,0039$ ).

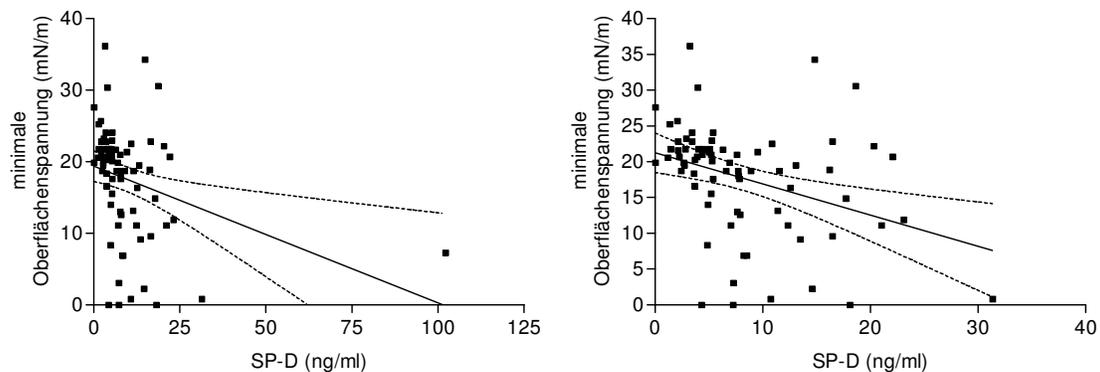


Abbildung 74: Streudiagramm der Konzentration von Surfactantprotein D und der minimalen Oberflächenspannung (Spearman  $p < 0,0001$ ) mit linearer Regressionskurve. Rechts: nach Ausschluss der Konzentration von Surfactantprotein D oberhalb 100 ng/ml (oberhalb der vierfachen Standardabweichung) blieb diese Korrelation hochsignifikant (Spearman  $r = -0,432$ ;  $p = 0,0001$ ).

	Wertepaare	Spearman r	p- Wert
Recovery (%)	75	-0,4250	<0,0001 *
FVC (% Soll)	62	0,07268	0,5745
FEV <sub>1</sub> (% Soll)	74	0,01788	0,8798
MEF <sub>25</sub> (% Soll)	73	-0,1271	0,2838
MEF <sub>75/25</sub> (% Soll)	71	-0,03140	0,7949
Body Mass Index (kg/m <sup>2</sup> )	75	0,1396	0,2323
Alter (Jahre)	75	0,2484	0,0317 *
Adsorption (mN/m)	75	0,4839	<0,0001 *
% Offen	73	-0,1403	0,2365
initialer Druck (cm H <sub>2</sub> O)	73	0,2056	0,0810
Gesamtzellzahl (10 <sup>6</sup> /ml)	70	0,1846	0,1260
Neutrophile Granulozyten (%)	75	0,2942	0,0104 *
Neutrophile Granulozyten (10 <sup>6</sup> /ml)	74	0,1969	0,0927
SP-A (ng/ml)	75	-0,3088	0,0070 *
SP-B (ng/ml)	64	0,1628	0,1987

SP-C (ng/ml)	64	-0,1662	0,1894
SP-D (ng/ml)	75	-0,4484	<0,0001 *
Proteinkonzentration (µg/ml)	75	-0,001060	0,9928
Phospholipidkonzentration (µg/ml)	73	0,04521	0,7041

Tabelle 16: Korrelationen der minimalen Oberflächenspannung; \*statistisch signifikant.

### c. % Offen

Das im Kapillarsurfactometer gemessene % Offen korrelierte mit dem Body Mass Index und dem Alter der Patienten (Abbildung 75, 76). Wie oben schon dargestellt wurde, korrelierte die Adsorption mit dem % Offen (Abbildung 65). Zudem bestand eine hochsignifikante negative Korrelation mit dem ebenfalls im Kapillarsurfactometer gemessenen initialen Druck (Abbildung 77). Das % Offen korrelierte signifikant negativ mit der Gesamtzellzahl und den relativen und absoluten Granulozytenzahlen (Abbildung 78 - 80). Das % Offen korrelierte außerdem positiv mit der Konzentration von Surfactantprotein D und negativ mit der Proteinkonzentration (Abbildung 81, 82). Mit den anderen biochemischen Parametern waren keine signifikanten Korrelationen nachweisbar (siehe Tabelle 17).

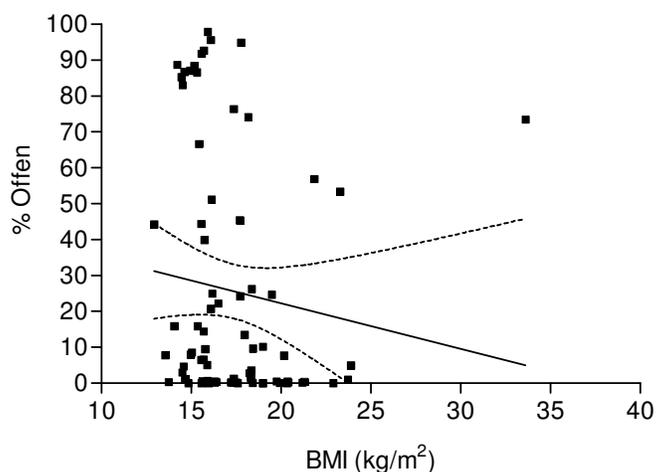


Abbildung 75: Streudiagramm des Body Mass Index und des % Offen (Spearman  $p = 0,0076$ ) mit linearer Regressionskurve.

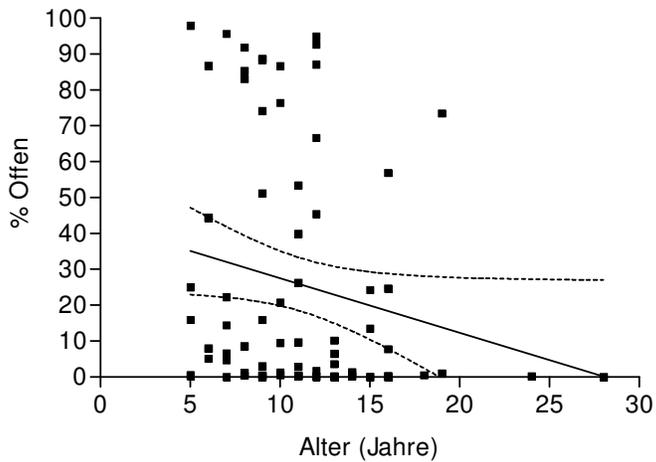


Abbildung 76: Streudiagramm des Alters und des % Offen (Spearman  $p=0,0061$ ) mit linearer Regressionskurve.

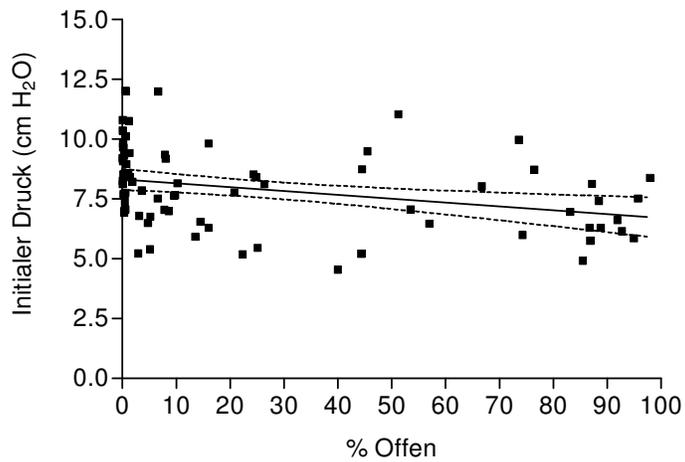


Abbildung 77: Streudiagramm des initialen Drucks und des %Offen (Spearman  $p<0,0001$ ) mit linearer Regressionskurve.

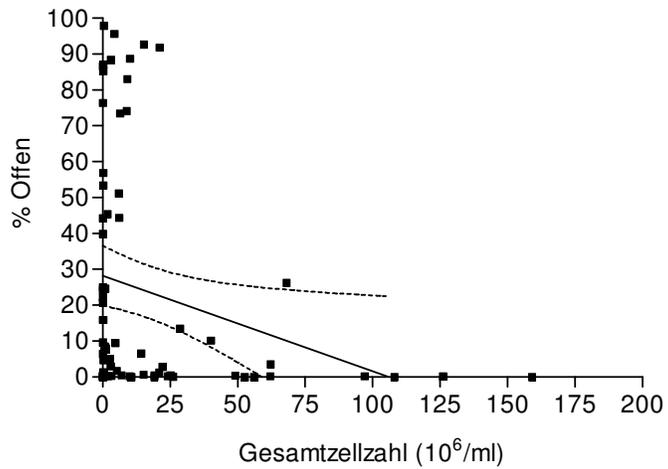


Abbildung 78: Streudiagramm des % Offen und der Gesamtzellzahl (Spearman  $p=0,006$ ) mit linearer Regressionskurve.

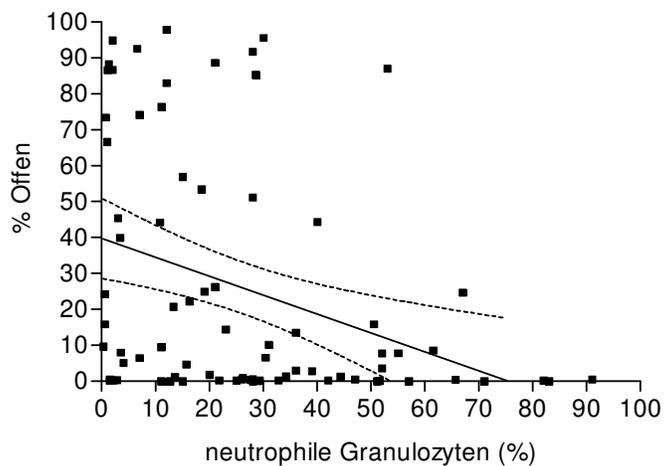


Abbildung 79: Streudiagramm des % Offen und der neutrophilen Granulozyten (Spearman  $p=0,0011$ ) mit linearer Regressionskurve.

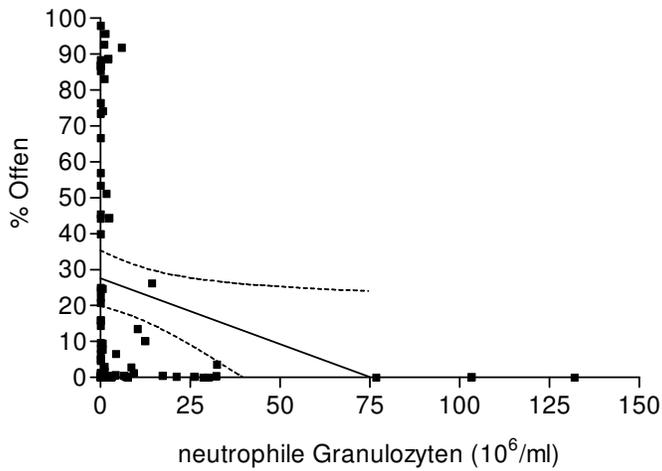


Abbildung 80: Streudiagramm des % Offen und der Zahl der neutrophilen Granulozyten (Spearman  $p = 0,0036$ ) mit linearer Regressionskurve.

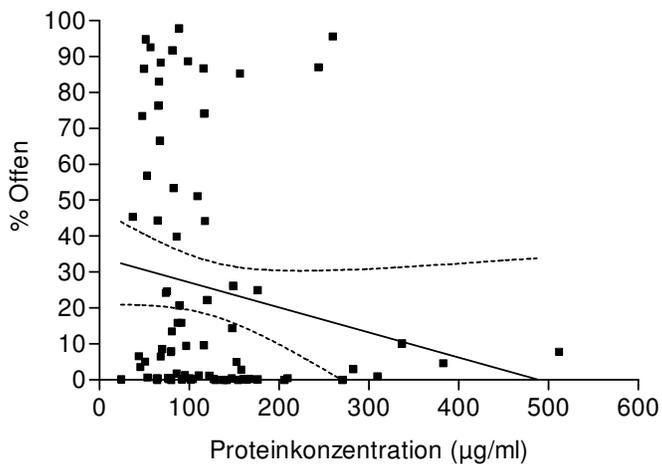


Abbildung 81: Streudiagramm des %Offen und der Proteinkonzentration (Spearman  $p = 0,034$ ) mit linearer Regressionskurve. Nach Ausschluss der Proteinkonzentrationen oberhalb der dritten Standardabweichung ( $> 360 \mu\text{g/ml}$ ) blieb diese Korrelation statistisch signifikant (Spearman  $r = -0,245$ ;  $p = 0,031$ ).

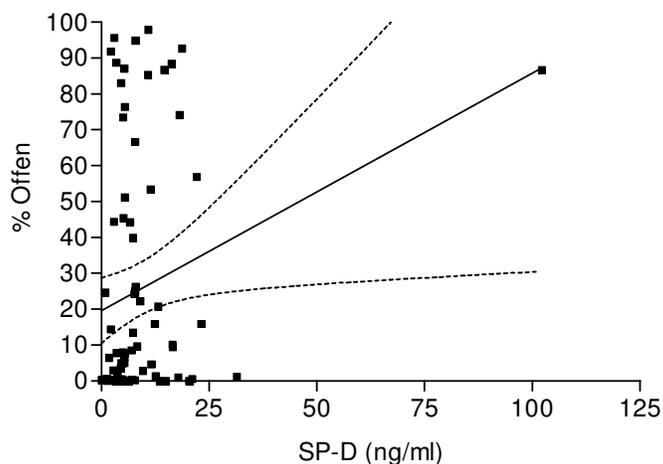


Abbildung 82: Streudiagramm der Konzentration von Surfactantprotein D und des % Offen (Spearman  $p=0,012$ ) mit linearer Regressionskurve. Auch nach Ausschluss der Surfactantprotein D Konzentration oberhalb 100 ng/ml (oberhalb der vierfachen Standardabweichung) blieb diese Korrelation signifikant (Spearman  $r=0,260$ ;  $p=0,021$ ).

	Wertepaare	Spearman r	p- Wert
Recovery (%)	79	0,07366	0,5188
FVC (% Soll)	65	-0,1151	0,3614
FEV <sub>1</sub> (% Soll)	78	-0,1285	0,2623
MEF <sub>25</sub> (% Soll)	77	0,1553	0,1775
MEF <sub>75/25</sub> (% Soll)	74	-0,1252	0,2880
Body Mass Index (kg/m <sup>2</sup> )	79	-0,2983	0,0076 *
Alter (Jahre)	79	-0,3057	0,0061 *
Adsorption (mN/m)	73	-0,4232	0,0002 *
Minimale Oberflächenspannung (mN/m)	73	-0,1403	0,2365
initialer Druck (cm H <sub>2</sub> O)	79	-0,4300	<0,0001 *
Gesamtzellzahl (10 <sup>6</sup> /ml)	74	-0,3150	0,0063 *
Neutrophile Granulozyten (%)	78	-0,3639	0,0011 *
Neutrophile Granulozyten (10 <sup>6</sup> /ml)	78	-0,3260	0,0036 *
SP-A (ng/ml)	79	0,1263	0,2672

SP-B (ng/ml)	68	-0,0006	0,9962
SP-C (ng/ml)	68	0,1249	0,3102
SP-D (ng/ml)	79	0,2803	0,0123 *
Proteinkonzentration ( $\mu\text{g/ml}$ )	79	-0,2395	0,0335 *
Phospholipidkonzentration ( $\mu\text{g/ml}$ )	79	-0,1425	0,2104

Tabelle 17: Korrelationen des %Offen; \*statistisch signifikant.

#### d. Initialer Druck

Der im Kapillarsurfactometer gemessene initiale Druck korrelierte mit dem Lungenfunktionsparameter  $\text{MEF}_{75/25}$  (Abbildung 83). Er korrelierte nicht mit den anderen Lungenfunktionsparametern, dem Body Mass Index oder dem Alter der Patienten. Wie schon oben erwähnt wurde korrelierte der initiale Druck mit der Adsorption (Abbildung 66) und außerdem mit dem % Offen (Abbildung 77). Die Konzentration des Surfactantprotein A war der einzige biochemische Parameter, zu dem eine Korrelation bestand (Abbildung 84) (siehe Tabelle 18).

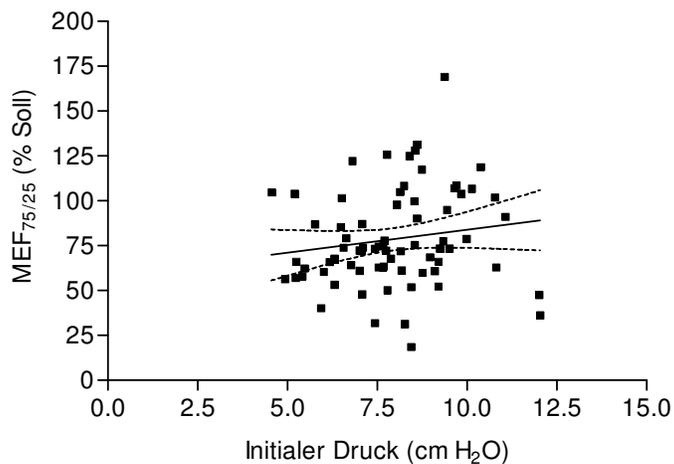


Abbildung 83: Streudiagramm des  $\text{MEF}_{75/25}$  und des initialen Drucks (Spearman  $p=0,048$ ) mit linearer Regressionskurve.

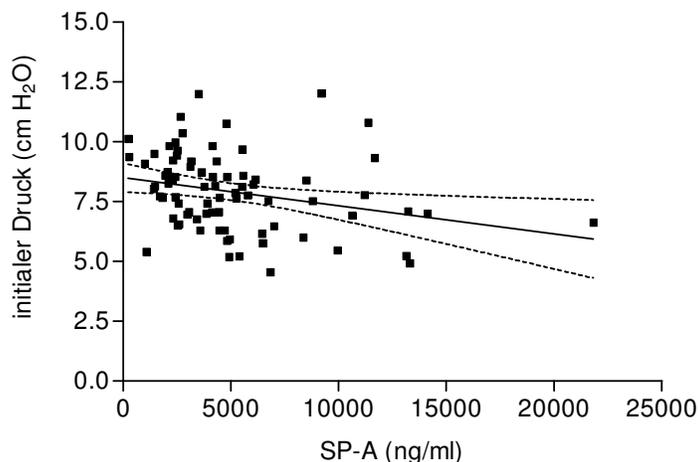


Abbildung 84: Surfactantprotein A und Adsorption (Spearman  $p= 0,0018$ ) mit linearer Regressionskurve. Auch nach Entfernung des Surfactantprotein A Wertes, oberhalb der vierfachen Standardabweichung ( $> 21000$  ng/ml) aus der Statistik, blieb diese Korrelation signifikant (Spearman  $r= -0,334$ ;  $p= 0,0028$ ).

	Wertepaare	Spearman r	p- Wert
Recovery (%)	79	-0,0946	0,4068
FVC (% Soll)	65	0,2152	0,0852
FEV <sub>1</sub> (% Soll)	78	0,2128	0,0615
MEF <sub>25</sub> (% Soll)	77	0,01274	0,9124
MEF <sub>75/25</sub> (% Soll)	74	0,2308	0,0479 *
Body Mass Index (kg/m <sup>2</sup> )	79	0,1837	0,1050
Alter (Jahre)	79	0,1233	0,2789
Adsorption (mN/m)	73	0,2704	0,0207 *
Minimale Oberflächenspannung (mN/m)	73	0,2056	0,0810
% Offen	79	-0,4300	0,0001 *
Gesamtzellzahl (10 <sup>6</sup> /ml)	74	0,09396	0,4259
Neutrophile Granulozyten (%)	78	0,1214	0,2898
Neutrophile Granulozyten (10 <sup>6</sup> /ml)	78	0,1222	0,2864
SP-A (ng/ml)	79	-0,3465	0,0018 *

SP-B (ng/ml)	68	0,03230	0,7937
SP-C (ng/ml)	68	0,1249	0,3102
SP-D (ng/ml)	79	-0,1595	0,1603
Proteinkonzentration ( $\mu\text{g/ml}$ )	79	0,008022	0,9441
Phospholipidkonzentration ( $\mu\text{g/ml}$ )	79	-0,02083	0,8554

Tabelle 18: Korrelationen des initialen Drucks; \*statistisch signifikant.

## 2. Zellzahlen der bronchoalveolären Lavage

### a. Gesamtzellzahl

Die Gesamtzellzahl korrelierte nicht mit den Werten der Lungenfunktion, dem Alter oder dem Body Mass Index. Sie korrelierte aber, wie zuvor dargestellt, positiv mit den Adsorptionswerten (Abbildung 67) und negativ mit dem % Offen (Abbildung 78). Eine signifikante Korrelation mit der minimalen Oberflächenspannung und dem initialen Druck wurde nicht nachgewiesen. Es bestanden hoch signifikante Korrelationen mit der relativen und der absoluten Zahl neutrophiler Granulozyten. Die Gesamtzellzahl korrelierte außerdem signifikant negativ mit der Konzentration des Surfactantprotein D (Abbildung 87). Mit den anderen Surfactantproteinen, der Proteinkonzentration und der Phospholipidkonzentration bestanden keine signifikanten Zusammenhänge (siehe Tabelle 19).

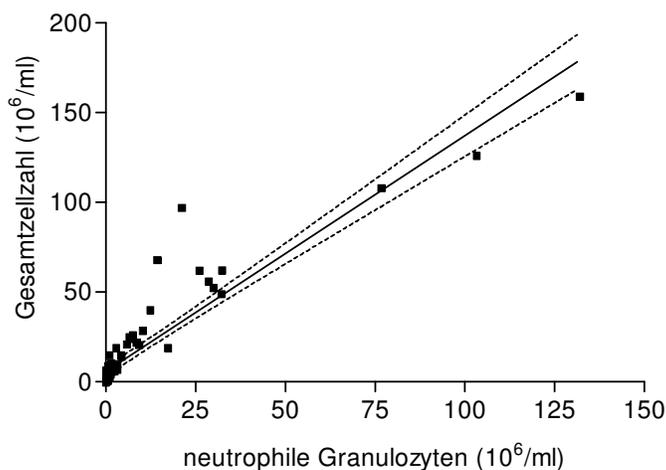


Abbildung 85: Zahl der neutrophilen Granulozyten und Gesamtzellzahl (Spearman  $p < 0,0001$ ) mit linearer Regressionskurve.

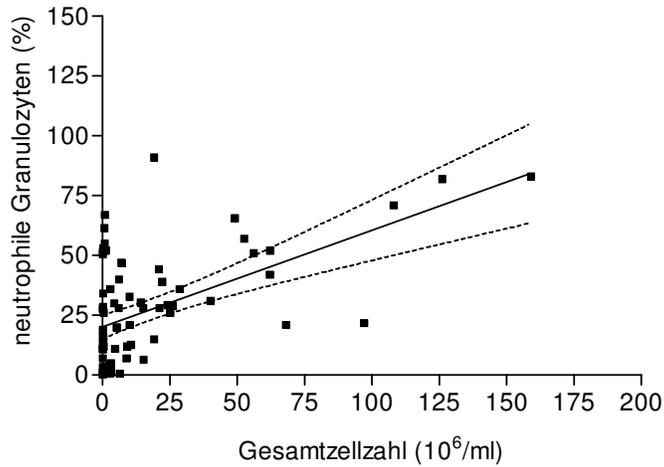


Abbildung 86: Prozentualer Anteil der neutrophilen Granulozyten und Gesamtzellzahl (Spearman  $p < 0,0001$ ) mit linearer Regressionskurve.

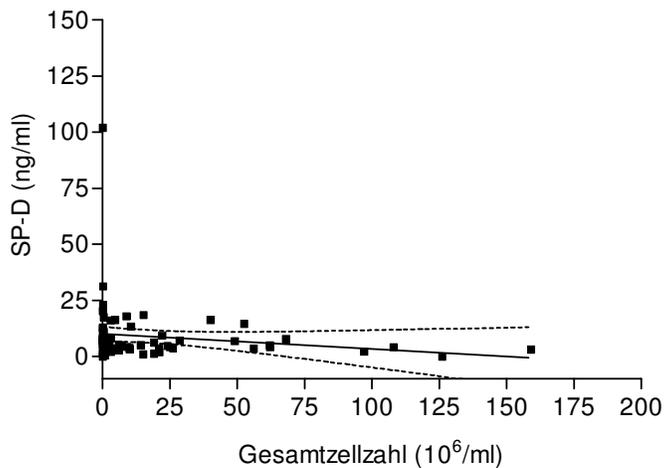


Abbildung 87: Surfactantprotein D Konzentration und Gesamtzellzahl (Spearman  $p = 0,011$ ) mit linearer Regressionskurve. Nach Ausschluss des SP-D Werts bei 102,09 ng/ml der außerhalb des Bereichs der vierfachen Standardabweichung lag, blieb diese Korrelation signifikant (Spearman  $r = -0,267$ ;  $p = 0,021$ ).

	Wertepaare	Spearman r	p- Wert
Recovery (%)	76	-0,0786	0,4999
FVC (% Soll)	63	0,2006	0,1150
FEV <sub>1</sub> (% Soll)	76	-0,1151	0,3219

MEF <sub>25</sub> (% Soll)	75	-0,1914	0,1000
MEF <sub>75/25</sub> (% Soll)	72	-0,1038	0,3856
Body Mass Index (kg/m <sup>2</sup> )	76	0,1837	0,1121
Alter (Jahre)	76	0,1727	0,1357
Adsorption (mN/m)	70	0,3120	0,0086 *
Minimale Oberflächenspannung (mN/m)	70	0,1846	0,1260
% Offen	74	-0,3150	0,0063 *
initialer Druck (cm H <sub>2</sub> O)	74	0,09396	0,4259
Neutrophile Granulozyten (%)	75	0,4468	<0,0001 *
Neutrophile Granulozyten (10 <sup>6</sup> /ml)	76	0,9382	<0,0001 *
SP-A (ng/ml)	76	0,1322	0,2549
SP-B (ng/ml)	64	0,1637	0,1963
SP-C (ng/ml)	64	0,05823	0,6477
SP-D (ng/ml)	76	-0,2887	0,0114 *
Proteinkonzentration (µg/ml)	76	0,1648	0,1549
Phospholipidkonzentration (µg/ml)	74	0,1479	0,2086

Tabelle 19: Korrelationen der Gesamtzellzahl; \*statistisch signifikant.

### b. Die relative Granulozytenzahl

Die relative Zahl der neutrophilen Granulozyten korrelierte nicht mit den Lungenfunktionsparametern, mit dem Body Mass Index, oder dem Alter der Patienten. Wie bereits oben dargestellt bestand zur Adsorption und zur minimalen Oberflächenspannung eine positive (Abbildung 68, 72), zum % Offen eine negative (Abbildung 79) Korrelation. Es wurde keine Korrelation mit dem initialen Druck nachgewiesen. Die relative Zahl der neutrophilen Granulozyten korrelierte hochsignifikant mit der Gesamtzellzahl (Abbildung 86). Ebenfalls hochsignifikant war die Korrelation mit der absoluten Zahl der neutrophilen Granulozyten. Von den biochemischen Parametern korrelierten die Konzentrationen des Surfactantprotein B positiv und die des Surfactantprotein D negativ mit der relativen Granulozytenzahl. Mit den übrigen Surfactantproteinen war keine Korrelation festzustellen.

Die Proteinkonzentration und die Phospholipidkonzentration korrelierten positiv mit der relativen Zahl der neutrophilen Granulozyten (Abbildung 89) (siehe Tabelle 20).

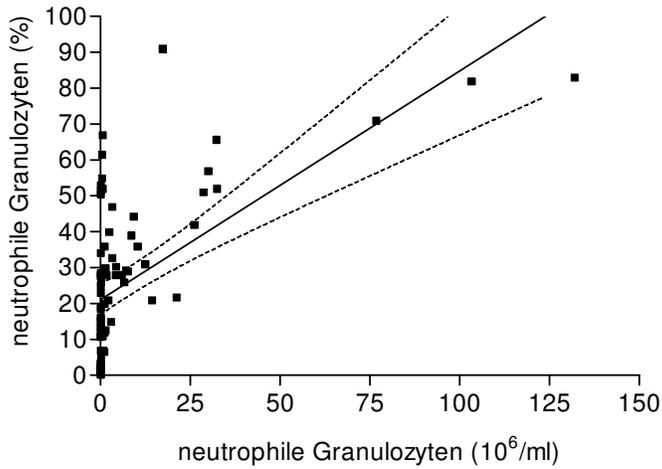


Abbildung 88: Zahl neutrophiler Granulozyten und prozentualer Anteil der neutrophilen Granulozyten an der Gesamtzellzahl (Spearman  $p < 0,0001$ ) mit linearer Regressionskurve.

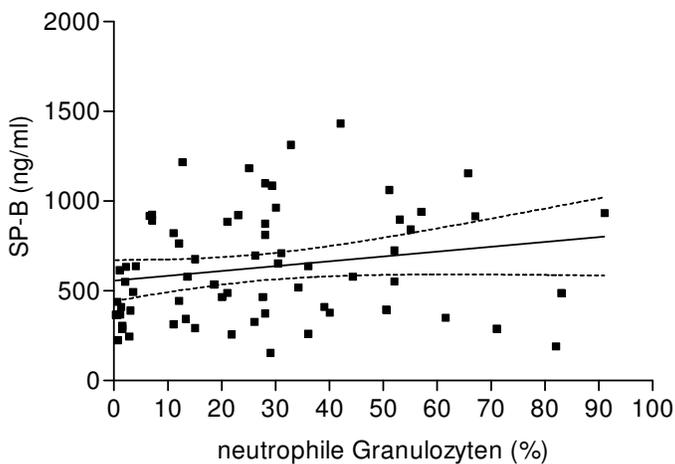


Abbildung 89: Konzentration von Surfactantprotein B und neutrophile Granulozyten (Spearman  $p = 0,0267$ ) mit linearer Regressionskurve.

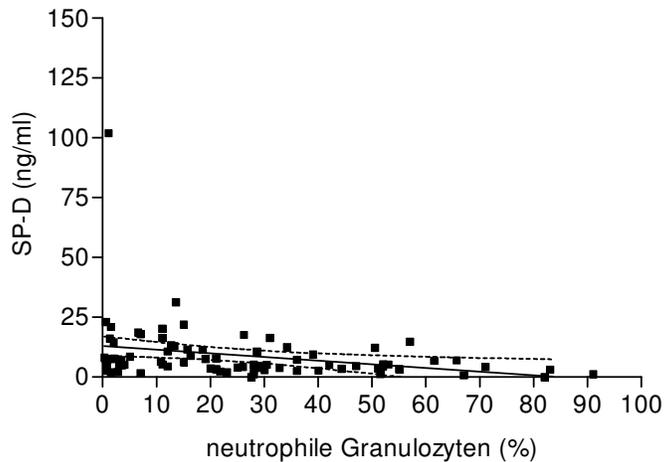


Abbildung 90: Konzentration von Surfactantprotein D und neutrophile Granulozyten (Spearman  $p= 0,0005$ ) mit linearer Regressionskurve. Nach Ausschluss des SP-D Wertes bei 102,09 ng/ml, der außerhalb des Bereichs der vierfachen Standardabweichung lag, blieb diese Korrelation signifikant (Spearman  $r= -0,363$ ;  $p= 0,001$ ).

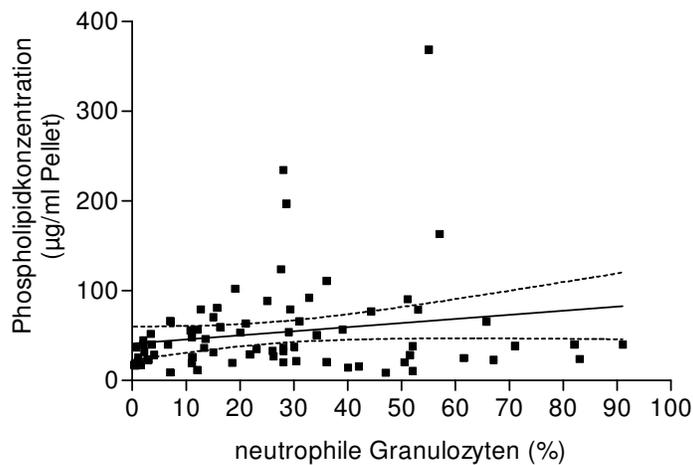


Abbildung 91: Phospholipidkonzentration und neutrophile Granulozyten (Spearman  $p= 0,031$ ) mit linearer Regressionskurve. Nach Ausschluss der Phospholipidwerte, die größer als 197,05  $\mu\text{g/ml}$  waren und damit außerhalb des Bereichs der dreifachen Standardabweichung lagen, war diese Korrelation nicht mehr statistisch signifikant (Spearman  $r= 0,218$ ;  $p= 0,060$ ).

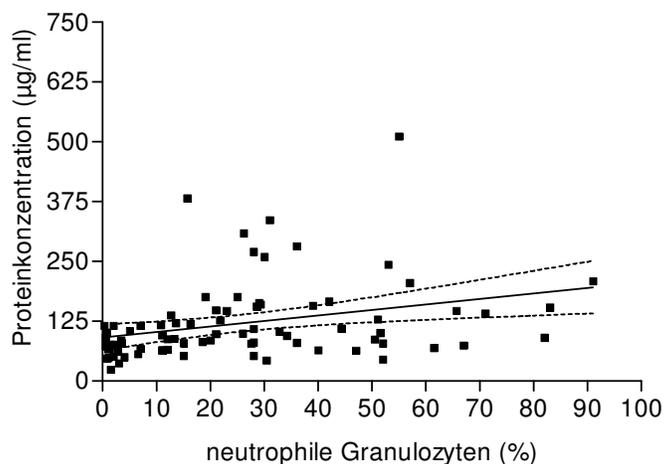


Abbildung 92: Proteinkonzentration und neutrophile Granulozyten (Spearman  $p=0,0001$ ) mit linearer Regressionskurve. Nach Ausschluss der Proteinwerte, die über  $360 \mu\text{g/ml}$  waren und damit außerhalb des Bereichs der dreifachen Standardabweichung lagen, blieb diese Korrelation signifikant (Spearman  $r=0,405$ ;  $p=0,0003$ ).

	Wertepaare	Spearman r	p- Wert
Recovery (%)	80	-0,0787	0,4875
FVC (% Soll)	66	0,04430	0,7239
FEV <sub>1</sub> (% Soll)	79	-0,1142	0,3164
MEF <sub>25</sub> (% Soll)	78	-0,2048	0,0721
MEF <sub>75/25</sub> (% Soll)	75	-0,1314	0,2613
Body Mass Index (kg/m <sup>2</sup> )	80	0,2035	0,0702
Alter (Jahre)	80	0,2033	0,0705
Adsorption (mN/m)	75	0,2983	0,0093 *
Minimale Oberflächenspannung (mN/m)	75	0,2942	0,0104 *
% Offen	78	-0,3639	0,0011 *
initialer Druck (cm H <sub>2</sub> O)	77	0,1184	0,3049
Gesamtzellzahl (10 <sup>6</sup> /ml)	75	0,4468	<0,0001 *
Neutrophile Granulozyten (10 <sup>6</sup> /ml)	79	0,6728	<0,0001 *
SP-A (ng/ml)	80	0,02075	0,8550

SP-B (ng/ml)	68	0,2688	0,0267 *
SP-C (ng/ml)	68	-0,07037	0,5685
SP-D (ng/ml)	80	-0,3814	0,0005 *
Proteinkonzentration ( $\mu\text{g/ml}$ )	80	0,4142	0,0001 *
Phospholipidkonzentration ( $\mu\text{g/ml}$ )	78	0,2451	0,0306 *

Tabelle 20: Korrelationen des prozentualen Anteils der neutrophilen Granulozyten;  
\*statistisch signifikant.

### c. Die absolute Granulozytenzahl

Die absolute Zahl neutrophiler Granulozyten korrelierte negativ mit der maximalen expiratorischen Atemstromstärke bei 25 % der Vitalkapazität. Die anderen Lungenfunktionsparameter, das Alter der Patienten und der Body Mass Index wiesen keinen signifikanten Zusammenhang damit auf (Abbildung 93). Von den biophysikalischen Parametern korrelierten der Adsorptionswert positiv (Abbildung 69) und das % Offen negativ (Abbildung 80) mit der absoluten Zahl der neutrophilen Granulozyten. Die Konzentration des Surfactantprotein D korrelierte negativ mit der absoluten Zahl der neutrophilen Granulozyten (Abbildung 94). Nach Ausschluss der Phospholipidwerte, die oberhalb der dreifachen Standardabweichung ( $360 \mu\text{g/ml}$ ) lagen, wurde die Korrelation mit der Zahl der neutrophilen Granulozyten statistisch signifikant (Abbildung 95) (siehe Tabelle 21).

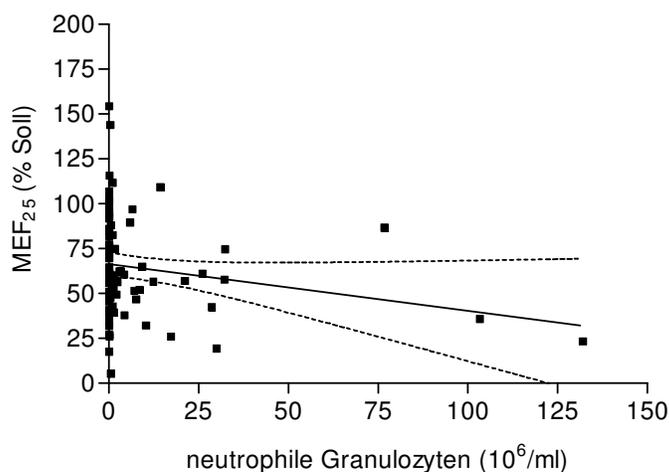


Abbildung 93: MEF<sub>25</sub> und Zahl der neutrophile Granulozyten (Spearman  $p = 0,012$ ) mit linearer Regressionskurve.

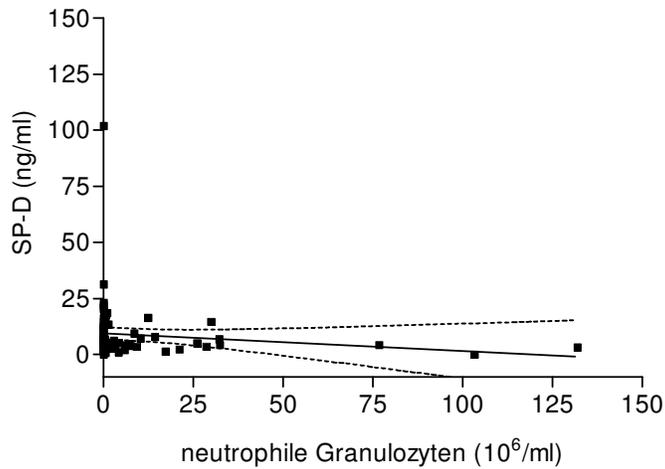


Abbildung 94: Konzentration von Surfactantprotein D und Zahl der neutrophilen Granulozyten (Spearman  $p=0,011$ ) mit linearer Regressionskurve. Auch nach Ausschluss des SP-D Wertes bei 102,09 ng/ml, der außerhalb des Bereichs der vierfachen Standardabweichung lag, blieb diese Korrelation signifikant (Spearman  $r=-0,263$ ;  $p=0,019$ ).

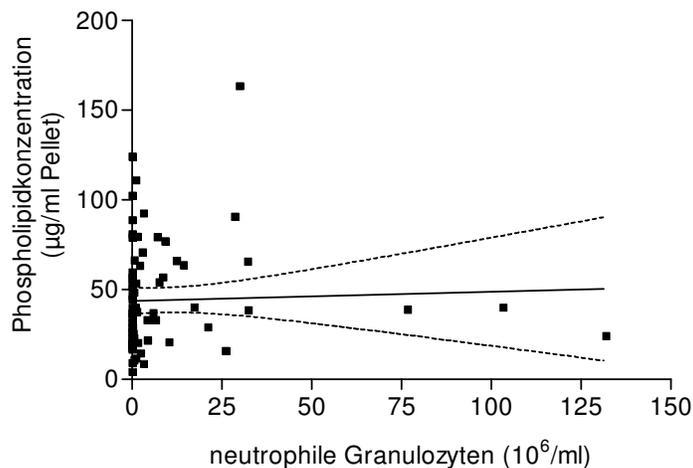


Abbildung 95: Phospholipidkonzentration und Zahl der neutrophilen Granulozyten (Spearman  $r=0,256$ ;  $p=0,027$ ) mit linearer Regressionskurve nach Ausschluss der Phospholipidwerte oberhalb der dreifachen Standardabweichung.

	Wertepaare	Spearman r	p- Wert
Recovery (%)	80	-0,1004	0,3757
FVC (% Soll)	67	0,1114	0,3694
FEV <sub>1</sub> (% Soll)	80	-0,1611	0,1533

MEF <sub>25</sub> (% Soll)	79	-0,2818	0,0119 *
MEF <sub>75/25</sub> (% Soll)	76	-0,1616	0,1631
Body Mass Index (kg/m <sup>2</sup> )	80	0,1963	0,0810
Alter (Jahre)	80	0,1728	0,1252
Adsorption (mN/m)	74	0,3531	0,0020 *
Minimale Oberflächenspannung (mN/m)	74	0,1969	0,0927
% Offen	78	-0,3260	0,0036 *
initialer Druck (cm H <sub>2</sub> O)	78	0,1222	0,2864
Gesamtzellzahl (10 <sup>6</sup> /ml)	76	0,9382	<0,0001 *
Neutrophile Granulozyten (%)	79	0,6728	<0,0001 *
SP-A (ng/ml)	80	0,2036	0,0701
SP-B (ng/ml)	68	0,1695	0,1669
SP-C (ng/ml)	68	0,07817	0,5263
SP-D (ng/ml)	80	-0,2838	0,0107 *
Proteinkonzentration (µg/ml)	80	0,1986	0,0773
Phospholipidkonzentration (µg/ml)	78	0,2122	0,0621

Tabelle 21: Korrelationen der Zahl der neutrophilen Granulozyten; \*statistisch signifikant.

### 3. Biochemische Parameter

#### a. Gesamtproteinkonzentration

Die Gesamtproteinkonzentration korrelierte negativ mit dem % Offen (Abbildung 81). Zu den anderen biophysikalischen Parametern waren keine Korrelationen festzustellen. Die Proteinkonzentration korrelierte eng mit der relativen Zahl der neutrophilen Granulozyten (Abbildung 92). Es bestanden daneben eine hochsignifikante Korrelation zur Phospholipidkonzentration (Abbildung 96) und eine Korrelation mit der Konzentration des Surfactantprotein B (Abbildung 97). Nach Ausschluss der Proteinkonzentrationen oberhalb der dreifachen Standardabweichung korrelierte die Proteinkonzentration mit der Konzentration des Surfactantprotein A. Zuvor war diese Korrelation statistisch nicht signifikant (Abbildung 98) (siehe Tabelle 22).

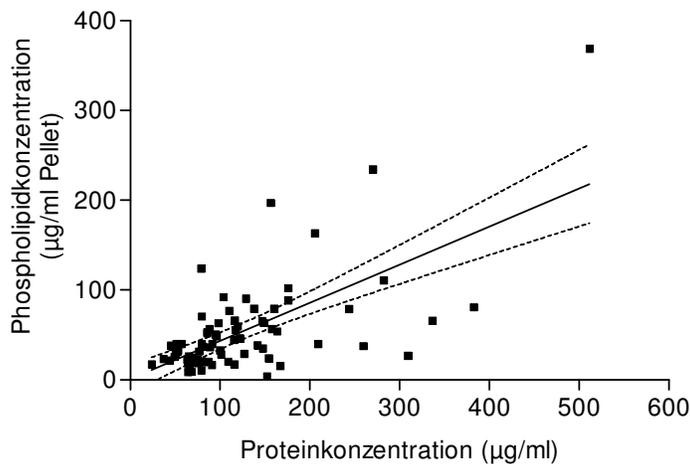


Abbildung 96: Streudiagramm der Phospholipidkonzentration und der Proteinkonzentration (Spearman  $p = 0,0001$ ) mit linearer Regressionskurve. Nach Entfernen der Proteinkonzentrationen oberhalb der dritten Standardabweichung (360 µg/ml) und der Phospholipidwerte oberhalb der dritten Standardabweichung (197 µg/ml) aus der Statistik, blieb diese Korrelation signifikant (Spearman  $r = 0,502$ ;  $p < 0,0001$ ).

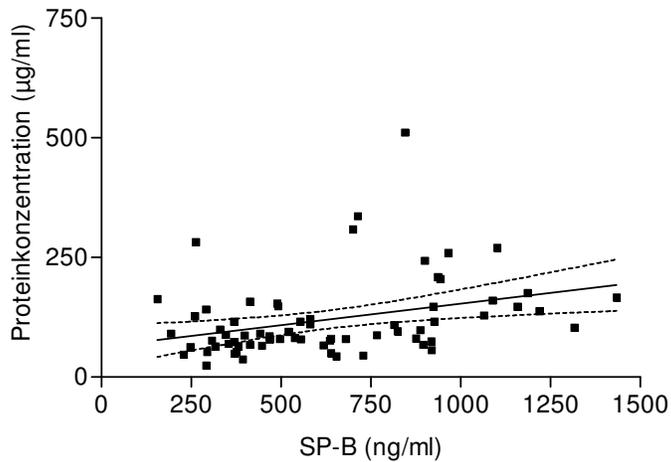


Abbildung 97: Surfactantprotein B und Proteinkonzentration (Spearman  $p= 0,0006$ ) mit linearer Regressionskurve. Nach Ausschluss der Proteinkonzentrationen oberhalb der dreifachen Standardabweichung ( $360 \mu\text{g/ml}$ ) aus der Statistik blieb diese Korrelation weiterhin signifikant (Spearman  $r= 0,396$ ;  $p= 0,0009$ ).

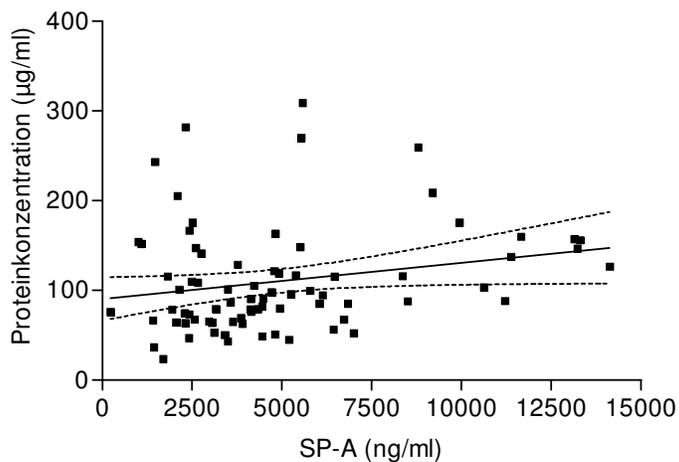


Abbildung 98: Streudiagramm von Surfactantprotein A und der Proteinkonzentration (Spearman  $r= 0,249$ ;  $p= 0,028$ ) mit linearer Regressionskurve nach Ausschluss der Proteinwerte oberhalb  $360 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ .

	Wertepaare	Spearman r	p- Wert
Recovery (%)	81	-0,0305	0,7868
FVC (% Soll)	67	0,1522	0,2190
FEV <sub>1</sub> (% Soll)	80	0,1479	0,1906
MEF <sub>25</sub> (% Soll)	79	0,07757	0,4968
MEF <sub>75/25</sub> (% Soll)	76	0,1403	0,2268
Body Mass Index (kg/m <sup>2</sup> )	81	0,04869	0,6660
Alter (Jahre)	81	0,01575	0,8890
Adsorption (mN/m)	75	-0,08605	0,4629
Minimale Oberflächenspannung (mN/m)	75	-0,001060	0,9928
% Offen	79	-0,2395	0,0335 *
initialer Druck (cm H <sub>2</sub> O)	79	0,008022	0,9441
Gesamtzellzahl (10 <sup>6</sup> /ml)	76	0,1648	0,1549
Neutrophile Granulozyten (%)	80	0,4142	0,0001 *
Neutrophile Granulozyten (10 <sup>6</sup> /ml)	80	0,1986	0,0773
SP-A (ng/ml)	81	0,1682	0,1334
SP-B (ng/ml)	68	0,4065	0,0006 *
SP-C (ng/ml)	68	0,02168	0,8607
SP-D (ng/ml)	81	-0,0006098	0,9957
Phospholipidkonzentration (µg/ml)	79	0,5617	0,0001 *

Tabelle 22: Korrelationen der Proteinkonzentration; \*statistisch signifikant.

### b. Phospholipidkonzentration

Die Phospholipidkonzentration korrelierte, wie bereits weiter oben gezeigt, mit der relativen Zahl der neutrophilen Granulozyten in der Lavage (Abbildung 91) und nach Ausschluss der Phospholipidwerte oberhalb der dreifachen Standardabweichung auch mit der absoluten Zahl der neutrophilen Granulozyten (Abbildung 95). Sie korrelierte zudem mit der Konzentration der Surfactantproteine A und B (Abbildung 99, 100). Wie bereits dargestellt korrelierte die Proteinkonzentration mit der Phospholipidkonzentration (Abbildung 96). Signifikante

Korrelationen mit den klinischen und den biophysikalischen Parametern konnten nicht nachgewiesen werden (siehe Tabelle 23).

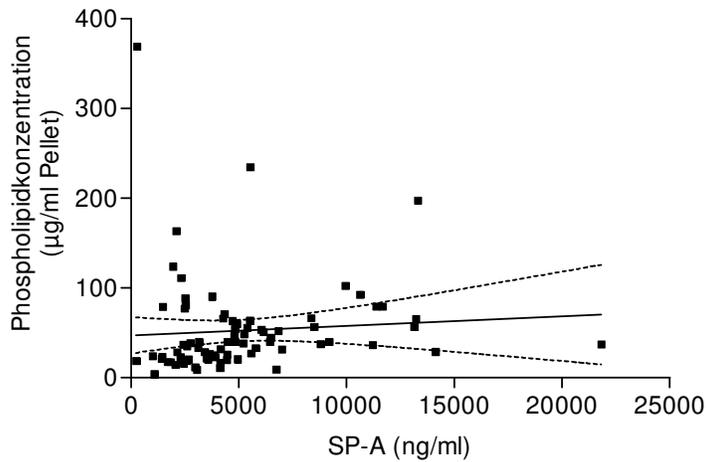


Abbildung 99: Surfactantprotein A und Phospholipidkonzentration (Spearman  $p= 0,0019$ ) mit linearer Regressionskurve. Nach Ausschluss der Phospholipidwerte oberhalb der dritten Standardabweichung ( $197 \mu\text{g/ml}$ ) aus der Statistik, blieb diese Korrelation signifikant (Spearman  $r= 0,371$ ;  $p= 0,001$ ).

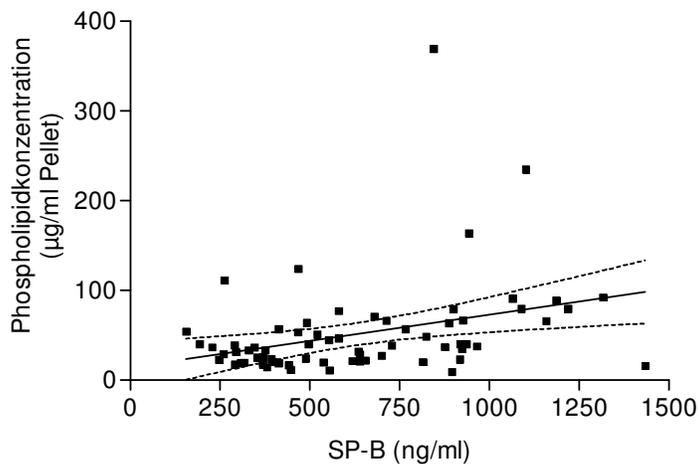


Abbildung 100: Surfactantprotein B und Phospholipidkonzentration (Spearman  $p= 0,0009$ ) mit linearer Regressionskurve. Nach Ausschluss der Phospholipidwerte oberhalb der dritten Standardabweichung ( $197 \mu\text{g/ml}$ ) aus der Statistik, blieb diese Korrelation signifikant (Spearman  $r= 0,3592$ ;  $p= 0,0031$ ).

	Wertepaare	Spearman r	p- Wert
Recovery (%)	79	0,0571	0,6170
FVC (% Soll)	65	0,08510	0,5003
FEV <sub>1</sub> (% Soll)	78	0,03633	0,7522
MEF <sub>25</sub> (% Soll)	77	0,09469	0,4127
MEF <sub>75/25</sub> (% Soll)	74	0,1515	0,1976
Body Mass Index (kg/m <sup>2</sup> )	79	0,1070	0,3477
Alter (Jahre)	79	0,1401	0,2180
Adsorption (mN/m)	73	-0,07768	0,5136
Minimale Oberflächenspannung (mN/m)	73	0,04521	0,7041
% Offen	79	-0,1425	0,2104
initialer Druck (cm H <sub>2</sub> O)	79	-0,02083	0,8554
Gesamtzellzahl (10 <sup>6</sup> /ml)	74	0,1479	0,2086
Neutrophile Granulozyten (%)	78	0,2451	0,0306 *
Neutrophile Granulozyten (10 <sup>6</sup> /ml)	78	0,2122	0,0621
SP-A (ng/ml)	79	0,3439	0,0019 *
SP-B (ng/ml)	68	0,3943	0,0009 *
SP-C (ng/ml)	68	0,03363	0,7854
SP-D (ng/ml)	79	0,002093	0,9854
Proteinkonzentration (µg/ml)	79	0,5617	<0,0001 *

Tabelle 23: Korrelationen der Phospholipidkonzentration; \*statistisch signifikant.

### c. Surfactantprotein A

Wie bereits gezeigt, korrelierte die Konzentration des Surfactantprotein A negativ mit der minimalen Oberflächenspannung (Abbildung 73) und dem initialen Druck (Abbildung 84). Die Konzentration des Surfactantprotein A korrelierte mit der Phospholipidkonzentration (Abbildung 99). Es bestand ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen den Konzentrationen der Surfactantproteine A und B (Abbildung 101). Nach Ausschluss der Werte von Surfactantprotein D und A oberhalb der vierfachen Standardabweichung wurde die

Korrelation zwischen beiden Surfactantproteinen signifikant (Abbildung 102). Es wurden keine signifikanten Korrelationen mit den klinischen Parametern und den Zellzahlen nachgewiesen (siehe Tabelle 24).

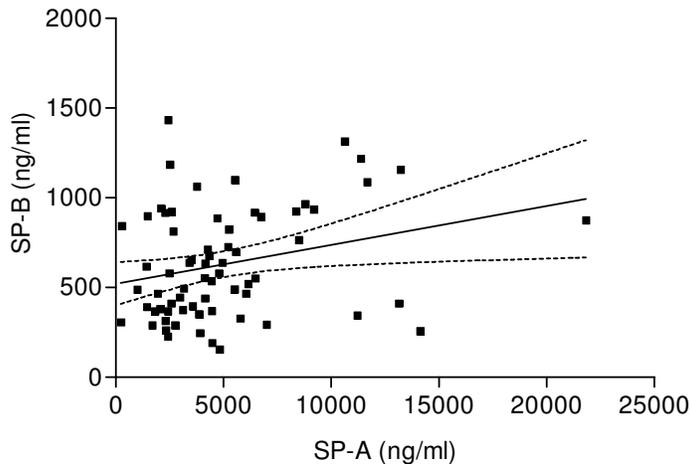


Abbildung 101: Surfactantprotein A und Surfactantprotein B (Spearman  $p= 0,0379$ ) mit linearer Regressionskurve. Nach Ausschluss des Surfactantprotein A Wertes oberhalb der vierfachen Standardabweichung ( $> 21000$  ng/ml) von der Statistik, war diese Korrelation nicht mehr signifikant (Spearman  $r= 0,2375$ ;  $p= 0,0529$ ).

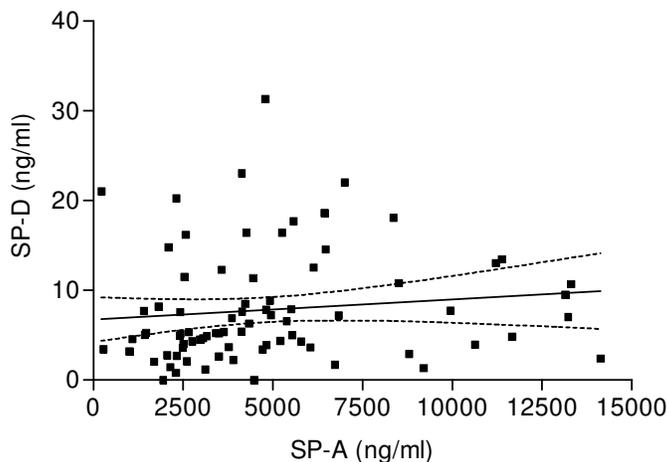


Abbildung 102: Streudiagramm von Surfactantprotein A und Surfactantprotein D (Spearman  $r= 0,237$ ;  $p= 0,036$ ) mit linearer Regressionskurve nach Ausschluss des Surfactantprotein D Wertes bei 102,09 ng/ml und des Surfactantprotein A Wertes bei 21811 ng/ml.

	Wertepaare	Spearman r	p- Wert
Recovery (%)	81	0,0746	0,5080
FVC (% Soll)	67	-0,1276	0,3035
FEV <sub>1</sub> (% Soll)	80	-0,1347	0,2334
MEF <sub>25</sub> (% Soll)	79	0,08135	0,4760
MEF <sub>75/25</sub> (% Soll)	76	-0,1201	0,3014
Body Mass Index (kg/m <sup>2</sup> )	81	0,04923	0,6625
Alter (Jahre)	81	0,1413	0,2082
Adsorption (mN/m)	75	-0,1681	0,1493
Minimale Oberflächenspannung (mN/m)	75	-0,3088	0,0070 *
% Offen	79	0,1263	0,2672
initialer Druck (cm H <sub>2</sub> O)	79	-0,3465	0,0018 *
Gesamtzellzahl (10 <sup>6</sup> /ml)	76	0,1322	0,2549
Neutrophile Granulozyten (%)	80	0,02075	0,8550
Neutrophile Granulozyten (10 <sup>6</sup> /ml)	80	0,2036	0,0701
SP-B (ng/ml)	68	0,2523	0,0379 *
SP-C (ng/ml)	68	0,1628	0,1848
SP-D (ng/ml)	81	0,2019	0,0707
Proteinkonzentration (µg/ml)	81	0,1682	0,1334
Phospholipidkonzentration (µg/ml)	79	0,3439	0,0019 *

Tabelle 24: Korrelationen des Surfactantprotein A; \*statistisch signifikant.

#### d. Surfactantprotein B

Die Konzentration des Surfactantprotein B korrelierte, wie bereits gezeigt, mit der Konzentration des Surfactantprotein A (Abbildung 101), der Proteinkonzentration (Abbildung 98) und der Phospholipidkonzentration (Abbildung 100). Es bestand ansonsten noch eine hochsignifikante Korrelation mit dem Surfactantprotein C. Signifikante Korrelationen mit den übrigen hier betrachteten Parametern wurden nicht nachgewiesen (Tabelle 25).

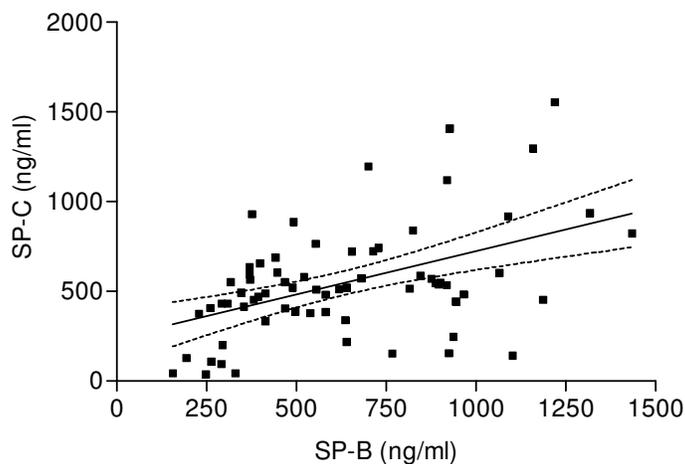


Abbildung 103: Surfactantprotein B und Surfactantprotein C (Spearman  $p = 0,0002$ ) mit linearer Regressionskurve.

	Wertepaare	Spearman r	p- Wert
Recovery (%)	68	-0,0630	0,6097
FVC (% Soll)	56	0,1195	0,3806
FEV <sub>1</sub> (% Soll)	68	-0,03323	0,7879
MEF <sub>25</sub> (% Soll)	67	-0,06383	0,6078
MEF <sub>75/25</sub> (% Soll)	64	-0,0938	0,4610
Body Mass Index (kg/m <sup>2</sup> )	68	-0,00571	0,9632
Alter (Jahre)	68	-0,03668	0,7665
Adsorption (mN/m)	64	0,1462	0,2490
Minimale Oberflächenspannung (mN/m)	64	0,1628	0,1987
% Offen	68	-0,0005919	0,9962
initialer Druck (cm H <sub>2</sub> O)	68	0,0323	0,7937
Gesamtzellzahl (10 <sup>6</sup> /ml)	64	0,1637	0,1963
Neutrophile Granulozyten (%)	68	0,2688	0,0267 *
Neutrophile Granulozyten (10 <sup>6</sup> /ml)	68	0,1695	0,1669
SP-A (ng/ml)	68	0,2523	0,0379 *
SP-C (ng/ml)	68	0,4402	0,0002 *

SP-D (ng/ml)	68	-0,006719	0,9566
Proteinkonzentration ( $\mu\text{g/ml}$ )	68	0,4065	0,0006 *
Phospholipidkonzentration ( $\mu\text{g/ml}$ )	68	0,3943	0,0009 *

Tabelle 25: Korrelationen des Surfactantprotein B; \*statistisch signifikant.

### e. Surfactantprotein C

Wie bereits dargestellt, korrelierte die Konzentration an Surfactantprotein C mit der Konzentration des Surfactantprotein B (Abbildung 103). Zusätzlich bestand eine hochsignifikante Korrelation mit der Konzentration des Surfactantprotein D. Zu keinen der übrigen Parameter bestand ein signifikanter Zusammenhang (siehe Tabelle 26).

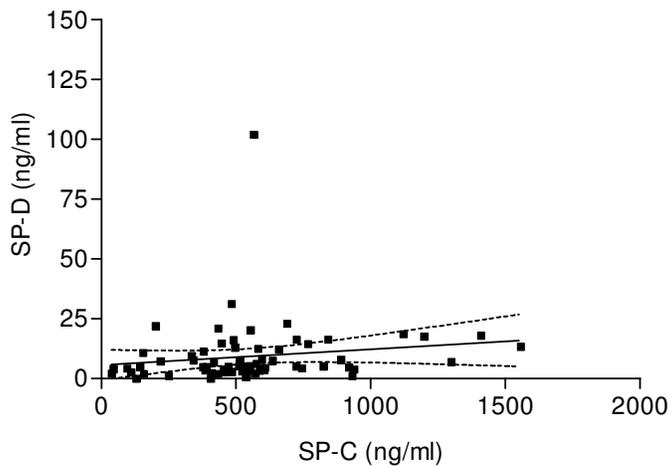


Abbildung 104: Konzentration von Surfactantprotein C und Surfactantprotein D (Spearman  $p=0,0093$ ) mit linearer Regressionskurve. Nach Ausschluss des SP-D Wertes bei 102,09 ng/ml, der außerhalb des Bereichs der vierfachen Standardabweichung lag, blieb diese Korrelation signifikant (Spearman  $r=0,309$ ;  $p=0,0109$ ).

	Wertepaare	Spearman r	p- Wert
Recovery (%)	68	0,0717	0,5612
FVC (% Soll)	56	-0,1232	0,3658
FEV <sub>1</sub> (% Soll)	68	-0,1061	0,3893
MEF <sub>25</sub> (% Soll)	67	0,03079	0,8046
MEF <sub>75/25</sub> (% Soll)	64	-0,1522	0,2300
Body Mass Index ( $\text{kg/m}^2$ )	68	-0,1139	0,3553

Alter (Jahre)	68	-0,03486	0,7778
Adsorption (mN/m)	64	0,09353	0,4623
Minimale Oberflächenspannung (mN/m)	64	-0,1662	0,1894
% Offen	68	0,1249	0,3102
initialer Druck (cm H <sub>2</sub> O)	68	-0,05369	0,6636
Gesamtzellzahl (10 <sup>6</sup> /ml)	64	0,05823	0,6477
Neutrophile Granulozyten (%)	68	-0,07037	0,5685
Neutrophile Granulozyten (10 <sup>6</sup> /ml)	68	0,07817	0,5263
SP-A (ng/ml)	68	0,1628	0,1848
SP-B (ng/ml)	68	0,4402	0,0002 *
SP-D (ng/ml)	68	0,3131	0,0093 *
Proteinkonzentration (µg/ml)	68	0,02168	0,8607
Phospholipidkonzentration (µg/ml)	68	0,03363	0,7854

Tabelle 26: Korrelationen des Surfactantprotein C; \*statistisch signifikant.

#### f. Surfactantprotein D

Die Konzentration von Surfactantprotein D war statistisch abhängig von der Recovery der Bronchiallavage (Abbildung 105). Es konnte eine hochsignifikante negative Korrelation zwischen der Konzentration des Surfactantprotein D und der minimalen Oberflächenspannung statistisch belegt werden (Abbildung 74). Zum % Offen bestand ebenfalls eine signifikante Korrelation (Abbildung 82). Nach Ausschluss des Surfactantprotein D Wertes oberhalb der vierfachen Standardabweichung (102,09 ng/ml) war die Signifikanz bezüglich der biophysikalischen Werte unverändert. Es waren signifikante Korrelationen zur Gesamtzellzahl (Abbildung 87), zur Zahl der neutrophilen Granulozyten (Abbildung 94), zum prozentualen Anteil der neutrophilen Granulozyten (Abbildung 90) und zur Konzentration des Surfactantprotein C (Abbildung 104) nachweisbar (siehe Tabelle 27).

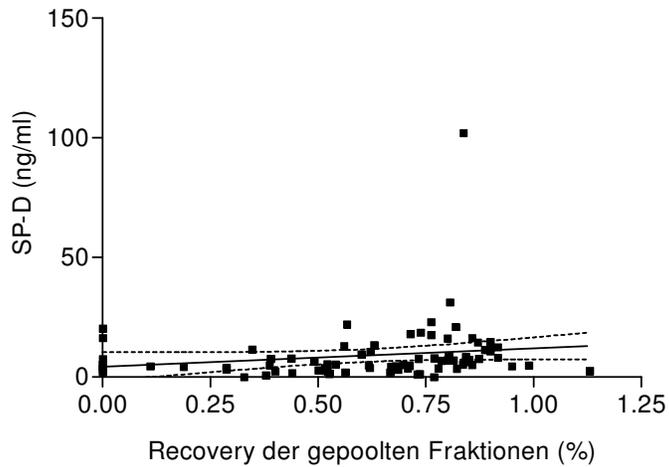


Abbildung 105: Streudiagramm von der Recovery und der Konzentration Surfactantprotein D (Spearman  $p = 0,3505$ ) mit linearer Regressionskurve; Nach Ausschluss des SP-D Wertes bei 102,09 ng/ml, der außerhalb des Bereichs der vierfachen Standardabweichung lag, blieb diese Korrelation signifikant (Spearman  $r = 0,3366$ ;  $p = 0,0023$ ).

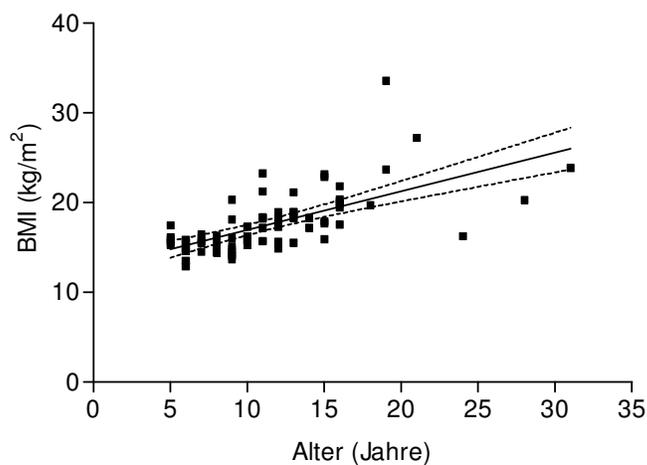
	Wertepaare	Spearman r	p- Wert
Recovery (%)	81	0,3505	0,0013*
FVC (% Soll)	67	-0,01457	0,9069
FEV <sub>1</sub> (% Soll)	80	-0,01009	0,9292
MEF <sub>25</sub> (% Soll)	79	0,07139	0,5319
MEF <sub>75/25</sub> (% Soll)	76	-0,08455	0,4677
Body Mass Index (kg/m <sup>2</sup> )	81	-0,1334	0,2351
Alter (Jahre)	81	-0,1716	0,1256
Adsorption (mN/m)	75	-0,1504	0,1978
Minimale Oberflächenspannung (mN/m)	75	-0,4484	<0,0001 *
% Offen	79	0,2803	0,0123 *
initialer Druck (cm H <sub>2</sub> O)	79	-0,1595	0,1603
Gesamtzellzahl (10 <sup>6</sup> /ml)	76	-0,2887	0,0114 *
Neutrophile Granulozyten (%)	80	-0,3814	0,0005 *
Neutrophile Granulozyten (10 <sup>6</sup> /ml)	80	-0,2838	0,0107 *

SP-A (ng/ml)	81	0,2019	0,0707
SP-B (ng/ml)	68	-0,0067	0,9566
SP-C (ng/ml)	68	0,3131	0,0093 *
Proteinkonzentration ( $\mu\text{g/ml}$ )	81	-0,00061	0,9957
Phospholipidkonzentration ( $\mu\text{g/ml}$ )	79	0,002093	0,9854

Tabelle 27: Korrelationen des Surfactantprotein D; \* statistisch signifikant.

#### 4. Alter

Es bestand eine signifikante Korrelation zwischen dem Alter und dem Body Mass Index (Abbildung 106). Wie bereits oben beschrieben, korrelierten die Adsorption (Abbildung 67) und die minimale Oberflächenspannung (Abbildung 71) positiv und das % Offen (Abbildung 76) negativ mit dem Alter der Patienten (siehe Tabelle 28).

Abbildung 106: Streudiagramm von Alter und Body Mass Index der Patienten (Spearman  $p < 0,0001$ ) mit linearer Regressionskurve.

	Wertepaare	Spearman r	p- Wert
Recovery (%)	81	-0,1076	0,3389
FVC (% Soll)	67	0,06930	0,5774
FEV <sub>1</sub> (% Soll)	80	0,09268	0,4135
MEF <sub>25</sub> (% Soll)	79	-0,1217	0,2853
MEF <sub>75/25</sub> (% Soll)	76	0,01946	0,8675

Body Mass Index (kg/m <sup>2</sup> )	81	0,7030	<0.0001 *
Adsorption (mN/m)	75	0,3191	0,0053 *
Minimale Oberflächenspannung (mN/m)	75	0,2484	0,0317 *
% Offen	79	-0,3057	0,0061 *
initialer Druck (cm H <sub>2</sub> O)	79	0,1233	0,2789
Gesamtzellzahl (10 <sup>6</sup> /ml)	76	0,1727	0,1357
Neutrophile Granulozyten (%)	80	0,2033	0,0705
Neutrophile Granulozyten (10 <sup>6</sup> /ml)	80	0,1728	0,1252
SP-A (ng/ml)	81	-0,1413	0,2082
SP-B (ng/ml)	68	-0,03668	0,7665
SP-C (ng/ml)	68	-0,03486	0,7778
SP-D (ng/ml)	81	-0,1716	0,1256
Proteinkonzentration (µg/ml)	81	0,01575	0,8890
Phospholipidkonzentration (µg/ml)	79	-0,1401	0,2180

Tabelle 28: Korrelationen des Alters der Patienten; \*statistisch signifikant.

## 5. Body Mass Index

Der Body Mass Index der Patienten korrelierte mit zwei Lungenfunktionsparametern: FVC und FEV<sub>1</sub> (Abbildung 107, 108). Wie bereits oben gezeigt bestanden statistisch signifikante Zusammenhänge zwischen dem Body Mass Index und dem Alter (Abbildung 106), der Adsorption (Abbildung 63) und dem % Offen (Abbildung 75) (siehe Tabelle 29).

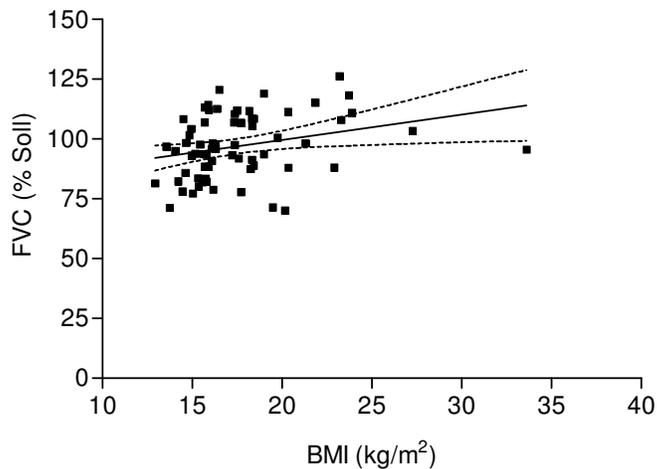


Abbildung 107: Streudiagramm von Body Mass Index und forcierter Vitalkapazität (Spearman  $p = 0,0053$ ) mit linearer Regressionskurve.

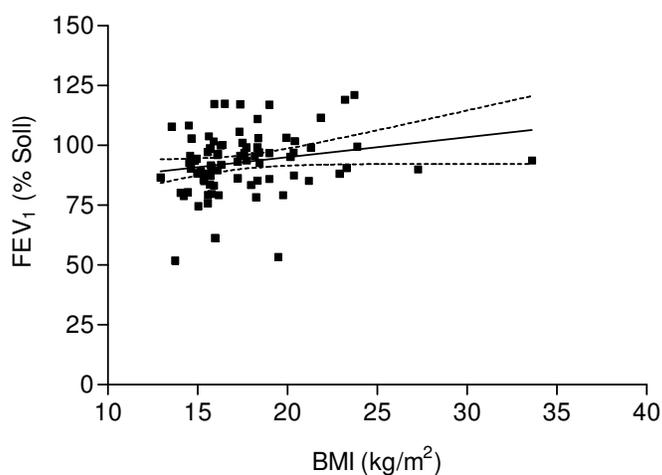


Abbildung 108: Streudiagramm von Body Mass Index und der Einsekundenkapazität (Spearman  $p = 0,0053$ ) mit linearer Regressionskurve.

	Wertepaare	Spearman r	p- Wert
Recovery (%)	81	0,0514	0,6486
FVC (% Soll)	67	0,3373	0,0053 *
FEV <sub>1</sub> (% Soll)	80	0,2775	0,0127 *
MEF <sub>25</sub> (% Soll)	79	-0,01827	0,8730
MEF <sub>75/25</sub> (% Soll)	76	0,1339	0,2487
Alter (Jahre)	81	0,7030	<0.0001 *
Adsorption (mN/m)	75	0,2496	0,0308 *
Minimale Oberflächenspannung (mN/m)	75	0,1396	0,2323
% Offen	79	-0,2983	0,0076 *
initialer Druck (cm H <sub>2</sub> O)	79	0,1837	0,1050
Gesamtzellzahl (10 <sup>6</sup> /ml)	76	0,1837	0,1121
Neutrophile Granulozyten (%)	80	0,2035	0,0702
Neutrophile Granulozyten (10 <sup>6</sup> /ml)	80	0,1963	0,0810
SP-A (ng/ml)	81	-0,04923	0,6625
SP-B (ng/ml)	68	-0,005707	0,9632
SP-C (ng/ml)	68	-0,1139	0,3553
SP-D (ng/ml)	81	-0,1334	0,2351
Proteinkonzentration (µg/ml)	81	0,04869	0,6660
Phospholipidkonzentration (µg/ml)	79	-0,1070	0,3477

Tabelle 29: Korrelationen des Body Mass Indexes; \*statistisch signifikant.

## E. Sequenzielle bronchoalveoläre Lavage

Die Patienten der BEAT- Studie wurden mit einem Abstand von jeweils 18 Monaten insgesamt dreimal lavagiert (siehe Methoden).

In dieser Arbeit wurde die Verlaufsanalyse nur anhand der Patienten durchgeführt, bei denen von allen drei Zeitpunkten genügend Lavagematerial verfügbar war, um die biophysikalischen Eigenschaften untersuchen zu können. Bei 37 Patienten war eine Menge von mehr als 5 ml an BAL- Flüssigkeit von allen drei BALs verfügbar. Für eine Messung der Oberflächenspannung mit dem pulsierenden Blasensurfactometer war eine Phospholipidmenge von mindestens 40 µg erforderlich. Diese Menge lag bei 22 dieser Patienten vor. Nachdem Proben von zwei Patienten verloren gingen, blieben insgesamt 20 Patienten. Diese hatten ein mittleres Alter von 9,5 Jahren (5 – 16 Jahre), 13 waren weiblich und 7 männlich (siehe Tabelle 30 und Anhang), 9 Patienten mit und 11 ohne Pulmozyme (für die mikrobiologischen Befunde und Einzelwerte siehe Anhang).

Da für die Messung mit dem Kapillarsurfactometer nur eine Menge von 10 µg Phospholipid notwendig war konnten diesbezüglich 9 zusätzliche Patienten analysiert werden. Für die Darstellung der Verläufe aller Parameter (z.B. Lungenfunktion, Proteinkonzentrationen, Zellzahlen...) wurde primär die Gruppe der 20 Patienten betrachtet. Stellten sich die Verläufe bei den 29 Patienten anders dar, so wurde das an entsprechender Stelle erwähnt.

### 1. Unterschied zwischen den Verlaufsgruppen und der Grundgesamtheit

Zunächst wurde statistisch getestet, ob sich die im Verlauf beobachteten Patienten (n= 20 bzw. 29) bezüglich der untersuchten Parameter von der Grundgesamtheit (n= 81) unterschieden. Dazu wurden die Werte der untersuchten Parameter der ersten Lavage mit dem nichtgepaarten nichtparametrischen Test nach Mann Whitney verglichen. Es waren keine signifikanten Unterschiede festzustellen (siehe Tabelle im Anhang).

## 2. Verlauf

Die Werte der drei Lavagezeitpunkte wurden mit dem gepaarten nichtparametrischen Test nach Wilcoxon verglichen (Tabelle 30, 31). Der Test nach Friedman konnte wegen der bei einigen Parametern fehlenden Werte nicht angewendet werden.

	1. Lavage (0 Jahre)	2. Lavage (1,5 Jahre)	3. Lavage (3 Jahre)
FVC (% Soll)	90,95 (71,34 - 120,70), 19	87,96 (62,64 - 125,50), 18	85,85 (66,31 - 124,10), 16
FEV <sub>1</sub> (% Soll)	93,54 (51,97 - 117,50), 20	87,43 (61,32 - 127,90), 20	76,77 (61,05 - 119,90), 17
MEF <sub>25</sub> (% Soll)	69,24 (27,14 - 154,60), 20	47,26 (19,35 - 127,90), 20	38,50 (15,79 - 107,90), 17
MEF <sub>75/25</sub> (% Soll)	75,87 (32,06 - 128,20), 20	80,00 (46,21 - 124,70), 19	74,76 (34,75 - 123,40), 15
Body Mass Index (kg/m <sup>2</sup> )	15,98 (12,93 - 21,85), 20	16,44 (13,97 - 23,70), 20	17,14 (14,58 - 25,46), 20
Adsorption (mN/m)	45,7 (20,3 - 55,4), 20	45,5 (22,9 - 63,9), 20	50,7 (22,9 - 69,6), 20
Min. Oberflächensp. (mN/m)	18,6 (0,0 - 21,0), 20	18,0 (1,1 - 32,7), 20	19,8 (4,0 - 46,2), 20
% Offen	9,1 (0,0 - 86,8), 20	75,4 (0,1 - 95,6), 20	9,6 (0,0 - 91,3), 20
initialer Druck (cm H <sub>2</sub> O)	7,3 (4,6 - 10,8), 20	8,2 (5,2 - 10,7), 20	8,7 (5,4 - 11,9), 20
Gesamtzellzahl (10 <sup>6</sup> /ml)	0,56 (0,01 - 108,00), 19	5,12 (0,08 - 137,50), 20	3,22 (0,22 - 114,20), 20
Neutrophile Granulozyten (%)	15,35 (0,60 - 71,00), 20	20,20 (0,80 - 65,00), 19	21,65 (1,30 - 93,10), 20
Neutrophile Granulozyten (10 <sup>6</sup> /ml)	0,0517 (0,000 - 76,680), 20	0,233 (0,002 - 32,160), 19	0,711 (0,0029 - 73,320), 20
SP-A (ng/ml)	5312,0 (2409,0 - 13218,0), 20	5580,0 (1334,0 - 13048,0), 20	3782,0 (128,6 - 13624,0), 19

SP-B (ng/ml)	397,5 (247,2 - 1219,0), 15	897,5 (472,5 - 1252,0), 20	847,0 (375,5 - 1602,0), 20
SP-C (ng/ml)	635,0 (37,0 - 1557,0), 15	638,7 (391,5 - 2012,0), 20	581,2 (15,5 - 1489,0), 20
SP-D (ng/ml)	7,41 (1,17 - 22,06), 20	5,41 (1,48 - 43,46), 20	6,25 (0,00 - 48,21), 20
Proteinkonzentration (µg/ml)	104,70 (52,60 - 382,40), 20	97,88 (46,60 - 193,40), 20	94,20 (38,44 - 258,80), 19
Phospholipid - konzentration (µg/ml)	50,37 (19,45 - 102,50), 20	33,56 (20,75 - 429,40), 20	32,64 (14,84 - 70,00), 20

Tabelle 30: Median (Spannweite), Anzahl.

	1 vs. 2 Lavage	2 vs. 3 Lavage	1 vs. 3 Lavage
FVC (% Soll)	0,9152	0,0730	0,2293
FEV <sub>1</sub> (% Soll)	0,6342	0,0511	0,0955
MEF <sub>25</sub> (% Soll)	0,0313 *	0,0865	0,0226 *
MEF <sub>75/25</sub> (% Soll)	0,9119	0,0107 *	0,0730
Body Mass Index (kg/m <sup>2</sup> )	0,0006 *	0,0067 *	0,0002 *
Adsorption (mN/m)	0,9182	0,1823	0,0183 *
Minimale Oberflächenspannung (mN/m)	0,6882	0,0308 *	0,0104 *
% Offen	0,0026 *	0,0377 *	0,8593
initialer Druck (cm H <sub>2</sub> O)	0,2513	0,4039	0,0084 *
Gesamtzellzahl (10 <sup>6</sup> /ml)	0,0308 *	0,5820	0,1013
Neutrophile Granulozyten (%)	0,5004	0,0308 *	0,1067
Neutrophile Granulozyten (10 <sup>6</sup> /ml)	0,1395	0,3394	0,0492 *
SP-A (ng/ml)	0,9759	0,0659	0,1192
SP-B (ng/ml)	0,0479 *	0,6610	0,0256 *
SP-C (ng/ml)	0,5614	0,0880	0,2769
SP-D (ng/ml)	0,4170	0,9777	0,4387
Proteinkonzentration (µg/ml)	0,4387	0,9759	0,6364
Phospholipidkonzentration (µg/ml)	0,5820	0,0313 *	0,0060 *

Tabelle 31: p- Werte des Wilcoxon- Tests; \*statistisch signifikanter Unterschied.

### a. Verlauf der biophysikalischen Parameter

Die Oberflächenspannungswerte der Adsorption stiegen von der ersten zur dritten Lavage signifikant an (Abbildung 109, 110). Bei der minimalen Oberflächenspannung waren die Werte des dritten Lavagezeitpunkts signifikant höher, als die der ersten beiden Zeitpunkte (Abbildung 111, 112). Das % Offen des zweiten Lavagezeitpunkts war verglichen mit den Werten aus dem ersten und dem dritten Zeitpunkt signifikant höher. Die Werte des ersten und dritten Zeitpunkts unterschieden sich aber nicht wesentlich. Die Gruppe der 29 Patienten verhielt sich ähnlich. Auch hier gab es einen signifikanten Anstieg vom ersten zum zweiten Lavagezeitpunkt (Abbildung 113, 114). Der initiale Druck stiegen bei beiden Gruppen vom ersten zum dritten Lavagezeitpunkt signifikant an. Der Anstieg der % Offen- Werte zum zweiten Zeitpunkt wirkte sich nicht auf den initialen Druck aus (Abbildung 115, 116) (siehe Tabelle 30, 31).

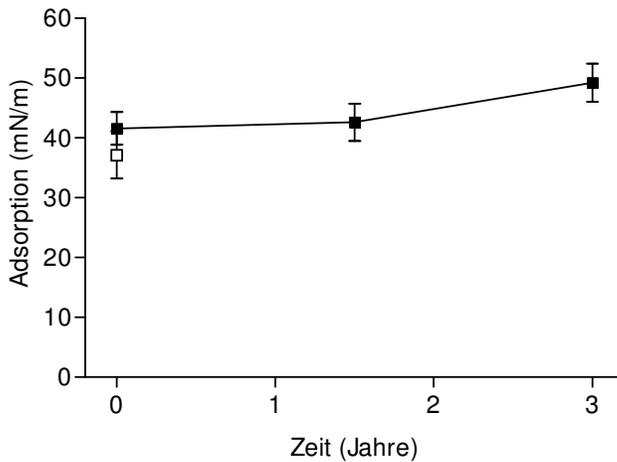


Abbildung 109: Verlauf der Adsorption; arithmetisches Mittel und Standardmessfehler (■Cystische Fibrose, □Kontrollgruppe).

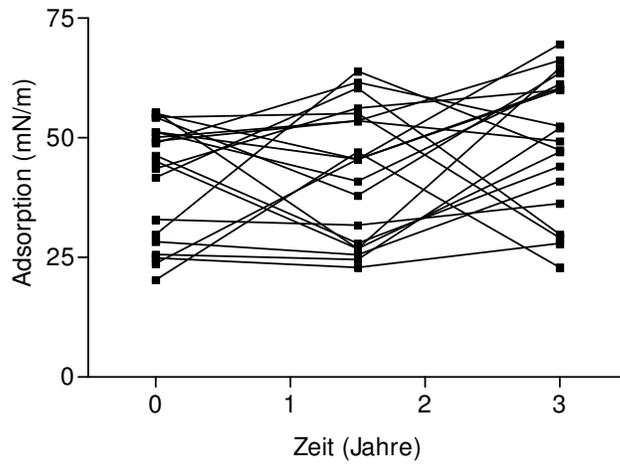


Abbildung 110: Einzelwerte der Adsorption im Verlauf.

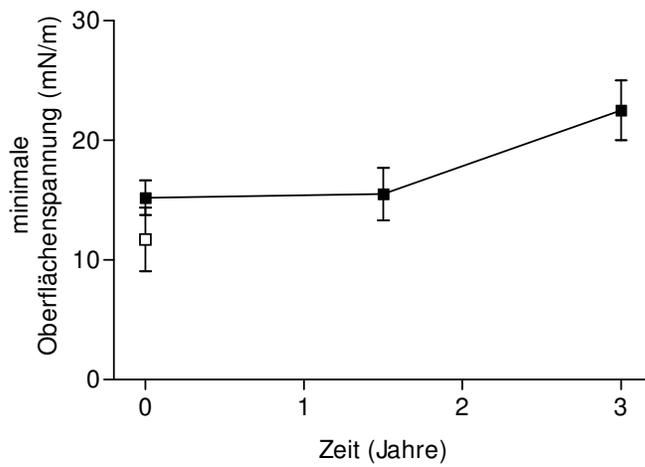


Abbildung 111: Verlauf minimalen Oberflächenspannung; arithmetisches Mittel und Standardmessfehler (■ Cystische Fibrose, □ Kontrollgruppe).

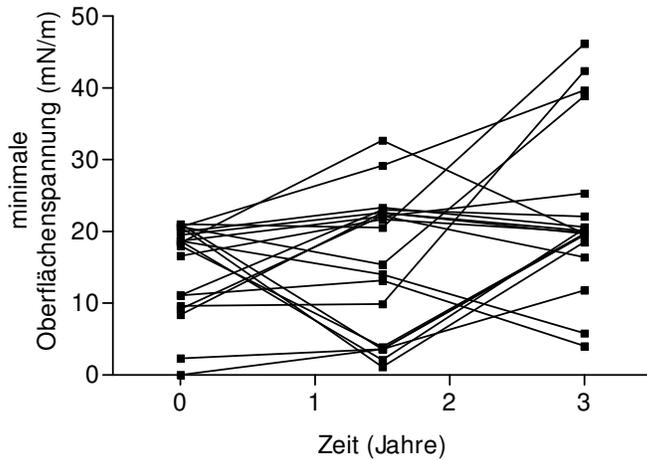


Abbildung 112: Einzelwerte der minimalen Oberflächenspannung im Verlauf.

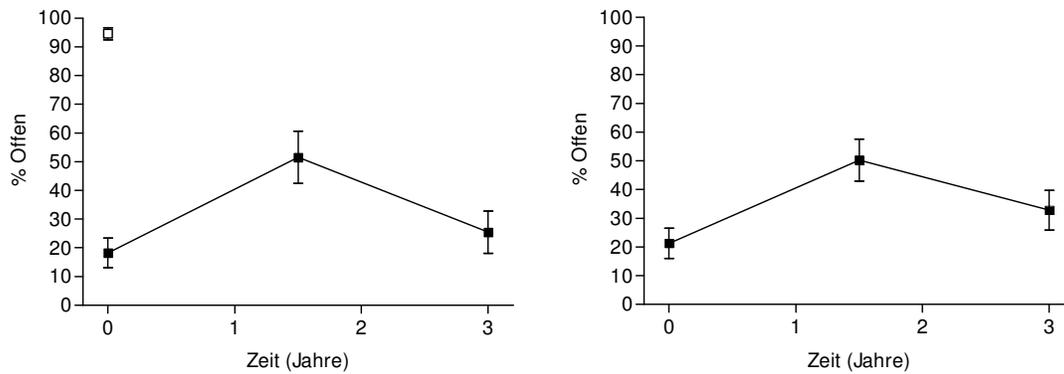


Abbildung 113: Verlauf des % Offen; arithmetisches Mittel und Standardmessfehler; links: Gruppe mit 20 Patienten, rechts: Gruppe mit insgesamt 29 Patienten (■ Cystische Fibrose, □ Kontrollgruppe).

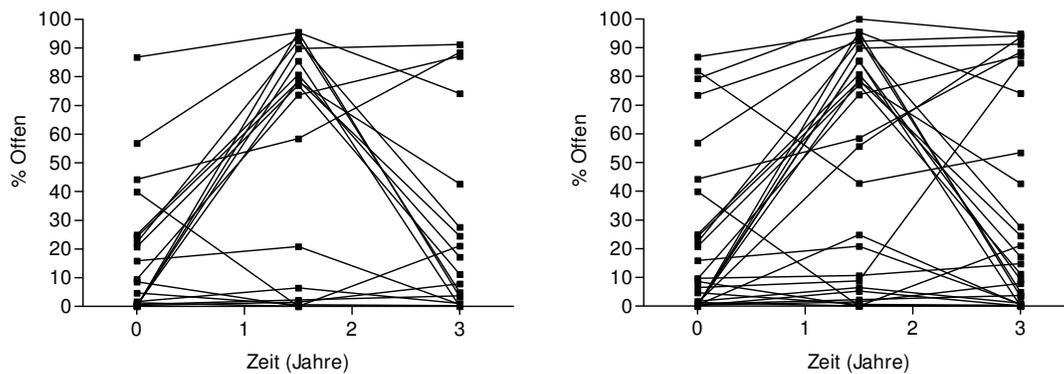


Abbildung 114: Einzelwerte des % Offen im Verlauf; links: Gruppe mit 20 Patienten, rechts: Gruppe mit insgesamt 29 Patienten.

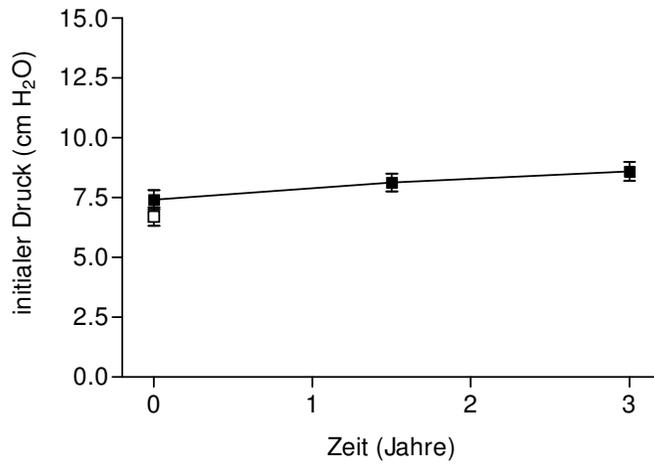


Abbildung 115: Verlauf des initialen Drucks; arithmetisches Mittel und Standardmessfehler (■ Cystische Fibrose, □ Kontrollgruppe).

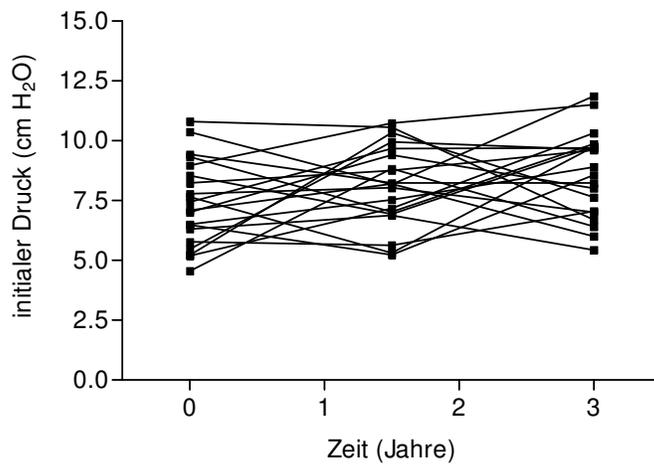


Abbildung 116: Einzelwerte des initialen Drucks im Verlauf.

## b. Verlauf von Lungenfunktion und Body Mass Index

Die forcierte Vitalkapazität (FVC) und die Einsekundenkapazität ( $FEV_1$ ) verschlechterten sich im Beobachtungszeitraum nicht signifikant (Abbildung 117, 118). Auch die Werte des  $MEF_{75/25}$  waren sehr stabil (Abbildung 120). Der maximale expiratorische Fluss bei 25 % der Vitalkapazität ( $MEF_{25}$ ) änderte sich dagegen deutlich: Die Werte zum Zeitpunkt der zweiten und dritten Lavage waren signifikant schlechter als die Ausgangswerte (Abbildung 119). Der Body Mass Index stieg während des Beobachtungszeitraums kontinuierlich und signifikant an (Abbildung 121) (siehe Tabelle 30, 31).

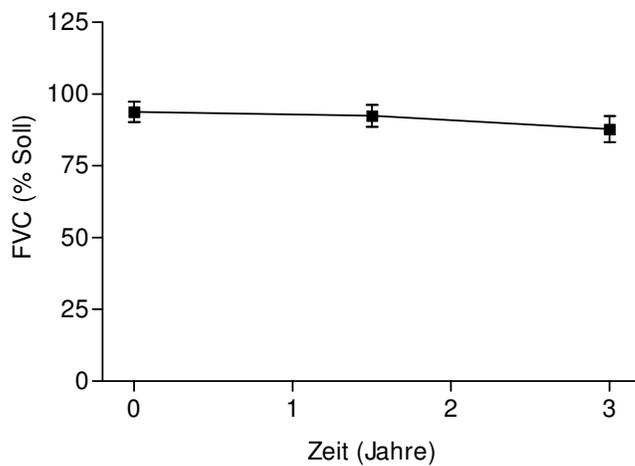


Abbildung 117: Verlauf des FVC; arithmetisches Mittel und Standardmessfehler.

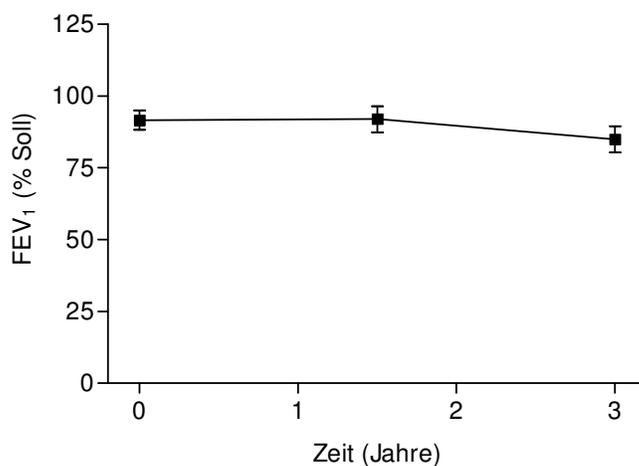
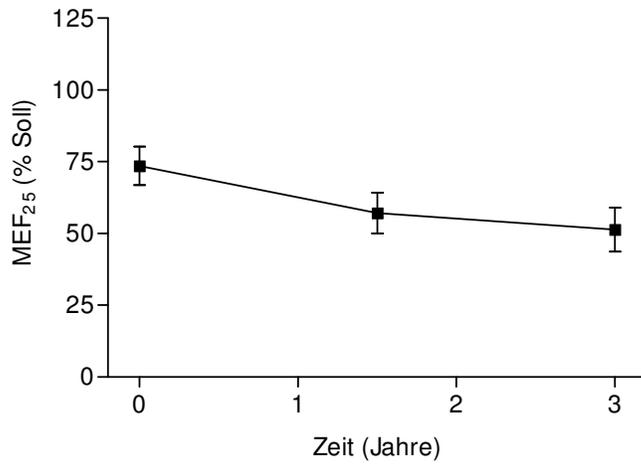
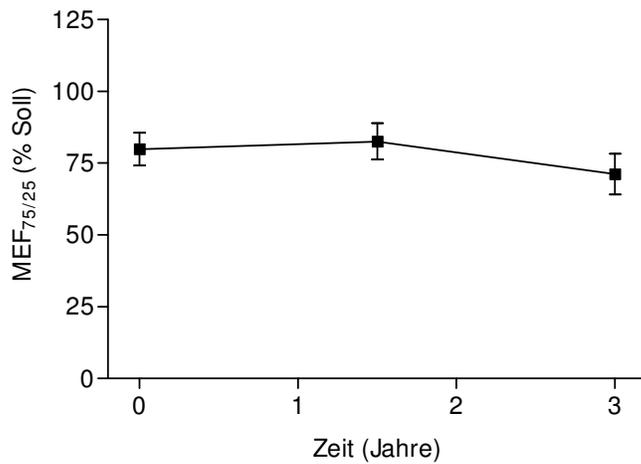


Abbildung 118: Verlauf des  $FEV_1$ ; arithmetisches Mittel und Standardmessfehler.

Abbildung 119: Verlauf des MEF<sub>25</sub>; arithmetisches Mittel und Standardmessfehler.Abbildung 120: Verlauf des MEF<sub>75/25</sub>; arithmetisches Mittel und Standardmessfehler.

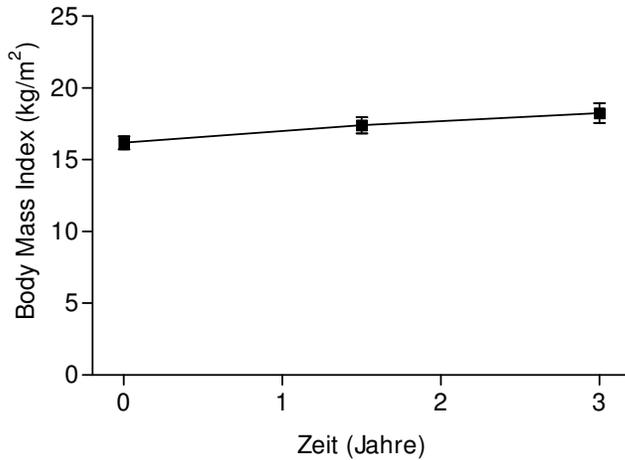


Abbildung 121: Verlauf des Body Mass Index; arithmetisches Mittel und Standardmessfehler.

### c. Verlauf der Zellzahlen

Die Anzahl der Zellen in der BAL- Flüssigkeit nahm im Beobachtungszeitraum insgesamt zu. Aufgrund der sehr großen interindividuellen Unterschiede war der Anstieg oft nicht statistisch signifikant: Die Gesamtzellzahl der zweiten Lavage war signifikant höher als zum Zeitpunkt der ersten Lavage. Der Zuwachs im Gesamtzeitraum war aber nicht signifikant (Abbildung 122). Auch die relative Zahl neutrophiler Granulozyten stieg im Beobachtungszeitraum an. Wegen der relativ großen Standardabweichungen war nur der Anstieg vom zweitem zum dritten Zeitpunkt signifikant (Abbildung 123). Bei der absoluten Zahl der neutrophilen Granulozyten konnte ein signifikanter Anstieg der Werte im Beobachtungszeitraum nachgewiesen werden (Abbildung 124) (siehe Tabelle 30, 31).

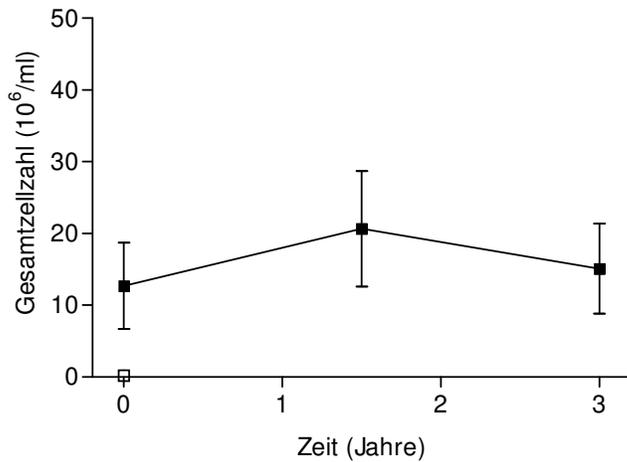


Abbildung 122: Verlauf der Gesamtzellzahl; arithmetisches Mittel und Standardmessfehler (■Cystische Fibrose, □Kontrollgruppe).

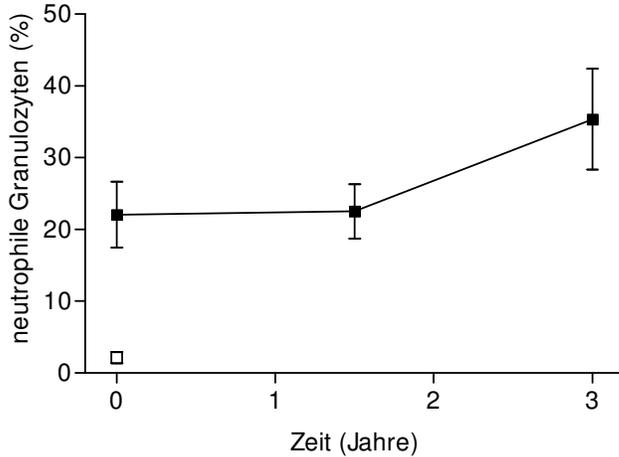


Abbildung 123: Verlauf der relativen Zahl neutrophiler Granulozyten; arithmetisches Mittel und Standardmessfehler (■ Cystische Fibrose, □ Kontrollgruppe).

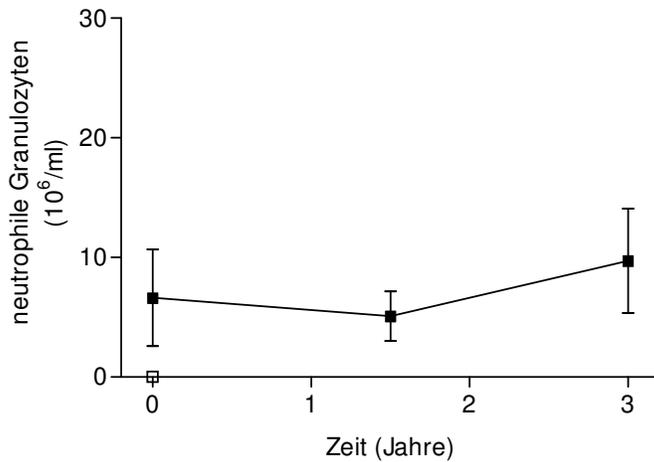


Abbildung 124: Verlauf der absoluten Zahl der neutrophilen Granulozyten; arithmetisches Mittel und Standardmessfehler (■ Cystische Fibrose, □ Kontrollgruppe).

#### d. Verlauf der biochemischen Parameter

Die Konzentration des Surfactantprotein B war zum Zeitpunkt der zweiten und dritten Lavage signifikant höher als zur ersten Lavage (Abbildung 126). Die Konzentrationen der anderen Surfactantproteine änderten sich innerhalb des Beobachtungszeitraum nur tendenziell (Abbildung 125, 127, 128). Auch die Gesamteiproteinkonzentration änderte sich nicht signifikant (Abbildung 129). Die Phospholipidkonzentration verminderte sich innerhalb der drei Jahre signifikant (Abbildung 130) (siehe Tabelle 30, 31).

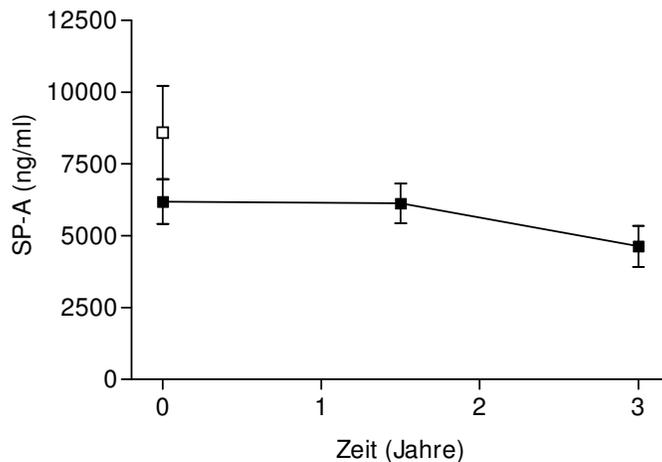


Abbildung 125: Verlauf der Konzentration von Surfactantprotein A; arithmetisches Mittel und Standardmessfehler (■ Cystische Fibrose, □ Kontrollgruppe).

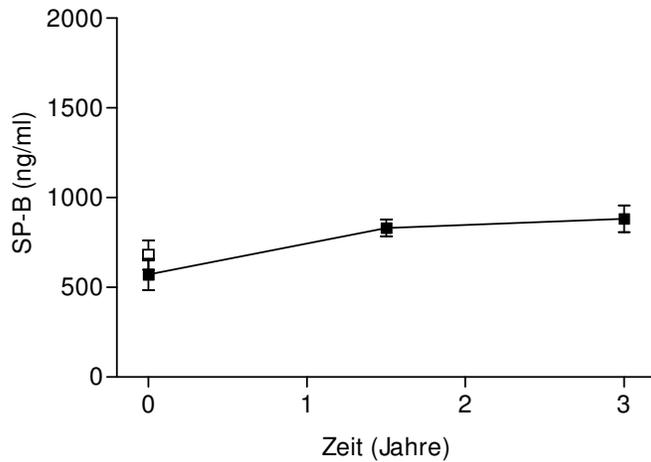


Abbildung 126: Verlauf der Konzentration von Surfactantprotein B; arithmetisches Mittel und Standardmessfehler (■ Cystische Fibrose, □ Kontrollgruppe).

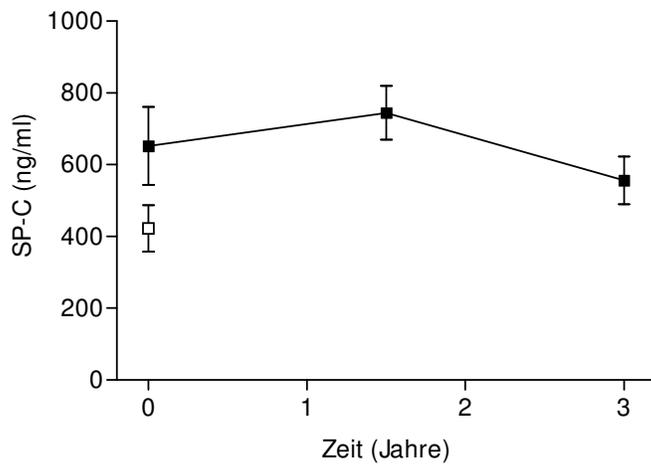


Abbildung 127: Verlauf der Konzentration von Surfactantprotein C; arithmetisches Mittel und Standardmessfehler (■ Cystische Fibrose, □ Kontrollgruppe).

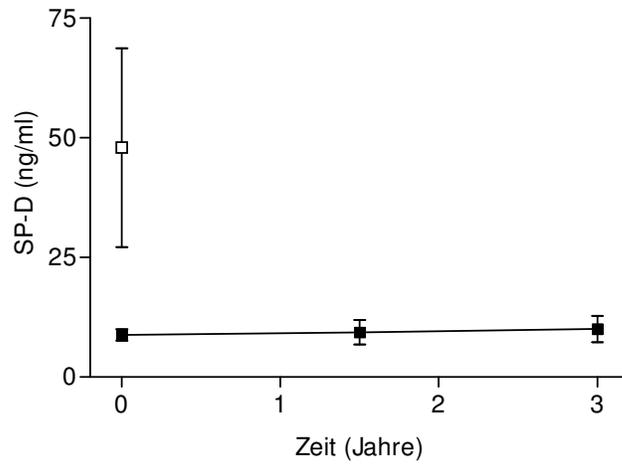


Abbildung 128: Verlauf der Konzentration von Surfactantprotein D; arithmetisches Mittel und Standardmessfehler (■ Cystische Fibrose, □ Kontrollgruppe).

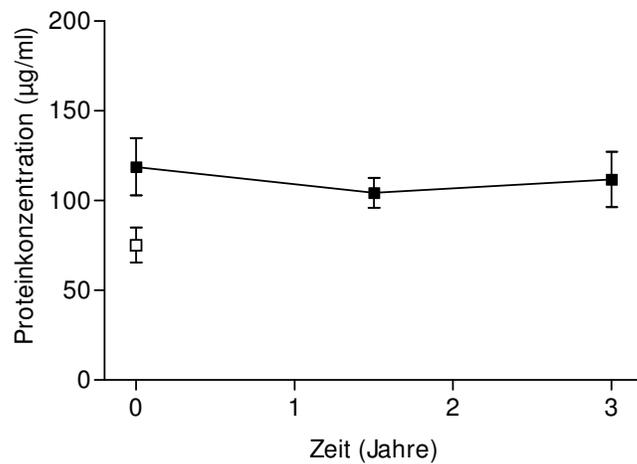


Abbildung 129: Verlauf der Gesamteproteinkonzentration; arithmetisches Mittel und Standardmessfehler (■ Cystische Fibrose, □ Kontrollgruppe).

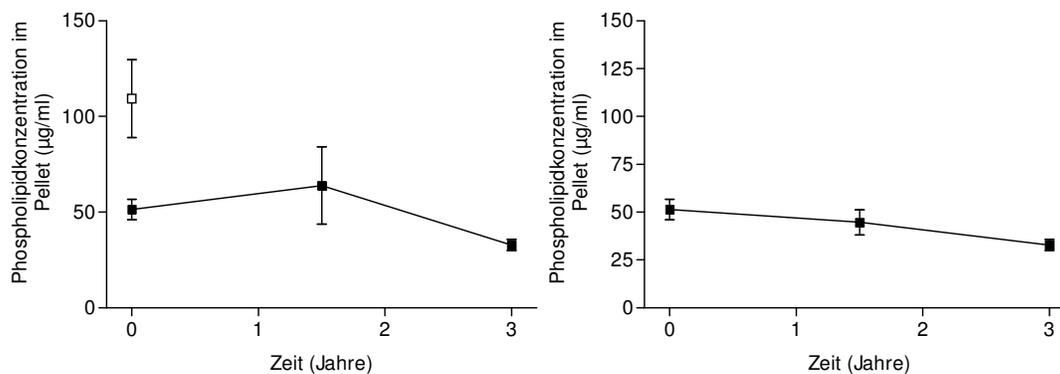


Abbildung 130: Verlauf der Phospholipidkonzentration; arithmetisches Mittel und Standardmessfehler (■ Cystische Fibrose, □ Kontrollgruppe); links mit und rechts ohne einen Ausreißerwert bei 429 µg/ml, der Zwischenzeitliche Anstieg war ohne diesen Wert nicht signifikant.

### 3. Einfluss des Therapiearmes auf den Verlauf

Bei der Betrachtung des Verlaufs stellte sich die Frage nach dem Einfluss von Pulmozyme (rhDNase), das neun der im Verlauf dargestellten Patienten bekamen. Zwei Patienten waren von der Randomisierung wegen einer zu geringen relativen Granulozytenzahl (< 10 %) ausgeschlossen (siehe Material und Methoden).

Es wurden die Werte der Patienten ohne Pulmozyme mit denen der Pulmozyme Gruppe zum Zeitpunkt der ersten und der dritten Lavage verglichen und die Unterschiede mit dem nichtparametrischen ungepaarten Mann-Whitney-Test untersucht. Die zwei Patienten, die von der Randomisierung ausgeschlossen waren wurden zunächst zu den randomisierten Patienten ohne Pulmozyme gezählt. Die statistischen Tests wurden dann unter Ausschluss dieser beiden Patienten erneut berechnet. Die dadurch entstehenden Unterschiede der Statistik wurden an entsprechender Stelle erwähnt.

	Kein Pulmozyme	Pulmozyme	p- Wert
FVC (% Soll)	88,60 (77,35 - 119,0), 11	94,19 (71,34 - 120,7), 8	0,5915
FEV <sub>1</sub> (% Soll)	93,87 (74,63 - 117,2), 11	93,37 (51,97 - 117,5), 9	0,8792
MEF <sub>25</sub> (% Soll)	73,36 (47,86 - 154,6), 11	56,03 (27,14 - 107,1), 9	0,4474

MEF <sub>75/25</sub> (% Soll)	74,00 (50,42 - 128,20), 11	77,73 (32,06 - 104,9), 9	0,7612
Body Mass Index (kg/m <sup>2</sup> )	16,16 (12,93 - 18,97), 11	15,72 (13,72 - 21,85), 9	0,3234
Adsorption (mN/m)	48,9 (24,9 - 55,1), 11	43,6 (20,3 - 55,4), 9	0,5184
Minimale Oberflächenspannung (mN/m)	18,7 (2,3 - 21,0), 11	11,1 (0,0 - 20,7), 9	0,2388
% Offen	8,6 (0,0 - 86,8), 11	9,5 (0,0 - 57,0), 9	0,7903
initialer Druck (cm H <sub>2</sub> O)	7,8 (5,2 - 10,4), 11	6,5 (4,6 - 10,8), 9	0,4474
Gesamtzellzahl (10 <sup>6</sup> /ml)	2,88 (0,01 - 108,00), 10	0,32 (0,04 - 24,00), 9	0,8688
Neutrophile Granulozyten (%)	19,10 (0,60 - 71,00), 11	15,00 (2,80 - 50,50), 9	0,7041
Neutrophile Granulozyten (10 <sup>6</sup> /ml)	0,053 (0,000 - 76,68), 11	0,050 (0,0014 - 7,03), 9	0,3620
SP-A (ng/ml)	5380,0 (2409,0 - 13218,0), 11	5244,0 (2527,0 - 11653,0), 9	0,5949
SP-B (ng/ml)	375,5 (290,2 - 1158,0), 9	610,8 (247,2 - 1219,0), 6	0,6889
SP-C (ng/ml)	552,0 (95,0 - 1298,0), 9	749,3 (37,0 - 1557,0), 6	0,7756
SP-D (ng/ml)	6,9 (1,2 - 14,6), 11	11,5 (2,2 - 22,1), 9	0,1107
Proteinkonzentration (µg/ml)	110,0 (53,0 - 175,9), 11	96,0 (52,6 - 382,4), 9	0,9394
Phospholipidkonzentration (µg/ml)	44,8 (19,5 - 102,5), 11	52,3 (20,5 - 81,2), 9	0,7612

Tabelle 32: Median (Spannweite), Anzahl zum Zeitpunkt der ersten Lavage; \*signifikante p-Werte des Mann-Whitney-Tests.

	Kein Pulmozyme	Pulmozyme	p- Wert
FVC (% Soll)	85,85 (66,31 - 124,1), 8	84,95 (67,81 - 120,7), 8	0,9591
FEV <sub>1</sub> (% Soll)	76,77 (61,05 - 119,9), 9	79,49 (65,82 - 117,6), 8	0,8884
MEF <sub>25</sub> (% Soll)	53,74 (16,35 - 107,9), 9	36,77 (15,79 - 94,74), 8	0,9626
MEF <sub>75/25</sub> (% Soll)	52,26 (34,75 - 123,4), 8	78,27 (43,69 - 102,2), 7	0,4634
Body Mass Index (kg/m <sup>2</sup> )	17,17 (14,79 - 24,69), 11	17,11 (14,58 - 25,46), 9	0,7041
Adsorption (mN/m)	60,0 (27,9 - 66,2), 11	47,0 (22,9 - 69,6), 9	0,2100
Minimale Oberflächenspannung (mN/m)	19,9 (5,8 - 46,2), 11	19,7 (4,0 - 42,4), 9	0,8196
% Offen	7,9 (0,1 - 88,5), 11	21,1 (0,0 - 91,3), 9	0,7612
initialer Druck (cm H <sub>2</sub> O)	8,2 (6,0 - 11,9), 11	8,9 (5,4 - 10,3), 9	0,9697
Gesamtzellzahl (10 <sup>6</sup> /ml)	0,71 (0,22 - 114,2), 11	5,26 (0,22 - 57,00), 9	0,9697
Neutrophile Granulozyten (%)	24,30 (1,30 - 90,70), 11	18,00 (5,00 - 93,10), 9	0,9093
Neutrophile Granulozyten (10 <sup>6</sup> /ml)	0,1349 (0,00286 - 73,32), 11	0,9468 (0,0175 - 53,07), 9	0,7041
SP-A (ng/ml)	5179,0 (1766,0 - 9393,0), 11	3148,0 (128,6 - 13624,0), 8	0,1485
SP-B (ng/ml)	906,0 (375,5 - 1473,0), 11	725,5 (377,5 - 1602,0), 9	0,1715
SP-C (ng/ml)	581,5 (15,5 - 791,5), 11	580,9 (258,5 - 1489,0), 9	0,7041
SP-D (ng/ml)	5,8 (0,0 - 35,6), 11	6,3 (1,4 - 48,2), 9	0,5434

Proteinkonzentration ( $\mu\text{g/ml}$ )	70,8 (38,4 - 139,4), 10 84,8 (38,4 - 139,4), 8 <sup>+</sup>	129,6 (44,3 - 258,8), 9	0,0435 *  0,0927 <sup>+</sup>
Phospholipidkonzentration ( $\mu\text{g/ml}$ )	36,4 (14,8 - 70,0), 11	25,3 (18,8 - 44,6), 9	0,5434

Tabelle 33: Median (Spannweite), Anzahl zum Zeitpunkt der dritten Lavage; \*signifikante p-Werte des Mann-Whitney-Tests; <sup>+</sup> Der zweite p-Wert der Proteinkonzentration wurde unter Ausschluss der zwei nicht randomisierten Patienten berechnet.

### a. Biophysik

Beide Gruppen unterschieden sich hinsichtlich der biophysikalischen Parameter nicht signifikant von einander. Die Adsorptionswerte der Patienten ohne Pulmozyme waren zum Zeitpunkt der dritten Lavage etwas höher als die der Pulmozymegruppe. Dieser Unterschied war aber nicht statistisch signifikant (Abbildung 131). Die Werte der minimalen Oberflächenspannung von Patienten ohne Pulmozyme waren zum Zeitpunkt der ersten Lavage höher als die der Pulmozymegruppe. Dieser Unterschied war ebenfalls nur gering und nicht signifikant. Die Werte beider Gruppen stiegen im Beobachtungszeitraum insgesamt an (Abbildung 132). Bei den mit dem Kapillarsurfactometer gemessenen Parametern ergaben sich bei den beiden Gruppen keine signifikanten Unterschiede (Abbildung 133) (siehe Tabelle 33).

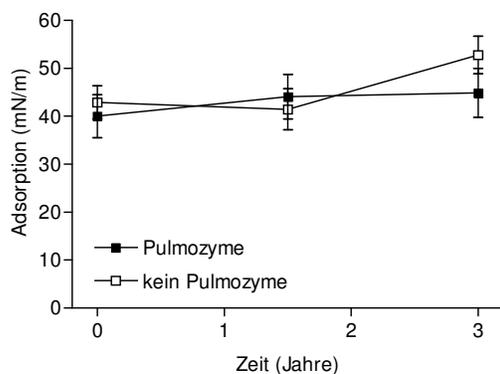


Abbildung 131: Verlauf der Adsorption von Patienten mit und ohne Pulmozyme; arithmetisches Mittel und Standardmessfehler.

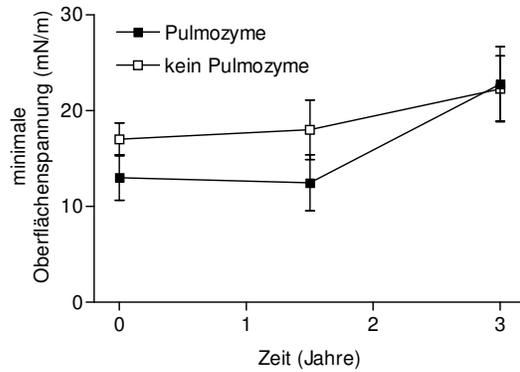


Abbildung 132: Verlauf der Minimalen Oberflächenspannung von Patienten mit und ohne Pulmozyme; arithmetisches Mittel und Standardmessfehler.

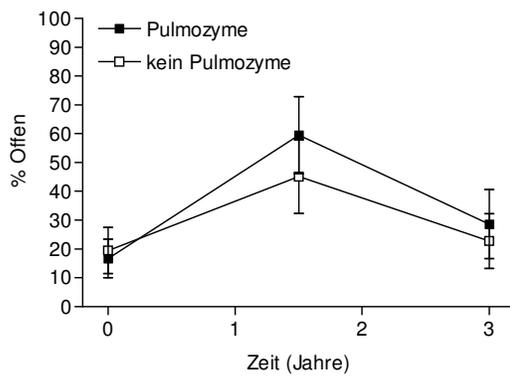


Abbildung 133: Verlauf des % Offen von Patienten mit und ohne Pulmozyme; arithmetisches Mittel und Standardmessfehler.

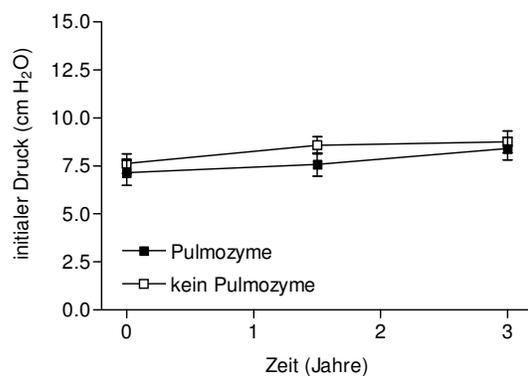


Abbildung 134: Verlauf des initialen Drucks von Patienten mit und ohne Pulmozyme im; arithmetisches Mittel und Standardmessfehler.

## b. Lungenfunktion und Body Mass Index

Bezüglich der Lungenfunktion und des Body Mass Indexes konnten keine Unterschiede zwischen der Pulmozymegruppe und der Placebogruppe aufgedeckt werden (Abbildung 135 – 139) (siehe Tabelle 33).

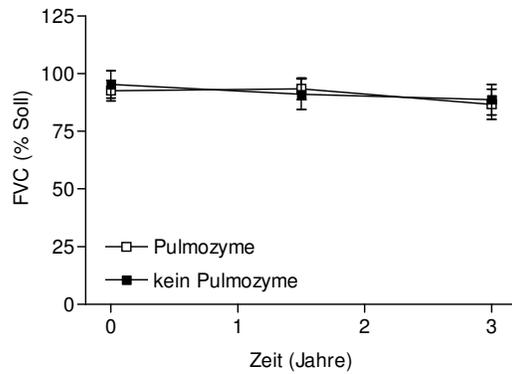


Abbildung 135: Verlauf der Forcierten Vitalkapazität von Patienten mit und ohne Pulmozyme; arithmetisches Mittel und Standardmessfehler.

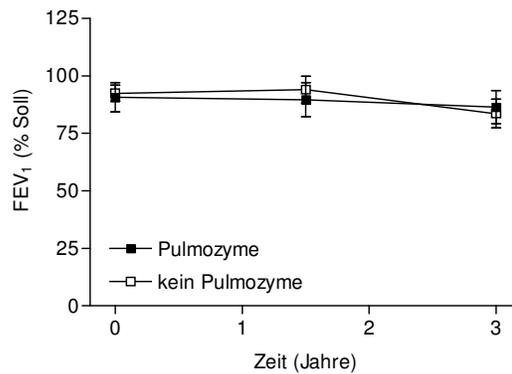


Abbildung 136: Verlauf der Forcierten Einsekundenkapazität von Patienten mit und ohne Pulmozyme; arithmetisches Mittel und Standardmessfehler.

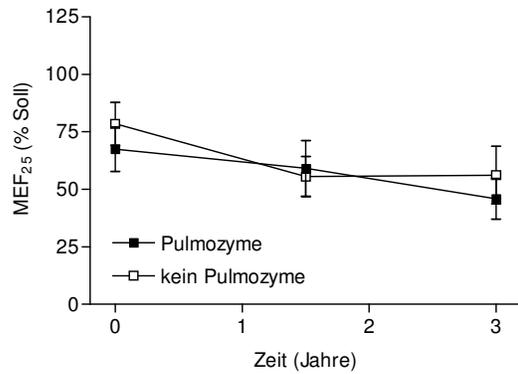


Abbildung 137: Verlauf des MEF<sub>25</sub> von Patienten mit und ohne Pulmozyme; arithmetisches Mittel und Standardmessfehler.

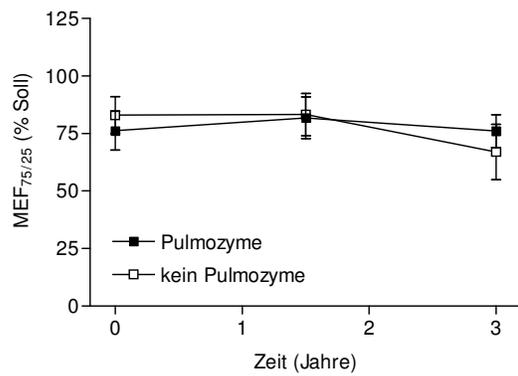


Abbildung 138: Verlauf des MEF<sub>75/25</sub> von Patienten mit und ohne Pulmozyme; arithmetisches Mittel und Standardmessfehler.

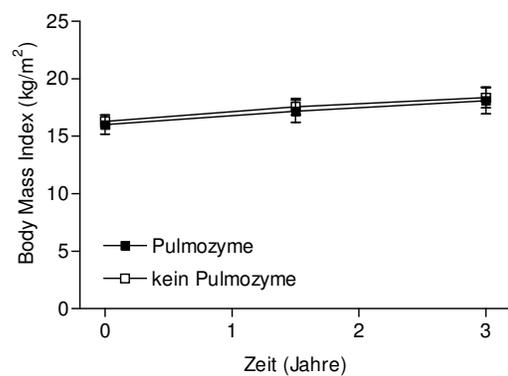


Abbildung 139: Verlauf des BMI von Patienten mit und ohne Pulmozyme im; arithmetisches Mittel und Standardmessfehler.

### c. Biochemische Parameter

Die Unterschiede der beiden Therapiegruppen bezüglich der Surfactantproteine waren nicht signifikant (Abbildung 140 – 143). Die Konzentration des Surfactantprotein A war am Ende des Beobachtungszeitraumes bei der Pulmozymegruppe nur tendenziell höher als bei der anderen Gruppe (Abbildung 140). Die nach den drei Jahren bei der Pulmozymegruppe signifikant höhere Proteinkonzentration war nach Ausschluss der nichtrandomisierten Patienten von der Statistik nur noch als Tendenz nachzuweisen (Abbildung 145) (siehe Tabelle 33).

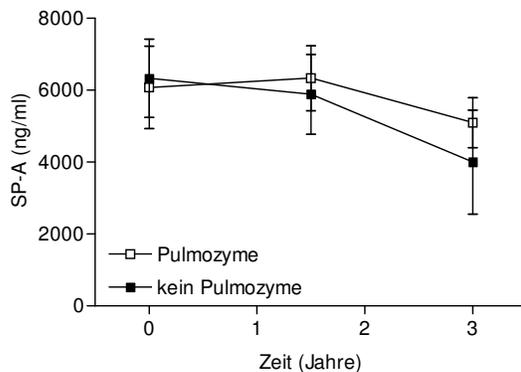


Abbildung 140: Verlauf der Konzentration des Surfactantprotein A von Patienten mit und ohne Pulmozyme; arithmetisches Mittel und Standardmessfehler.

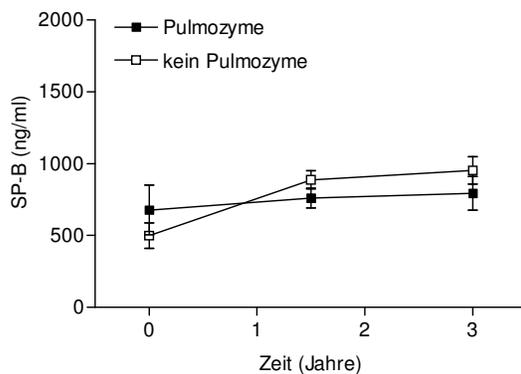


Abbildung 141: Verlauf der Konzentration des Surfactantprotein B von Patienten mit und ohne Pulmozyme; arithmetisches Mittel und Standardmessfehler.

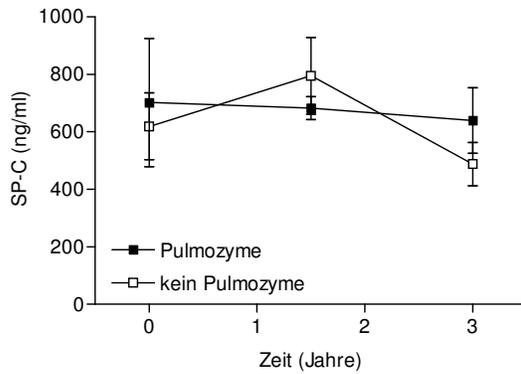


Abbildung 142: Verlauf der Konzentration des Surfactantprotein C von Patienten mit und ohne Pulmozyme; arithmetisches Mittel und Standardmessfehler.

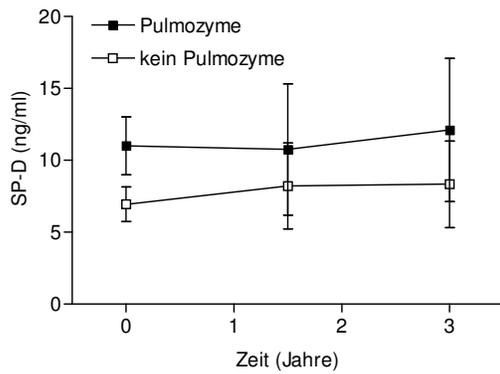


Abbildung 143: Verlauf der Konzentration des Surfactantprotein D von Patienten mit und ohne Pulmozyme; arithmetisches Mittel und Standardmessfehler.

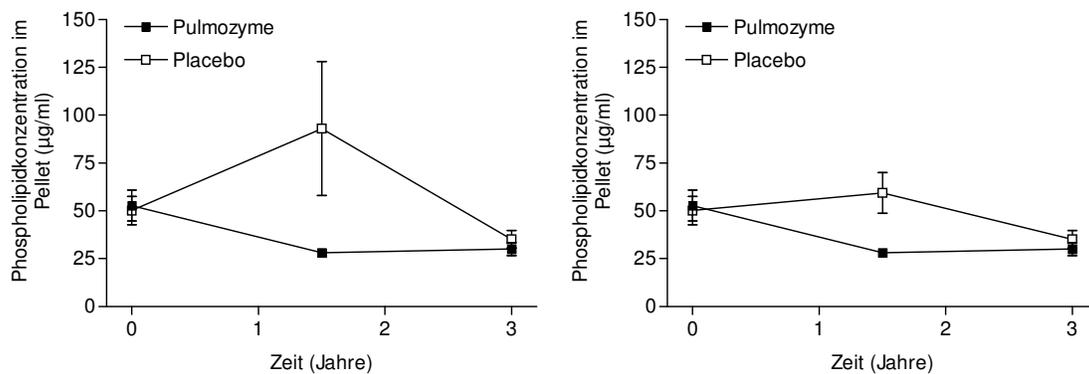


Abbildung 144: Verlauf der Phospholipidkonzentration von Patienten mit und ohne Pulmozyme; arithmetisches Mittel und Standardmessfehler; links mit und rechts ohne einen Ausreißerwert bei 429 µg/ml.

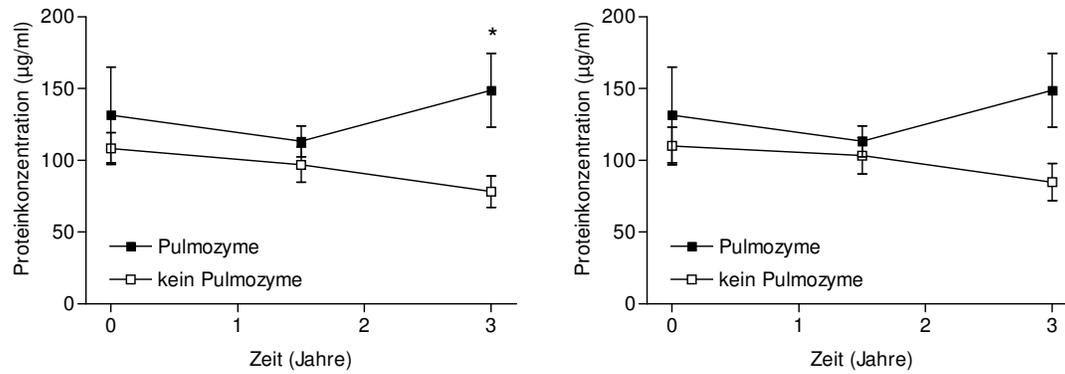


Abbildung 145: Verlauf der Proteinkonzentration von Patienten mit und ohne Pulmozyme; arithmetisches Mittel und Standardmessfehler; links mit und rechts ohne die zwei nicht randomisierte Patienten; \*signifikanter Unterschied.

## F. Der Einfluss der SA- Fraktion auf die Biophysik

Die oberflächenaktiven großen Aggregate (LA- Fraktion: large aggregates) des 40.000 g Pellets stehen in vivo unter dem Einfluss der im Überstand (SA- Fraktion: small aggregates) enthaltenen Proteine. Da die Oberflächenaktivität von Surfactant durch Proteine gehemmt werden kann (Enhorning et al., 1993; Enhorning et al., 2000; Griese et al., 1997; Jarjour et al., 1999) wurde der Einfluss der im Überstands vorhandenen Proteine auf die biophysikalischen Eigenschaften des Pellet untersucht. Dazu wurden 28 Proben von CF Patienten verwendet. Der Proteingehalt der Überstände wurde mit der Biorad- Methode bestimmt.

Das Pellet wurde ursprünglich aus fünf ml Lavage gewonnen und nach dem Lyophilisieren in einem ml Wasser resuspendiert. Um nun die jedem Pelletvolumen entsprechende Menge an Überstand zu erhalten, wurde das verwendete Pelletvolumen mit fünf multipliziert (Tabelle 34 dritte Spalte). Bei der Bronchiallavage wird die Lunge mit physiologischer Kochsalzlösung gespült. Der überwiegende Teil davon befindet sich nach der 40.000g- Zentrifugation im Überstand. Salze können vermutlich die Oberflächenspannung herabsetzen (unveröffentlichte Daten der Forschungsgruppe Lunge). Um diesen Einfluss zu minimieren, wurden die Überstände mit Mikrosep- Konzentratoren entsalzt (siehe Methoden). Dadurch konnte ein Großteil (durchschnittlich 87 vol. %; siehe Tabelle 34) der Salzlösung entfernt werden.

Probe Nr.	eingesetztes Pelletvolumen (µl)	eingesetztes Überstandvolumen (µl)	Konzentratvolumen (µl)	NaCl im Konzentrat <sup>1</sup> (µmol)	c (NaCl) der Testlösung <sup>2</sup> (mol/l)
116-1	223,2	1116,0	95	14,6	0,4
126-1	151,5	757,5	86	13,2	0,3
204-1	130,1	650,5	44	6,8	0,2
206-1	122,1	610,5	70	10,8	0,3
209-1	217,6	1088,0	65	10,0	0,3
213-1	246,2	1231,0	82	12,6	0,3
303-1	233,9	1169,5	104	16,0	0,4
304-1	35,6	178,0	51	7,9	0,2
306-1	92,3	461,5	64	9,9	0,2
314-1	133,9	669,5	86	13,2	0,3
408-1	63,7	318,5	120	18,5	0,5

428-1	200,0	1000,0	83	12,8	0,3
503-1	210,3	1051,5	61	9,4	0,2
507-1	103,9	519,5	150	23,1	0,6
509-1	23,0	115,0	42	6,5	0,2
101-2	241,8	1209,0	120	18,5	0,5
103-2	112,7	563,5	71	10,9	0,3
114-2	202,0	1010,0	95	14,6	0,4
119-2	72,3	361,5	53	8,2	0,2
124-2	97,3	486,5	106	16,3	0,4
401-2	167,1	835,5	55	8,5	0,2
404-2	240,2	1201,0	56	8,6	0,2
406-2	226,6	1133,0	120	18,5	0,5
106-3	187,8	939,0	84	12,9	0,3
107-3	152,6	763,0	84	12,9	0,3
111-3	187,1	935,5	65	10,0	0,3
405-3	175,9	879,5	93	14,3	0,4
413-3	151,75	758,75	45	6,9	0,2

Tabelle 34: Eingesetzte Volumina der Überstände, Volumina der Konzentrate; <sup>1</sup>geschätzter Gehalt an Natriumchlorid bei einer angenommenen Konzentration von 154 mmol/l (physiologische Kochsalzlösung). <sup>2</sup>Die Endkonzentration bezog sich auf das Resuspendieren in 40 µl modifizierten Bubble- Puffer.

Um eine Phospholipidkonzentration von 1 mg/ml zu erreichen wurden die Proben anschließend in der Vakuumzentrifuge lyophilisiert und entsprechend mit einem natriumchloridfreien Bubble- Puffer resuspendiert. Es wurde ein natriumchloridfreier Bubble- Puffer verwendet, um die mit dem Konzentrat zugeführte Menge an Natriumchlorid nicht weiter zu erhöhen. Die Oberflächenspannung wurde im pulsierenden Blasensurfactometer gemessen und anschließend das % Offen und der initiale Druck im Kapillarsurfactometer bestimmt.

## 1. Vergleich der Oberflächenspannungen

Die Oberflächenspannungen der mit den Überständen versetzten Pellets waren statistisch signifikant höher, als die der nativen Pellets. Der Unterschied war jedoch zum Zeitpunkt der Adsorption, 0,05 Minuten nach Messbeginn und 2,5 Minuten nach Messbeginn nicht statistisch signifikant (Tabelle 35, Abbildung 146, 147).

Pulsationszeit (min)	LA nativ (n= 27)	LA + SA (n= 27)	p- Wert
0,00	49,3 (26,0 – 75,3)	53,9 (33,7 – 62,3)	0,111
0,05	49,3 (25,6 – 73,6)	52,9 (33,0 – 62,9)	0,237
0,25	26,0 (15,6 – 69,6)	43,6 (6,8 – 55,3)	0,033*
0,50	24,9 (11,4 – 63,1)	40,5 (4,1 – 50,9)	0,037*
1,00	24,1 (3,7 – 55,3)	35,8 (2,4 – 50,1)	0,030*
1,50	23,7 (2,5 – 54,1)	34,3 (0,4 – 49,3)	0,033*
2,00	23,3 (5,3 – 53,0)	32,9 (0,8 – 48,7)	0,042*
2,50	23,0 (4,6 – 53,3)	30,8 (0,0 – 48,1)	0,138
5,00	22,6 (3,6 – 48,7)	29,3 (1,9 – 45,7)	0,020*

Tabelle 35: Vergleich der Oberflächenspannungen von nativem Pellet (LA) mit Pellet plus Überstand (LA + SA); Median (Spannweite) Werte in mN/m; \*statistisch signifikanter Wilcoxon- Test.

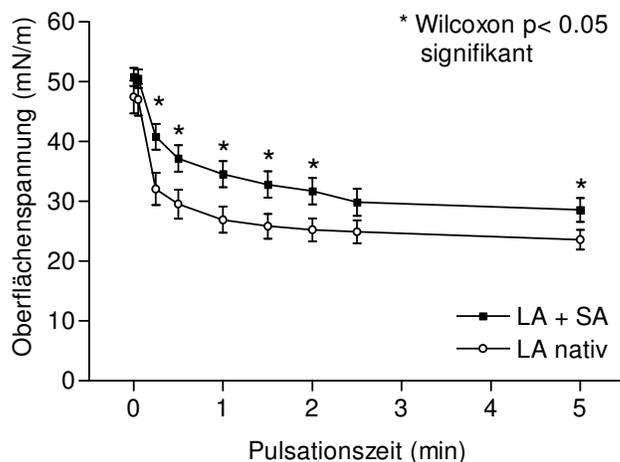


Abbildung 146: Oberflächenspannungen von 27 nativen Pellets (LA nativ) verglichen mit den Oberflächenspannungen der gleichen mit Überständen versetzten Pellets (LA + SA); Arithmetisches Mittel mit Standardmessfehler.

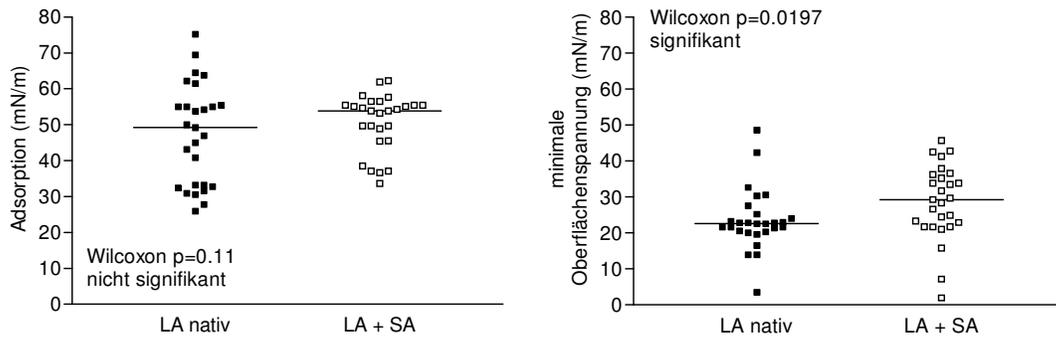


Abbildung 147: Vergleich von nativem Pellet (LA nativ) mit Pellet plus Überstand. Einzelwerte und Mediane der Adsorption und minimalen Oberflächenspannung; n= 27.

## 2. % Offen und initialer Druck

Die im Kapillarsurfactometer gemessenen Werte von % Offen waren bei nativem Pellet signifikant höher, als die Werte bei dem mit Überstand versetzten Pellet. Die Unterschiede des initialen Druckes waren nicht signifikant (Tabelle 36, Abbildung 148).

	LA nativ (n= 28)	LA + SA (n= 28)	Wilcoxon- Test
% Offen	12,34 (0,00 – 95,70)	1,23 (0,00 – 34,08)	p= 0,0002*
Initialer Druck (cm H <sub>2</sub> O)	8,22 (6,17 - 10,33)	8,58 (6,63 - 12,50)	p= 0,057*

Tabelle 36: % Offen, initialer Druck. Median (Spannweite) bei nativem Pellet (LA nativ) verglichen mit Pellet plus Überstand (LA + SA); \*statistisch signifikanter Wilcoxon- Test.

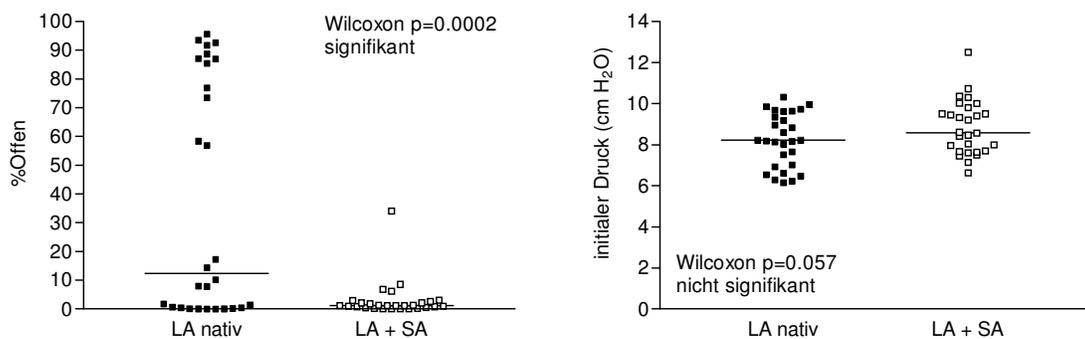


Abbildung 148: Vergleich von nativem Pellet (LA nativ) und mit Überstand versetztem Pellet. Einzelwerte und Mediane von % Offen und initialem Druck; n= 28.

### 3. Abhängigkeit der Veränderungen von der Proteinkonzentration

Es wurde überprüft, ob die hemmende Wirkung der Proteine mit der Proteinkonzentration in Verbindung steht. Dazu wurde die Differenz aus den Werten der Oberflächenspannung der nativen Pellets und der jeweiligen mit Überstand versetzten Pellets gebildet. Es wurde mit dem Test nach Spearman keine statistisch signifikante Korrelation zwischen der Änderung der Oberflächenspannung und der Proteinkonzentration nachgewiesen (Abbildung 149). Ebenso wurde mit den Werten für das % Offen und dem initialen Druck verfahren (Abbildung 150). Hier bestand ebenfalls kein statistisch signifikanter Zusammenhang.

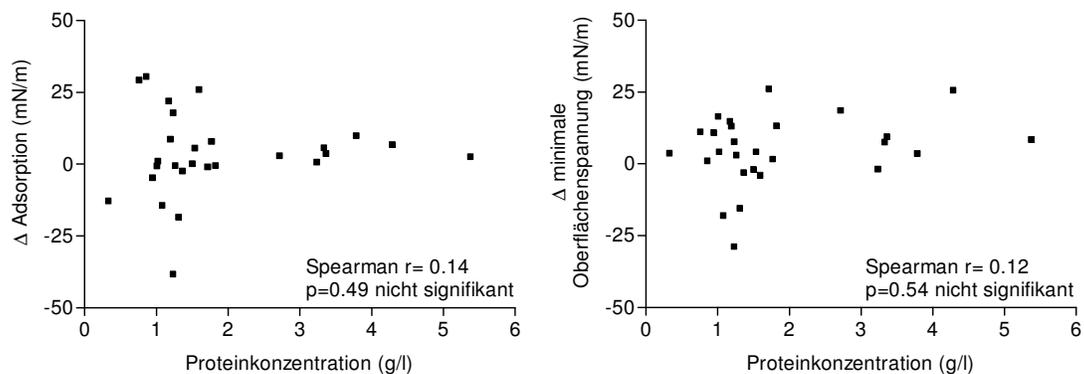


Abbildung 149: Änderung der Adsorption und der minimalen Oberflächenspannung durch Zugabe von Protein der SA-Fraktion (n= 27).

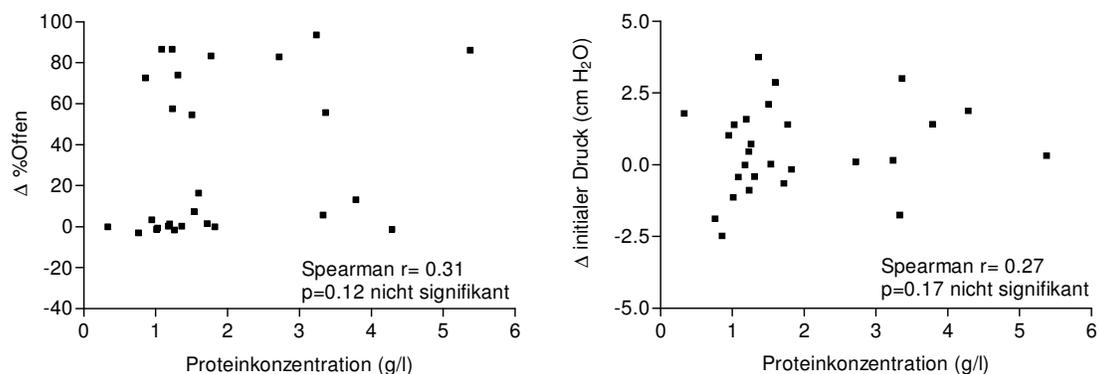


Abbildung 150: Änderung des %Offen und des minimalen initialen Drucks durch Zugabe von Protein der SA-Fraktion (n= 27).

### G. Änderung der Biophysik von Rindersurfactant nach Proteinzugabe

Im vorausgehenden Abschnitt wurde der Einfluss der nach Zentrifugation im Überstand (SA-Fraktion) verbliebenen Proteine auf die Oberflächenaktivität der LA- Fraktion untersucht. Die Wirkung dieser Proteine wurde nun mit der Wirkung von Serumproteinen bei verschiedenen Konzentrationen verglichen. Da die mittlere Proteinkonzentration im vorhergehenden Versuch 1,36 g/l und die maximale Konzentration 5,37 g/l waren, wurden in diesem Bereich liegende Konzentrationen gewählt. Die Zielkonzentrationen legten wir dem entsprechend auf 1,5 g/l und 4,5 g/l fest.

Es wurde ein Pool aus den Überständen von 16 verschiedenen CF Patienten hergestellt:

Probe Nr.	102-2	106-2	104-2	107-2	108-2	109-2	110-2	111-2
Menge (ml)	2,0	1,5	1,5	1,5	2,0	1,5	1,5	1,5
Probe Nr.	112-2	115-2	116-2	118-2	120-2	121-2	125-2	126-1
Menge (ml)	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	2,0

Der Proteingehalt dieses Pools wurde mit Hilfe der Biorad- Methode in Dreifachmessung bestimmt. Er betrug 52,79 µg/ml. Um den Einfluss der gelösten Salze möglichst gering zu halten, wurde der Pool wie im vorangegangenen Abschnitt mit den Mikrosep- Konzentratoren gefiltert (siehe auch Methoden). Der verwendete Filtrerrückstand hatte ein Volumen von 1,334 ml. Dieses Konzentrat wurde mittels Vakuumzentrifuge lyophilisiert und anschließend in 1 ml Aqua bidest resuspendiert und die Proteinkonzentration erneut gemessen. Ergebnis: 1,264 mg/ml. Um die Zielkonzentrationen (s. o.) zu erreichen, wurden zu jeweils fünf Surfactantproben (Phospholipidkonzentration 0,25 mg/ml) entsprechende Mengen an Protein addiert.

Des Weiteren wurde der Proteingehalt von Blutserum eines gesunden Probanden in Dreifachmessung bestimmt. Das Serum hatte eine Proteinkonzentration von 65,02 mg/ml. Um Pipettierfehler zu reduzieren wurde das Serum 1: 10 verdünnt. Es wurden zu sechs bzw. sieben Rindersurfactant- Proben (Phospholipidkonzentration 0,25 mg/ml) entsprechende Mengen an Serumprotein zugefügt, um dort Proteinkonzentrationen von 1,5 bzw. 4,5 g/l zu erhalten. Mit dem pulsierenden Blasensurfactometer wurden dann die Oberflächenspannungen von fünf Proben mit reinem Rindersurfactant (Phospholipidkonzentration von 0,25 mg/ml) und die mit den Proteinen versetzten Proben gemessen. Anschließend wurde im Kapillarsurfactometer von den gleichen Proben die Offenzeit und der initiale Druck bestimmt.

## 1. Oberflächenspannung

Einzelwerte siehe Anhang.

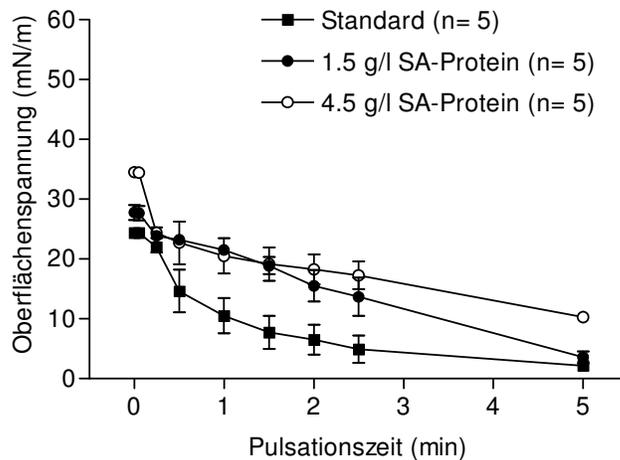


Abbildung 151: Vergleich der Oberflächenspannungen von reinem Rindersurfactant, Surfactant mit 1,5 g/l bzw. 4,5 g/l Protein der SA- Fraktion (Phospholipidkonzentrationen jeweils 0,25 mg/ml); Arithmetisches Mittel und Standardmessfehler.

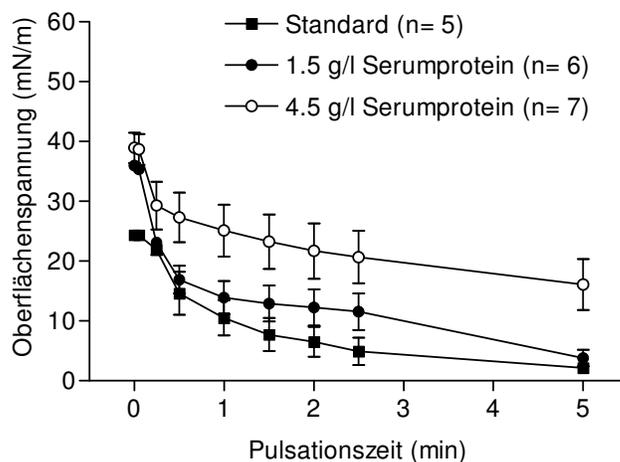


Abbildung 152: Darstellung der Oberflächenspannungen von reinem Rindersurfactant, Surfactant nach Zusatz von 1,5 g/l bzw. 4,5 g/l Serumprotein (Phospholipidkonzentrationen jeweils 0,25 mg/ml). Arithmetisches Mittel und Standardmessfehler.

## a. Adsorption

Der Adsorptionswert der Proben mit 1,5 g/l zugefügtem Protein der SA- Fraktion war bereits signifikant höher als der von reinem Surfactant (Mann- Whitney- Test:  $p= 0,0159$ ). Bei einer Proteinkonzentration von 4,5 g/l war keine weitere signifikante Erhöhung mehr festzustellen (Mann- Whitney- Test:  $p= 0,22$ ).

Serumprotein hatte bei einer Konzentration von 1,5 g/l einen noch stärkeren hemmenden Einfluss auf die Adsorption als das Protein der SA- Fraktion der gleichen Konzentration (Mann- Whitney- Test:  $p= 0,0043$ ). Bei Konzentrationen von jeweils 4,5 g/l Protein war der stärkere Einfluss der Serumproteine nur als Tendenz nachweisbar (Mann- Whitney- Test:  $p= 0,268$ ) (Tabelle 37, Abbildung 153).

	Median (Spannweite)	Anzahl
Standard	24,10 (23,70 - 25,20)	5
+ 1,5 g/l SA- Protein	26,00 (25,20 - 31,00)	5
+ 1,5 g/l Serumprotein	36,30 (32,90 - 37,50)	6
+ 4,5 g/l SA- Protein	30,20 (26,80 - 49,70)	5
+ 4,5 g/l Serumprotein	35,60 (33,70 - 49,30)	7

Tabelle 37: Oberflächenspannungswerte in mN/m zum Zeitpunkt der Adsorption (Einzelwerte im Anhang).

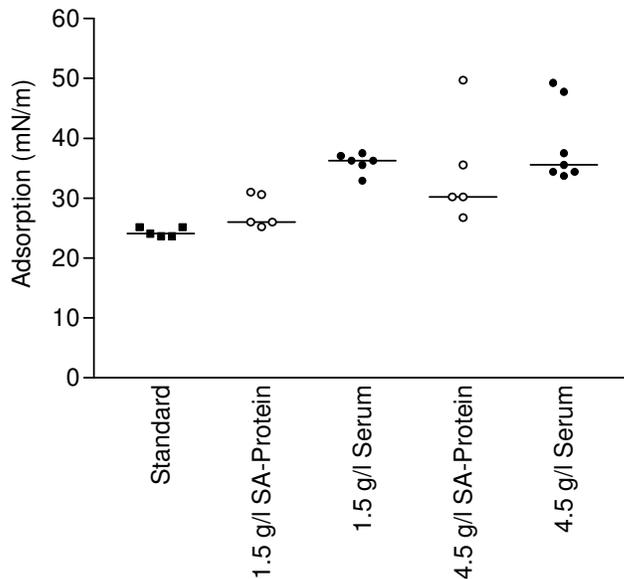


Abbildung 153: Einzelwerte der Adsorption mit Medianen.

## b. Minimale Oberflächenspannung

Die Werte der minimalen Oberflächenspannung von reinem Rindersurfactant verglichen mit den Werten nach Zugabe von 1,5 g/l Protein der SA- Fraktion bzw. 1,5 g/l zugegebenem Serumprotein zeigten keinerlei Unterschiede (Mann- Whitney- Test:  $p= 0,69$  bzw.  $p= 0,76$ ). Erst bei einer Konzentration von 4,5 g/l konnte bei dem Protein der SA- Fraktion eine tendenzielle (Mann- Whitney- Test:  $p= 0,056$ ) und bei Serumprotein eine signifikante Erhöhung (Mann- Whitney- Test:  $p= 0,048$ ) der minimalen Oberflächenspannung nachgewiesen werden (Tabelle 38, Abbildung 154).

	Median (Spannweite)	Anzahl
Standard	2,30 (0,0 - 3,50)	5
+ 1,5 g/l SA- Protein	2,30 (1,50 - 6,60)	5
+ 1,5 g/l Serumprotein	1,90 (1,10 - 8,60)	6
+ 4,5 g/l SA- Protein	8,60 (2,30 - 24,60)	5
+ 4,5 g/l Serumprotein	19,60 (1,50 - 31,90)	7

Tabelle 38: minimale Oberflächenspannung in mN/m (Einzelwerte im Anhang).

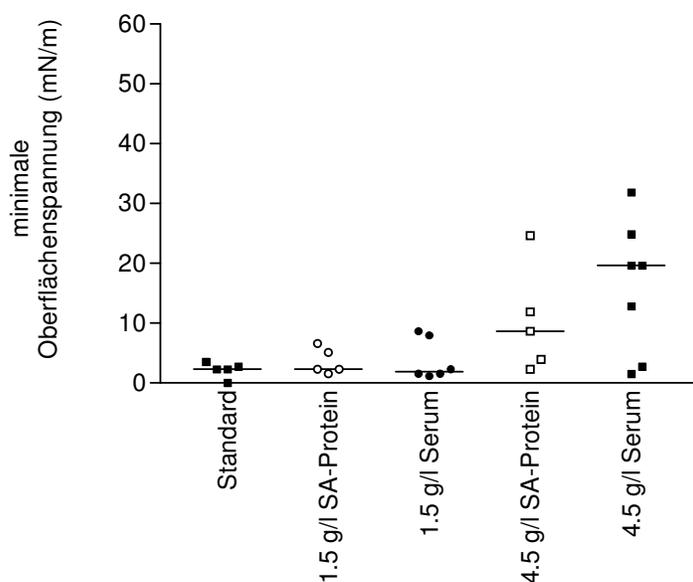


Abbildung 154: Einzelwerte der minimalen Oberflächenspannung mit Medianen.



Auch die Werte des initialen Drucks von reinem Rindersurfactant unterschieden sich signifikant von den Drücken, die nach Zugabe von 1,5 g/l Protein gemessen wurden (Mann-Whitney- Test: SA- Protein  $p= 0,016$ ; Serumprotein  $p= 0,017$ ). Nach Zusatz von 1,5 g/l Protein waren höhere Drücke notwendig, um die Kapillare erstmalig zu öffnen. Die gemessenen Drücke der Proben mit 4,5 g/l Protein unterschieden sich nicht von denen mit 1,5 g/l Protein (Mann- Whitney- Test: SA- Protein  $p= 0,69$ ; Serumprotein  $p= 0,84$ ). Es waren keine Unterschiede zwischen Serumprotein und dem Protein der SA- Fraktion feststellbar (Mann- Whitney- Test: bei 1,5 g/l  $p= 1,00$ ; bei 4,5 g/l  $p= 0,43$ ) (Tabelle 40, Abbildung 156).

	Median (Spannweite)	Anzahl
Standard	5,47 (4,50 – 6,17)	5
+ 1,5 g/l SA- Protein	8,85 (6,03 - 9,53)	5
+ 1,5 g/l Serumprotein	8,32 (5,57 - 10,67)	6
+ 4,5 g/l SA- Protein	8,83 (7,93 - 9,37)	5
+ 4,5 g/l Serumprotein	9,43 (5,47 - 10,08)	7

Tabelle 40: initialer Druck in cm H<sub>2</sub>O (Einzelwerte im Anhang).

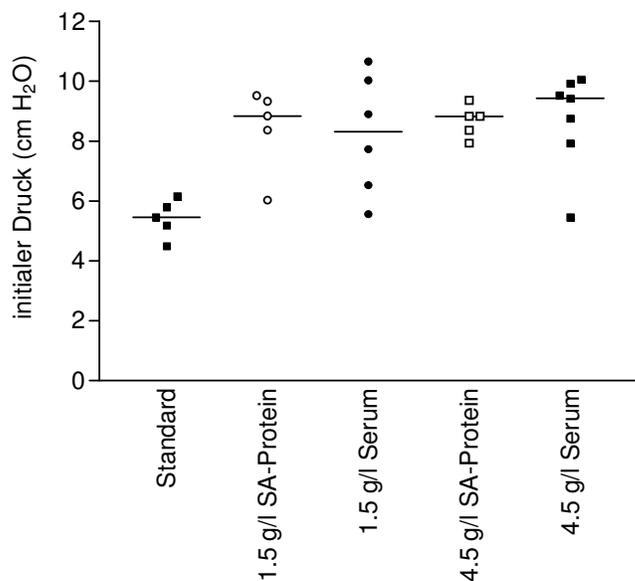


Abbildung 156: initialer Druck: Einzelwerte mit Medianen.

#### IV. Diskussion

In dieser Arbeit wurden die Veränderungen des Surfactantsystems bei Patienten mit cystischer Fibrose detailliert beschrieben und erstmals im Langzeitverlauf charakterisiert. Die Besonderheit des Patientenkollektivs lag in einer im Normalbereich liegenden Lungenfunktion und die Patienten befanden sich in einem klinisch stabilen Zustand. So konnten Störungen erfasst werden, die im Krankheitsverlauf frühzeitig stattfinden. Die festgestellten Besonderheiten wurden mit den mikrobiologischen Befunden, dem Entzündungsgrad in den Atemwegen und der Lungenfunktion in Zusammenhang gebracht. Außerdem wurde der Verlauf aller Parameter während eines dreijährigen Beobachtungszeitraums beschrieben.

Am auffälligsten war der Zusammenhang, dass mit steigenden Entzündungswerten die Surfactantfunktion abnahm. Diese Beziehung war sowohl für den Bereich der Alveolen (Erhöhung des Adsorptionswertes und der minimalen Oberflächenspannung), als auch der kleinen Atemwege (Verminderung des % Offen) abzuleiten. Die Lungenfunktion (FVC und FEV<sub>1</sub>) blieb davon unbeeinträchtigt. Weder der Entzündungsgrad noch die daraus folgende Störung der Biophysik waren in Form von Lungenfunktionsstörungen (FVC, FEV<sub>1</sub>) nachweisbar. Der Fluss in den kleinen Bronchien (MEF<sub>25</sub>) erwies sich hier noch als der empfindlichste Parameter der Lungenfunktion, indem er mit der Anzahl der Granulozyten korrelierte und damit dem Ausmaß der Entzündung. Keiner der biophysikalischen Parameter korrelierte signifikant mit der Lungenfunktion. Diese fehlende Übereinstimmung zwischen dem Entzündungsgrad und der Lungenfunktion wurde auch bei anderen Studien beschrieben (Konstan et al., 1994) und zeigt, dass Lungenfunktionsuntersuchungen nicht ausreichend empfindlich sind, um Veränderungen in frühen Krankheitsstadien, wie zum Beispiel bei unseren Patienten nachweisen zu können. Empfindlichere Verfahren wie die hochauflösende Computertomographie (de Jong et al., 2004) oder eine Kombination aus Spirometrie und Computertomographie (Robinson et al., 2003) können bereits bei Patienten mit normaler Lungenfunktion strukturelle Veränderungen aufdecken.

Die Oberflächenaktivität des Surfactants der CF Patienten war verglichen mit den gesunden Kontrollen insgesamt nur gering beeinträchtigt. Die im pulsierenden Blasensurfactometer gemessene Surfactantfunktion, die möglicherweise den Bereich der Alveolen am Besten simuliert, war gut erhalten - und verglichen mit der Kontrollgruppe nur tendenziell schlechter. Hingegen war die Surfactantfunktion, ermittelt mit dem Kapillarsurfactometer und die kleinen Atemwege repräsentierend, bei vielen Patienten mit cystischer Fibrose erheblich gestört. Aus diesen Beobachtungen lässt sich das Modell einer entzündungsabhängigen Verschlechterung

der Surfactantfunktion für die kleinen Atemwegen ableiten, was letztlich zu einem erhöhten Atemwegswiderstand, einem Kollaps der kleinen Luftwege und zu air trapping (engl. Luftfalle) führt (Cassidy et al., 1999; Macklem et al., 1970).

Zur Untersuchung der zugrunde liegenden biochemischen Mechanismen wurden die Konzentrationen der einzelnen Bestandteile des Surfactantsystems gemessen. Auffällig war eine erhöhte Gesamtproteinkonzentration, die eng mit dem Entzündungsgrad korrelierte. In Untersuchungen an CF Patienten mit schwererer Lungenerkrankung wurden ebenfalls erhöhte Werte nachgewiesen (Griese et al., 1997). Eine erhöhte Proteinkonzentration gilt sowohl bei cystischer Fibrose (Frerking et al., 2001) als auch bei einigen anderen Lungenerkrankungen (Griese 1999) als eine Hauptursache für verminderte Surfactantaktivität. Serumproteine können bei Entzündungsvorgängen auf Grund von Wandveränderungen der Kapillaren in die Alveolen und die kleinen Atemwege übertreten. Der hemmende Einfluss der Serumproteine auf die Surfactantfunktion in den Alveolen und auch in den kleinen Atemwegen wurde in dieser Arbeit und auch in einigen anderen Studien aufgezeigt (Enhorning et al., 1993; Enhorning et al., 2000; Griese et al., 1997; Jarjour et al., 1999). In unseren Untersuchungen wurde zudem nachgewiesen, dass in den Atemwegssekreten der sich in einem frühen Stadium der Lungenerkrankung befundenen CF Patienten bereits inhibitorisch wirkende Proteine vorhanden waren. Ein Grossteil dieser Proteine befand sich nach der Zentrifugation im Überstand (SA- Fraktion). Es kann deshalb vermutet werden, dass die biophysikalische Surfactantaktivität in vivo sogar noch stärker eingeschränkt ist, als das in dem Vergleich mit der Kontrollgruppe dargestellt wurde, bei dem nur die Funktion des nativen Pellets (LA-Fraktion) verglichen wurde. Die hemmende Wirkung hing dabei nicht allein von der Proteinkonzentration ab. Vermutlich war die Zusammensetzung der Proteine für die Stärke der Hemmung entscheidend (Enhorning et al., 1993, Enhorning et al., 2000). So wirkten auch Serumproteine in gleicher Konzentration stärker inhibitorisch, als die in den Atemwegssekreten dieser CF Patienten vorhandenen Proteine.

Eine weitere Ursache für die verminderte Surfactantaktivität war vermutlich ein Mangel an SP-A (siehe Tabelle 8), das einerseits die Adsorption der Phospholipide beschleunigt und andererseits die hemmende Wirkung von Nichtsurfactantproteinen reduziert (Griese 1999, Meyer et al., 2000). Mangelzustände der anderen Surfactantproteine mit biophysikalischen Funktionen SP-B und SP-C konnten nicht nachgewiesen werden. Die Konzentration von SP-C war bei unseren Patienten interessanterweise sogar erhöht. Bisher gibt es beim Menschen

nur wenige Studien bezüglich der SP-C Konzentration (Ballard et al., 2003; Griese et al., 2002; Schmidt et al., 2003): Eine Untersuchung von Kindern mit malignen Tumoren, die unter einer immunsuppressiven Therapie Lungeninfiltrate und Fieber entwickelt hatten, zeigte ebenfalls erhöhte SP-C Konzentrationen (Griese et al., 2002).

Eine veränderte Zusammensetzung der Phospholipide erschien hier als Ursache für die verminderte Surfactantaktivität unwahrscheinlich, da in anderen Studien mit jungen CF Patienten, deren Lungenfunktion bereits leicht gestört war, diesbezüglich keine Veränderungen nachgewiesen wurden (Mander et al., 2002; Postle et al., 1999).

Die Kollektine SP-A und SP-D können in ihrer Funktion als Entzündungsregulatoren sowohl supprimierend als auch verstärkend auf Entzündungsvorgänge wirken (Gardai et al., 2003). Vermutlich spielen sie auch in Entzündungsvorgängen bei cystischer Fibrose eine zentrale Rolle. In einigen Studien wurden verminderte Konzentrationen von SP-A und SP-D bei Patienten mit CF vorgefunden (Griese et al., 1997; Hull et al. 1997; Noah et al., 2003), die bei Noah et al. negativ mit dem Entzündungsgrad korrelierten. Bei den hier untersuchten Patienten war im Vergleich zu Gesunden lediglich die SP-A Konzentration erniedrigt, was wahrscheinlich auf die geringere Entzündung, verglichen mit den Patienten von Noah et al. zurückzuführen ist. Entsprechend war bei positivem Keimnachweis innerhalb unserer CF Patienten die SP-D Konzentration ebenfalls vermindert. Es wurde auch anhand von Tiermodellen eine akute SP-D Erniedrigung nach Infektionen nachgewiesen (van Rozendaal et al., 1999). Diese Ergebnisse unterstützen die Hypothese der Beteiligung von SP-D bei der Abwehr von Mikroorganismen. Die an der Reduktion von SP-D beteiligten Mechanismen sind jedoch bisher nicht bekannt. Der proteolytische Abbau von SP-D durch aus neutrophilen Granulozyten stammende Proteasen (von Bredow et al., 2003) war hier als Ursache unwahrscheinlich, da bei einer kleinen Untergruppe von Patienten mit hoher Granulozytenzahl keine Spaltprodukte nachgewiesen wurden (hier nicht dargestellte und bisher unveröffentlichte Daten der Forschungsgruppe Lunge, München). Unabhängig von der zugrunde liegenden Ursache kann ein SP-A und SP-D Mangel die Phagozytose und Abtötung von Mikroorganismen stören und dadurch zu der von neutrophilen Granulozyten dominierten Entzündung beitragen (Bufler et al., 2003; Wu et al., 2003). Andererseits könnte die erniedrigte Konzentration der Kollektine auch eine Anpassung an die starke Belastung der Atemwege bei CF durch zelluläre Rückstände und Bakterien bedeuten. Die niedrige Kollagenkonzentration könnte ein Schutz vor dem Perpetuieren der Entzündungskaskade sein, da durch die Bindung der Kollagenendstücke auf Epithelzellen und Makrophagen die

Entzündungskaskade in Gang gesetzt wird (Gardai et al., 2003). Somit ist es ungewiss, ob eine Substitution der Kollektine eine geeignete Therapieoption bei CF wäre.

Mit dieser Arbeit wurde erstmalig eine Langzeituntersuchung bezüglich der Surfactantfunktion, der Lungenfunktion und der Entzündung der Atemwege bei CF Patienten durchgeführt. Zusammenfassend wurde innerhalb des dreijährigen Beobachtungszeitraums eine Abnahme der Surfactantaktivität (Adsorption und minimale Oberflächenspannung) bei gleichzeitigem Anstieg der neutrophilen Entzündung und Verschlechterung der Lungenfunktion der kleinen Atemwege ( $MEF_{25}$ ) nachgewiesen. Die der Verschlechterung der Surfactantfunktion zugrunde liegenden Mechanismen sind noch weitgehend ungeklärt: So konnte im Beobachtungszeitraum keine Verminderung der vier Surfactantproteine festgestellt werden, interessanterweise kam es aber zu einer Zunahme der SP-B Konzentration. Es ist daher unwahrscheinlich, dass sich die Verminderung der Oberflächenaktivität nur durch einen einzigen Faktor erklären lässt. Wahrscheinlicher ist ein multifaktorielles Geschehen: eine allmähliche Veränderung der Zusammensetzung und Funktion der oberflächenaktiven Fraktion, wie beispielsweise durch einen proteolytischen Funktionsverlust von Surfactantproteinen ohne gleichzeitige Konzentrationsverminderung, und zusätzlich durch die stärkere lokale Entzündung bedingt, eine vermehrte Beimischung von inaktivierenden, aus der SA- Fraktion stammenden Bestandteilen. Die Abnahme der Phospholipidkonzentration war für den Aktivitätsverlust nicht verantwortlich, da die Oberflächenspannung bei konstanter Phospholipidkonzentration (1 mg/ml) gemessen wurde.

### Zusammenfassung

In dieser Arbeit wurde das Surfactantsystem einer großen Gruppe von CF Patienten mit im Normbereich liegenden Lungenfunktionswerten anhand von Quer- und Längsschnittuntersuchungen (Beobachtungszeitraum: drei Jahre) detailliert beschrieben. Trotz normaler Lungenfunktion war eine deutliche von neutrophilen Granulozyten dominierte Entzündung der Atemwege nachweisbar. Die mit dem pulsierenden Blasensurfactometer gemessene Surfactantfunktion der CF Patienten unterschied sich zu Beginn des Beobachtungszeitraumes nur geringfügig von Gesunden, nahm aber innerhalb der drei Jahre ab. Hingegen blieb die mit dem Kapillarsurfactometer gemessene bereits zum ersten Lavagezeitpunkt deutlich eingeschränkte Surfactantfunktion im Beobachtungszeitraum stabil. Die biophysikalische Surfactantfunktion korrelierte negativ mit dem Entzündungsgrad der

kleinen Atemwege, nicht aber mit der Lungenfunktion. Die diesem Funktionsverlust zugrunde liegenden Mechanismen beinhalteten eine, im Vergleich mit Gesunden erhöhte Gesamtproteinkonzentration. Es konnte ein hemmender Einfluss von Proteinen der SA-Fraktion auf die oberflächenaktive LA- Fraktion nachgewiesen werden. Des Weiteren wurde im Vergleich mit Gesunden ein Mangel an SP-A nachgewiesen, der ebenfalls zu dem Funktionsverlust beitragen hat. Die Ergebnisse zeigen, wie entscheidend die in den kleinen Atemwegen stattfindenden Veränderungen sind und wie bedeutend spezifische Therapieformen wären.

V. Anhang

A. Tabellen

1. Genauigkeit der biophysikalischen Messungen

a. Pulsierendes Blasensurfactometer

Abkürzungen:

0,0 min: Adsorption (mN/m).

0,05 bis 2,5: Oberflächenspannungswerte der jeweiligen Pulsationszeiten in Minuten.

5,0: minimale Oberflächenspannung (mN/m).

Wasser:

Tag	0,0 min	0,05	0,25	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	5,0
04.10. 00	76,5	75,2	74,1	73	70,4	73,8	69,7	72,8	71,5
05.10. 00	70,4	70,1	69,7	72,1	70,2	69,7	69,3	70,1	70,5
23.10. 00	71,5	71,4	71,0	71,0	68,7	70,2	70,1	70,1	69,7
27.10. 00	74,6	74,1	73,5	69,7	72,2	71,8	71,8	71,4	70,5
09.02. 01	68,4	68,6	71,0	71,0	71,4	70,5	71,0	71,0	70,5
12.02. 01	69,2	69,2	68,7	68,9	71,6	71,4	71,0	71,4	70,1
13.02. 01	73,4	73,0	72,2	69,5	71,3	70,9	70,5	70,2	69,8
16.02. 01	73,0	73,0	72,2	72,2	72,2	72,0	71,9	71,4	68,1
19.02. 01	70,0	70,0	69,9	71,6	68,9	71,0	71,4	70,1	71,0
23.02. 01	70,7	70,4	69,9	69,8	70,1	70,1	69,9	69,7	67,7
25.07. 01	72,3	72,1	68,1	70,2	69,1	68,9	68,5	70,9	69,2
27.07. 01	71,5	71,5	71,0	70,8	70,9	70,6	70,9	70,9	70,9
31.07. 01	71,9	71,9	72,4	69,9	69,7	69,8	69,5	69,8	69,9
01.08. 01	70,4	70,1	70,2	70,9	72,3	70,6	70,6	70,8	68,1
03.08. 01	72,3	71,8	66,9	70,5	68,2	68,2	68,5	68,5	68,8
04.08. 01	73,8	72,6	70,1	70,6	69,9	70,1	68,7	67,4	68,2
08.08. 01	73,0	72,9	70,1	69,9	69,3	71,3	68,9	70,1	70,9
09.08. 01	71,1	70,8	70,5	70,5	70,1	69,3	71,0	70,5	70,9
28.11. 02	68,4	68,1	69,4	70,9	69,7	69,1	58,3	68,1	66,7
13.12. 02	73,0	73,0	72,0	70,1	69,4	71,0	70,5	69,9	68,1
19.12. 02	70,0	70,0	71,9	71,7	69,9	71,0	69,3	71,0	69,6
20.12. 02	70,7	70,8	71,1	71,0	70,2	69,3	68,2	69,9	66,5
21.12. 02	70,7	70,8	71,8	71,7	71,8	71,4	71,3	70,9	71,0
21.01. 03	69,6	69,6	72,0	72,2	68,9	71,4	71,2	70,9	71,0
22.01. 03	70,0	70,0	72,2	70,9	71,4	71,3	71,0	70,6	69,3
04.10. 00	76,5	75,2	74,1	73,0	70,4	73,8	69,7	72,8	71,5

Spaltenstatistik – Wasser:

	0,00	0,05	0,25	0,50	1,00	1,50	2,00	2,50	5,00
Anzahl	25	25	25	25	25	25	25	25	25
Minimum	68,4	68,1	66,9	68,9	68,2	68,2	58,3	67,4	66,5
25% Perzentile	70,0	70,0	69,9	70,0	69,4	69,8	69,1	69,9	68,2
Median	71,1	70,8	71,0	70,9	70,1	70,6	70,5	70,5	69,8
75% Perzentile	73,0	72,8	72,1	71,7	71,4	71,4	71,0	71,0	70,9
Maximum	76,5	75,2	74,1	73,0	72,3	73,8	71,9	72,8	71,5
Arithmetisches Mittel	71,5	71,2	70,9	70,8	70,3	70,6	69,7	70,3	69,5

Standardabweichung	1,9	1,7	1,6	1,0	1,2	1,2	2,6	1,1	1,4
Standardmessfehler	0,4	0,3	0,3	0,2	0,2	0,2	0,5	0,2	0,3
unteres 95% CI	70,65	70,53	70,20	70,42	69,82	70,10	68,64	69,87	68,95
Oberes 95% CI	72,26	71,95	71,55	71,23	70,80	71,08	70,80	70,80	70,13
Variationsk. (%)	2,73	2,42	2,32	1,38	1,70	1,67	3,76	1,60	2,04

## Standard- Surfactant:

Tag	0,0 min	0,05	0,25	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	5,0
04.10. 00	26,8	26,8	22,5	20,4	9,7	6,1	4,2	2,7	1,1
05.10. 00	23,3	23,3	20,8	19,1	6,9	1,6	0,0	0,4	1,2
23.10. 00	23,7	23,7	4,3	3,2	2,9	0,8	0,0	0,0	0,0
27.10. 00	25,2	25,2	16,7	14,4	4,8	1,6	1,6	2,0	1,1
09.02. 01	23,7	23,7	2,4	1,2	1,2	0,8	1,2	1,1	1,2
12.02. 01	23,7	23,7	1,2	0,8	0,4	0,8	0,4	0,8	0,8
16.02. 01	24,5	24,5	3,7	3,4	1,6	1,5	1,1	1,1	1,5
19.02. 01	22,6	21,8	1,2	1,2	1,2	0,8	0,8	0,8	0,8
23.02. 01	21,8	23,7	0,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
25.07. 01	22,2	22,2	19,6	16,2	12,7	9,2	0,8	0,4	0,0
27.07. 01	22,6	22,9	7,6	5,2	2,3	2,3	2,3	2,3	2,3
31.07. 01	23,3	23,3	19,6	17,1	14,4	11,2	8,3	7,6	0,4
01.08. 01	21,4	21,4	3,5	2,4	0,8	0,4	0,8	0,4	0,4
03.08. 01	22,6	22,2	2,3	1,6	0,4	0,8	0,8	0,4	0,4
04.08. 01	21,8	21,8	4,0	3,6	0,8	0,0	0,0	0,0	0,0
08.08. 01	23,3	2,3	1,2	0,0	0,0	0,4	0,4	0,4	0,4
09.08. 01	22,2	22,9	2,3	1,2	1,6	1,2	1,2	1,2	1,5
28.11. 02	22,6	22,6	7,8	6,2	5,1	4,3	3,6	3,2	1,2
13.12. 02	23,3	23,3	8,4	7,3	5,7	3,1	4,2	6,5	1,5
19.12. 02	23,3	22,9	8,8	7,6	6,1	5,7	5,7	4,6	1,5
19.12. 02	22,9	22,9	8,1	5,7	5,0	3,1	1,9	1,9	1,5
20.12. 02	22,9	22,9	6,9	5,4	3,8	3,4	3,4	2,3	0,4
21.12. 02	23,3	23,3	1,1	0,4	0,8	0,8	0,4	0,0	0,0
21.01. 03	23,3	23,3	5,0	4,2	2,3	1,5	1,1	0,4	0,0
22.01. 03	23,3	29,9	3,4	1,5	0,8	0,4	0,8	0,4	0,4

## Spaltenstatistik – Surfactant:

	0,00	0,05	0,25	0,50	1,00	1,50	2,00	2,50	5,00
Anzahl	25	25	25	25	25	25	25	25	25
Minimum	21,4	2,3	0,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
25% Perzentile	22,6	22,4	2,3	1,2	0,8	0,8	0,4	0,4	0,2
Median	23,3	23,3	4,3	3,6	2,3	1,5	1,1	0,8	0,8
75% Perzentile	23,5	23,7	8,6	7,5	5,4	3,3	2,9	2,3	1,4
Maximum	26,8	29,9	22,5	20,4	14,4	11,2	8,3	7,6	2,3
Arithmetisches Mittel	23,2	22,7	7,3	6,0	3,7	2,5	1,8	1,6	0,8
Standardabweichung	1,1	4,6	6,9	6,3	3,9	2,9	2,0	2,0	0,7
Standardmessfehler	0,2	0,9	1,4	1,3	0,8	0,6	0,4	0,4	0,1
unteres 95% CI	22,72	20,77	4,46	3,36	2,04	1,29	0,95	0,81	0,52
Oberes 95% CI	23,65	24,55	10,17	8,58	5,26	3,65	2,64	2,46	1,05
Variationsk. (%)	4,84	20,22	94,60	105,8	106,8	115,9	113,8	122,4	82,96

## b. Kapillarsurfactometer

Abkürzungen:

Arithm. M.: Arithmetisches Mittel

SEM: Standard Messfehler

% Offen – Wasser:

Messtag	1. Messung	2. Messung	3. Messung	4. Messung	Arithm. M.	SEM
05.10.00	0,0	0,0	0,0		0	0
23.10.00	0,0	0,0			0	0
27.10.00	0,0	3,4	0,1		1,2	1,1
12.02.01	0,1	0,0	0,0		0,0	0,0
13.02.01	0,0	0,0	0,0		0	0
16.02.01	0,0	0,0	0,0		0	0
19.02.01	0,6	4,7	0,8		2,0	1,3
22.02.01	0,0	3,2	0,8		1,3	1,0
23.02.01	1,0	0,1	0,0		0,4	0,3
07.03.02	0,0	0,0	0,0		0	0
08.03.02	0,0	0,0	0,0		0	0
11.03.02	0,0	0,0	0,0		0	0
14.03.02	0,3	1,3	0,0	0,0	0,4	0,3
18.03.02	0,0	0,0	0,0	2,4	0,6	0,6
20.03.02	0,0	0,8	0,0		0,3	0,3
21.03.02	0,0	0,0	0,0		0	0
25.03.02	0,0	0,8	0,0		0,3	0,3
28.11.02	0,1	9,9	0,0		3,3	3,3
29.11.02	2,8	9,1	0,5		4,1	2,6
13.12.02	29,6	1,8	18,4	9,2	14,8	6,0
19.12.02	1,0	0,0	34,0		11,7	11,2
20.12.02	0,0	0,0	0,0		0	0
21.12.02	92,4	100,0	93,9		95,4	2,3
21.01.03	100,0	100,0	100,0		100	0
22.01.03	100,0	100,0	100,0		100	0

% Offen – Surfactant

Messtag	1. Messung	2. Messung	3. Messung	4. Messung	Arithm. M.	SEM
05.10.00	95,0	100,0	99,9		98,3	1,7
23.10.00	99,9	99,9	100,0		99,9	0,0
27.10.00	95,4	99,9	96,1		97,1	1,4
12.02.01	94,2	100,0	99,8		98	1,9
13.02.01	99,9	99,9	94,5		98,1	1,8
16.02.01	95,2	92,6	95,9		94,6	1,0
19.02.01	100,0	100,0	100,0		100	0
22.02.01	100,0	100,0	100,0		100	0
23.02.01	100,0	100,0	100,0		100	0
07.03.02	94,7	90,9	94,2	94,1	93,5	0,9
08.03.02	95,0	90,4	85,5	90,7	90,4	1,9
11.03.02	90,0	89,6	90,4		90,0	0,2
14.03.02	90,4	88,1	94,1		90,9	1,7
18.03.02	94,8	90,4	91,0		92,1	1,4

20.03.02	91,2	93,1	91,7		92,0	0,6
21.03.02	89,9	94,3	95,3		93,2	1,7
25.03.02	91,6	94,9	91,9		92,8	1,1
28.11.02	91,4	90,6	87,9		90,0	1,1
29.11.02	90,2	89,0	93,3		90,8	1,3
13.12.02	94,8	91,2	92,9		92,0	1,0
19.12.02	90,2	90,0	88,7		89,6	0,5
20.12.02	88,0	88,0	86,0		87,3	0,6
21.12.02	90,9	91,7	91,6		91,4	0,3
21.01.03	93,8	97,2	97,2		96,1	1,1
22.01.03	80,3	79,5	77,7		79,2	0,8

initialer Druck – Wasser:

Messtag	1. Messung	2. Messung	3. Messung	4. Messung	Arithm. M.	SEM
05.10.00	7,8	8,1	7,9		7,9	0,1
23.10.00	11,6	11,8			11,7	0,1
27.10.00	8,4	11,2	8,4		9,3	0,9
12.02.01	7,3	7,9	9,0		8,1	0,5
13.02.01	8,2	8,0	8,2		8,1	0,1
16.02.01	7,6	7,4	7,8		7,6	0,1
19.02.01	8,8	11,0	8,3		9,4	0,8
22.02.01	7,7	8,8	8,5		8,3	0,3
23.02.01	10,2	10,5	10,4		10,4	0,1
07.03.02	9,2	8,9	8,9		9,0	0,1
08.03.02	9,6	9,2	9,0		9,3	0,2
11.03.02	9,7	9,7	9,7		9,7	0,0
14.03.02	9,9	10,3	10,1	9,7	10,0	0,1
18.03.02	10,0	10,6	10,1	10,0	10,2	0,1
20.03.02	9,6	9,5	9,1		9,4	0,2
21.03.02	10,6	10,8	10,6		10,7	0,1
25.03.02	11,1	10,6	11,6		11,1	0,3
28.11.02	10,3	10,7	8,4		9,8	0,7
29.11.02	9,8	9,6	9,5		9,6	0,1
13.12.02	10,3	9,9	10,1	10,8	10,3	0,2
19.12.02	13,7	12,6	12,7		13,0	0,4
20.12.02	8,9	8,4	8,9		8,7	0,2
21.12.02	8,5	8,5	8,8		8,6	0,1
21.01.03	9,2	7,9	8,9		8,7	0,4
22.01.03	9,7	8,0	9,3		9,0	0,5

initialer Druck – Surfactant:

Messtag	1. Messung	2. Messung	3. Messung	4. Messung	Arithm. M.	SEM
05.10.00	4,7	4,0	4,2		4,3	0,2
23.10.00	6,2	5,6	5,5		5,8	0,2
27.10.00	6,7	8,5	8,9		8,0	0,7
12.02.01	9,0	5,8	4,9		6,6	1,2
13.02.01	4,6	4,9	5,1		4,9	0,1
16.02.01	5,9	5,7	4,9		5,5	0,3
19.02.01	5,1	5,6	4,9		5,2	0,2

22.02.01	5,5	4,5	5,8		5,3	0,3
23.02.01	6,3	6,3	6,8		6,5	0,2
07.03.02	4,5	4,3	4,4	4,3	4,4	0,0
08.03.02	4,2	4,5	6,6	4,5	5,0	0,6
11.03.02	4,6	4,5	4,4		4,5	0,1
14.03.02	4,7	4,6	4,3		4,5	0,1
18.03.02	4,7	5,1	4,5		4,8	0,2
20.03.02	4,3	4,2	4,4		4,3	0,1
21.03.02	4,2	4,4	4,2		4,3	0,1
25.03.02	4,5	4,3	4,6		4,5	0,1
28.11.02	5,2	5,5	4,8		5,2	0,2
29.11.02	4,9	4,7	5,0		4,9	0,1
13.12.02	4,3	5,0	4,3		4,5	0,2
19.12.02	4,0	4,5	4,5		4,3	0,2
20.12.02	4,4	4,1	4,2		4,2	0,1
21.12.02	4,6	4,8	4,4		4,6	0,1
21.01.03	4,1	3,8	4,0		4,0	0,1
22.01.03	5,1	4,8	5,3		5,1	0,1

## Spaltenstatistik – Kapillarsurfactometer:

	Wasser % Offen	Wasser initialer Druck (cm H <sub>2</sub> O)	Surfactant % Offen	Surfactant initialer Druck (cm H <sub>2</sub> O)
Anzahl	25	25	25	25
Minimum	0,0	7,6	79,1	4,0
25% Perzentile	0,0	8,6	90,6	4,4
Median	0,4	9,4	93,0	4,8
75% Perzentile	3,7	10,3	98,1	5,2
Maximum	100,0	13,0	100,0	8,0
Arithmetisches Mittel	13,4	9,5	93,5	5,0
Standardabweichung	32,3	1,2	4,9	0,9
Standardmessfehler	6,5	0,2	1,0	0,2
unteres 95% CI	0,11	9,00	91,52	4,62
Oberes 95% CI	26,75	10,03	95,54	5,37
Variationsk. (%)	240,23	13,10	5,21	18,28

## 2. Kontrollgruppe

Abkürzungen:

0,0 min: Adsorption (mN/m).

0,005 bis 2,5: Oberflächenspannungswerte der jeweiligen Pulsationszeiten in Minuten.

5,0: minimale Oberflächenspannung (mN/m).

Druck: initialer Druck (cm H<sub>2</sub>O).

Zellen: Gesamtzellzahl (10<sup>6</sup>/ml).

% PMN: neutrophile Granulozyten (%).

PMN abs: neutrophile Granulozyten (10<sup>6</sup>/ml).

SP-A: Surfactantprotein A Konzentration (ng/ml).

SP-B: Surfactantprotein A Konzentration (ng/ml).

SP-C: Surfactantprotein C Konzentration (ng/ml).

SP-D: Surfactantprotein D Konzentration (ng/ml).

Pro: Proteinkonzentration (µg/ml).

PL: Phospholipidkonzentration (µg/ml Pellet).

CI: Konfidenzintervall.

Variationsk.: Variationskoeffizient.

Kontrolle	Geschlecht	Alter	0,0 min	0,05	0,25	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	5,0
1	männlich	4,0	45,5	45,5	26,4	24,1	22,5	20,8	20,0	18,2	2,3
2	männlich	4,5	60,8	60,4	35,1	24,1	23,0	22,5	22,6	22,4	21,8
3	männlich	4,0	23,7	23,7	20,0	15,2	8,6	6,6	8,2	8,2	1,6
4	männlich	3,0	28,7	28,7	24,1	23,7	22,5	22,0	21,6	20,8	20,9
5	weiblich	7,0	35,6	35,6	29,6	27,3	24,1	23,3	23,3	22,9	22,2
6	weiblich	6,5	40,9	39,8	23,3	22,0	21,6	20,0	18,3	16,0	9,7
7	weiblich	4,5	50,5	50,1	35,4	24,5	22,9	22,0	20,8	20,0	14,8
8	männlich	1,5	35,9	34,8	22,0	18,8	16,4	14,8	14,8	15,6	11,4
9	männlich	8,5	24,9	24,9	22,5	21,6	20,4	18,9	18,3	17,4	12,5
10	männlich	5,0	24,9	24,9	19,6	1,5	1,1	1,1	1,5	0,4	0,0

Kontrolle	% Offen	Druck	Zellen	% PMN	PMN abs	SP-A	SP-B	SP-C
1	100,0	5,3	0,33	0,00	0,00	9940,45	836,40	480,20
2	82,5	8,7	0,10	1,00	0,001	2631,70	415,28	349,70
3	94,8	6,1	0,155	0,70	0,0011	13721,25	1059,15	450,62
4	83,4	8,3	0,083	2,00	0,0017	4497,55	253,10	203,00
5	93,6	8,2	0,26	3,00	0,0078	9481,58	829,58	399,92
6	92,9	5,5	0,072	0,50	0,0004	4800,82	748,38	320,92
7	100,0	6,7	0,115	8,00	0,0092	2115,98	511,83	358,00
8	99,9	5,8	0,173	1,00	0,0017	8067,57	429,30	330,00
9	99,9	5,9	0,18	3,00	0,0054	12951,60	836,85	963,90
10	99,0	6,8	0,263			17733,30	867,10	364,40

Kontrolle	SP-D	Pro	PL	Recovery Pool (%)
1	84,28	77,10	194,0	0,47
2	6,35	56,23	37,0	0,86
3	6,42	65,79	75,0	0,44
4	156,98	81,53	99,0	0,52
5	8,36	153,90	61,0	0,86
6	3,26	70,26	64,0	0,69

7	4,95	38,00	62,0	0,40
8	169,30	84,67	105,0	0,82
9	5,31	66,58	174,0	0,57
10	34,24	57,52	222,0	0,79

Spaltenstatistik:

	Alter	0,0 min	0,05	0,25	0,5	1,0	1,5	2,0
Anzahl	81	10	10	10	10	10	10	10
Minimum	5,0	23,7	23,7	19,6	1,5	1,1	1,1	1,5
25% Perzentile	8,0	24,9	24,9	21,0	17,0	12,5	10,7	11,5
Median	11,0	35,8	35,2	23,7	22,9	22,1	20,4	19,2
75% Perzentile	13,5	48,0	47,8	32,4	24,3	23,0	22,3	22,1
Maximum	31,0	60,8	60,4	35,4	27,3	24,1	23,3	23,3
Arithmetisches Mittel	11,4	37,1	36,8	25,8	20,3	18,3	17,2	16,9
Standardabweichung	4,9	12,4	12,2	5,7	7,4	7,6	7,5	7,0
Standardmessfehler	0,5	3,9	3,9	1,8	2,3	2,4	2,4	2,2
unteres 95% CI	10,31	28,29	28,10	21,67	14,98	12,87	11,80	11,93
Oberes 95% CI	12,48	45,99	45,58	29,93	25,58	23,75	22,60	21,95
Variationsk. (%)	33,31	33,18	22,38	36,51	41,55	43,87	41,35	33,31

	2,5	5,0	% Offen	Druck	Zellen	% PMN	PMN abs	SP-A
Anzahl	10	10	10	10	10	9	9	10
Minimum	0,4	0,0	82,5	5,3	0,072	0,0	0,0	2116
25% Perzentile	11,9	2,0	88,2	5,6	0,092	0,600	0,0007	3565
Median	17,8	12,0	96,9	6,4	0,164	1,000	0,0017	8775
75% Perzentile	21,6	21,4	100,0	8,2	0,262	3,000	0,0066	13336
Maximum	22,9	22,2	100,0	8,7	0,330	8,000	0,0092	17733
Arithmetisches Mittel	16,2	11,7	94,6	6,7	0,173	2,133	0,0031	8594
Standardabweichung	7,0	8,4	6,8	1,2	0,087	2,444	0,0034	5168
Standardmessfehler	2,2	2,7	2,1	0,4	0,027	0,815	0,0011	1634
unteres 95% CI	11,20	5,70	89,76	5,82	0,111	0,255	0,0005	4897
Oberes 95% CI	21,18	17,75	99,44	7,60	0,235	4,012	0,0058	12291
Variationsk. (%)	43,11	71,87	7,15	18,48	50,10	114,56	109,33	60,13

	SP-B	SP-C	SP-D	Pro	PL	Recovery Pool (%)
Anzahl	10	10	10	10	10	10
Minimum	253,1	203,0	3,4	38,00	0,037	0,40
25% Perzentile	422,3	325,5	5,1	56,88	0,062	0,46
Median	789,0	361,2	7,4	68,42	0,087	0,63
75% Perzentile	852,0	465,4	120,6	83,10	0,184	0,84
Maximum	1059	963,9	169,3	153,9	0,222	0,86
Arithmetisches Mittel	678,7	422,1	48,0	75,16	0,109	0,64
Standardabweichung	257,8	204,8	65,7	30,86	0,064	0,18
Standardmessfehler	81,53	64,78	20,8	9,76	0,020	0,058
unteres 95% CI	494,3	275,5	0,97	53,08	0,063	0,51
Oberes 95% CI	863,1	568,6	94,92	97,23	0,155	0,77
Variationsk. (%)	37,99	48,53	136,96	41,06	58,83	28,48

## 3. Patienten mit cystischer Fibrose

## a. Verfügbarkeit der Proben für die Korrelationen

Abkürzungen:

1. BAL: genügend Material von 1. Lavage.

2. BAL: aus 1. Lavage zu wenig bzw. kein Material; kein Pulmozyme; genügend Material aus 2. Lavage.

3. BAL: 1. und 2. Lavage: zu wenig bzw. kein Material; kein Pulmozyme; genügend Material der 3. Lavage.

W: zu wenig Material.

K: kein Material.

P: Pulmozyme, deshalb kein Ausweichen auf spätere Lavage möglich.

CS: nur ausreichend Material für Messung mit Kapillarsurfactometer vorhanden.

Patient	101	102	103	104	105	106	107	108
Material	1. BAL	1. BAL	1. BAL	W, P	1. BAL	1. BAL	1. BAL	W, 2. BAL
Patient	109	110	111	112	113	114	115	116
Material	W, 2. BAL	1. BAL	1. BAL	W, 2. BAL	K, W, 3. BAL	W, 2. BAL	W, 2. BAL	1. BAL
Patient	117	118	119	120	121	122	123	124
Material	W, K, K	W, P	1. BAL	W, 2. BAL	1. BAL	1. BAL	W, K, K	W, 2. BAL
Patient	125	126	201	202	203	204	205	206
Material	W, 2. BAL	1. BAL	1. BAL	W, P	W, P	1. BAL	CS 1. BAL	1. BAL
Patient	208	209	210	211	213	214	215	216
Material	W, W, K	1. BAL	K, P	1. BAL	1. BAL	1. BAL	W, P	W, W, K
Patient	217	218	219	221	222	223	224	225
Material	1. BAL	1. BAL	1. BAL	1. BAL	1. BAL	CS 1. BAL	1. BAL	1. BAL
Patient	301	302	303	304	305	306	307	308
Material	W, 2. BAL	1. BAL	1. BAL	1. BAL	W, K, K	1. BAL	W, P	1. BAL
Patient	309	310	311	312	313	314	315	316
Material	W, W, K	W, P	W, P	W, P	W, K, K	1. BAL	W, W, K	W, P
Patient	401	402	403	404	405	406	407	408
Material	1. BAL	1. BAL	1. BAL	1. BAL	1. BAL	1. BAL	1. BAL	1. BAL
Patient	409	410	411	412	413	414	415	416
Material	1. BAL	1. BAL	1. BAL	1. BAL	1. BAL	W, W, 3. BAL	1. BAL	1. BAL
Patient	417	418	419	420	421	422	423	424
Material	1. BAL	1. BAL	1. BAL	W, P	1. BAL	W, P	1. BAL	1. BAL
Patient	425	426	427	428	429	430	501	502
Material	W, 2. BAL CS	1. BAL	1. BAL	1. BAL	1. BAL	1. BAL	K, P	W, P
Patient	503	504	505	506	507	508	509	510
Material	1. BAL	1. BAL	W, K,	1. BAL	1. BAL	1. BAL	1. BAL	W,

		CS	K	CS				2.BAL CS
Patient	511	512						
Material	W, P	1. BAL						

## b. Werte für die Korrelationen

## Abkürzungen:

Patient:	n-0: Probe der ersten Lavage. n-2: Probe der zweiten Lavage. n-3: Probe der dritten Lavage.
DNase:	0: nicht randomisiert. 1: Pulmozyme (rhDNase). 2: kein Pulmozyme.
BMI:	Body Mass Index (kg/m <sup>2</sup> ).
FVC:	forcierte Vitalkapazität (% Soll).
FEV <sub>1</sub> :	Einsekundenkapazität (% Soll).
MEF <sub>25</sub> :	Maximaler expiratorischer Fluss bei 25 % der Vitalkapazität (% Soll).
MEF <sub>75/25</sub> :	
0,0 min:	Adsorption (mN/m).
0,005 bis 2,5:	Oberflächenspannungswerte der jeweiligen Pulsationszeiten in Minuten.
5,0:	minimale Oberflächenspannung (mN/m).
Druck:	initialer Druck (cm H <sub>2</sub> O).
Zellen:	Gesamtzellzahl (10 <sup>6</sup> /ml).
% PMN:	neutrophile Granulozyten (%).
PMN abs:	neutrophile Granulozyten (10 <sup>6</sup> /ml).
SP-A:	Surfactantprotein A Konzentration (ng/ml).
SP-B:	Surfactantprotein A Konzentration (ng/ml).
SP-C:	Surfactantprotein C Konzentration (ng/ml).
SP-D:	Surfactantprotein D Konzentration (ng/ml).
Pro:	Proteinkonzentration (µg/ml).
PL:	Phospholipidkonzentration (µg/ml Pellet).

## Einzelwerte:

Patient	Geschlecht	Alter	DNase	BMI	FVC	FEV <sub>1</sub>	MEF <sub>25</sub>	MEF <sub>75/25</sub>
101-0	weiblich	11	1	17,20	93,33	93,37	51,78	77,73
102-0	weiblich	9	1	14,83	101,68	93,71	39,63	63,15
103-0	männlich	8	2	16,36	112,67	100,34	57,99	74,00
105-0	weiblich	15	2	22,89	88,21	88,29	42,61	105,05
106-0	weiblich	10	1	15,75	82,36	79,83	56,03	62,95
107-0	weiblich	9	2	18,17	111,87	95,64	51,15	60,54
108-2	weiblich	13	2	18,33	105,72	111,24	74,96	67,94
109-2	weiblich	9	2	15,15	93,93	89,43	39,61	73,43
110-0	männlich	15	0	23,18	126,29	119,16	86,31	84,11
111-0	weiblich	21	1	27,25	103,48	90,00	61,26	102,68
112-2	männlich	7	0	15,68	113,32	83,64	38,08	47,73
113-3	männlich	15	2	15,96		61,43	19,66	31,57
114-2	männlich	12	0	15,70	88,62	87,28	60,40	66,13
116-0	männlich	19	0	33,60	95,72	93,78	70,14	78,84
119-0	weiblich	10	2	17,36	97,57	95,75	65,12	95,15
120-2	weiblich	9	2	20,35	88,00	87,59	62,74	87,28

121-0	männlich	15	1	17,96		83,62	32,34	40,40
122-0	weiblich	28	2	20,32	111,41	97,12	23,66	61,02
124-2	männlich	14	2	17,20		86,45		
125-2	männlich	6	0	15,88	114,47	101,87	26,27	64,44
126-0	männlich	12	2	18,31	108,64	99,27	111,89	108,59
201-0	weiblich	13	2	18,97	119,01	117,18	86,99	118,97
204-0	männlich	9	1	14,20	82,41	78,96	49,66	67,49
205-0	männlich	8	1	14,52		92,86	43,09	
206-0	weiblich	13	1	18,97		86,09	56,76	61,34
209-0	männlich	8	2	15,55		88,25	89,76	79,43
211-0	männlich	9	1	13,72	71,34	51,97	27,14	32,06
212-0	männlich	16	2	20,38		101,96	61,20	78,14
213-0	weiblich	10	2	15,90	88,60	83,34	60,76	68,80
214-0	weiblich	9	2	14,49	108,42	108,42	82,80	122,44
217-0	weiblich	11	1	18,35		103,15	109,34	
218-0	männlich	7	2	15,55		79,44	62,36	52,49
219-0	weiblich	16	1	19,92		103,27	46,98	99,91
221-0	männlich	11	1	18,24	87,55	78,45	52,19	66,26
222-0	weiblich	13	1	21,17		85,29	36,14	76,11
223-0	männlich	16	1	20,16	70,13	95,36	88,33	72,20
224-0	weiblich	10	1	16,28	97,92	100,05	97,12	125,89
225-0	weiblich	6	1	15,55		76,06	56,52	60,05
301-2	weiblich	12	2	17,70	106,97	99,32	45,79	73,62
302-0	männlich	12	0	15,42	97,84	88,15	93,98	98,05
303-0	männlich	7	1	15,68	107,09	98,97	77,50	74,00
304-0	weiblich	12	1	18,97	93,74	96,90	56,01	108,81
306-0	männlich	12	1	17,31	107,00	105,77	101,62	107,17
308-0	männlich	9	2	16,12	98,30	96,57	75,10	91,27
314-0	männlich	7	1	16,08	96,10	89,63	53,28	63,08
401-0	männlich	10	2	16,07	90,95	96,10	154,55	50,42
402-0	männlich	11	2	15,77	93,60	90,87	57,28	72,54
403-0	weiblich	7	1	14,56		95,78	98,36	101,67
404-0	weiblich	6	2	12,93	81,50	86,71	73,36	57,19
405-0	weiblich	5	2	16,16	78,90	79,25	51,07	62,50
406-0	weiblich	11	1	15,72	83,55	91,77	95,66	104,90
407-0	weiblich	8	1	14,45	78,14	80,51	37,80	56,62
408-0	weiblich	11	1	21,30	98,25	99,17	69,88	90,46
409-0	weiblich	13	1	18,41	89,11	97,15	59,83	104,08
410-0	weiblich	7	1	16,49	120,70	117,54	85,07	104,10
411-0	weiblich	15	0	17,72	77,99	93,87	77,15	128,19
412-0	weiblich	10	2	17,36	110,50	117,27	103,28	117,57
413-0	männlich	8	1	14,65	98,41	103,04	92,00	102,16
414-3	weiblich	11	0	23,27	108,00	90,66	17,75	48,09
415-0	männlich	11	0	18,43	108,53	92,77	56,32	63,56
416-0	männlich	5	1	15,61	93,75	103,93	85,93	106,87
417-0	männlich	14	2	18,31	91,44	85,38	41,11	52,02
418-0	männlich	8	2	15,02	77,35	74,63	47,86	61,26
419-0	weiblich	6	0	14,61	85,90	90,55	76,61	87,11
421-0	männlich	9	1	14,04	95,04	80,37	46,69	53,45

423-0	weiblich	10	0	15,31	83,65	85,81	64,69	67,90
424-0	weiblich	5	0	15,34	80,32	85,22	56,78	
425-2	weiblich	31	0	23,88	111,01	99,54	63,69	58,28
426-0	männlich	5	0	17,47	111,92	101,17	49,09	75,56
427-0	weiblich	16	2	17,58	91,99	96,92	27,22	73,55
428-0	männlich	6	0	14,96	93,16	88,61	70,56	66,26
429-0	weiblich	24	0	16,30	95,96	92,02	33,71	72,38
430-0	männlich	19	2	23,70	118,30	121,13	115,90	131,39
503-0	männlich	18	2	19,74	100,68	79,29	26,29	36,42
504-0	männlich	13	1	15,55	82,01	97,34	82,19	74,78
506-3	männlich	12	2	17,75				
507-0	weiblich	12	2	14,92	104,34	94,59	32,14	72,11
508-0	männlich	16	1	21,85	115,30	111,71	107,10	85,52
509-0	weiblich	6	1	13,55	96,89	107,96	144,13	169,25
510-2	weiblich	16	2	19,48	71,59	53,39	5,60	18,83
512-0	weiblich	5	2	15,91	112,20	117,45	93,33	125,22

Patient	0,0 min	0,05	0,25	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	5,0
101-0	54,3	54,3	20,7	21,0	17,2	11,9	11,9	10,3	8,4
102-0	41,7	40,9	18,4	13,4	9,2	8,8	8,4	7,6	9,2
103-0	51,2	51,2	24,5	19,9	18,4	15,7	13,8	12,6	11,1
105-0	58,1	58,1	29,8	24,1	21,0	20,7	20,7	20,7	20,3
106-0	23,7	23,3	15,7	14,9	13,4	14,2	12,6	10,3	9,6
107-0	21,8	22,2	1,5	0,0	0,4	0,0	0,0	0,0	0,0
108-2	55,1	54,7	22,4	22,5	21,3	21,3	21,4	21,0	21,8
109-2	29,1	28,7	21,0	20,8	20,4	20,4	19,6	20,0	18,9
110-0	42,4	42,1	22,6	20,7	20,7	20,3	19,5	19,9	19,9
111-0	45,9	45,9	14,5	13,4	10,3	11,5	9,6	9,6	6,9
112-2	32,1	32,1	20,8	19,1	18,7	18,0	17,0	17,1	15,5
113-3	62,3	62,3	48,2	45,1	44,0	41,7	41,7	39,8	34,3
114-2	75,3	73,6	58,1	51,2	45,9	42,1	39,4	37,9	30,6
116-0	26,0	25,6	22,9	22,9	22,5	22,0	21,6	21,6	21,7
119-0	48,9	49,0	26,8	20,7	18,0	18,4	17,6	17,6	18,4
120-2									
121-0	35,6	34,8	21,7	19,3	13,9	7,9	5,8	5,8	3,1
122-0	61,6	61,6	50,6	47,4	44,4	42,8	41,7	40,1	36,2
124-2	55,1	54,3	42,1	38,6	36,6	35,1	33,5	33,9	30,4
125-2	55,4	54,7	42,5	40,1	37,0	34,7	31,5	28,0	23,0
126-0	55,1	53,5	23,4	22,2	21,7	21,7	20,0	18,5	16,6
201-0	45,1	44,7	31,0	27,5	22,6	21,8	21,4	21,4	21,0
204-0	45,1	45,1	34,3	31,2	27,6	26,4	24,9	23,8	22,9
205-0									
206-0	62,3	62,3	37,5	32,5	23,7	23,3	22,9	22,9	22,9
209-0	30,6	30,6	23,4	23,8	24,1	23,3	22,9	22,9	21,6
211-0	43,6	43,2	23,3	22,6	23,3	21,8	21,4	21,0	20,7
212-0	54,3	53,9	23,7	22,6	22,1	21,4	21,3	21,3	21,0
213-0	54,3	53,9	22,2	21,4	20,6	19,9	20,3	20,3	20,6
214-0	20,6	20,7	19,9	20,7	20,3	20,7	20,7	20,3	19,5

217-0	45,1	45,1	21,7	20,9	19,3	16,4	14,0	13,2	12,6
218-0	56,2	55,8	22,6	22,1	21,7	22,0	21,7	21,7	21,7
219-0	45,9	45,9	32,5	26,0	22,9	26,0	20,7	21,0	20,7
221-0	50,5	50,5	40,5	31,0	27,2	27,2	23,7	23,7	21,4
222-0	50,1	49,7	31,0	22,9	22,6	21,8	21,0	20,7	19,9
223-0									
224-0	32,9	32,9	21,8	21,4	20,7	20,3	19,5	19,9	0,0
225-0	55,4	55,1	22,2	22,0	22,0	21,7	21,3	21,4	21,8
301-2	55,8	55,8	22,6	22,6	22,2	22,2	22,2	21,8	21,8
302-0	29,8	29,8	22,5	21,7	20,8	20,0	19,7	19,7	18,7
303-0	43,2	43,2	23,7	23,7	23,7	23,7	23,7	23,7	22,9
304-0	55,6	55,8	24,1	23,3	23,3	22,6	22,2	22,1	21,4
306-0	50,1	49,8	26,8	24,9	23,3	22,6	22,2	22,2	21,8
308-0	54,7	53,9	44,4	40,1	35,1	31,6	29,7	28,0	24,1
314-0	32,9	32,2	26,0	24,9	24,5	24,5	24,1	24,1	23,3
401-0	29,8	29,1	20,7	21,0	19,9	20,7	20,7	20,3	19,5
402-0	47,4	47,0	20,7	20,7	19,9	19,5	19,5	19,5	18,7
403-0	46,3	46,3	31,4	25,2	22,9	21,4	20,7	19,5	18,7
404-0	32,9	32,1	21,0	20,7	19,5	20,7	19,9	19,5	18,7
405-0	24,9	24,1	19,9	19,5	19,5	19,5	19,1	18,7	18,0
406-0	20,3	20,7	18,4	14,5	11,1	5,7	0,0	1,1	0,0
407-0	22,6	22,6	18,7	16,1	9,2	5,7	7,6	2,3	0,8
408-0	33,3	33,0	27,5	30,0	30,8	31,2	30,0	29,6	27,6
409-0	58,5	58,1	40,9	35,9	29,1	24,5	22,2	21,8	21,8
410-0	25,6	25,2	21,8	21,4	21,0	20,3	20,7	20,7	18,7
411-0	50,1	49,7	27,2	23,7	21,4	23,3	21,4	21,8	21,0
412-0	35,9	35,9	21,4	20,7	19,9	19,5	18,7	18,7	17,6
413-0	23,7	23,3	18,4	15,3	10,3	9,9	11,1	8,4	0,8
414-3	26,4	25,6	4,7	6,4	3,7	4,3	4,8	3,3	13,2
415-0	24,1	23,7	21,4	21,4	9,9	8,8	11,9	9,9	6,9
416-0	50,1	49,0	21,8	21,0	20,3	19,1	16,8	16,8	11,1
417-0	26,8	26,0	20,7	20,3	20,3	19,5	19,1	18,7	16,4
418-0	51,2	51,2	19,9	20,3	19,5	19,9	20,7	20,7	19,9
419-0	28,3	27,5	14,9	11,5	9,2	5,7	8,4	5,0	2,3
421-0	49,3	49,0	25,6	20,3	19,9	18,7	17,2	16,1	11,1
423-0	55,4	55,5	23,3	19,9	19,5	18,0	17,2	16,1	7,3
424-0	32,5	32,1	21,0	20,7	12,6	13,8	13,8	13,8	11,9
425-2									
426-0	53,2	52,8	29,4	23,3	16,4	16,1	14,9	14,5	13,0
427-0	57,0	56,6	41,3	38,2	32,5	28,7	25,6	22,6	22,2
428-0	49,3	49,3	20,0	18,7	13,8	11,4	10,0	11,0	14,0
429-0	37,1	37,1	31,4	32,7	29,6	29,1	27,3	27,2	25,7
430-0	44,0	44,0	21,8	18,7	15,3	14,9	15,3	15,3	14,9
503-0	53,9	53,2	42,5	38,9	35,4	33,5	31,5	30,4	25,3
504-0									
506-3	37,5	37,1	23,3	22,9	20,8	20,0	19,2	19,1	17,6
507-0	33,3	32,9	23,7	23,8	22,9	22,2	21,7	21,4	20,1
508-0	55,4	55,1	22,6	22,2	21,4	21,8	21,8	21,4	20,7
509-0	31,0	30,6	25,3	24,5	24,9	24,9	24,5	24,9	24,1

510-2									
512-0	28,7	28,3	25,3	23,8	23,7	22,6	22,5	22,5	22,5

Patient	% Offen	Druck	Zellen	% PMN	PMN abs	SP-A	SP-B	SP-C	SP-D
101-0	0,3	9,3	24,00	29,30	7,03	11653,20	1088,50	918,50	4,85
102-0	0,0	10,8	10,50	12,70	1,33	11369,00	1218,50	1556,50	13,48
103-0	0,4	7,1	49,00	65,70	32,19	13218,25	1158,00	1298,00	7,04
105-0	0,0	8,1	56,00	51,10	28,62	3761,00	1064,50	604,00	3,69
106-0	9,5	7,7	4,56	11,00	0,50	5244,00	824,00	840,50	16,46
107-0	74,2	6,0	8,86	7,00	0,62	8354,00	926,00	1408,50	18,10
108-2	3,6	7,9	62,20	52,00	32,34	5199,00	727,50	743,50	4,40
109-2	88,4	7,4	2,97	1,30	0,039	2561,00	413,00	489,50	16,21
110-0			2,66	0,70	0,019	3491,00			2,66
111-0			3,00	5,00	0,15	4225,00			8,51
112-2	6,6	12,0	14,20	30,40	4,32	3491,00	653,50	722,50	5,21
113-3	0,0	8,3	52,50	57,00	29,93	2086,20	942,50	444,50	14,80
114-2	92,7	6,2	15,15	6,60	1,00	6431,00	918,50	1121,00	18,64
116-0	73,6	10,0	6,40	0,70	0,04	2405,20	227,50	376,50	4,94
119-0	1,3	9,4	20,80	44,30	9,21	2482,00	580,00	385,00	3,62
120-2	0,5	7,1	6,90	47,00	3,24	3042,70			4,68
121-0	13,5	5,9	28,60	36,00	10,30	4940,00	639,00	218,50	7,25
122-0	0,1	9,1	159,00	83,00	131,97	995,10	489,00	522,00	3,21
124-2	0,3	6,9	9,90	32,80	3,25	10621,80	1316,50	937,50	3,94
125-2	5,1	6,8	2,45	4,00	0,10	3403,60	638,50	522,00	5,25
126-0	1,8	8,2	5,20	20,00	1,04	6041,00	467,00	552,00	3,65
201-0	0,0	10,4	108,00	71,00	76,68	2747,80	290,20	95,00	4,36
204-0	88,8	6,3	10,00	21,00	2,10	4707,00	887,10	545,24	3,40
205-0	83,1	7,0	9,00	12,00	1,08	2966,00	446,50	605,50	4,50
206-0	10,2	8,2	40,00	31,00	12,40	4258,20	712,50	724,00	16,45
209-0	91,9	6,6	21,00	28,00	5,88	21811,00	875,70	570,81	2,13
211-0	0,4	7,4	3,00	2,80	0,08	3895,80	247,20	37,00	2,24
212-0	0,3	7,7	62,00	42,00	26,04	2424,00	1434,00	824,00	5,20
213-0	0,7	8,0	15,00	28,00	4,20	3109,70	375,50	930,00	1,17
214-0	3,1	6,8	2,80	36,00	1,01	2309,00	262,30	109,00	2,70
217-0	26,3	8,1	68,00	21,00	14,28	5503,70	491,00	888,00	7,90
218-0	0,0	9,2	19,00	15,00	2,85	4326,00	679,50	574,50	6,30
219-0	0,1	8,5	26,00	29,00	7,54	4814,00	155,50	43,50	3,90
221-0	2,9	5,2	22,00	39,00	8,58	13135,00	413,20	334,00	9,52
222-0	0,2	7,7	126,00	82,00	103,32	4471,00	193,10	128,50	0,00
223-0	7,8	7,1	1,00	52,00	0,52	4124,00	554,50	511,00	5,40
224-0	0,5	7,8	25,00	26,00	6,50	5777,00	329,50	44,00	4,30
225-0	44,4	8,8	6,00	40,00	2,40	2043,00	380,00	454,00	2,80
301-2	45,5	9,5	1,70	3,00	0,05	1432,33	392,50	470,00	5,05
302-0	66,7	8,0		1,00	0,00	1408,30	618,00	513,00	7,71
303-0	14,5	6,6		23,00	0,00	2595,30	923,50	156,00	2,12
304-0	0,1	9,7	0,01	28,00	0,00	5527,50	1101,00	143,00	5,02
306-0	0,2	9,7		25,00	0,00	2504,10	1186,00	453,50	4,01
308-0	51,2	11,1	5,90	28,00	1,65	2657,00	814,80	516,66	5,36

314-0	95,7	7,5	4,30	30,00	1,29	8791,00	965,40	483,94	2,91
401-0	20,8	7,8	0,02	13,30	0,00	11204,00	345,00	494,50	13,06
402-0	0,3	7,0	97,00	21,80	21,15	14119,00	259,50	407,50	2,40
403-0	4,7	6,5	0,32	15,70	0,05	2527,00			11,52
404-0	44,3	5,2	0,01	10,80	0,00	5380,00			6,59
405-0	25,1	5,5	0,05	19,10	0,01	9934,30			7,74
406-0	40,0	4,6	0,04	3,40	0,00	6827,00			7,23
407-0	85,4	4,9	0,18	28,60	0,05	13293,75			10,73
408-0	0,4	8,6	0,05	27,60	0,01	1936,00	468,00	405,50	0,00
409-0	0,1	9,8	0,03	51,50	0,02	2135,00			1,44
410-0	22,3	5,2	0,09	16,30	0,01	4912,08			8,89
411-0	24,3	8,5	0,02	0,60	0,00	2408,87	369,00	635,00	7,58
412-0	76,4	8,7	0,02	11,10	0,00	3633,10			5,37
413-0	1,2	10,8	0,16	13,60	0,02	4781,20	580,00	482,50	31,35
414-3	53,5	7,1	0,12	18,50	0,02	4441,70	538,00	378,50	11,38
415-0	9,7	7,7	0,04	0,30	0,00	1815,07	369,00	594,50	8,22
416-0	0,6	10,1	0,16	1,50	0,00	222,71	307,00	432,50	21,04
417-0	1,4	8,4	0,14	34,20	0,05	6129,30	520,00	580,00	12,56
418-0	8,6	7,0	0,56	61,50	0,34	3850,13	352,50	416,50	6,91
419-0	86,8	5,8		2,00	0,00	6459,50	553,00	766,00	14,57
421-0	16,0	6,3	0,07	50,50	0,04	3566,07	397,50	658,00	12,33
423-0	86,7	6,3	0,04	1,10	0,00	4445,85	370,00	565,50	102,09
424-0	16,0	9,8	0,14	0,60	0,00	4128,40	441,00	688,50	23,07
425-2	5,1	5,4	0,43		0,00	1077,10			4,57
426-0	0,3	8,5	1,80	2,20	0,04	4141,25	635,00	340,00	7,64
427-0	0,0	9,2	0,08	11,00	0,01	2300,43	316,00	552,50	20,29
428-0	8,0	9,2	1,05	3,50	0,04	3151,40	496,00	388,50	4,90
429-0	0,2	7,7	0,33	1,50	0,00	1688,50	291,50	432,00	2,05
430-0	1,1	8,6	0,36	26,20	0,09	5568,20	699,50	1197,00	17,71
503-0	0,6	12,0	19,00	91,00	17,29	9189,90	935,90	248,30	1,34
504-0	6,5	7,5	0,05	7,00	0,00	6722,40	895,20	539,09	1,72
506-3	94,9	5,9		2,00		4807,00			7,84
507-0	87,1	8,2	0,13	53,00	0,07	1461,70	899,50	549,43	5,27
508-0	57,0	6,5	0,14	15,00	0,02	6999,00	293,70	200,50	22,06
509-0	7,9	9,4	0,75	55,00	0,41	266,74	844,90	587,47	3,44
510-2	24,7	8,4	0,79	67,00	0,53	2288,30	918,20	535,35	0,826
512-0	97,9	8,4	0,38	12,00	0,05	8495,50	766,40	153,74	10,83

Patient	Pro	PL	Genetik 1	Genetik 2	Gesamt Recovery (%)	Pool Recovery (%)
101-0	160,17	79,34	dF508/df508	unbekannt	0,63	0,72
102-0	137,70	79,55	1677 delta		0,59	0,63
103-0	146,90	65,77	KM 19-2/XV2-1	XV2c-1	0,69	0,81
105-0	128,80	90,82	dF508/dF508	dF508	0,73	0,78
106-0	96,00	48,43	dF508	unbekannt	0,78	0,86
107-0	116,10	66,47			0,66	0,71
108-2	45,12	38,64	dF508	dF508	0,60	0,67
109-2	67,71	18,81	dF508	dF508	0,66	0,80

110-0	101,40		dF508	unbekannt	0,52	0,52
111-0	105,40		dF508	dF508	0,80	0,84
112-2	43,44	21,80	dF508	dF508	0,70	0,86
113-3	205,50	163,50	dF508	dF508	0,81	0,90
114-2	56,60	40,01	dF508	dF508	0,63	0,74
116-0	47,11	36,93	unbekannt	unbekannt	0,94	0,99
119-0	110,00	77,09	dF508	dF508	0,74	0,82
120-2	64,06	8,825	dF508	W1282X	0,64	0,68
121-0	80,00	20,70	Fehlt	fehlt	0,80	0,85
122-0	154,20	24,29	G551D	G551 D	0,63	0,69
124-2	103,40	92,52	dF508	DF508	0,53	0,62
125-2	50,39	28,70	dF508	dF508	0,60	0,70
126-0	85,40	53,61	dF508	dF508	0,64	0,70
201-0	141,43	38,95	DF508	F508	0,03	0,00
204-0	98,20	63,36			0,05	0,00
205-0	65,80	11,80	DF 508	DF 508	0,15	0,11
206-0	336,54	66,15	DF508	DF508	0,04	0,00
209-0	80,70	37,13	DF508	DF508	0,08	0,00
211-0	63,10	22,85	dF508	dF508	0,12	0,00
212-0	166,70	15,93			0,03	0,00
213-0	53,00	33,00	DF508	DF508	0,66	0,73
214-0	282,10	111,05			0,75	0,57
217-0	148,40	63,80	dF508	DF508	0,71	0,77
218-0	79,60	70,94	DF508	DF508	0,76	0,84
219-0	163,40	54,25	dF508	DF508	0,48	0,52
221-0	157,50	56,85	DF508	DF508	0,54	0,60
222-0	91,10	40,15	DF508	dF508	0,70	0,77
223-0	79,00	10,80			0,48	0,52
224-0	99,80	33,10			0,20	0,19
225-0	64,50	14,50	DF508	DF508	0,45	0,52
301-2	36,90	23,35	DF 508	A455E	0,46	0,62
302-0	66,80	21,60	unbekannt	unbekannt	0,33	0,39
303-0	147,40	35,25	DF 508	DF508	0,51	0,67
304-0	270,20	234,90	DF 508	DF508	0,33	0,39
306-0	175,70	88,85	DF508	DF508	0,29	0,29
308-0	108,80	20,42	DF508	1078ddT	0,06	0,00
314-0	259,50	37,82	DF508	DF508	0,40	0,50
401-0	88,59	36,43	DF 508	DF 508	0,50	0,56
402-0	126,93	29,01	DF 508	DF 508	0,39	0,40
403-0	382,40	81,15	DF 508	DF 508	0,38	0,35
404-0	117,00	55,70	DF 508	unbekannt	0,41	0,49
405-0	175,90	102,45	DF 508	DF 508	0,74	0,87
406-0	85,61	52,30	df508	df508	0,73	0,80
407-0	156,15	197,50	DF508	DF508	0,60	0,62
408-0	78,70	124,26	DF508	DF508	0,33	0,33
409-0	101,12	28,50	DF 508	DF 508	0,50	0,53
410-0	119,64	59,70	unbekannt	unbekannt	0,73	0,80
411-0	73,44	19,45	DF 508	DF508	0,06	0,00
412-0	65,12	26,65	DF508	DF508	0,77	0,84

413-0	121,73	46,63	DF508	DF508	0,70	0,81
414-3	82,01	19,69	DF508	unbekannt	0,75	0,89
415-0	115,80	17,41	DF 508	unbekannt	0,85	0,92
416-0	76,32	18,92	DF 508	DF508	0,75	0,82
417-0	94,80	50,90	unbekannt		0,69	0,92
418-0	69,61	25,19	DF508	DF508	0,69	0,79
419-0	115,65	44,79	DF508	21431delta+	0,75	0,87
421-0	86,98	20,46	DF508	DF508	0,81	0,90
423-0	49,00	25,70	DF508	DF508	0,67	0,84
424-0	90,88	16,79	DF508	unbekannt	0,69	0,76
425-2	152,33	4,20	DF508	unbekannt	0,89	0,95
426-0	76,59	31,80	DF508	DF508	0,63	0,74
427-0	63,84	19,40	DF508	unbekannt	0,06	0,00
428-0	79,60	40,00	DF508	P347P	0,66	0,71
429-0	23,90	17,65	DF508	DF508	0,51	0,56
430-0	309,05	27,11	DF508	unbekannt	0,66	0,76
503-0	209,20	40,32	DF508	DF508	0,62	0,74
504-0	67,90	9,231	R5553Xhetero		0,43	0,44
506-3	51,29	40,23	unbekannt		0,38	0,44
507-0	243,44	79,29	DF508	DF508	0,47	0,54
508-0	52,60	31,40	fehlt	fehlt	0,53	0,57
509-0	511,48	369,11	DF508	J506s	0,27	0,29
510-2	74,90	23,10	DF508	unbekannt	0,36	0,39
512-0	88,00	56,72	DF508	DF508	0,78	0,90

## Spaltenstatistik:

	Alter	BMI	FVC	FEV <sub>1</sub>	MEF <sub>25</sub>	MEF <sub>75/25</sub>	% Offen	Druck
Anzahl	81	81	67	80	79	76	79	79
Minimum	5,0	12,93	70,13	51,97	5,60	18,83	0,0	4,6
25% Perzentile	8,0	15,55	88,00	85,95	45,79	61,92	0,4	6,8
Median	11,0	16,36	96,10	93,54	60,40	73,59	7,8	7,8
75% Perzentile	13,5	18,70	108,4	99,80	85,07	100,8	45,5	9,1
Maximum	31,0	33,60	126,3	121,1	154,6	169,3	97,9	12,0
Arithmetisches Mittel	11,4	17,54	97,02	93,05	64,33	78,98	25,6	7,9
Standardabweichung	4,906	3,291	13,22	13,03	28,27	26,78	33,63	1,64
Standardmessfehler	0,545	0,366	1,615	1,457	3,181	3,072	3,78	0,18
unteres 95% CI	10,31	16,81	93,80	90,15	58,00	72,86	18,07	7,54
Oberes 95% CI	12,48	18,27	100,2	95,95	70,66	85,10	33,13	8,27
Variationsk. (%)	43,06	18,77	13,63	14,00	43,95	33,91	131,4	20,72

	0,00	0,05	0,25	0,50	1,00	1,50	2,00	2,50	5,00
Anzahl	75	75	75	75	75	75	75	75	75
Minimum	20,3	20,7	1,5	0,0	0,4	0,0	0,0	0,0	0,0
25% Perzentile	31,0	30,6	21,0	20,3	18,7	18,0	16,8	16,1	13,0
Median	45,1	45,1	22,9	22,1	21,0	20,7	20,7	20,3	19,9
75% Perzentile	54,3	53,9	29,4	24,9	23,7	23,3	22,2	22,2	21,8
Maximum	75,3	73,6	58,1	51,2	45,9	42,8	41,7	40,1	36,2
Arithmetisches Mittel	42,9	42,6	25,8	23,8	21,5	20,6	19,8	19,2	17,6

Standardabweichung	12,87	12,84	9,47	8,45	8,27	8,16	7,83	7,88	7,79
Standardmessfehler	1,49	1,48	1,09	0,976	0,95	0,94	0,90	0,91	0,90
unteres 95% CI	39,98	39,67	23,60	21,81	19,63	18,73	17,99	17,41	15,81
Oberes 95% CI	45,90	45,57	27,96	25,70	23,43	22,48	21,60	21,04	19,40
Variationsk. (%)	29,97	30,12	36,73	35,59	38,41	39,62	39,54	40,99	44,23

	Zellen	% PMN	PMN abs	SP-A	SP-B	SP-C	SP-D	Pro
Anzahl	76	80	80	81	68	68	81	81
Minimum	0,01	0,30	0,0	222,7	155,5	37,0	0,0	23,90
25% Perzentile	0,14	6,80	0,01	2493	372,8	386,8	3,63	68,76
Median	2,89	21,40	0,12	4141	567,3	519,3	5,36	96,00
75% Perzentile	19,00	37,50	4,26	6085	891,2	646,5	11,11	147,9
Maximum	159,0	91,00	132,0	21811	1434	1557	102,1	511,5
Arithmetisches Mittel	16,38	25,77	7,70	5045	630,6	544,8	8,91	121,2
Standardabweichung	30,60	22,30	21,15	3725	306,4	310,4	12,15	82,41
Standardmessfehler	3,510	2,493	2,365	413,9	37,16	37,64	1,350	9,16
unteres 95% CI	9,39	20,80	2,99	4222	556,4	469,6	6,222	103,0
Oberes 95% CI	23,38	30,73	12,41	5869	704,8	619,9	11,59	139,4
Variationsk. (%)	186,80	86,54	274,67	73,83	48,59	56,97	136,38	67,98

	PL	Recovery Gesamt (%)	Recovery Pool (%)
Anzahl	79	81	81
Minimum	4,20	0,03	0,0
25% Perzentile	21,80	0,40	0,44
Median	37,82	0,62	0,69
75% Perzentile	63,80	0,72	0,82
Maximum	369,10	0,94	1,13
Arithmetisches Mittel	52,55	0,54	0,60
Standardabweichung	53,79	0,24	0,29
Standardmessfehler	6,052	0,03	0,03
unteres 95% CI	40,51	0,49	0,54
Oberes 95% CI	64,60	0,59	0,66
Variationskoeffizient (%)	102,35	43,44	47,93

### c. Mikrobiologischer Befund CF Lavagen

Abkürzungen:

MRSA: Methicillin resistenter Staphylococcus aureus

Vergr.: vergrünend

Lact.neg: Laktase negativ

K.neg: Koagulase negativ

Sp: Spezies

Anaer: Anaerobier

Patient	Mikrobiologischer Befund
101-0	Staphylococcus aureus, Haemophilus influenzae
102-0	Staphylococcus aureus, Haemophilus influenzae
103-0	Staphylococcus aureus, Haemophilus influenzae
105-0	Staphylococcus aureus, Haemophilus influenzae, MRSA, vergr. Streptokokken,

	Aspergillus
106-0	Staphylococcus aureus, Candida
107-0	Staphylococcus aureus, Haemophilus influenzae, Aspergillus, Trichosporum cutaneum
108-2	Staphylococcus aureus, Haemophilus sp-lact.neg, Candida g, Sporophyten
109-2	Staphylococcus aureus, vergr. Streptokokken
110-0	vergr. Streptokokken, Neisseria apath, Bacillus .sp
111-0	Pseudomonas aeruginosa, vergr .Streptokokken
112-2	Staphylococcus aureus, Haemophilus influenzae
113-3	P. pickettii, Veillonella sp. anaer, Prevot. sp. anaer, vergr. Streptokokken, Staphylokokken K.neg.
114-2	Pseudomonas aeruginosa
116-0	Streptococcus anhaem.
119-0	Pseudomonas aeruginosa
120-2	Staphylococcus aureus, Staphylokokken K.neg
121-0	Pseudomonas aeruginosa
122-0	Staphylococcus aureus, Staphylokokken K.neg
124-2	Staphylococcus aureus
125-2	Haemophilus influenzae
126-0	Staphylococcus aureus, Haemophilus influenzae, Staphylokokken K.neg
201-0	Staphylococcus aureus
204-0	Staphylococcus aureus
205-0	Achromobacter xylooxidans, Acinetobacter h.
206-0	Staphylococcus aureus
209-0	Staphylococcus aureus
211-0	Staphylococcus aureus
212-0	Staphylococcus aureus, Haemophilus influenzae
213-0	Haemophilus influenzae
214-0	negativ
217-0	negativ
218-0	Staphylococcus aureus, Haemophilus influenzae
219-0	Candida
221-0	Staphylococcus aureus, Haemophilus influenzae
222-0	Staphylococcus aureus
223-0	negativ
224-0	Pseudomonas aeruginosa
225-0	Staphylococcus aureus
301-2	Keine Mikrobiologie
302-0	negativ
303-0	Pseudomonas aer., Haemophilus influenzae, andere H., Staphylokokken K.neg.
304-0	Staphylococcus aureus, Candida
306-0	Staphylococcus aureus, S.malt
308-0	Pseudomonas aeruginosa
314-0	Pseudomonas aeruginosa, Haemophilus influenzae
401-0	negativ
402-0	Pseudomonas aeruginosa
403-0	Haemophilus influenzae
404-0	Staphylococcus aureus, Haemophilus influenzae
405-0	Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa

406-0	Pseudomonas aeruginosa
407-0	Pseudomonas aeruginosa
408-0	Pseudomonas aeruginosa, Candida
409-0	negativ
410-0	negativ
411-0	negativ
412-0	negativ
413-0	Staphylococcus aureus
414-3	negativ
415-0	negativ
416-0	negativ
417-0	Pseudomonas aeruginosa
418-0	Aspergillus fumigatus
419-0	Staphylococcus aureus
421-0	Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella
423-0	negativ
424-0	negativ
425-2	Pseudomonas aeruginosa
426-0	negativ
427-0	Pseudomonas aeruginosa, Candida albicans
428-0	negativ
429-0	Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa
430-0	Staphylococcus aureus, Haemophilus influenzae
503-0	Staphylococcus aureus
504-0	Staphylococcus aureus
506-3	negativ
507-0	Staphylococcus aureus, Candida, S.malto
508-0	negativ
509-0	Pseudomonas aeruginosa, Aspergillus, Streptococcus haemolyt
510-2	Pseudomonas aeruginosa, Candida
512-0	Escherichia coli

#### d. Sequenzielle BAL

Abkürzungen: siehe Korrelation

Vergleich der Verlaufgruppen mit der Grundgesamtheit:

	Grundgesamtheit (1. Lavage)	Bubble Gruppe (1. Lavage)	p- Wert
FVC (% Soll)	96,10 (70,13 - 126,30), 67	90,95 (71,34 - 120,70), 19	0,3202
FEV <sub>1</sub> (% Soll)	93,54 (51,97 - 121,10), 80	93,54 (51,97 - 117,50), 20	0,6510
MEF <sub>25</sub> (% Soll)	60,40 (5,60 - 154,60), 79	69,24 (27,14 - 154,60), 20	0,2412
MEF <sub>75/25</sub> (% Soll)	73,59 (18,83 - 169,30), 76	75,87 (32,06 - 128,20), 20	0,8995
Body Mass Index (kg/m <sup>2</sup> )	16,36 (12,93 - 33,60), 81	15,98 (12,93 - 21,85), 20	0,1150
Alter (Jahre)	11,00 (5,00 - 31,00), 81	9,50 (5,00 - 16,00), 20	0,1546
Adsorption (mN/m)	45,1 (20,3 - 75,3), 75	45,7 (20,3 - 55,4), 20	0,5408

Minimale Oberflächenspannung (mN/m)	19,9 (0,0 - 36,2), 75	18,6 (0,0 - 21,0), 20	0,0639
% Offen	7,8 (0,0 - 97,9), 79	9,1 (0,0 - 86,8), 20	0,8514
initialer Druck (cm H <sub>2</sub> O)	7,8 (4,6 - 12,0), 79	7,3 (4,6 - 10,8), 20	0,2518
Gesamtzellzahl (10 <sup>6</sup> /ml)	2,885 (0,01 - 159,00), 76	0,56 (0,01 - 108,00), 19	0,3286
Neutrophile Granulozyten (%)	21,40 (0,30 - 91,00), 80	15,35 (0,60 - 71,00), 20	0,5098
Neutrophile Granulozyten (10 <sup>6</sup> /ml)	0,124 (0,00 - 132,00), 80	0,05172 (0,00 - 76,68), 20	0,5265
SP-A (ng/ml)	4141,0 (222,7 - 21811,0), 81	5312,0 (2409,0 - 13218,0), 20	0,0892
SP-B (ng/ml)	567,3 (155,5 - 1434,0), 68	397,5 (247,2 - 1219,0), 15	0,3378
SP-C (ng/ml)	519,3 (37,0 - 1557,0), 68	635,0 (37,0 - 1557,0), 15	0,3260
SP-D (ng/ml)	5,36 (0,00 - 102,10), 81	7,41 (1,17 - 22,06), 20	0,3085
Proteinkonzentration (µg/ml)	96,00 (23,9 - 511,5), 81	104,7 (52,6 - 382,4), 20	0,7077
Phospholipidkonzentration (µg/ml)	37,82 (4,20 - 369,10), 79	50,37 (19,45 - 102,50), 20	0,2208

Median (Spannweite), Anzahl; p- Wert des Mann Whitney Tests; Grundgesamtheit entspricht den Patienten für die Korrelationen (n= 81); Bubble- Gruppe: Gruppe von 20 Patienten von denen bei allen drei Lavagezeitpunkten genügend Material vorhanden war um die Oberflächenspannung im pulsierenden Blasensurfactometer zu messen.

	Grundgesamtheit (1. Lavage)	% Offen Gruppe (1. Lavage)	p- Wert
FVC (% Soll)	96,10 (70,13 - 126,30), 67	93,60 (71,34- 127,20), 27	0,4249
FEV <sub>1</sub> (% Soll)	93,54 (51,97 - 121,10), 80	93,71 (51,97 - 117,50), 29	0,8666
MEF <sub>25</sub> (% Soll)	60,40 (5,60 - 154,60), 79	65,12 (25,66- 154,60), 29	0,4947
MEF <sub>75/25</sub> (% Soll)	73,59 (18,83 - 169,30), 76	76,11 (32,06 - 128,20), 29	0,7936
Body Mass Index (kg/m <sup>2</sup> )	16,36 (12,93 - 33,60), 81	16,16 (12,93 - 33,60), 29	0,5460
Alter (Jahre)	11,00 (5,00 - 31,00), 81	10,00 (5,00 - 19,00), 29	0,5459
% Offen	7,8 (0,0 - 97,9), 79	8,6 (0,0 - 86,8), 29	0,8843
initialer Druck (cm H <sub>2</sub> O)	7,8 (4,6 - 12,0), 79	7,5 (4,6 - 10,8), 29	0,3216
Gesamtzellzahl (10 <sup>6</sup> /ml)	2,885 (0,01 - 159,00), 76	0,35 (0,01 - 126,00), 28	0,2576
Neutrophile Granulozyten (%)	21,40 (0,30 - 91,00), 80	13,60 (0,30- 82,00), 29	0,1812
Neutrophile Granulozyten (10 <sup>6</sup> /ml)	0,124 (0,00 - 132,00), 80	0,035 (0,00 - 103,30), 29	0,2926
SP-A (ng/ml)	4141,0 (222,7 - 21811,0),	4781,0 (1815,0 -	0,2674

	81	14119,0), 29	
SP-B (ng/ml)	567,3 (155,5 - 1434,0), 68	372,3 (193,1 - 1219,0), 24	0,0297*
SP-C (ng/ml)	519,3 (37,0 - 1557,0), 68	516,8 (37,0 - 1557,0), 24	0,9539
SP-D (ng/ml)	5,36 (0,00 - 102,10), 81	6,91 (0,00 - 31,35), 29	0,9055
Proteinkonzentration (µg/ml)	96,0 (23,9 - 511,5), 81	99,36 (23,7 - 382,4), 29	0,8520
Phospholipidkonzentration (µg/ml)	37,82 (4,20 - 369,10), 79	40,15 (7,35 - 124,30), 29	0,7263

Median (Spannweite), Anzahl; p-Wert des Mann Whitney Tests; Grundgesamtheit entspricht den Patienten für die Korrelationen (n= 81); % Offen- Gruppe: Gruppe von 29 Patienten von denen bei allen drei Lavagezeitpunkten genügend Material vorhanden war um das % Offen im Kapillarsurfactometer zu bestimmen (Bubble- Gruppe plus neun weitere Patienten).

#### Einzelwerte im Verlauf:

*Kursiv: Patienten der 9 Patienten der % Offen- Gruppe: 116, 222, 402, 408, 413, 414, 415, 504, 506.*

Patient	Alter 1. Lavage	Geschl.	DNase	Genetik 1	Genetik 2
101	11	weiblich	1	dF508/df508	unbekannt
102	9	weiblich	1	1677 delta	
103	8	männlich	2	KM 19-2/XV2-1	XV2c-1
106	10	weiblich	1	dF508	unbekannt
119	10	weiblich	2	dF508	dF508
126	12	männlich	2	dF508	dF508
201	13	weiblich	2	dF508	dF508
211	9	männlich	1	dF508	dF508
213	10	weiblich	2	DF508	DF508
401	10	männlich	2	DF 508	DF 508
403	7	weiblich	1	DF 508	DF 508
404	6	weiblich	2	DF 508	unbekannt
405	5	weiblich	2	DF 508	DF 508
406	11	weiblich	1	df508	df508
410	7	weiblich	1	unbekannt	unbekannt
411	15	weiblich	0	DF508	DF508
418	8	männlich	2	DF508	DF508
419	6	weiblich	0	DF508	21431delta+
421	9	männlich	1	DF508	DF508
508	16	männlich	1	fehlt	fehlt
<i>116</i>	<i>19</i>	<i>männlich</i>	<i>0</i>	<i>unbekannt</i>	<i>unbekannt</i>
<i>222</i>	<i>13</i>	<i>weiblich</i>	<i>1</i>	<i>DF508</i>	<i>dF508</i>
<i>402</i>	<i>11</i>	<i>männlich</i>	<i>2</i>	<i>DF 508</i>	<i>DF 508</i>
<i>408</i>	<i>11</i>	<i>weiblich</i>	<i>1</i>	<i>DF508</i>	<i>DF508</i>
<i>413</i>	<i>8</i>	<i>männlich</i>	<i>1</i>	<i>DF508</i>	<i>DF508</i>
<i>414</i>	<i>17</i>	<i>weiblich</i>	<i>0</i>	<i>DF508</i>	<i>unbekannt</i>
<i>415</i>	<i>11</i>	<i>männlich</i>	<i>0</i>	<i>DF 508</i>	<i>unbekannt</i>
<i>504</i>	<i>13</i>	<i>männlich</i>	<i>1</i>	<i>R5553Xhetero</i>	
<i>506</i>	<i>9</i>	<i>männlich</i>	<i>2</i>	<i>unbekannt</i>	

Patient	BMI 1.Lavage	BMI 2.Lavage	BMI 3.Lavage	FVC 1.Lavage	FVC 2.Lavage	FVC 3.Lavage	FEV <sub>1</sub> 1.Lavage
101	17,20	17,80	20,77	93,33	83,58	80,97	93,37
102	14,83	15,43	17,11	101,68	86,92	98,30	93,71
103	16,36	16,42	16,70	112,67	83,44	88,95	100,34
106	15,75	18,36	19,11	82,36	87,77		79,83
119	17,36	16,23	16,94	97,57	78,62		95,75
126	18,31	20,71	21,64	108,64	125,52	124,09	99,27
201	18,98	22,27	24,69	119,01			117,18
211	13,72	14,48	15,30	71,34		88,92	51,97
213	15,90	16,44	18,82	88,60	88,15		83,34
401	16,07	16,44	17,36	90,95	108,83	98,28	96,10
403	14,56	15,38	16,27		82,92	78,11	95,78
404	12,93	15,00	16,76	81,50	91,08	83,83	86,71
405	16,16	17,19	17,17	78,90	97,38	71,00	79,25
406	15,72	17,70	16,17	83,55	62,64	67,81	91,77
410	16,49	17,71	18,05	120,70	115,49	107,53	117,54
411	17,72	20,18	21,55	77,99	84,05	87,87	93,87
418	15,02	16,10	15,65	77,35	78,38	66,31	74,63
419	14,61	16,39	14,79	85,90	99,01	73,86	90,55
421	14,04	13,97	14,58	95,04	88,76	68,42	80,37
508	21,85	23,70	25,46	115,30	121,05	120,71	111,71
116	33,60	33,02	32,54	95,72	95,51		93,78
222	21,17	22,31	21,23				85,29
402	15,77	16,17	16,23	93,60	95,47	87,61	90,87
408	21,30	21,30	21,26	98,25	96,44	81,92	99,17
413	14,65	13,72	14,35	98,41	97,86	97,85	103,04
414	21,77	22,05	23,27	127,20	110,15	108,00	116,90
415	18,43	18,42	19,16	108,53	100,05	109,36	92,77
504	15,55	18,00	18,78	82,01	87,16	96,95	97,34
506	16,69	18,43	17,75	76,75	83,49		78,96

Patient	FEV <sub>1</sub> 2.Lavage	FEV <sub>1</sub> 3.Lavage	MEF <sub>25</sub> 1.Lavage	MEF <sub>25</sub> 2.Lavage	MEF <sub>25</sub> 3.Lavage	MEF <sub>75/25</sub> 1.Lavage	MEF <sub>75/25</sub> 2.Lavage
101	82,55	75,73	51,78	36,36	15,79	77,73	73,12
102	85,41	97,82	39,63	44,02	38,50	63,15	97,84
103	62,14	70,73	57,99	19,35	25,33	74,00	
106	79,64		56,03	25,92		62,95	59,71
119	74,72	76,77	65,12	24,65	16,35	95,15	69,07
126	120,28	119,92	111,89	68,53	93,32	108,59	91,20
201	124,94		86,99	74,84		118,97	124,70
211	76,99	65,93	27,14	56,35	29,00	32,06	65,36
213	81,35		60,76	45,08		68,80	51,47
401	107,89	93,82	154,55	84,69	53,74	50,42	90,91
403	89,67	83,25	98,36	81,85	65,34	101,67	103,80
404	98,49	95,49	73,36	114,58	107,85	57,19	110,09
405	89,45	66,92	51,07	33,19	22,21	62,50	48,57
406	61,32	73,39	95,66	22,29	35,03	104,90	51,28

410	127,92	111,79	85,07	99,80	55,14	104,10	123,08
411	90,07	94,14	77,15	65,49	54,59	128,19	120,12
418	78,00	61,05	47,86	31,84	106,96	61,26	46,21
419	106,29	73,90	76,61	49,43	25,57	87,11	80,00
421	79,09	65,82	46,69	37,44	33,42	53,45	52,13
508	124,04	117,61	107,10	127,89	94,74	85,52	110,10
116	93,59	92,29	70,14	66,05	83,98	78,84	81,35
222	77,47		36,14	29,61		76,11	59,94
402	81,91	64,26	57,28	38,19	13,43	72,54	41,29
408	87,96	66,43	69,88	26,44	8,78	90,46	62,41
413	87,49	94,72	92,00	30,10	74,06	102,16	58,02
414	94,36	90,66	38,90	20,28	17,75	88,87	55,37
415	80,92	86,16	56,32	47,05	44,53	63,56	44,84
504	86,53	79,61	82,19	70,52	42,84	74,78	64,95
506	86,00		25,66	76,07		54,48	96,50

Patient	MEF <sub>75/25</sub> 3.Lavage	Adsorption 1.Lavage	Adsorption 2.Lavage	Adsorption 3.Lavage	Min. Oberflsp. 1.Lavage	Min. Oberflsp. 2.Lavage	Min. Oberflsp. 3.Lavage
101	61,82	54,3	55,1	29,1	8,4	22,6	19,7
102	89,55	41,7	60,4	29,8	9,2	22,2	16,4
103	39,85	51,2	40,9	61,2	11,1	23,0	22,1
106		23,7	45,5	69,6	9,6	9,9	42,4
119	50,96	48,9	61,6	52,4	18,4	32,7	19,7
126	96,67	55,1	45,5	60,4	16,6	21,7	19,9
201		45,1	26,8	64,6	21,0	20,5	46,2
211		43,6	56,2	60,0	20,7	15,4	38,9
213		54,3	37,9	63,5	20,6	29,2	39,7
401	53,55	29,8	63,9	47,4	19,5	22,6	20,1
403	74,76	46,3	27,9	44,0	18,7	22,1	25,3
404	98,62	32,9	31,7	36,3	18,7	14,0	5,8
405	34,75	24,9	22,9	27,9	18,0	3,9	19,7
406	78,27	20,3	47,0	22,9	0,0	3,6	19,6
410	82,03	25,6	24,5	52,0	18,7	2,1	20,4
411	123,39	50,1	53,5	66,2	21,0	3,6	19,5
418		51,2	45,5	60,0	19,9	23,3	20,6
419	38,08	28,3	25,5	40,9	2,3	3,6	11,8
421	43,69	49,3	53,5	49,3	11,1	13,2	4,0
508	102,23	55,4	26,8	47,0	20,7	1,1	18,5
116	83,19	26,0		45,1	21,7		3,7
222		50,1	57,0		19,9	17,2	
402	17,61	47,4			18,7		
408	24,70	33,3		49,3	27,6		24,1
413	85,32	23,7	56,6		0,8	2,7	
414	48,09			26,4			13,2
415		24,1			6,9		
504	44,48						
506				37,5			17,6

Patient	% Offen 1.Lavage	% Offen 2.Lavage	% Offen 3.Lavage	Druck 1.Lavage	Druck 2.Lavage	Druck 3.Lavage	Zellen 1.Lavage
101	0,3	85,5	0,0	9,3	7,0	9,9	24,00
102	0,0	89,9	91,3	10,8	10,6	6,7	10,50
103	0,4	1,5	7,9	7,1	8,2	6,0	49,00
106	9,5	73,7	87,2	7,7	5,3	9,8	4,56
119	1,3	0,1	0,2	9,4	8,0	8,2	20,80
126	1,8	6,6	1,1	8,2	8,8	9,6	5,20
201	0,0	95,6	3,4	10,4	8,2	11,9	108,00
211	0,4	78,8	24,6	7,4	9,7	9,7	3,00
213	0,7	2,3	3,7	9,0	10,7	11,5	15,00
401	20,8	77,0	11,3	7,8	8,0	7,0	0,02
403	4,7	0,6	0,3	6,5	7,5	8,9	0,32
404	44,3	58,4	88,5	5,2	10,3	7,6	0,01
405	25,1	80,7	17,3	5,5	10,0	9,6	0,05
406	40,0	0,1	21,1	4,6	8,8	6,4	0,04
410	22,3	92,5	27,7	5,2	7,2	10,3	0,09
411	24,3	78,3	42,8	8,5	6,9	9,8	0,02
418	8,6	0,1	0,1	7,0	9,4	8,0	0,56
419	86,8	95,4	74,2	5,8	5,6	7,1	
421	16,0	20,9	0,8	6,3	6,9	5,4	0,07
508	57,0	93,6	5,0	6,5	5,2	8,6	0,14
116	73,6	92,3	94,1	10,0	6,0	7,5	6,40
222	0,2	85,4	9,3	7,7	8,1	9,2	126,00
402	0,3	5,3	0,1	7,0	7,1	8,8	97,00
408	0,4	24,9	0,6	8,6	6,6	8,4	0,05
413	1,2	55,7	93,6	10,8	10,2	7,7	0,16
414	82,0	42,9	53,5	5,5	8,7	7,1	0,38
415	9,7	10,7	14,8	7,7	8,1	9,0	0,04
504	6,5	8,8	84,7	7,5	6,0	5,4	0,05
506	79,3	100,0	94,9	6,1	7,1	5,9	0,27

Patient	Zellen 2.Lavage	Zellen 3.Lavage	PMNabs 1.Lavage	PMNabs 2.Lavage	PMNabs 3.Lavage	%PMN 1.Lavage	%PMN 2.Lavage
101	11,90	57,00	7,032	5,117	53,067	29,30	43,00
102	8,84	5,26	1,334	1,786	0,947	12,70	20,20
103	94,60	45,60	32,193	32,164	15,869	65,70	34,00
106	8,84	10,60	0,502	0,177	1,219	11,00	2,00
119	40,00	114,20	9,214	14,000	73,316	44,30	35,00
126	40,00	8,80	1,040	13,520	4,893	20,00	33,80
201	17,00	26,00	76,68	1,87	23,58	71,00	11,00
211	15,00	11,00	0,084	5,10	7,04	2,80	34,00
213	34,00	9,20	4,20	22,10	6,348	28,00	65,00
401	0,10	0,28	0,0023	0,009	0,026	13,30	9,40
403	1,39	1,17	0,050	0,367	0,475	15,70	26,40
404	0,08	0,62	0,0011	0,028	0,060	10,80	34,80
405	0,24	0,71	0,0096	0,022	0,135	19,10	9,20
406	0,15	9,14	0,0014	0,025	7,185	3,40	16,40

410	0,83	0,53	0,015	0,056	0,041	16,30	6,80
411	0,91	0,22	0,0001	0,233	0,003	0,60	25,60
418	0,87	0,44	0,053	0,055	0,107	9,50	6,30
419	0,55	0,34	0,000	0,078	0,005	2,00	14,20
421	0,25	0,22	0,035	0,002	0,021	50,50	0,80
508	137,50	0,35	0,021		0,018	15,00	
116	12,80	7,25	0,045	0,026	0,087	0,70	0,20
222	48,00	89,00	103,32	46,08	70,31	82,00	96,00
402	0,43	1,11	21,146	0,203	0,638	21,80	47,20
408	0,10	0,97	0,0138	0,036	0,715	27,60	35,60
413	0,65	0,61	0,022	0,104	0,207	13,60	16,00
414	0,26	0,12	0,0019	0,005	0,022	0,50	1,80
415	0,22	0,11	0,0001	0,005	0,002	0,30	2,40
504	0,50	0,20	0,004	0,095	0,014	7,00	19,00
506	0,09		0,019	0,001		7,00	1,00

Patient	%PMN 3.Lavage	PL 1.Lavage	PL 2.Lavage	PL 3.Lavage	Prot. 1.Lavage	Prot. 2.Lavage	Prot. 3.Lavage
101	93,10	79,34	33,74	23,46	160,17	94,90	235,47
102	18,00	79,55	31,30	18,80	137,70	128,80	55,79
103	34,80	65,77	75,59	37,43	146,90	96,90	94,20
106	11,50	48,43	21,19	42,60	96,00	81,00	98,80
119	64,20	77,09	118,91	70,00	110,00	90,30	82,70
126	55,60	53,61	429,40	38,60	99,36	115,40	58,90
201	90,70	38,95	28,59	14,84	141,43	115,20	
211	64,00	22,85	25,20	44,59	63,10	81,83	205,50
213	69,00	33,00	89,64	25,06	53,00	193,40	129,23
401	9,30	36,43	50,35	22,83	88,59	111,71	46,86
403	40,60	81,15	20,75	20,70	382,40	112,30	258,80
404	9,60	55,70	33,30	33,40	117,00	49,66	38,44
405	19,00	102,45	98,00	46,84	175,90	103,30	86,90
406	78,60	52,30	35,30	31,88	85,61	175,90	121,00
410	7,70	59,70	22,10	21,90	119,64	149,79	44,32
411	1,30	19,45	22,40	18,82	73,44	46,60	50,62
418	24,30	25,19	33,37	42,90	69,61	83,73	139,38
419	1,50	44,79	44,60	36,40	115,65	60,56	55,77
421	9,60	20,46	36,00	25,25	86,98	98,85	129,55
508	5,00	31,40	28,12	40,80	52,60	95,30	190,26
116	1,20	36,93	13,62	18,00	47,11	88,30	51,90
222	79,00	40,15	20,31	11,80	91,10	97,00	150,00
402	57,50	29,01	11,50	15,68	126,93	71,29	89,21
408	73,70	124,26	11,90	23,16	163,48	43,00	75,16
413	34,00	46,63	50,90	13,64	121,73	91,48	34,72
414	18,50	21,59	6,85	19,69	23,70	41,19	82,01
415	1,50	17,41	6,85	7,30	115,80	71,12	64,28
504	7,00	9,23	35,11	29,70	67,90	124,77	81,06
506	2,00	7,35	13,71	40,23	26,50	39,24	51,29

Patient	SP-A 1.Lavage	SP-A 2.Lavage	SP-A 3.Lavage	SP-B 1.Lavage	SP-B 2.Lavage	SP-B 3.Lavage	SP-C 1.Lavage
101	11653,20	7423,00	128,60	1088,50	538,00	725,50	918,50
102	11369,00	3597,00	3478,60	1218,50	574,50	674,00	1556,50
103	13218,25	5453,00	5399,50	1158,00	948,50	1433,00	1298,00
106	5244,00	7651,00	3781,50	824,00	656,50	522,00	840,50
119	2482,00	11152,70	7335,00	580,00	1034,00	958,50	385,00
126	6041,00	4185,80	3144,00	467,00	899,50	769,00	552,00
201	2747,80	6254,00		290,20	436,80	2579,18	95,00
211	3895,80	3711,50		247,20		3890,00	37,00
213	3109,70	3109,70		375,50		1766,00	930,00
401	11204,00	9080,00	3623,50	345,00	926,50	697,00	494,50
403	2527,00	1334,30	1551,20		472,50	632,50	
404	5380,00	2752,40	5179,10		624,00	1473,00	
405	9934,30	9915,60	9392,80		1251,50	847,00	
406	6827,00	5269,20	13624,00		912,50	1602,00	
410	4912,08	4984,93	2732,30			377,50	
411	2408,87	5706,20	4580,80	369,00	544,50	375,50	635,00
418	3850,13	3143,60	5715,40	352,50	648,00	847,00	416,50
419	6459,50	8922,20	7371,20	553,00	1048,00	1189,50	766,00
421	3566,07	5978,50	2818,30	397,50	1067,50	732,50	658,00
508	6999,00	13048,00		293,70	631,60		200,50
116	2405,20	2380,30	2063,00	227,50	421,50	335,50	376,50
222	4471,00	7360,00	4471,00	193,10			128,50
402	14119,00	3734,10	3097,30	259,50	515,50	752,00	407,50
408	1936,00	2435,10	3551,60	468,00	465,00	551,00	405,50
413	4781,20	4751,80	2252,40	580,00	762,00	219,80	482,50
414	3204,45	1435,90	4441,70	239,00	380,00	538,00	562,00
415	1815,07	1843,20	1243,60	369,00	426,50	274,50	594,50
504	6722,40	6624,80	12073,50	446,90	552,80		139,30
506	2669,00	2412,50	4807,00	233,80	262,90		92,20

Patient	SP-C 2.Lavage	SP-C 3.Lavage	SP-D 1.Lavage	SP-D 2.Lavage	SP-D 3.Lavage
101	892,00	258,50	4,85	5,53	48,21
102	835,00	608,50	13,48	7,87	1,40
103	632,50	327,50	7,04	8,74	35,60
106	622,50	711,50	16,46	22,06	6,21
119	391,50	791,50	3,62	4,21	2,02
126	634,00	459,00	3,65	37,20	3,72
201	146,00		4,36	5,30	2,73
211			2,24	1,52	7,78
213			1,17	2,66	13,33
401	976,50	346,00	13,06	1,48	9,54
403	753,00	460,00	11,52	3,14	6,28
404	532,00	602,50	6,59	3,40	11,13
405	2011,50	643,50	7,74	9,75	6,47
406	675,00	1488,50	7,23	6,08	6,94

410		474,00	8,89	4,26	4,38
411	826,50	581,50	7,58	6,45	5,78
418	544,50	791,50	6,91	4,72	0,00
419	955,00	15,50	14,57	6,43	1,41
421	660,60	574,00	12,33	2,94	4,17
508	419,20		22,06	43,46	23,66
116	583,00	362,50	4,94	7,70	9,20
222			0,00	0,00	0,00
402	588,00	661,50	2,40	4,75	3,78
408	495,00	561,00	0,00	1,69	0,00
413	283,00	328,00	31,35	3,09	9,57
414	302,00	378,50	3,16	5,63	11,38
415	589,00	434,00	8,22	8,66	7,75
504	152,00		1,72	4,81	12,19
506	87,00		3,83	6,31	7,84

Patient	Mibi. 1.Lavage	Mibi. 2.Lavage	Mibi. 3.Lavage
101	S.aur, H.inf		P.aer, S.aur, P.pickettii, vergr.Str, Staph.K.neg, Neiss.apath
102	S.aur, H.inf	S.aur, vergr.Str	S.aur, vergr.Str, Prevot.inter, Prevot.sp.anae, H.parainf, Str.pyog
103	S.aur, H.inf	S.aur, H.inf, vergr.Str	S.aur, H.inf, Prevot.sp.anaer, Str.D Gr.B, Baci.cereus
106	S.aur, Cand	S.aur, Pneumok	S.aur, H.inf, H.parainf, vergr.Str, Cand
119	P.aer	P.aer, A.fum, Schimmelp.	P.aer, vergr.Str, Staph.K.neg, Prevot.sp.anaer
126	S.aur, H.inf, Staph.K.neg	S.aur, H.inf, vergr.Str	S.aur, H.inf
201	S.aur	S.aur	S.aur
211	S.aur	Lactobacillus	S.aur
213	H.inf	Cand	neg
401	neg	S.aur	neg
403	H.inf	S.aur	S.aur, Asp
404	S.aur, H.inf	neg	S.aur, H.inf, A.fum
405	S.aur, P.aer	S.aur	S.aur
406	P.aer	Cand	P.aer
410	neg	neg	Peptococcaceae
411	neg	H.inf	S.aur, H.inf
418	A.fum	neg	neg
419	S.aur	H.inf	H.inf
421	P.aer, Klebs	P.aer	P.aer
508	neg	S.aur, P.aer	S.aur
116	<i>Str.anhaem</i>	<i>S.aur, vergr.Str</i>	<i>vergr.Str, Staph.K.neg</i>
222	<i>S.aur</i>	<i>S.aur, H.inf</i>	<i>S.aur</i>



Minimum	26,0	25,6	15,6	11,4	3,7	2,5	5,3	4,6	3,6
25% Perzentile	32,9	32,2	22,9	22,2	21,7	21,7	20,9	21,3	20,4
Median	49,3	49,3	26,0	24,9	24,1	23,7	23,3	23,0	22,6
75% Perzentile	55,6	55,8	42,1	38,6	30,8	31,2	30,0	29,6	25,3
Maximum	75,3	73,6	69,6	63,1	55,3	54,1	53,0	53,3	48,7
Arithmetisches Mittel	47,5	47,0	32,1	29,6	27,0	25,9	25,3	24,9	23,6
Standardabweichung	14,06	13,91	13,99	12,51	11,30	10,75	10,07	9,88	8,50
Standardmessfehler	2,71	2,68	2,69	2,41	2,17	2,07	1,94	1,91	1,64
unteres 95% CI	41,89	41,50	26,54	24,60	22,48	21,61	21,27	21,04	20,25
Oberes 95% CI	53,01	52,51	37,61	34,50	31,42	30,11	29,24	28,85	26,98
Variationsk. (%)	29,63	29,60	43,63	42,32	41,92	41,56	39,88	39,60	36,02

## Natives Pellet plus Überstand:

Patient	0,0 min	0,05	0,25	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	5,0
116-1	56,6	56,6	47,4	40,5	34,3	28,0	24,1	29,1	22,9
126-1	54,3	53,9	50,1	49,3	47,1	47,4	47,0	45,2	42,8
204-1	45,4	44,0	29,6	24,9	23,7	22,5	21,7	21,3	21,0
206-1	57,7	57,4	46,3	44,4	40,5	37,8	37,0	36,3	33,9
209-1	38,6	38,2	30,0	26,8	25,3	24,5	23,7	24,1	23,3
213-1	55,4	55,1	43,6	39,0	35,4	31,2	29,2	26,9	24,9
301-1	45,5	45,5	39,7	37,5	35,6	34,4	32,9	31,7	25,2
303-1	53,2	52,9	44,2	40,9	37,0	34,3	33,5	32,3	26,6
304-1	55,1	55,1	46,7	44,4	42,1	41,3	39,8	39,8	37,9
306-1	49,7	49,8	42,8	41,0	39,7	38,6	37,6	36,8	35,2
314-1	33,7	33,0	24,1	23,3	22,6	22,5	21,8	22,1	21,6
408-1	55,4	55,2	49,9	48,7	48,3	47,4	46,0	45,2	42,5
428-1	55,1	55,1	44,4	40,5	35,8	33,9	29,2	26,5	21,7
503-1	56,6	56,6	48,5	47,1	43,2	41,7	40,1	38,6	33,9
507-1	37,1	37,0	34,7	33,3	32,3	31,5	31,4	30,8	29,7
509-1	36,7	36,3	31,2	30,8	30,0	29,6	29,2	29,2	28,4
101-2	58,1	57,7	50,1	48,3	46,7	45,8	44,8	43,6	41,3
103-2	49,7	49,7	45,8	44,8	43,2	42,5	41,7	10,1	36,2
114-2	37,1	36,7	8,2	5,0	2,4	1,6	2,9	1,6	1,9
119-2	48,9	49,0	47,1	45,6	43,0	42,5	41,7	40,5	36,6
124-2	54,7	54,7	46,3	42,8	39,7	38,2	39,7	38,2	33,5
401-2	45,5	44,8	17,1	14,7	11,4	11,1	9,2	6,5	7,2
404-2	49,7	49,3	37,0	33,3	29,4	23,8	22,2	21,6	21,8
406-2	53,9	53,3	40,9	38,6	36,2	34,3	33,7	32,9	29,3
106-3	55,4	55,1	41,7	36,6	30,8	26,1	24,5	24,5	24,5
107-3	62,3	62,3	55,3	50,9	50,1	49,3	48,7	48,1	45,7
111-3	61,9	61,6	49,0	45,9	42,1	39,0	37,5	36,7	31,7
119-3	58,9	58,5	47,9	44,8	40,6	39,7	37,0	36,2	33,5
404-3	48,2	47,8	6,8	4,1	3,3	0,4	0,8	0,0	1,2
405-3	53,9	53,9	50,4	22,2	20,6	19,9	18,7	17,7	15,8

Oberflächenspannungswerte in mN/m; Die Werte der Proben 119-3 und 403-3 wurden nicht in die Statistik einbezogen, da von den selben Patienten bereits Proben anderer Lavagezeitpunkte verwendet wurden. Der Wert der Probe 301-1 wurde nicht in die Statistik einbezogen, da es von dieser Probe keine Messung des nativen Pellet gibt.

Pulsationszeit (min)	0,00	0,05	0,25	0,50	1,00	1,50	2,00	2,50	5,00
Anzahl	27	27	27	27	27	27	27	27	27
Minimum	33,7	33,0	8,2	5,0	2,4	1,6	2,9	1,6	1,9
25% Perzentile	45,5	44,8	34,7	30,8	29,4	24,5	23,7	22,1	21,8
Median	53,9	53,9	44,4	40,5	36,2	34,3	33,5	30,8	29,3
75% Perzentile	55,4	55,2	48,5	45,6	43,0	41,7	40,1	38,6	36,2
Maximum	62,3	62,3	55,3	50,9	50,1	49,3	48,7	48,1	45,7
Arithmetisches Mittel	50,8	50,5	40,8	37,2	34,6	32,8	31,7	29,9	28,6
Standardabweichung	7,98	8,11	11,12	11,39	11,35	11,43	11,42	11,88	10,42
Standardmessfehler	1,54	1,56	2,14	2,19	2,18	2,20	2,20	2,29	2,01
unteres 95% CI	47,65	47,32	36,43	32,66	30,06	28,31	27,21	25,16	24,46
Oberes 95% CI	53,96	53,74	45,23	41,68	39,04	37,35	36,24	34,56	32,71
Variationsk. (%)	15,71	16,04	27,23	30,65	32,84	34,81	35,98	39,79	36,45

### b. Kapillarsurfactometer

Natives Pellet:

	%Offen				Initialer Druck (cm H <sub>2</sub> O)			
116-1	14,3	94,7	87,8	97,5	10,8	9,3	9,7	10,1
126-1	0,0	5,3	0,1		6,7	10,2	7,8	
204-1	88,9	87,3	90,1		5,5	5,4	8,0	
206-1	0,0	23,4	7,2		8,6	7,5	8,4	
209-1	100,0	100,0	97,0	70,4	6,4	6,3	6,8	7,0
213-1	1,9	0,0	0,2		9,1	7,7	10,1	
303-1	4,6	43,6	3,7	6,0	5,6	7,8	6,8	6,0
304-1	0,0	0,0	0,2		10,4	10,5	8,2	
306-1	0,2	0,3	0,1		10,5	8,0	10,4	
314-1	99,9	87,2	100,0		7,0	8,5	7,1	
408-1	0,0	0,8	0,5		8,9	7,9	9,0	
428-1	0,0	24,0	0,0		8,2	9,7	9,7	
503-1	1,4	0,0	0,3		11,9	12,1	12,1	
507-1	59,9	86,7	91,3		6,2	6,1	6,0	
509-1	1,2	10,6	11,8		9,5	10,1	8,5	
101-2	59,1	96,9	99,9	86,2	8,0	7,2	6,4	6,5
103-2	0,0	1,0	3,6		8,6	8,2	7,8	
114-2	92,8	92,7	92,6		6,3	6,0	6,2	
119-2	0,0	0,0	0,3		8,3	7,6	8,8	
124-2	0,1	0,0	0,8		7,6	7,2	6,0	
401-2	58,7	80,4	92,0		6,4	8,2	9,5	
404-2	60,6	50,2	64,5		9,9	10,7	10,4	
406-2	0,1	0,2	0,0		9,1	7,8	9,6	
106-3	87,6	90,2	95,9	75,0	9,2	10,0	9,8	10,0
107-3	0,6	0,9	0,0		5,3	6,0	7,4	
111-3	0,0	0,0	0,0		10,0	9,6	10,0	
119-3	0,1	0,4	0,1		9,0	7,4	8,3	
404-3	83,6	93,3	88,5		9,6	7,4	5,9	
405-3	50,6	1,3	8,9	8,4	9,3	10,2	10,5	8,5
413-3	97,2	88,0	95,6		8,3	8,4	6,3	

Pellet plus Überstand:

	%Offen					Initialer Druck (cm H <sub>2</sub> O)				
116-1	1,9	0,5	0,5			6,4	7,5	8,6		
126-1	0,0	0,4	0,1			8,2	6,9	7,7		
204-1	13,3	69,6	64,6	8,4	14,5	7,6	9,3	9,2	8,9	7,1
206-1	2,2	19,9	1,3	3,8		8,9	9,4	9,9	8,6	
209-1	0,3	10,6	14,6			10,2	7,8	6,1		
213-1	2,2	0,5	1,0			9,7	12,2	9,2		
303-1	1,9	1,1	0,8			6,4	8,5	9,0		
304-1	2,2	1,5	0,0			7,8	8,4	9,5		
306-1	0,5	0,0	0,0			9,5	9,5	9,5		
314-1	3,4	0,3	2,6			7,3	9,5	6,3		
408-1	0,1	0,0	0,0			8,6	8,6	8,6		
428-1	0,8	4,2	0,8	2,8		8,5	6,2	7,7	7,4	
503-1	1,1	1,0	0,8			8,6	8,3	8,5		
507-1	0,9	0,6	2,1			9,5	9,5	9,5		
509-1	0,4	0,2	0,5			9,4	9,4	9,4		
101-2	1,9	2,8	3,2			7,4	6,2	7,8		
103-2	0,0	0,0	0,0			10,1	10,1	9,2		
114-2	3,0	10,8	4,5			8,0	6,1	5,8		
119-2	0,0	0,0	0,0			10,0	10,0	10,1		
124-2	2,0	2,5	1,0			6,7	8,0	8,3		
401-2	0,8	5,0	3,3			9,5	5,6	7,8		
404-2	0,2	0,1	2,8	0,0		10,1	11,4	6,0	10,3	
406-2	0,6	0,1	0,4	3,9		10,0	11,9	12,6	8,4	
106-3	1,0	0,4	0,1			8,2	9,9	9,9		
107-3	0,2	0,0	0,0			10,0	10,1	9,9		
111-3	5,1	1,3	2,4			8,6	7,6	7,8		
119-3	0,8	11,6	0,0	6,2		8,3	9,6	8,1	9,4	
404-3	5,3	5,8	3,1			6,9	6,8	7,2		
405-3	1,0	0,6	0,8			12,5	12,5	12,5		
413-3	2,5	2,0	2,2			9,6	12,5	8,8		

Spaltenstatistik:

	%Offen		Initialer Druck (cm H <sub>2</sub> O)	
	Natives Pellet	Pellet plus Überstand	Natives Pellet	Pellet plus Überstand
Anzahl	28	28	28	28
Minimum	0,0	0,0	6,2	6,6
25% Perzentile	0,5	0,4	7,0	7,7
Median	12,3	1,2	8,2	8,6
75% Perzentile	86,3	2,4	9,5	9,7
Maximum	95,7	34,1	10,3	12,5
Arithmetisches Mittel	37,6	2,9	8,2	8,8
Standardabweichung	40,63	6,45	1,31	1,32
Standardmessfehler	7,68	1,22	0,25	0,25
unteres 95% CI	21,82	0,44	7,72	8,33
Oberes 95% CI	53,33	5,45	8,74	9,35
Variationskoeffizient (%)	108.12	219.33	15.91	14.89



Anzahl	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Minimum	23,7	23,7	18,7	4,2	2,7	0,8	0,8	1,1	0,0
Median	24,1	24,1	22,0	12,2	10,5	9,5	5,8	2,3	2,3
Maximum	25,2	25,2	23,7	22,9	19,7	16,0	14,8	13,8	3,5
Arithmetisches Mittel	24,4	24,4	22,0	14,6	10,5	7,7	6,5	4,9	2,2
Standardabweichung	0,77	0,75	1,98	7,99	6,60	6,22	5,61	5,18	1,30
Standardmessfehler	0,34	0,33	0,89	3,57	2,95	2,78	2,51	2,32	0,59
unteres 95% CI	23,43	23,47	19,50	4,72	2,32	0,02	-0,42	-1,51	0,54
Oberes 95% CI	25,33	25,33	24,42	24,56	18,72	15,46	13,50	11,35	3,78
Variationsk. (%)	3,14	3,05	9,03	54,59	62,78	80,34	85,73	105,2	60,33

	% Offen			initialer Druck (cm H <sub>2</sub> O)		
Standard 1	100,0	100,0	100,0	4,3	4,7	4,5
Standard 2	100,0	100,0	100,0	7,0	6,2	5,3
Standard 3	100,0	100,0	100,0	5,6	5,7	5,1
Standard 4	100,0	99,9	100,0	5,9	5,7	5,8
Standard 5	100,0	100,0	100,0	5,2	4,8	5,6
Anzahl	5			5		
Minimum	100,0			4,5		
Median	100,0			5,5		
Maximum	100,0			6,2		
Arithmetisches Mittel	100,0			5,4		
Standardabweichung	0,01			0,63		
Standardmessfehler	0,01			0,28		
unteres 95% CI	99,97			4,64		
Oberes 95% CI	100,0			6,21		
Variationskoeffizient (%)	0,01			11,65		

## b. Standard plus 1,5 g/l Protein aus dem Überstand

Pulsationszeit (min)	0,00	0,05	0,25	0,50	1,00	1,50	2,00	2,50	5,00
Probe 1	30,6	30,6	22,9	22,5	20,8	17,0	9,0	6,1	1,5
Probe 2	25,2	25,2	24,1	23,7	22,9	21,6	20,8	20,5	5,1
Probe 3	31,0	30,6	23,7	23,0	20,5	14,8	9,7	6,6	2,3
Probe 4	26,0	26,0	24,5	23,7	22,9	22,5	21,2	20,5	6,6
Probe 5	26,0	26,0	24,1	23,3	20,4	18,5	17,0	14,8	2,3
Anzahl	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Minimum	25,2	25,2	22,9	22,5	20,4	14,8	9,0	6,1	1,5
Median	26,0	26,0	24,1	23,3	20,8	18,5	17,0	14,8	2,3
Maximum	31,0	30,6	24,5	23,7	22,9	22,5	21,2	20,5	6,6
Arithmetisches Mittel	27,8	27,7	23,9	23,2	21,5	18,9	15,5	13,7	3,6
Standardabweichung	2,80	2,70	0,61	0,51	1,29	3,20	5,89	7,10	2,18
Standardmessfehler	1,25	1,20	0,27	0,23	0,58	1,43	2,63	3,18	0,98
unteres 95% CI	24,29	24,35	23,11	22,61	19,90	14,91	8,23	4,88	0,85
Oberes 95% CI	31,23	31,01	24,61	23,87	23,10	22,85	22,85	22,52	6,268
Variationsk. (%)	10,08	9,70	2,54	2,19	5,98	16,92	37,89	51,85	61,27

186Tabellarischer Anhang: 5. Änderung der Biophysik von Surfactant nach Proteinzugabe

	% Offen				initialer Druck (cm H <sub>2</sub> O)			
Probe 1	0,3	0,2	0,0		10,7	6,6	10,7	
Probe 2	2,6	9,9	0,0	0,9	10,6	9,4	9,5	8,6
Probe 3	0,0	4,6	0,1	0,1	7,9	6,9	8,9	9,8
Probe 4	1,3	2,8	7,7		6,2	6,0	5,9	
Probe 5	26,7	0,0	14,6	0,1	10,4	10,4	5,9	8,7
Anzahl	5				5			
Minimum	0,2				6,0			
Median	3,4				8,9			
Maximum	10,4				9,5			
Arithmetisches Mittel	3,8				8,4			
Standardabweichung	3,97				1,41			
Standardmessfehler	1,78				0,63			
unteres 95% CI	-1,13				6,67			
Oberes 95% CI	8,73				10,17			
Variationskoeffizient (%)	104,51				16,72			

c. Standard plus 4,5 g/l Protein aus dem Überstand

Pulsationszeit (min)	0,00	0,05	0,25	0,50	1,00	1,50	2,00	2,50	5,00
Probe 1	30,2	29,9	23,3	22,9	21,6	20,4	19,2	18,5	8,6
Probe 2	49,7	49,7	28,8	23,3	19,5	15,2	12,5	10,3	2,3
Probe 3	35,6	35,6	24,1	23,7	22,5	21,7	20,8	19,6	3,9
Probe 4	30,2	30,2	21,2	19,6	14,9	14,8	14,8	14,0	11,9
Probe 5	26,8	26,8	24,5	24,1	24,1	23,7	24,1	24,1	24,6
Anzahl	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Minimum	26,8	26,8	21,2	19,6	14,9	14,8	12,5	10,3	2,3
Median	30,2	30,2	24,1	23,3	21,6	20,4	19,2	18,5	8,6
Maximum	49,7	49,7	28,8	24,1	24,1	23,7	24,1	24,1	24,6
Arithmetisches Mittel	34,5	34,4	24,4	22,7	20,5	19,2	18,3	17,3	10,3
Standardabweichung	9,06	9,10	2,78	1,80	3,55	3,98	4,65	5,31	8,87
Standardmessfehler	4,053	4,07	1,24	0,81	1,59	1,78	2,08	2,38	3,97
unteres 95% CI	23,25	23,14	20,93	20,48	16,11	14,22	12,50	10,70	-0,76
Oberes 95% CI	45,75	45,74	27,83	24,96	24,93	24,10	24,06	23,90	21,28
Variationsk. (%)	26,27	26,42	11,40	7,92	17,32	20,76	25,45	30,70	86,48

	% Offen			initialer Druck (cm H <sub>2</sub> O)		
Probe 1	0,4	0,3	2,4	10,0	8,6	7,9
Probe 2	0,3	0,4	1,0	9,8	7,5	9,2
Probe 3	0,8	0,9	1,3	9,8	10,2	8,1
Probe 4	2,7	0,0	4,1	6,9	10,7	6,2
Probe 5	1,0	1,1	2,3	10,7	8,1	6,3
Anzahl	5			5		
Minimum	0,6			7,9		
Median	1,0			8,8		
Maximum	2,3			9,4		

Arithmetisches Mittel	1,3	8,7
Standardabweichung	0,64	0,54
Standardmessfehler	0,29	0,24
unteres 95% CI	0,47	8,99
Oberes 95% CI	2,07	9,34
Variationskoeffizient (%)	50,79	6,25

## d. Standard plus 1,5 g/l Serumprotein

Pulsationszeit (min)	0,00	0,05	0,25	0,50	1,00	1,50	2,00	2,50	5,00
Probe 1	37,5	36,4	22,0	13,0	9,7	8,4	7,3	6,5	1,1
Probe 2	36,3	35,9	24,1	22,9	21,7	20,8	20,8	20,4	7,9
Probe 3	35,6	35,2	24,1	23,7	21,7	20,8	20,1	20,0	8,6
Probe 4	37,1	36,7	23,7	17,4	14,6	15,2	14,8	12,9	1,5
Probe 5	32,9	32,5	22,0	15,2	10,9	10,1	8,4	7,3	2,3
Probe 6	36,3	35,6	22,9	9,3	5,0	2,3	2,3	2,3	1,5
Anzahl	6	6	6	6	6	6	6	6	6
Minimum	32,9	32,5	22,0	9,3	5,0	2,3	2,3	2,3	1,1
25% Perzentile	34,3	33,9	22,0	11,2	7,4	5,4	4,8	4,4	1,3
Median	36,3	35,8	23,3	16,3	12,8	12,7	11,6	10,1	1,9
75% Perzentile	37,3	36,6	24,1	23,3	21,7	20,8	20,5	20,2	8,3
Maximum	37,5	36,7	24,1	23,7	21,7	20,8	20,8	20,4	8,6
Arithmetisches Mittel	35,95	35,38	23,13	16,92	13,93	12,93	12,28	11,57	3,82
Standardabweichung	1,64	1,51	0,98	5,63	6,75	7,36	7,48	7,49	3,46
Standardmessfehler	0,67	0,62	0,40	2,30	2,76	3,00	3,05	3,06	1,41
unteres 95% CI	34,23	33,80	22,10	11,01	6,85	5,21	4,44	3,70	0,18
Oberes 95% CI	37,67	36,97	24,16	22,82	21,02	20,65	20,13	19,43	7,45
Variationsk. (%)	4.55	4.27	4.24	33.27	48.47	56.88	60.87	64.77	90.74

	% Offen			initialer Druck (cm H <sub>2</sub> O)		
Probe 1	8,6	9,2	7,7	5,2	6,2	8,2
Probe 2	0,1	3,0	0,1	10,6	6,8	9,3
Probe 3	0,3	0,1	0,1	10,2	10,7	11,1
Probe 4	0,2	0,1	0,0	8,8	10,6	10,7
Probe 5	1,1	0,6	0,8	6,2	10,1	6,9
Probe 6	3,4	9,9	5,0	5,9	5,4	5,4
Anzahl	6			6		
Minimum	0,1			5,6		
25% Perzentile	0,1			6,1		
Median	1,0			8,3		
75% Perzentile	7,3			10,4		
Maximum	8,5			10,7		
Arithmetisches Mittel	2,8			8,2		
Standardabweichung	3,59			1,99		
Standardmessfehler	1,47			0,81		
unteres 95% CI	-0,97			6,15		
Oberes 95% CI	6,56			10,33		

188Tabellarischer Anhang: 5. Änderung der Biophysik von Surfactant nach Proteinzugabe

Variationskoeffizient (%)	128.51	24.19
---------------------------	--------	-------

e. Standard plus 4,5 g/l Serumprotein

Pulsationszeit (min)	0,00	0,05	0,25	0,50	1,00	1,50	2,00	2,50	5,00
Probe 1	34,4	34,0	22,5	20,8	19,6	18,5	18,2	17,1	12,8
Probe 2	49,3	49,3	46,3	45,2	43,6	42,1	40,5	38,2	31,9
Probe 3	33,7	33,3	21,6	18,4	15,0	12,2	11,4	13,6	2,7
Probe 4	37,5	37,1	24,5	24,1	23,3	23,3	22,5	22,0	19,6
Probe 5	47,8	47,8	42,8	40,6	38,2	35,8	33,5	30,6	24,9
Probe 6	35,6	35,2	23,4	18,3	13,4	9,0	4,6	2,3	1,5
Probe 7	34,4	34,3	24,1	23,8	22,9	22,0	21,2	21,0	19,6
Anzahl	7	7	7	7	7	7	7	7	7
Minimum	33,7	33,3	21,6	18,3	13,4	9,0	4,6	2,3	1,5
25% Perzentile	34,4	34,0	22,5	18,4	15,0	12,2	11,4	13,6	2,7
Median	35,6	35,2	24,1	23,8	22,9	22,0	21,2	21,0	19,6
75% Perzentile	47,8	47,8	42,8	40,6	38,2	35,8	33,5	30,6	24,9
Maximum	49,3	49,3	46,3	45,2	43,6	42,1	40,5	38,2	31,9
Arithmetisches Mittel	39,0	38,7	29,3	27,3	25,1	23,3	21,7	20,7	16,1
Standardabweichung	6,68	6,84	10,50	10,97	11,48	11,99	12,28	11,60	11,22
Standardmessfehler	2,53	2,59	3,97	4,15	4,34	4,53	4,64	4,39	4,24
unteres 95% CI	32,78	32,39	19,60	17,17	14,52	12,19	10,35	9,95	5,77
Oberes 95% CI	45,14	45,04	39,03	37,46	35,76	34,36	33,05	31,42	26,52
Variationsk. (%)	17.15	17.66	35.82	40.17	45.67	51.51	56.58	56.10	69.50

	% Offen				initialer Druck (cm H <sub>2</sub> O)			
Probe 1	15,9	15,7	6,8		7,7	8,8	9,8	
Probe 2	35,3	37,8	33,5		9,9	9,6	9,1	
Probe 3	0,6	0,6	0,9		9,8	10,0	8,5	
Probe 4	0,4	0,3	0,3		9,4	9,3	11,1	
Probe 5	19,7	29,9	4,5	13,1	9,4	9,8	10,8	10,3
Probe 6	2,1	1,1	0,1		6,3	9,0	8,5	
Probe 7	1,5	9,7	3,3		5,6	5,6	5,2	
Anzahl	7				7			
Minimum	0,3				5,5			
25% Perzentile	0,7				7,9			
Median	4,8				9,4			
75% Perzentile	16,8				9,9			
Maximum	35,5				10,1			
Arithmetisches Mittel	10,3				8,7			
Standardabweichung	12,85				1,62			
Standardmessfehler	4,86				0,61			
unteres 95% CI	-1,59				7,24			
Oberes 95% CI	22,19				10,23			
Variationskoeffizient (%)	124.79				18.51			

## B. Literaturverzeichnis

- Armstrong, D.S., Grimwood, K., Carlin, J.B., Rosemary, C., Gutiérrez, J.P., Hull, J., Olinsky, A., Phelan, E.M., Robertson, C.F., Phelan, P.D. Lower airway inflammation in infants and young children with cystic fibrosis. *Am.J.Respir.Crit.Care Med.* (1997) 156:1197-1204.
- Ballard, P.L., Merrill, J.D., Godinez, R.I., Godinez, M.H., Truog, W.E., Ballard, R.A. Surfactant protein profile of pulmonary surfactant in premature infants. *Am.J.Respir.Crit.Care Med.* (2003) 168:1123-1128.
- Bligh, E.C., Dyer, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can.J.Biochem.Physiol.* (1959) 37:911-917.
- Bradford, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal.Biochem.* (1975) 72:248-254.
- von Bredow, C., Birrer, P., Griese, M. Surfactant protein A and other bronchoalveolar lavage proteins are altered in cystic fibrosis. *Eur.Respir.J.* (2001) 17:716-722.
- von Bredow, C., Wiesener, A., Griese, M. Proteolysis of surfactant protein D by cystic fibrosis relevant proteases. *Lung* (2003) 181:79-88.
- Bufler, P., Schmidt, B., Schikor, D., Bauernfeind, A., Crouch, E.C., Griese, M... Surfactant protein A and D differently regulate the immune response to nonmucoid *Pseudomonas aeruginosa* and its lipopolysaccharide. *Am.J.Respir.Cell Mol.Biol.* (2003) 28:249-256.
- Cassidy, K.J., Halpern, D., Ressler, B.G., Grotberg, J.B. Surfactant effects in model airway closure experiments. *J.Appl.Physiol.* (1999) 87(1):415-427.
- Crouch, E.C. Collectins and pulmonary host defense. *Am.J.Respir.Cell Mol.Biol.* (1998) 19:177-201.
- Donaldson, S.H., Boucher, R.C. Update on pathogenesis of cystic fibrosis lung disease. *Curr Opin.Pulm.Med.* (2003) 9:486-491.
- Duck-Chong, C.G. A rapid sensitive method for determining phospholipid phosphorus involving digestion with magnesium nitrate. *Lipids* (1979) 14:492-497.
- Enhoring, G. Pulsating bubble technique for evaluating pulmonary surfactant. *J.Appl.Physiol.* (1977) 43(2):198-203.
- Enhoring, G., Holm, B.A. Disruption of pulmonary surfactant's ability to maintain openness of a narrow tube. *J.Appl.Physiol.* (1993) 74(6):2922-2927.
- Enhoring, G. Pulmonary surfactant function in alveoli and conducting airways. *Can.Respir.J.* (1996) 3:21-27.

- Enhorning, G., Hohlfeld, J., Krug, N., Lema, G., Welliver, R.C. Surfactant function affected by airway inflammation and cooling: possible impact on exercise- induced asthma. *Eur.Respir.J.* (2000) 15:532-538.
- Folch, J., Lees, M., Stanley, G.H.S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J.Biol.Chem.* (1957) 226:497-509.
- Frerking, I., Günther, A., Seeger, W., Pison, U. Pulmonary surfactant: functions, abnormalities and therapeutic options. *Intensive Care Med.* (2001) 27:1699-1717.
- Gardai, S.J., Xiao, Y.Q., Dickinson, M., Nick, J.A., Voelker, D.R., Greene, K.E., Henson, P.M. By binding SIRPalpha or calreticulin/CD91, lung collectins act as dual function surveillance molecules to suppress or enhance inflammation. *Cell* (2003) 115:13-23.
- Gibson, R., Burns, J., Ramsey B.W. Pathophysiology and management of pulmonary infections in cystic fibrosis. *N.Engl.J.Med.* (2003) 168:918-951.
- Griese, M., Birrer, P., Demirsoy, A. Pulmonary surfactant in cystic fibrosis. *Eur.Respir.J.* (1997) 10:1983-1988.
- Griese, M. Pulmonary surfactant in health and lung diseases: state of the art. *Eur.Respir.J.* (1999) 13:1455-1476.
- Griese, M., von Bredow, C., Birrer, P. Reduced proteolysis of surfactant protein A and changes of the bronchoalveolar lavage fluid proteome by inhaled a1-protease inhibitor in cystic fibrosis. *Electrophoresis* (2001) 22:165-171.
- Griese, M., Neumann, M., von Bredow, C., Schmidt, R., Ratjen, F. Surfactant in healthy children and in children with malignancies, immunosuppression, fever and pulmonary infiltrates. *Eur.Respir.J.* (2002) 20:1284-1291.
- Griese, M. Surfactant. Kapitel 1.4.1. in *Pädiatrische Pneumologie*, 2. Aufl. (2004) 63-72. Hrsg. Rieger, C., Von der Hardt, H., Sennhauser, F.H., Wahn, U., Zach. Springer, Berlin.
- Hohlfeld, J., Fabel, H., Hamm, H. The role of pulmonary surfactant in obstructive airways disease. *Eur.Respir.J.* (1997) 10:482-491.
- Hull, J., South, M., Phelan, P., Grimwood, K. Surfactant composition in infants and young children with cystic fibrosis. *Am.J.Respir.Crit.Care Med.* (1997) 156:161-165.
- Jarjour, N.N., Enhorning, G. Antigen induced airway inflammation in atopic subjects generates dysfunction of pulmonary surfactant. *Am.J.Respir.Crit.Care Med.* (1999)160:336-341.

- de Jong, P.A., Nakano, Y., Lequin, M.H., Mayo, J.R., Woods, R., Pare, P.D., Tiddens, H.A. Progressive damage on high resolution computed tomography despite stable lung function in cystic fibrosis. *Eur.Respir.J.* (2004) 23:93-97.
- Konstan, M., Hilliard, K., Norvell, T., Berger, M. Bronchoalveolar lavage findings in cystic fibrosis patients with stable, clinically mild lung disease suggest ongoing infection and inflammation. *Am.J.Respir.Crit.Care Med.* (1994) 150:448-454.
- Kraemer, H.J., Schmidt, R., Günther, A., Becker, G., Suzuki, Y., Seeger, W. ELISA technique for quantification of surfactant protein B (SP-B) in bronchoalveolar lavage fluid. *Am.J.Respir.Crit.Care Med.* (1995) 152:1540-1544.
- Kuroki, Y., Voelkers, D.R. Pulmonary Surfactant Proteins. *J.Bio.Chem.* (1994) 269:25943-25946.
- Liu, M., Wang, L., Li, E., Enhorning, G. Pulmonary surfactant will secure free airflow through a narrow tube. *J.Appl.Physiol.* (1991) 71(2):742-748.
- Macklem, P.T., Proctor, D.F., Hogg, J.C. The stability of peripheral airways. *Respir.Physiol.* (1970) 8(2):191-203.
- Mander, A., Langton-Hewer, S., Bernhard, W., Warner, J.O., Postle, A.D. Altered phospholipid composition and aggregate structure of lung surfactant is associated with impaired lung function in young children with respiratory infections. *Am.J.Respir.Cell Mol.Biol.* (2002) 27:714-721.
- Meyer, K.C., Sharma, A., Brown, R., Weatherly, M., Moya, F.R., Lewandoski, J.R., Zimmerman, J. Function and composition of pulmonary surfactant and surfactant-derived fatty acid profiles are altered in young adults with cystic fibrosis. *Chest* (2000) 118:164-174.
- Noah, T., Murphy, P.C., Alink, J.J., Leigh, M.W., Hull, W.M., Stahlman, M.T., Whitsett, J.A. Bronchoalveolar lavage fluid SP-A and SP-D are inversely related to inflammation in early cystic fibrosis. *Am.J.Respir.Crit.Care Med.* (2003) 168:685-691.
- Nogee, L.M., de Mello, D.E., Dehner, L.P., Colten, H.R. Brief-report: deficiency of pulmonary surfactant protein B in congenital alveolar proteinosis. *N.Engl.J.Med.* (1993) 328:406-410.
- Nogee, L., Dunbar III, A.E., Wert, S., Askin, R., Hamvas, A., Whitsett, J.A. A mutation in the surfactant protein C gene associated with familial interstitial lung disease. *N.Engl.J.Med* (2001) 344:573-579.
- Postle, A.D., Mander, A., Reid, K.M., Wang, J.Y., Wright, S., Moustaki, M., Warner, J. Deficient hydrophilic lung surfactant proteins A und D with normal surfactant

- phospholipid molecular species in cystic fibrosis. *Am.J.Resp.Cell Mol.Biol.* (1999) 20:90-98.
- Robinson, T.E., Leung, A.N., Northway, W.H., Blankenberg, F.G., Chan, F.P., Bloch, D.A., Holmes, T.H., Moss, R.B.. Composite spirometric- computed tomography outcome measure in early cystic fibrosis lung disease. *Am.J.Respir.Crit.Care Med.* (2003) 168:588-593.
- Van Rozendaal, B., van-de Lest, C., van Eijk, M., van Golde, L.M.G., Voorhout, W.F., Van Helden, H., Haagsman, H. P. Aerosolized endotoxin is immediately bound by pulmonary surfactant protein D in vivo. *Biochim.Biophys.Acta* (1999) 1454:261-269.
- Rubio, F., Cooley, J., Accurso, F.J., Remold- O'Donnel, E. Linkage of neutrophil serine proteases and decreased surfactant protein-A (SP-A) levels in inflammatory lung disease. *Thorax* (2004) 59(4):318-321.
- Schmidt, R., Steinhilber, W., Ruppert, C., Daum, C., Grimminger, F., Seeger, W., Gunther, A. An ELISA technique for quantification of surfactant apoprotein (SP)-C in bronchoalveolar lavage fluid. *Am.J.Respir.Crit.Care Med.* (2002) 165(4):470-474.
- Wright, J.R. Immunomodulatory functions of surfactant. *Physiol.Reviews* (1997) 77:931-961.
- Wu, H., Kuzmenko, A., Wan, S., Schaffer, L., Weiss, A., Fisher, J.H., Kim, K.S., McCormack, F.X. Surfactant proteins A and D inhibit the growth of Gram-negative bacteria by increasing membrane permeability. *J.Clin.Invest.* (2003) 111:1589-1602.

## Danksagung

Ich möchte mich an dieser Stelle ganz herzlich bei meinem Betreuer Herrn Prof. Dr. med Matthias Griese bedanken, der mich die gesamte Zeit hervorragend beraten und unterstützt hat. Ohne ihn wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen.

Ein herzlicher Dank geht auch an alle Mitarbeiter der Forschungsgruppe Lunge, München und im Besonderen an Frau Andrea Schams, die bei Problemen im Labor immer mit Rat und Tat zur Seite stand.

Ebenso möchte ich mich bei den Zentren der BEAT- Studie für ihre Kooperation bedanken:

Prof. Dr. med. Karl Paul, Klinikum für Pädiatrie der Charité, Berlin

PD Dr. med. Felix Ratjen, Zentrum für Kinderheilkunde, Essen

Dr. med. M. Ballmann, Kinderklinik der medizinischen Hochschule Hannover

Dr. med. Ernst Rietschel, Kinderklinik der Universität zu Köln

Besonders möchte ich mich der Arbeitsgruppe von Dr. Reinhold Schmidt, Zentrum für Innere Medizin, Justus-Liebig-Universität Giessen für die Messung der SP-B und -C Konzentrationen danken.

## Lebenslauf

Robert Karl Essl

geboren am 17.05.1977 in München,  
römisch-katholisch,  
ledig.

### Schulbildung

1983 - 1987            Grundschule, Taufkirchen  
1987 - 1996            Gymnasium, Unterhaching  
Abschluss: Allgemeine Hochschulreife.

### Zivildienst

1996 - 1997            Kinderpoliklinik, Ludwig-Maximilian-Universität München,  
Ambulanz für Pneumologie und Allergologie.

### Studium

1997 - 2004            Studium der Humanmedizin an der Universität Leipzig:  
30.08.1999            Ärztliche Vorprüfung,  
29.08.2000            Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung,  
11.09.2002            Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung,  
07.05.2004            Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung.

### Ärztliche Tätigkeit

Seit 01.08.2004        Asklepios Kreiskrankenhäuser Weißenfels-Hohenmölsen GmbH,  
Klinik für Innere Medizin.