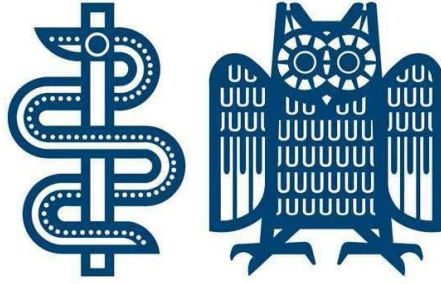


**Energiedispersive Mikroanalytik
transplantationsbedürftiger
diffuser parenchymatöser
Lungenerkrankungen**



Aus dem Institut für Allgemeine und Spezielle Pathologie
Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg / Saar
Direktor Prof. Dr. med. R. M. Bohle

Energiedispersive Mikroanalytik
transplantationsbedürftiger diffuser parenchymatöser
Lungenerkrankungen

Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät
der Universität des Saarlandes

2015

vorgelegt von
Jennifer Münch
geb. am 29.06.1983 in Schwedt/ Oder

Tag der Promotion:

Dekan:

Berichterstatter:

Meiner Familie gewidmet

1	Zusammenfassung	1
2	Einleitung	5
2.1	Geschichte der Faseranalytik	6
2.2	Translokation der anorganischen Fasern im menschlichen Organismus	7
2.3	Rasterelektronenmikroskop.....	9
2.3.1	Funktionsweise.....	9
2.3.2	EDX- Analyse	9
2.4	Pneumokoniosen	10
2.4.1	Silikose (BK Nr. 4101).....	11
2.4.1.1	Definition	11
2.4.1.2	Histologie	12
2.4.1.3	Klassifikation	14
2.4.1.4	Diagnostik und Begutachtung.....	14
2.4.1.5	Therapie	15
2.4.2	Asbestose (BK Nr. 4103)	16
2.4.2.1	Definition	16
2.4.2.2	Histologie	18
2.4.2.3	Klassifikation	19
2.4.2.4	Diagnostik und Begutachtung.....	19
2.4.2.5	Asbestidentifizierung und EDX-typische Spektrenunterschiede.....	21
2.5	COPD	24
2.5.1	Definition	24
2.5.2	Histologie	25
2.5.3	Diagnostik und Begutachtung	26
2.5.4	Therapie.....	26
2.6	Idiopathische Lungenfibrose (UIP).....	27
2.6.1	Definition	27
2.6.2	Histologie	28
2.6.3	Diagnostik und Begutachtung	29
2.6.4	Therapie.....	29
2.7	Anthrakose	30
2.7.1	Definition	30
2.7.2	Histologie	30
2.7.3	Klassifikation	32
2.7.4	Therapie.....	32
2.8	Kontrollgruppe	33
2.8.1	Histologie	33
2.9	Fragestellung	35

3	Material und Methoden	37
3.1	Patientenkollektiv und Proben	37
3.2	Rasterelektronenmikroskop mit EDX-Analysen.....	41
3.2.1	EDX- Analysen an asbesthaltigen Dachplatten	41
3.2.2	Probenauswahl und Ausschlusskriterien	42
3.2.2.1	Herstellung von Paraffin-Schnittpräparaten.....	43
3.2.2.2	Hämatoxylin-Eosin-Färbung Automat.....	44
3.2.2.3	Goldner-Färbung.....	44
3.2.3	Versuchsablauf	45
3.2.3.1	Vorversuche	45
3.2.4	Stanzen	50
3.2.5	Fotodokumentation.....	51
3.2.6	Analyse und Messungen.....	51
3.2.7	Software	52
3.3	Statistik.....	52
4	Ergebnisse	55
4.1	Nachweisbare chemische Elemente in den Gruppen	55
4.2	Vergleich der Elemente zwischen Lungengewebe und Lymphknoten	63
4.3	Vergleich der Elemente im Lungengewebe zwischen den Gruppen.....	75
4.4	Vergleich der Elemente im Lymphknotengewebe zwischen den Gruppen	81
4.5	Nachweisbare Elemente in den einzelnen Mikroskopvergrößerungen	87
5	Diskussion	93
5.1	Hintergrund	93
5.1.1	Risikofaktoren für Ablagerungen in der Lunge	97
5.2	Methodik	98
5.2.1	Proben "sample error"	100
5.3	Diskussion der Resultate	102
5.3.1	Elementnachweis in Abhängigkeit der untersuchten Feldgröße	102
5.3.2	Kontrollgruppe	104
5.3.3	Silikose	106
5.3.4	Asbestose.....	108
5.3.5	COPD	111
5.3.6	UIP	113
5.3.7	Anthrakose	115
5.4	Diskussion der Elemente Si, Al, Mg, Fe, Na, Ca.....	117
5.4.1	Silicium	117

5.4.2	Aluminium	118
5.4.3	Magnesium	118
5.4.4	Eisen	119
5.4.5	Natrium.....	119
5.4.6	Calcium	120
5.5	Fazit.....	121
5.6	Ausblick	125
6	Anhang	127
7	Literaturverzeichnis	155
8	Danksagung.....	171
9	Publikationen.....	173

ATS	American Thoracic Society
AWMF	Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften
BDMA	Benzyldimethylamin
BK	Berufskrankheit
BKV	Berufskrankheiten-Verordnung
COPD	Chronic obstructive pulmonary disease
CPD	Critical point drying
DDSA	Doderyl Succinic Anhydride
EAA	Exogen-allergische Alveolitis
EKG	Elektrokardiogramm
ERS	European Respiratory Society
FEV 1	Forced Expiratory Volume in 1 Second
GOLD	Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease
HE- Färbung	Hämatoxylin-Eosin-Färbung
HRCT- Klassifikation	High Resolution Computed Tomography
ICOERD	International Classification of Occupational and Environmental Respiratory Diseases
ILO	International Labor Organisation
ISHLT	International Society of Heart and Lung Transplantation
LG	Lungengewebe
LK	Lymphknoten
MÜZ	Mittlere Überlebenszeit
NMA	Nadic Methyl Anhydride
Pinhead silicosis	Disseminierte feinherdige Silikose
REM	Rasterelektronenmikroskop
UIP	Usual interstitial pneumonia
Wt %	Weight percent

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 Zunahme der berufsbedingten Pneumokoniosen	6
Abbildung 2 Primäre und sekundäre Translokation von anorganischen Fasern	7
Abbildung 3 Silikose Abbildung 4 Silikose	13
Abbildung 5 Silikose	13
Abbildung 6 Asbestose Abbildung 7 Asbestose	18
Abbildung 8 COPD Abbildung 9 COPD	24
Abbildung 10 COPD	25
Abbildung 11 UIP Abbildung 12 UIP	28
Abbildung 13 UIP Abbildung 14 UIP	28
Abbildung 15 Anthrakose.....	31
Abbildung 16 Anthrakose.....	31
Abbildung 17 Kontrolle.....	34
Abbildung 18 relevante Gruppen: Referenzlungen und Erkrankungsgruppen.....	38
Abbildung 19 EDX-Analyse	41
Abbildung 20 EDX-Analyse	42
Abbildung 21 Schnittfläche.....	43
Abbildung 22 Veraschungsfilter	47
Abbildung 23 Asbestfaser Abbildung 24 Asbestfaser	47
Abbildung 25 Histoform Abbildung 26 Histoform	49
Abbildung 27 Histoblock mit Lymphknoten Abbildung 28 REM Präparat	49
Abbildung 29 Elemente der Silikosegruppe in (wt %)	56
Abbildung 30 Elemente der Asbestosegruppe in (wt %).....	57
Abbildung 31 Elemente der COPD-Gruppe in (wt %)	58
Abbildung 32 Elemente der UIP-Gruppe in (wt %)	59
Abbildung 33 Elemente der Anthrakosegruppe in (wt %)	60
Abbildung 34 Elemente der Kontrollgruppe in (wt %)	61
Abbildung 35 EDX-Spektrenanalyse zum Silicium (wt %) LG-vs. LK-Gewebe	63
Abbildung 36 EDX-Spektrenanalyse zum Aluminium (wt %) LG-vs. LK-Gewebe.....	64
Abbildung 37 EDX-Spektrenanalyse zum Magnesium (wt %) LG-vs. LK-Gewebe ...	65
Abbildung 38 EDX-Spektrenanalyse zum Eisen (wt %) LG-vs. LK-Gewebe	66
Abbildung 39 EDX-Spektrenanalyse zum Natrium (wt %) LG-vs LK-Gewebe	67
Abbildung 40 EDX-Spektrenanalyse zum Calcium (wt %) LG-vs.LK-Gewebe	68
Abbildung 41 EDX-Spektrenanalyse zum Kohlenstoff (wt %) LG-vs. LK-Gewebe ...	69

Abbildung 42 EDX-Spektrenanalyse zum Sauerstoff (wt %) LG-vs. LK-Gewebe	70
Abbildung 43 EDX-Spektrenanalyse zum Schwefel (wt %) LG-vs. LK-Gewebe	71
Abbildung 44 EDX-Spektrenanalyse zum Kalium (wt %) LG-vs. LK-Gewebe	72
Abbildung 45 EDX-Spektrenanalyse zum Chlorid (wt %) LG-vs. LK-Gewebe	73
Abbildung 46 EDX-Spektrenanalyse zum Phosphat (wt %) LG-vs. LK-Gewebe	74
Abbildung 47 EDX-Spektrenanalyse zum Silicium (wt %) in der Lunge	75
Abbildung 48 EDX-Spektrenanalyse zum Aluminium (wt %) in der Lunge	76
Abbildung 49 EDX-Spektrenanalyse zum Magnesium (wt %) in der Lunge	77
Abbildung 50 EDX-Spektrenanalyse zum Eisen (wt %) in der Lunge	78
Abbildung 51 EDX-Spektrenanalyse zum Natrium (wt %) in der Lunge	79
Abbildung 52 EDX-Spektrenanalyse zum Calcium (wt %) in der Lunge	80
Abbildung 53 EDX-Spektrenanalyse zum Silicium (wt%) im LK-Gewebe	81
Abbildung 54 EDX-Spektrenanalyse zum Aluminium (wt%) im LK-Gewebe	82
Abbildung 55 EDX-Spektrenanalyse zum Magnesium (wt%) im LK-Gewebe	83
Abbildung 56 EDX-Spektrenanalyse zum Eisen (wt%) im LK-Gewebe	84
Abbildung 57 EDX-Spektrenanalyse zum Natrium (wt%) im LK-Gewebe	85
Abbildung 58 EDX-Spektrenanalyse zum Calcium (wt%) im LK-Gewebe	86
Abbildung 59 Staublungenklassifikation	127
Abbildung 60 Beurteilungsbogen	128
Abbildung 61 Alter der Patienten	129
Abbildung 62 Algorithmus zur Diagnostik der Asbestose	130
Abbildung 63 Bildmorphologische Diagnostik von UIP-Muster	131
Abbildung 64 Histopathologische Diagnostik von UIP-Muster	131
Abbildung 65 EDX-Spektrenanalyse zum Kohlenstoff (wt %) in der Lunge	132
Abbildung 66 EDX-Spektrenanalyse zum Sauerstoff (wt %) in der Lunge	133
Abbildung 67 EDX-Spektrenanalyse zum Schwefel (wt %) In der der Lunge	134
Abbildung 68 EDX-Spektrenanalyse zum Kalium (wt %) in der Lunge	135
Abbildung 69 EDX-Spektrenanalyse zum Chlorid (wt %) in der Lunge	136
Abbildung 70 EDX-Spektrenanalyse zum Phosphat (wt %) in der Lunge	137
Abbildung 71 EDX-Spektrenanalyse zum Kohlenstoff (wt%) im LK-Gewebe	138
Abbildung 72 EDX-Spektrenanalyse zum Sauerstoff (wt%) im LK-Gewebe	139
Abbildung 73 EDX-Spektrenanalyse zum Schwefel (wt%) im LK-Gewebe	140
Abbildung 74 EDX-Analyse zum Kalium (wt%) im LK-Gewebe	141
Abbildung 75 EDX-Analyse zum Chlorid (wt%) im LK-Gewebe	142

Abbildung 76 EDX-Analyse zum Phosphat (wt%) im LK-Gewebe..... 143

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 Asbestproduktion in Europa 1920–2000 (in Tonnen).....	17
Tabelle 2 Identifizierungskriterien für Faserstäube durch der EDX-Analyse	23
Tabelle 3 Eponmischung	51
Tabelle 4 Vergrößerungen des Lungengewebes der Silikosegruppe.	87
Tabelle 5 Vergrößerungen des Lungengewebes der Asbestosegruppe.....	88
Tabelle 6 Vergrößerungen des Lungengewebes der COPD-Gruppe.	89
Tabelle 7 Vergrößerungen des Lungengewebes der UIP-Gruppe.....	90
Tabelle 8 Vergrößerungen des Lungengewebes der Anthrakosegruppe.	91
Tabelle 9 Vergrößerungen des Lungengewebes der Kontrollgruppe.	92
Tabelle 10 Vergrößerungen der Lymphknoten der Kontrollgruppe.....	144
Tabelle 11 Vergrößerungen der Lymphknoten der Silikosegruppe.....	145
Tabelle 12 Vergrößerungen der Lymphknoten der Asbestosegruppe.	146
Tabelle 13 Vergrößerungen der Lymphknoten der COPD-Gruppe.....	147
Tabelle 14 Vergrößerungen der Lymphknoten der Anthrakosegruppe.	148
Tabelle 15 Vergrößerungen der Lymphknoten der UIP-Gruppe.....	149
Tabelle 16 Arbeitsanweisung zur Herstellung eines Veraschungsfilters.....	153

1 Zusammenfassung

Hintergrund: Die Asbestose ist eine von mehreren Lungenparenchymerkrankungen, die mit einer diffusen interstitiellen Lungenfibrose einhergehen. Nach dem Register der „International Society of Heart and Lung Transplantation“ (ISHLT) nimmt die Anzahl der Patienten, die auf Grund einer Lungenfibrose transplantiert werden, ständig zu. Die Diagnose gestaltet sich nicht selten schwierig, ist jedoch für die Betroffenen mit positiver Berufsanamnese und Asbestexposition bedeutend. Histologisch wird das Lungengewebe auf Fibroseareale und auf die Anwesenheit von Asbestkörper untersucht. Ziel dieser Arbeit war es die anorganischen Fasern unterschiedlicher Lungenerkrankungen mit Hilfe des Rasterelektronenmikroskops in verschiedenen Vergrößerungen zu untersuchen und miteinander zu vergleichen.

Methoden: Sechs Gruppen menschlichen Lungen- und Lymphknotengewebes wurden analysiert. I. Kontrollgruppe, II. Silikose, III. Asbestose, IV. Chronisch obstruktive Lungenerkrankung (COPD), V. Anthrakose, VI. Idiopathische Lungenfibrose (UIP). Für die Faseranalysen wurden das Lichtmikroskop, die Lungenveraschung und das Rasterelektronenmikroskop inklusive energiedispersive Mikroanalytik verwendet.

Ergebnisse: Folgende Beobachtungen konnten im Vergleich der Lungenproben gemacht werden. I. Die Kontrollgruppe hatte die relativ höchste Kohlenstoffkonzentration (70,6 wt %). II. Die Silikosegruppe hatte den höchsten Messwert für Silizium (5,5 wt %) und Schwefel-Phosphat-Peak (1,2 wt %, 0,5 wt %). III. In der Asbestosegruppe waren sowohl die Silizium (4,2 wt%) als auch die Aluminiumwerte (3,2 wt %) erhöht. IV. In der Gruppe der chronisch obstruktiven Lungenerkrankungen konnte der geringste Kohlenstoffwert (61,4 wt %) und der höchste Magnesiumwert (0,5 wt %) gemessen werden. V. In der Anthrakosegruppe war der höchste Chloridwert (2,5 wt %) nachweisbar. Auch waren die Werte für Eisen (2,6 wt %) und Silizium (2,4 wt %) erhöht. VI. In der Gruppe der idiopathischen Lungenfibrose waren die geringsten Silizium (2,1 wt %) und Aluminiumwerte (0,7 wt %). Die Elemente im Lungengewebe konnten ebenfalls im Lymphknotengewebe nachgewiesen werden.

Unter den zehn verschiedenen Vergrößerungen gab es keine repräsentative Vergrößerung für alle Elemente oder Gewebsproben.

Schlussfolgerungen: Die Rasterelektronenmikroskopie ist mit Hilfe der energie-dispersiven Mikroanalytik eine gute Methode zur Identifizierung anorganischer Fasern. Es war nicht möglich sich auf eine Vergrößerung für die Elemente oder Gewebeproben festzulegen.

Background: Asbestosis is a form of diffuse interstitial pulmonary fibrosis. Data of the International Society of Heart and Lung Transplantation (ISHLT) showed an increased number of patients with lungfibrosis and lung transplantation. The diagnosis is difficult, however important for patients with anamnesticly established occupational exposure to asbestos fibers. Diagnosis rests on the pattern of fibrosis and the presence of asbestos bodies by light microscopy in lung biopsies. The aim of the study was to determine the asbestos fiber burden in patients with asbestosis compared with fiber burden in different lung diseases under use of ten different screen magnifications and the utilization of scanning electron microscope equipped with X-ray energy-dispersive spectrometer.

Methods: Six groups of humans (each n=6) were analysed: I. Control, II. Silicosis, III. Asbestosis, IV. Chronic obstructive pulmonary disease (COPD), V. Anthracosis, VI. Usual interstitial pneumonia (UIP). Fiber burden analysis was performed using light microscopy, ash, scanning electron microscopy and energy-dispersive x-ray analysis of lung parenchyma and lymph nodes.

Results: The observed specific differences in the local mineralogical analysis of lung samples were: I. The control had the relative highest carbon (70.6 wt %) concentrations. II. Silicosis had the highest count of silicon (5.5 wt %) and a sulfur-phosphate- peak (1.2 wt %; 0.5 wt %). III. In Asbestosis were distinctly elevated silicon (4.2 wt %) and aluminum (3.2 wt %). IV. The chronic obstructive lung disease had the lowest count of carbon (61.4 wt %) and the highest of magnesium (0.5 wt %). V In Anthracosis was the highest chloride (2.5 wt %) concentration and elevated iron (2.6 wt %) and silicon (2.4 wt %). VI. Usual interstitial pneumonia had lower silicon (2.1 wt %) and aluminum (0.7 wt %) concentrations. Minerals of lung samples were found in lymph nodes. In the ten screen magnifications were no representative magnification for all minerals and samples.

Conclusions: Scanning electron microscopy with energy-dispersive x-ray analysis is useful to identify difference of minerals in lung diseases. A specific magnification for all minerals and lung samples was not found.

2 Einleitung

Die Gewebebeurteilung von transplantationsbedürftigen parenchymatösen diffusen Lungenerkrankungen ist Aufgabe der klinischen Pathologie. Oft sind die Krankheitsbilder bedingt durch eine auslösende Noxe (Pneumokoniosen), welche histologisch nicht von denen mit ungeklärter Ursache zu unterscheiden sind. Dabei ist bekannt, dass eine Korrelation zwischen der kumulativen Belastung gegenüber z. B. silikogenen Stäuben einerseits und der Häufigkeit einer COPD sowie obstruktiven und restriktiven Lungenfunktionseinschränkungen andererseits besteht^{15-16, 141}. Fast alle funktionell wirksamen Folgeerscheinungen nach Inhalationsschäden sind berufsbedingt^{111, 152, 190}. Die Pathologie nimmt durch die Feststellung einer Berufskrankheit oft eine gutachterliche Funktion ein. Interdisziplinär werden die für den Patienten herrührenden Funktionseinschränkungen ermittelt, Heilbehandlungen vorgeschlagen und die Minderung der Erwerbsfähigkeit festgelegt, welche ggf. durch Geldleistung der gesetzlichen Unfallversicherung zu entschädigen ist (nach §§ 1 und 9 Abs. 1 SGB VII mit Nr. 4101 der BKV). Problematisch ist, dass das Beschwerdebild des Patienten oft nicht mit der Bildgebung korreliert und andere Untersuchungsverfahren keine hohe Aussagekraft besitzen oder mit einem hohen Zeitaufwand verbunden sind¹⁹⁰. Da je nach Krankheitsbild nur wenige Monate bis Jahre zwischen der Diagnosestellung und dem Versterben des Patienten liegen, sind schnelle und objektive Verfahren mit der Möglichkeit organische und anorganische Noxen zu identifizieren notwendig¹⁹⁰. Zudem sieht die Falkensteiner Tagung 2010 bei steigenden Verdachtsanzeigen die Dringlichkeit eines sicheren Feststellungsverfahrens für die Betroffenen, deren Angehörige und medizinische Sachverständige (siehe Abb. 1).

Im klinischen Alltag werden Methoden wie lichtmikroskopische Begutachtung, Lungenveraschung und bildgebende Verfahren eingesetzt. Die bisherigen Untersuchungsverfahren sind jedoch vor allem in ihren analytischen Fähigkeiten und der Bestimmung von Fasertypen beschränkt und werden juristisch nicht immer anerkannt¹⁶¹. Besonders wegen der sehr langen Latenzzeit von Pneumokoniosen von 10- 40 Jahren und somit der steigenden Bedeutung in den kommenden Jahren richtet sich die Aufmerksamkeit auf Verfahren mit der Eventualität zur Faseridentifizierung und Klassifizierung¹⁹⁰. Das Raster- und Transmissionselektronenmikroskop bietet mit Hilfe der EDX-Analyse die Möglichkeit

der Fasertypbestimmung¹⁶⁰. Mit dem Rasterelektronenmikroskop (REM) lassen sich auch bei geringer Vergrößerung (1000x) Fasern zählen. Die höheren Vergrößerungen dienen dem Nachweis von Fasern, die 0,3 µm lang sind und einen Durchmesser von 0,05 µm aufweisen.

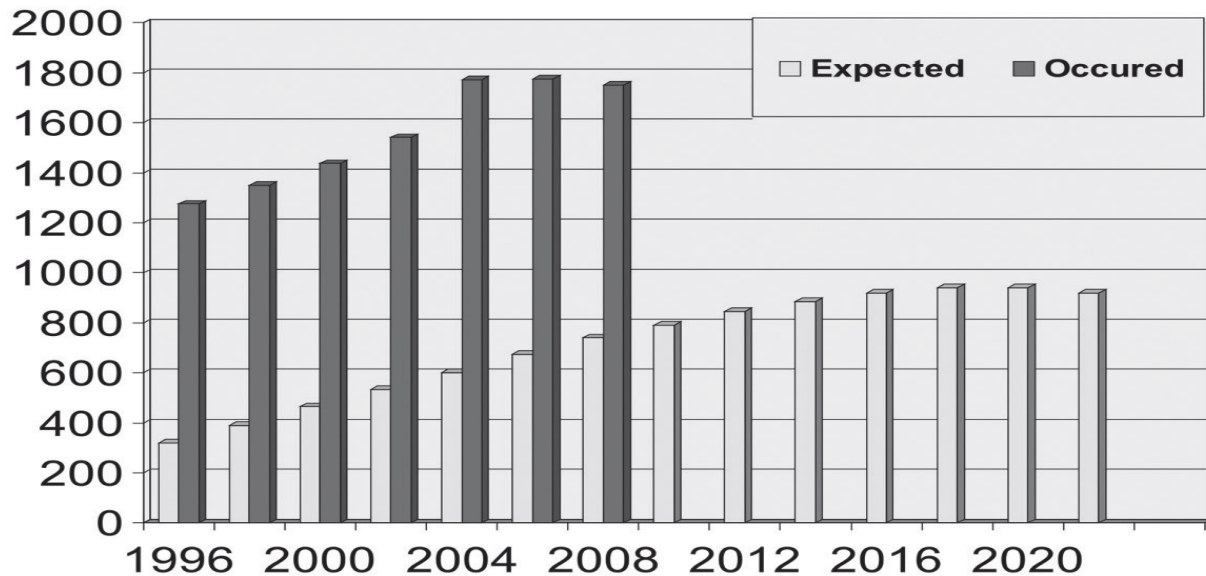


Abbildung 1 Zunahme der berufsbedingten Pneumokoniosen

Abb. 1 Erwartete (1989) und aufgetretene BKen nach Nr. 4104 und 4105⁴²

2.1 Geschichte der Faseranalytik

Die ersten Publikationen zur Identifizierung von Asbestfasern stammen aus dem 20. Jahrhundert. Anfänglich wurden die Asbestfasern als "eigentümliche Pigmentierkristalle" beschrieben¹²⁰. Stewart und Haddow stellten eine Assoziation mit der Asbestose her¹⁸⁰. Mit der Entwicklung der Elektronenmikroskopie von Knoll und Ruska 1932, war es Kühn 1941 möglich die Asbestfasern in höhere Vergrößerungen darzustellen^{103, 107}. Der entscheidende Schritt der heutigen Faseranalytik gelang mit der Entwicklung der EDX-Technik.

Bereits 1976 beschrieben Berry et al. die elektronenmikroskopischen Untersuchungen von Lungengewebe bei Patienten mit und ohne Pneumokoniosen und wiesen auf den Zusammenhang zwischen der idiopathischen Lungenfibrose (UIP) mit unbekannter Ursache und dem Vorfinden von anorganischen Partikeln hin²³.

2.2 Translokation der anorganischen Fasern im menschlichen Organismus

Lange Zeit ging man nach diversen Tierversuchen davon aus, dass sich die Ausbreitung anorganischer Fasern allein auf das pulmonale Gewebe begrenzt und es allenfalls zu einem Transport der Fasern in periphere Lungenanteile sowie der Pleura kommt, was als „Pleuradrift“ bezeichnet wird⁴³. Ronald et al. übertrugen diese Hypothese auf den menschlichen Organismus^{58, 182}.

Grundsätzlich muss die Verteilung der anorganischen Fasern nach aerogener Aufnahme in eine primäre und sekundäre Translokation unterschieden werden. Ersteres beinhaltet dabei den Abtransport der Fasern aus dem Lungengewebe durch das lymphatische System. Besonders die hilären Lymphknoten stellen eine der Endstationen dar, wodurch die Anzahl der Silikatfasern hier oftmals 2-3mal höher als im Lungenparenchym ist. Die sekundäre Translokation besteht im Wesentlichen aus dem Übertritt der Fasern aus dem Lymphsystem in die Blutbahn und somit in die peripheren Organe, wobei stark durchblutete Organe wie Niere und Leber besonders hohe Faserkonzentrationen aufweisen können^{10, 104}.

Beide Prozesse können sich über Jahre bis Jahrzehnte erstrecken (siehe Abb. 2)¹²⁷.

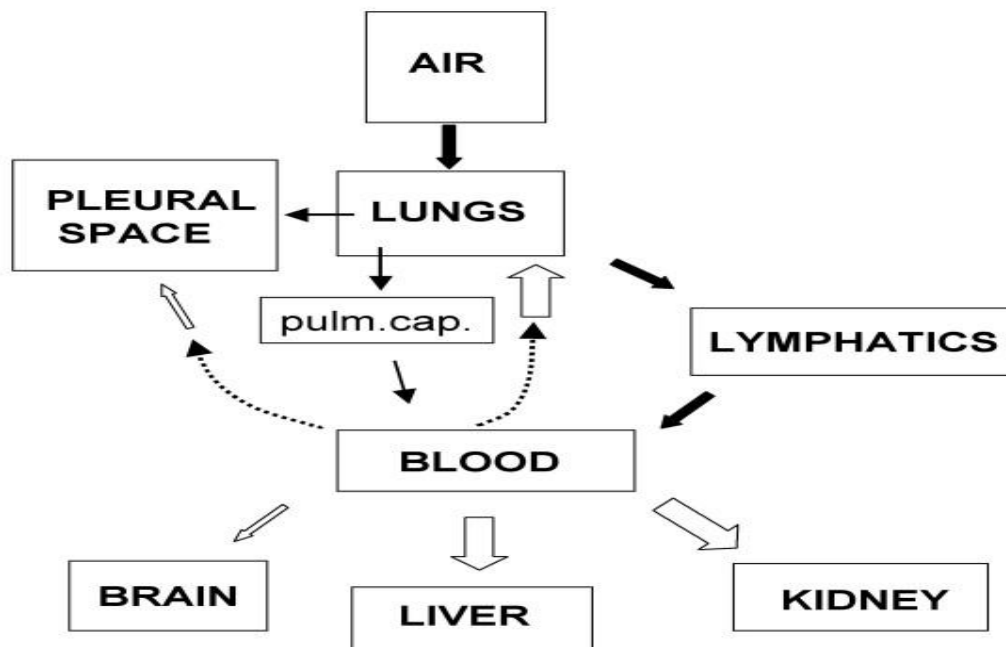


Abbildung 2 Primäre und sekundäre Translokation von anorganischen Fasern

Miserochi et al. 2008¹²⁷

Die Alveolarmakrophagen spielen eine zentrale Rolle in der Verdauung der eingeatmeten Asbestfasern. Allerdings ist die Arbeitsleistung der Makrophagen auf eine Fasergröße von 10 µm begrenzt, wodurch die aufgenommenen Fasern nicht vollständig abgebaut werden können. Es resultieren eine Selbstverdauung der „Fresszellen“ und das Freisetzen von verschiedenen Botenstoffen wie z. B. Wachstumsfaktoren und Interleukin 1, wodurch Fibrozyten, Granulozyten und T-Helferzellen in das Gewebe einwandern. Die Fibrozyten bilden vermehrt Typ III-Kollagen, was letztendlich zu einer Fibrosierung des umliegenden Gewebes führt. Auch nach Beendigung der Exposition setzt sich dieser Prozess unter Umständen fort^{60, 81, 135}.

Die Lungenfibrose beginnt meistens subpleural und im Bereich der Bronchioli respiratorii. Der Fibroseprozess schreitet in die Ductus alveoli, Alveolarsepten und Bronchioli terminales fort. Es bilden sich im Lungeninterstitium Asbestosekörper (siehe 2.4.2.5.6), die auch in den Lymphknoten nachgewiesen werden können. Die diffuse Fibrosierung der viszeralen Pleura ist assoziiert mit der Lungenfibrose. Ferner können Plaques in der Pleura parietalis nachgewiesen werden¹¹¹.

Auch auf zellulärer Ebene können Veränderungen eintreten. Die Exposition mit Asbest kann eine Inhibition der Glukose- 6 Phosphatdehydrogenase hervorrufen oder beeinflusst die Genexpressionen, die für die Steuerung der Proliferation und Apoptose der Zellen verantwortlich sind¹⁵⁸. Liu et al. beschrieben DNA-Strangbrüche verursacht durch Krokydolith (Blauasbest)¹¹⁶. Dies macht das kanzerogene Potenzial deutlich. Davis et al. glaubte, dass Makrophagen mit Asbest sich in Fibroblasten umwandeln und somit zur Entstehung der Fibrose beitragen können⁵⁰.

Entscheidend scheint dabei auch der Asbesttyp zu sein. So weisen Amphibole Fasern wie Krokydolith (siehe 2.4.2.5.3) eine höhere Überlebenszeit im menschlichen Organismus als andere Fasertypen auf⁶⁸. Die gesteigerte Biopersistenz ist auf eine erhöhte longitudinale Spaltung und auf eine geringere Aufteilung in kleinere Fragmente zurückzuführen⁴⁰. Im Gegensatz dazu wird vor allem Weißasbest in kleinere Bruchstücke zerteilt, welche einfacher durch Makrophagen verdaut bzw. über lymphatische Bahnen drainiert werden können. Dies erschwert unter Umständen den Nachweis inhalierter anorganischer Fasern und wird in der Literatur als das „Fahrerfluchtphänomen“ beschrieben²⁰.

2.3 Rasterelektronenmikroskop

2.3.1 Funktionsweise

Das Rasterelektronenmikroskop (REM) ermöglicht eine Analyse organischer sowie anorganischer Stoffe von einer Größe im nm- und µm- Bereich. Dabei erlaubt das REM eine genaue Vorstellung der Morphologie, eine Elementanalyse sowie eine sichere Größenmessung der Partikel mit hoher Genauigkeit. Vergrößerungen von 10-100000x sind durchführbar. Die zu untersuchende Probe wird durch einen Elektronenstrahl abgetastet. Durch die Interaktion der Elektronen mit der Oberfläche entstehen Sekundärelektronen und Rückstreuielektronen. Je nach Detektor werden diese registriert und nach verschiedensten elektronischen Prozessen in Grauwerte am Bildschirm umgewandelt.

2.3.2 EDX- Analyse

Die energiedispersive Mikroanalytik ist als Untersuchungsverfahren zur Charakterisierung anorganischer Elemente in humanen Lungen – und Lymphknotengewebe grundsätzlich geeignet ⁹². Aus der Zusammensetzung der nachgewiesenen Elemente kann aufgrund bekannter Standards auf den Fasertyp (z. B. von Asbestfasern) zurückgeschlossen werden. Dabei werden die im Periodensystem gängigen Elemente in nicht ionisierter Form erfasst und angegeben ⁶⁹. Die Sensitivität der Analytik ist hoch, so dass ein Minimum von 20 ppm Tremolit in Chrysotil-Proben erkannt werden kann. Es liegen umfangreiche Kenntnisse der Klassifikation der zu untersuchenden Lungenerkrankungen vor, so dass eine eindeutige Zuordnung der Proben zu den entsprechenden Krankheitsentitäten sichergestellt werden kann ^{35, 168, 183}.

2.4 Pneumokoniosen

Der Begriff Pneumokoniosen wurde erstmals 1867 durch Friedrich A. Zenker eingeführt ²⁰¹. Dabei handelt es sich um Lungenerkrankungen, die durch Inhalation von Stäuben mit anschließender Ablagerung in der Lunge und nachfolgender Gewebereaktion hervorgerufen werden. Besonders anorganische Stäube führen zur Entstehung von entschädigungspflichtigen Berufserkrankungen wie der Silikose und der Asbestose.

Je nach Größe, Konzentration und Expositionsdauer können die Ausprägung der Krankheit und Beschwerden der Betroffenen sehr unterschiedlich sein. Die Vielzahl der in den alveolären Kompartimenten der Lunge vorkommenden Zelltypen bieten eine breite Angriffsfläche für entzündliche und benigne Veränderungen wie Fibrosen und Asbestosen, aber auch für Neoplasien wie das asbestassoziierte Pleuramesotheliom ^{17, 125}. 1935 beschrieben Lynch und Smith erstmals den Zusammenhang zwischen der Inhalation von Asbest und der Entstehung von malignen Lungenerkrankungen.

Auch nach Beendigung der Exposition besteht weiterhin ein Krebspotenzial durch bereits inhalede Fasern. Die Latenzzeit der Silikose ist kürzer als die von Asbestose. Allerdings kann diese durch eine besonders hohe Faserexposition verkürzt sein. Somit ist in den nächsten Jahren 2015-2020 mit einem Anstieg an Pneumokoniosen zu rechnen, was der Faseranalyse eine große Bedeutung zukommen lässt.

Nicht zu vernachlässigen ist die synergistische Wirkung verschiedener Noxen. Mehrfach ist ein vermehrtes Auftreten von Bronchialkarzinomen bei asbestexponierten Rauchern als bei Nichtrauchern nachgewiesen worden ²².

Aber auch die Transportwege der aufgenommenen Fremdstoffe, speziell die drainierenden Lymphbahnen bis hin zur Pleura viszeralis, können im Rahmen von Krankheitsprozessen betroffen sein. Bedingt durch die Translokation und Faserdigestion sind die Fasersuche- und Identifikation oft erschwert.

Drei grundsätzlich verschiedene Pathogenesen können für die Entstehung von Gewebsveränderungen als gesichert angesehen werden: Zum Ersten die Genese auf dem Boden einer langfristigen chronischen Entzündungsreaktion im pulmonalen Interstitium, zum Zweiten eine dominant interstitiell fibrosierende Reaktion, die als Folge einer Asbestfaseraufnahme auftritt, und zum Dritten eine offenbar primär aus unbekannter Ursache fibrosierende Lungenerkrankung, die als idiopathische

Lungenfibrose bezeichnet wird, und oft schon nach wenigen Jahren zur respiratorischen Insuffizienz im Endstadium führt, die nur noch mit Hilfe einer Transplantation behandelt werden kann. Im Gegensatz dazu imponiert das histologische Bild der COPD durch eine oft massive Emphysembildung.

Im Laufe der Jahre hat neben der körperlichen Untersuchung, Röntgen- Thorax, Lungenfunktionstests, Veraschungen, Biopsien, Sputumdiagnostik vor allem die mikroskopische Begutachtung an Bedeutung gewonnen.

2.4.1 Silikose (BK Nr. 4101)

2.4.1.1 Definition

Bei der Silikose handelt es sich medizinisch betrachtet um morphologische Veränderungen der Lunge, die durch die Inhalation von Quarzstaub (SiO_2 ; 1- 5 μm) oder Staubgemischen verursacht werden¹³³. Demnach wird die Quarzstaublungerkrankung in die reine Quarzstaubsilikose und in die Mischstaubsilikose unterteilt. Die häufigste Form der Mischstaubsilikose stellt die Anthrakosilikose dar, wie sie vor allem bei Bergleuten vorkommt. Die Mortalitätsrate beträgt auf die europäischen Länder bezogen zwischen 0.91/100000 und 7.36/100000 von 1985-1986¹⁹⁰.

Durch das Einatmen dieser Noxen kommt es über die Ausschüttung von Zytokinen und Oxidantien zu Veränderungen und Entzündungen im Gewebe, die häufig in einem Lungenemphysem, einer Lungenfibrose, einem Cor pulmonale oder in restriktiven Lungenerkrankungen münden¹⁹⁰. Die damit assoziierten Lungenfunktionseinschränkungen müssen unter anderem für die Bestimmung der Minderung der Erwerbsfähigkeit diagnostiziert, begutachtet und festgehalten werden. Radiologisch sind disseminierte, teils rundliche Verschattungen unterschiedlicher Größe und Dichte zu erkennen. Zusätzlich können sich Schwielenbildungen im Ober- und/oder Mittelfeld zeigen. In einem Versicherungsfall müssen 2 Entschädigungsvoraussetzungen gewährleistet sein: 1. Die Einwirkung von kristallinen Kieselsäuren ist durch die Arbeitsanamnese gesichert. 2. Durch eine Röntgen- Aufnahme der Lunge mit der Streuungskategorie von mind. 1/1 (seit 1990) nach der ILO-Klassifikation 1980 / 2000. Des Weiteren kann die CT-Klassifikation zur Begutachtung herangezogen werden⁸⁷. Allerdings korrelieren Beschwerdebild und

der radiologische Befund nicht immer miteinander ⁹⁰. Demnach gilt in einem Leistungsfall nach der S2- Leitlinie für Diagnostik und Begutachtung der Berufskrankheit Nr. 4101 Quarzstaublungerkrankung (Silikose) der AWMF, dass auch bei einem geringen Streuungsgrad in der Bildgebung, das entsprechende Beschwerdebild und die standardisierte Diagnostik zur Einschätzung pulmonaler Funktionsstörungen genügen, um eine Entschädigung herbei zu führen ¹⁴. Zu den Risikofaktoren werden Staubkonzentration in der Atemluft, der Anteil der alveolengängigen Staubfraktion, der Gehalt an freier Kieselsäure (SiO_2), die Art der Begleitstäube, die Expositionsdauer, die individuelle Suszeptibilität auf Kieselsäure und die Reinigungsfähigkeit der Lunge gezählt.

2.4.1.2 Histologie

Makroskopisch zeigen sich über die gesamte Lunge verteilte Knötchen, welche je nach inhaliertem Staub unterschiedliche Farben haben können. Der Staub wird von den Makrophagen im Lungeninterstitium und den Lymphknoten zusammengetragen (siehe Abb. 3 und 4). Die Entzündungsreaktionen in den Depots gehen auch nach Expositionsstopp weiter. Es entstehen Fibrosezonen und sogenannte Silikoseknötchen, welche hyalinisieren können (siehe Abb. 5). Diese Verschmelzungen konfluieren und weisen zum Teil nekrotische Veränderungen auf. „Das klassische Silikosegranulom besteht aus einem mehr oder weniger konzentrisch geschichteten Zentrum aus zwiebelschalenartig gelagerten Kollagenfasern, umgeben von einem lockeren Staubzellensaum, welcher durch die o.g. Mechanismen über einen Recyclingprozess freigesetzter Kristalle die „Wachstumszone“ des Granuloms darstellt ^{56, 70}. Reichel et al. führten den Begriff „Eierschalensilikose“ ein und beschreiben damit die Verkalkung hilärer und mediastinaler Lymphknoten.

Polarisationsoptisch zeigen sich u. a. doppelbrechende Quarzkristalle.

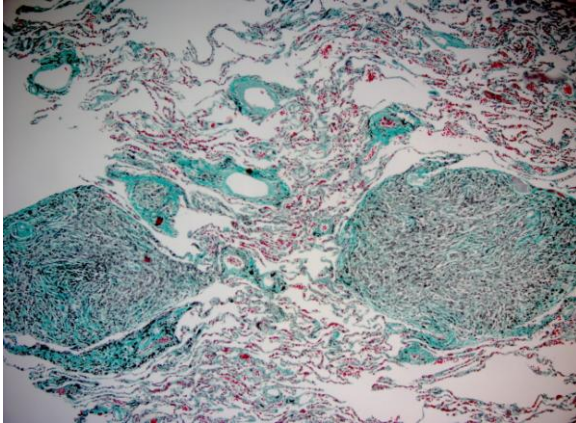


Abbildung 3 Silikose

Abb. 3 Silikose Lungeninterstitium, Goldner-Färbung 5x

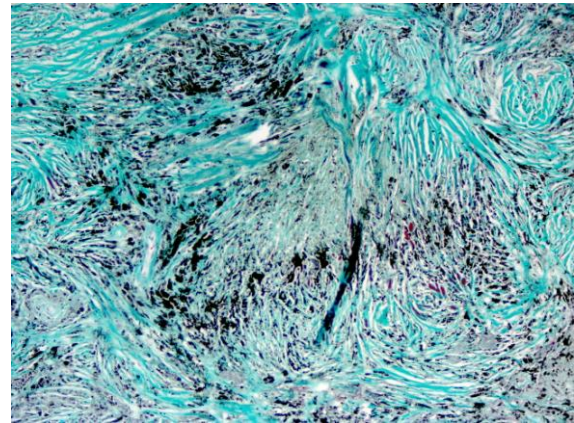


Abbildung 4 Silikose

Abb. 4 Silikose Lymphknoten, Goldner-Färbung 20x

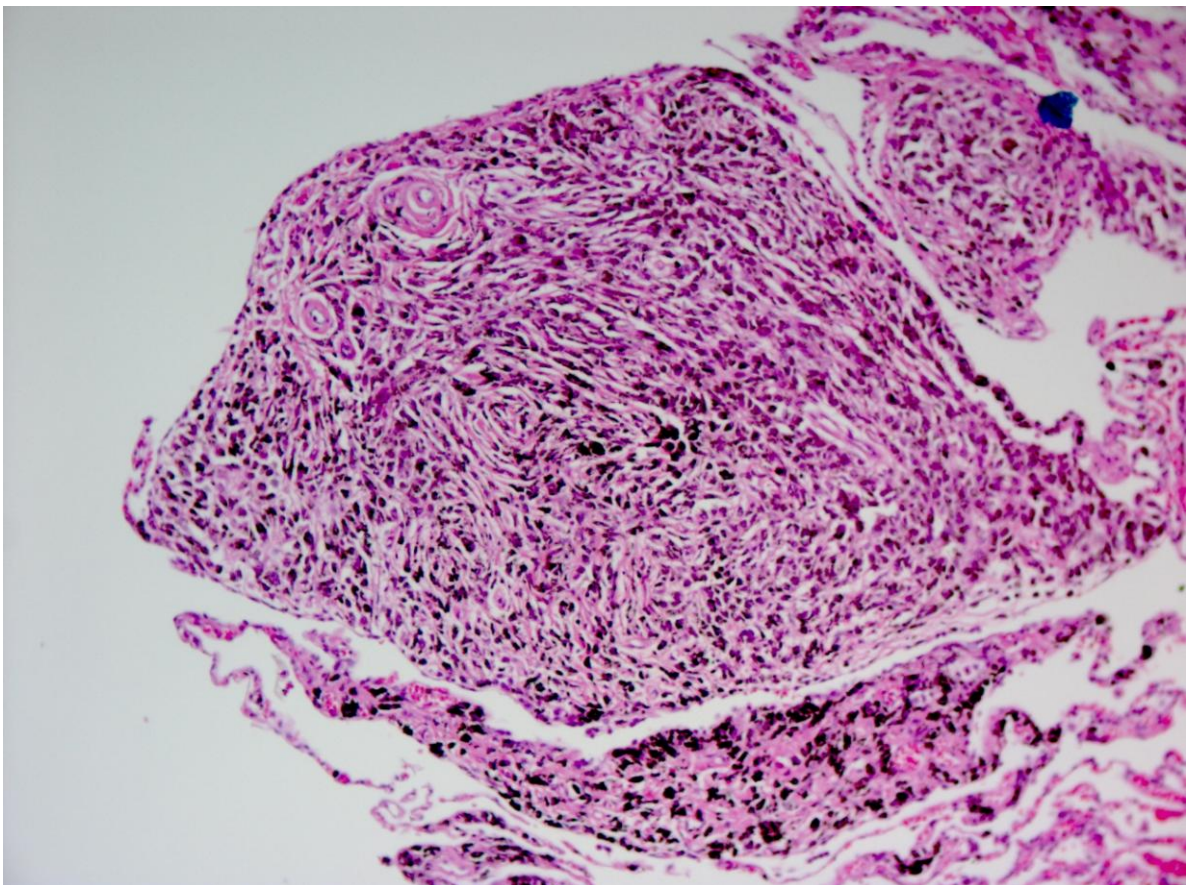


Abbildung 5 Silikose

Abb.5 Silikoseknötchen/ Granulom, HE-Färbung 10x

2.4.1.3 Klassifikation

Beruhend auf die Klinik und Histologie existieren verschiedene Variationen der Silikose: Die noduläre, komplizierte (massiv progressive Fibrose; Knötchen > 1cm) und die diffuse interstitielle Fibrose (chronisch)¹⁹⁰. Die Ausprägung der silikotischen Veränderungen wird pathologisch-anatomisch meist in 3 Schweregrade eingeteilt¹⁰⁵. Je nach Ausmaß der radiologischen Veränderungen lässt sich die Silikose in mehrere Stadien einteilen. Nach der bereits erwähnten ILO-Klassifikation wird anhand des röntgenologischen Bildes u.a. nach der Knötchengröße (p = pinhead, bis 1,5 mm; m = micronodular, unter 3 mm; n = nodular, über 3 mm), der Knötchendichte (1 = vereinzelt, 2 = zahlreich, 3 = dichtstehend), und der Ausdehnung zu Herden konfluierter Knötchen (Herdgrößen der Kategorien A = bis 5 cm, B = bis 1/3 der Lungen, C = ausgedehnte Verschielungen > B), sowie nach extrapulmonaler Ausdehnung und Folgeerscheinungen (u.a. em = Emphysem, pl = pleurale Beteiligung, hi = große Hiluslymphknoten, cp = Cor pulmonale) die Einteilung vorgenommen (siehe Anhang Abb. 59 und 60).

2.4.1.4 Diagnostik und Begutachtung

Neben der ausführlichen Berufsanamnese müssen außerberufliche Ursachen ausgeschlossen werden. Gibt die Berufsanamnese und Klinik (Husten, Sputum, Dyspnoe) hinreichenden Verdacht auf das Bestehen einer Berufserkrankung, so sollte eine Röntgen-Thorax veranlasst werden. Bestehen weiterhin Zweifel, muss ein Zweitgutachter hinzugezogen werden. Können die Zweifel nicht ausgeräumt werden, wird ein HRCT durchgeführt. Im Röntgen sind ein retikuläres Muster und scharf markierte disseminierte Knötchen im Ober- und Mittellappen prominent. Die Funktionseinschränkungen müssen objektiviert und quantifiziert werden und erfordern somit eine qualitätsgesicherte Lungenfunktionsprüfung auf der Basis der Empfehlungen der wissenschaftlichen Fachgesellschaften^{126, 147, 196}. Dabei müssen Spirometrie mit Flussvolumenkurve, Ganzkörperplethysmografie ggf. mit Bronchodilatationstest, Bestimmung der CO-Diffusionskapazität, Blutgasanalyse, Spiroergometrie, EKG und evtl. Dopplerechokardiografie bei Hinweisen auf Druckerhöhung im kleinen Kreislauf durchgeführt werden. In der

rasterelektronenmikroskopischen EDX-Analyse zeigen sich im Spektrenbild neben dem zu erwartenden Silizium und Sauerstoff (SiO_2) Spuren von Aluminium, Eisen, Mangan, Magnesium, Kalzium und Natrium ¹³³.

2.4.1.5 Therapie

Eine wirksame Behandlung der Silikose gibt es derzeit nicht. Die weitere Exposition des Schadstoffes sollte vermieden und wenn möglich das Rauchen aufgegeben werden. Allerdings kann durch Atemgymnastik die Atemhilfsmuskulatur trainiert werden. Bei jungen Patienten wird neben einer Sauerstofftherapie und die Behandlung mit antiinflammatorischen und/oder broncho-dilatorischen Medikamenten auch eine Lungentransplantation in Betracht gezogen. Die WHO empfiehlt ein Vergleichsröntgenbild zu Beginn der Berufsaufnahme. Anschließend nach 2- 3 Jahren und dann alle 2- 5 Jahre. Es sollten jährlich eine Spirometrie und Fragebögen zu evtl. neu aufgetretenen Symptomen erfolgen. Ist dies nicht möglich, ist in der gleichen Frequenz ein Röntgen-Thorax anzustreben. Eine generelle Gesundheitsüberwachung zum Beispiel im Rahmen betriebsärztlicher/hausärztlicher Untersuchungen sollte lebenslang erfolgen ¹⁹⁰.

2.4.2 Asbestose (BK Nr. 4103)

2.4.2.1 Definition

Trotz des generellen Asbestverbots 1993 in Deutschland kann durch die zunehmende Asbestverarbeitung in den Entwicklungsländern keine Reduktion des Asbestverbrauchs verzeichnet werden. Russland nimmt dabei die führende Position in der Asbestproduktion ein, gefolgt von Kanada und China. Die weltweite Asbestproduktion im 20. Jahrhundert ist in Tabelle 1 dargestellt. Die hitze-, bruch-, dehn- und säurefesten Asbest- und Mineralfasern dienen nicht nur der thermischen Isolierung. Aufgrund ihrer Eigenschaften wurden diese seit 1920 unter anderem von der Metall-, Bau- sowie der Textilindustrie in über 3000 Produkte verarbeitet ⁸⁵. Die Latenzzeit beträgt 20-30 Jahre, wodurch in den kommenden Jahren mit einem Anstieg an Erkrankungen zu rechnen ist. 1924 beschrieben Cook et al. erstmals das Auftreten von fibrotisch veränderten Arealen in der Lunge als asbestassoziierte Erkrankung ⁴⁴. Ein Jahr später wurde der Begriff Asbestose durch Thomas Oliver eingeführt. Letztlich handelt es sich um eine durch Asbestfaserstaub verursachte, nicht granulomatöse Fibrose der Lunge mit Ähnlichkeiten zur Usual Interstitial Pneumonia (UIP), mit begleitenden chronisch-entzündlichen Veränderungen und Betonung der mittleren und basalen Lungenareale ¹⁶¹. Die Inhalation von Asbestfasern (>5 µm; Länge- Breitenverhältnis von 3:1; WHO Fibers) ist als potenziell gesundheitsschädlich einzustufen und kann zu bösartigen Veränderungen im humanen Gewebe führen. Zu den asbestassoziierten Erkrankungen zählen die Asbestose, asbestassoziierte Pleurabefunde wie z. B. die Asbestpleuritis und Pleuraplaques sowie das Pleuramesotheliom und andere maligne Prozesse ⁴⁷. Eine additive Wirkung bei Rauchern und dem Einwirken von Asbest ist bekannt und weist eine 50-100 fach erhöhte Inzidenz in der Entstehung von Malignomen auf ^{84, 112}. Die Klinik kann sowohl asymptomatisch sein als auch mit Dyspnoe, trockenem Husten, Thoraxschmerzen und zentraler Zyanose einhergehen.

Asbestos production	1900	1940	1960	1970	2000	Cumulative during the 20th century
Former Soviet Union	NA	102000	598 743	1 065 943	983 200	67100000
Canada	26436	313 514	1 014 647	1 507 420	320 000	60500000
South Africa	158	24 850	159 540	287 416	18 782	9920000
Zimbabwe	NA	50 809	121 529	79 832	145 000	8690000
China	NA	20 015	81 647	172 365	370 000	7700000
Brazil	—	500	3 538	16 329	170 000	4540000
Italy	NA	8 271	59 914	118 536	—	3860000
United States	956	18 198	41 026	113 683	5 260	3280000
World production	31587	573 728	2 213 533	3 493 800	2 070 000	174000000

Tabelle 1 Asbestproduktion in Europa 1920– 2000 (in Tonnen)

Quelle: HESA Newsletter, 2005 (-- =zero; NA = no data available)

2.4.2.2 Histologie

Die feste Asbestoselunge imponiert durch ihre gräuliche Verfärbung. Zudem können die fibrotischen Veränderungen vor allem auf den Schnittflächen der unteren Lungenlappen festgemacht werden. Nebenbefundlich findet man Verklebungen der Pleura und sogenannte Honigwabenstrukturen, die durch subpleurale zystenartige Veränderungen sichtbar werden (Abb. 6 und 7). Histologisch ist die Asbestose von der UIP abzugrenzen. Die Asbestose weist Asbestkörper (freiliegend oder/und umhüllt sog. „ferruginous bodies“ (siehe 2.4.2.5.6) und eine interstitielle subpleurale Fibrose auf. Allerdings ist diese Fibrose mit weniger Entzündungsreaktionen und Fibroblastenherde vergesellschaftet. Auch ist bei der UIP nur selten eine Fibrose der Pleura viszeralis, wie es bei der Asbestose der Fall ist, zu erkennen. Das Lymphknotengewebe zeigt keine typischen Veränderungen. In der Mehrzahl sind sie bräunlich bis schwarz verfärbt und vergrößert. In den Helsinki- Kriterien werden für die Diagnose einer Asbestose eine interstitielle Fibrose in repräsentativem Lungenparenchym (ohne Tumorgewebe) und der Nachweis von 2 oder mehreren Asbestkörpern auf einer Probengröße von 1 cm² gefordert. Ferner kann auch der Nachweis von unverhüllten Asbestfasern in Verbindung mit Asbestosen vom gleichen Labor erbracht werden.

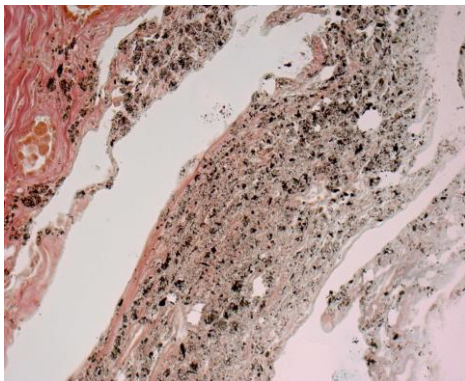


Abbildung 6 Asbestose

Abb.6 Rechter Unterlappen, Lunge, Goldner-Färbung, 20x

Abb.7 Linke Lunge, Asbestose und Pleuramesotheliom



Abbildung 7 Asbestose

2.4.2.3 Klassifikation

Nach den Vorgaben des Pneumokoniose-Komitees des Kollegs Nordamerikanischer Pathologen wird die Asbestose in 4 Schweregrade eingeteilt ⁴⁷:

„Asbestose Grad 1 bzw. Minimalasbestose: Die Fibrose bezieht die Wand wenigstens eines Bronchiolus respiratorius ein, mit oder ohne Ausdehnung in die Septen der unmittelbar angrenzenden Alveolen. Eine Zone nicht fibrosierter Alveolarsepten muss zwischen den benachbarten Bronchiolen vorhanden sein.

Asbestose Grad 2: Neben den Veränderungen wie bei der Asbestose 1. Grades sind nun die Alveolargänge mit zwei oder mehr Schichten der angrenzenden Alveolen fibrosiert.

Asbestose Grad 3: Neben den Veränderungen wie bei der Asbestose 2. Grades lässt sich eine Konfluenz der Fibrosierungen belegen. Die Fibrosierungen betreffen mindestens die Alveolarsepten zweier benachbarter Bronchiolen.

Asbestose Grad 4: Neben den Veränderungen wie bei der Asbestose 3. Grades lassen sich neu gebildete Hohlräume nachweisen, deren Größe die eines Alveolus überschreitet. Diese Veränderungen werden auch unter dem Begriff „Wabenlunge“ zusammengefasst ^{3, 161}.

2.4.2.4 Diagnostik und Begutachtung

Die Diagnostik der Asbestose unterliegt einem vorgegebenen Algorithmus (siehe Anhang Abb. 62) ^{13, 51}. Im Wesentlichen stehen zur Objektivierung der Lungenfunktionsstörungen die gleichen diagnostischen Möglichkeiten zur Verfügung wie bei der Silikose oder anderen pulmonalen Erkrankung. Eine Biopsie allein zur Diagnosesicherung ist allerdings nicht zulässig. Auch hier kann auf eine Bildgebung (Röntgen- Thorax, CT) nicht verzichtet werden. Dabei sind die Röntgenbilder durch kleine irreguläre Verschattungen und Pleuraplaques gekennzeichnet. Eine Minimalasbestose ist röntgenologisch nicht zu erfassen ¹³⁸. Bei unklaren Befunden in der Röntgen- Thoraxaufnahme ist ein HRCT indiziert. In den HRCT-Bildern lassen sich typischerweise honigwabene Strukturen erkennen. Die Klassifizierung findet nach der ILO und ICOERD statt ^{87, 181}. Eine Minimalasbestose ist laut den bisherigen Kriterien nur dann zu diagnostizieren, wenn sich in den fibrotisch veränderten

Lungenarealen auch Asbestkörper lichtmikroskopisch nachweisen lassen. Zu Recht ist dies in der Falkensteiner Tagung 2010 diskutiert worden, denn die Lichtmikroskopie lässt eine Diagnose bedingt durch die Fasertranslokation und Fasergröße $< 0,2 \mu\text{m}$ nur eingeschränkt zu. Betroffen ist davon vor allem das Chrysotil, welches sich einer lichtmikroskopischen Identifizierung entzieht.

Des Weiteren besteht durch den sogenannten Mikado- Effekt die Möglichkeit, dass durch die unterschiedliche räumliche Anordnung der Fasern viele Fasern nicht identifiziert werden können, da sie nicht parallel zur Schnittfläche liegen. Andere, bereits umhüllte Fasern dürfen nicht zwangsläufig mit der Asbestose assoziiert werden, solange nicht die eigentliche Faser (Kern) analysiert worden ist^{54, 154}. Diese umhüllten Fasern sind allgemein in Ferruginous Body und einem Pseudoasbestkörper (eisen umhüllte nicht Asbestfaser z. Bsp. Aluminium, Talk) zu unterscheiden. Gibt die lichtmikroskopische Untersuchung keinen ausreichenden Hinweis auf Asbest als Ursache für die Symptome sind Lungenstaubanalysen unverzichtbar¹²⁸. Solche Faser- und Elementanalysen lassen sich mittels Rasterelektronenmikroskop oder Transmissionsmikroskop und der Möglichkeit der EDX-Analyse durchführen, denn auch die Lungenveraschung liefert neben der Asbestkörperkonzentration, der Größe und den Hüllstrukturen keine Aussage über die Faserart¹³. Der Asbestnachweis mit dem REM ist durch die BIA Arbeitsmappe 26 Lfg. III/01 festgehalten. Folgend werden die für die Asbesttypen spezifischen Merkmale beschrieben.

2.4.2.5 Asbestidentifizierung und EDX-typische Spektrenunterschiede

Asbest wird in Serpentine und Amphibole unterteilt. Zu den Serpentine gehört Chrysotil (Weißasbest) und zu den Amphibolen Anthophyllit, Krokydolith (Blauasbest), Amosit (Braunasbest) und Tremolit (siehe Tab. 2).

2.4.2.5.1 Chrysotil $3MgO \cdot 2SiO_2 \cdot 2H_2O$

Eine lang zurückliegende Chrysotilexposition ist in der Regel durch staubanalytische Untersuchungen nicht mehr nachweisbar. Nur in Einzelfällen konnten auch nach langen Interimszeiten elektronenmikroskopisch erhöhte pulmonale Chrysotilgehalte nachgewiesen werden. Zudem kann dann der Magnesiumgehalt verloren gehen ^{13, 109-110}.

2.4.2.5.2 Amosit $7FeO \cdot 7MgO \cdot 8SiO_2 \cdot H_2O$

Siehe Tabelle 2.

2.4.2.5.3 Krokydolith $Na_2O \cdot Fe_2O_3 \cdot 3FeO \cdot 8SiO_2 \cdot H_2O$

Gefährlichste Form unter den Asbesttypen aufgrund der erhöhten Assoziation mit dem Mesotheliom.

2.4.2.5.4 Aktinolith/Tremolit $Ca_2 (Mg, Fe)_5 Si_8O_{22} (OH)_2$

Genauso wie Anthophyllit kommt diesen beiden Typen keine große kommerzielle Bedeutung zu. Sie kommen aber gehäuft mit anderen Mineralien wie Talk und Eisenerz vor ³⁶.

2.4.2.5.5 Anthophyllit $7MgO \cdot 2SiO_2 \cdot 2H_2O$

Siehe Tabelle 2.

2.4.2.5.6 *Asbestos Bodies (Asbestosekörper) und Ferruginous Bodies*

Im Rahmen der Faseranalyse sind die sogenannten „nackten“ Fasern von den umhüllten Fasern zu unterscheiden. Die Ferruginous Bodies gehören zu den umhüllten Fasern und finden sich sowohl im Lungenparenchym als auch in den lymphatischen Bahnen. Asbestkörper sind dabei transparente Asbestfasern umgeben von Proteinen sowie gold gelben Eisenverbindungen und können eine perlenschnurartige Formation annehmen. Die Länge variiert zwischen 10- 300 µm. Ferruginous Bodies weisen eine ähnliche Morphologie auf, besitzen jedoch keine Asbestfaser als zentrale Struktur^{23, 39, 72}.

Faserart	Identifizierungskriterien	Bemerkung
<u>Chrysotil</u>	<ul style="list-style-type: none"> –Mg- und Si-Peak deutlich, Verhältnis –Fe- und Mn-Peak möglich, –Al-Peak fehlend oder sehr klein 	Chrysotil aus Asbestzement: zusätzlicher Ca-Peak durch Bindemittelreste möglich Chrysotil aus Magnesiestrich: zusätzlicher Cl-Peak möglich
<u>Amphibolasbest</u>		Da es sich bei den Amphibolasbesten um eine Mineralgruppe handelt, unterscheiden sich die Spektren hinsichtlich detektierter Elemente und deren Peakhöhen
Aktinolith	<ul style="list-style-type: none"> –Si-, Fe-, Ca-Peak deutlich –Mg-Peak schwach bis deutlich –Na-Peak möglich –Al-Peak fehlend oder sehr klein 	Übergänge zu Tremolit vorhanden
Amosit	<ul style="list-style-type: none"> –Si-, Fe-Peak deutlich, Verhältnis –Mg-Peak und Ca-Peak möglich –Al-Peak fehlend oder sehr klein 	
Anthophyllit	<ul style="list-style-type: none"> – Si-, Mg-Peak deutlich – Fe-Peak schwach bis deutlich – Al-Peak fehlend oder sehr klein 	Eine Abgrenzung zu Fetthaltigem Talk ist mit dieser Methode in der Regel nicht möglich.
Krokydolith	<ul style="list-style-type: none"> – Si-, Fe-Peak deutlich – Na-Peak schwach – Al-Peak fehlend oder sehr klein 	
Tremolit	<ul style="list-style-type: none"> – Si-, Mg-, Ca-Peak deutlich – Al-Peak fehlend oder sehr klein 	Übergänge zu Aktinolith vorhanden
Sonst. anorg. Fasern		typische Hauptelemente können sein: Na, Mg, Al, Si, K, Ca, Fe weiterhin können auftreten: Ti, Mn, Ba, Zr, B

Tabelle 2 Identifizierungskriterien für Faserstäube durch der EDX-Analyse ²⁴

2.5 COPD

2.5.1 Definition

Die COPD gilt als die häufigste Lungenerkrankung, die sowohl über inhalative Noxen zur Aktivierung körpereigener Entzündungsreaktionen führt aber auch gleichzeitig durch die Aufnahme von Fremdstoffen (u.a. Teerprodukte) primär betroffen ist. 2004 waren laut der WHO 64 Mio. Menschen an der COPD erkrankt, wobei in den Industrieländern jährlich ca. 400000 Menschen sterben ¹¹⁷.

Aufgrund der COPD-typischen Einschränkung der Clearance-Funktion der Atemwege kommt es fast regelhaft zu erheblichen sekundären Ablagerungen von Mischstaub in der Lunge.

Nach der Definition der ATS, ERS und GOLD handelt es sich bei der COPD um einen vermeidbaren und behandelbaren Krankheitszustand mit vermindertem Luftumsatz, welcher nicht vollständig reversibel ist. Gewöhnlich ist diese Erkrankung progredient und mit abnormalen Entzündungsreaktionen der Lunge gegenüber Noxen oder Gasen vergesellschaftet, am ehesten verursacht durch Nikotinabusus. Obwohl die COPD primär das Lungengewebe betrifft, entstehen ebenso Konsequenzen für den gesamten menschlichen Organismus ³⁴. Die Morbidität steigt mit dem Alter. Das Gewebe reagiert auf die verschiedenen Noxen mit Entzündungsreaktionen, welche zu einem Gewebeuntergang führen und die Abwehrmechanismen beeinträchtigen (siehe Abb. 8 und 9) ⁴¹. Diese Vorgänge werden durch oxidativen Stress, dem Ungleichgewicht zwischen Proteasen und Antiproteasen, die Anwesenheit von CD8+ Tc1 Lymphozyten und Makrophagen unterstützt. Klinisch präsentiert sich die obstruktive Lungenerkrankung in progressiver Dyspnoe, chronischem produktivem Husten und Gewichtsverlust ¹¹.



Abbildung 8 COPD



Abbildung 9 COPD

Abb. 8 und 9 Lungengewebe und Lymphknoten eines COPD-Patienten

2.5.2 Histologie

Das Lungengewebe fällt durch riesige Emphyseembullae auf. Histologisch manifestieren sich eine Drüsenhypertrophie, Becherzellenvermehrung mit erhöhter Schleimproduktion, Basalmembranverdickung und zahlreichen Makrophagen bis hin zum zentroazinären/zentrolobulären Emphysem (siehe Abb.10) ^{12, 189}.

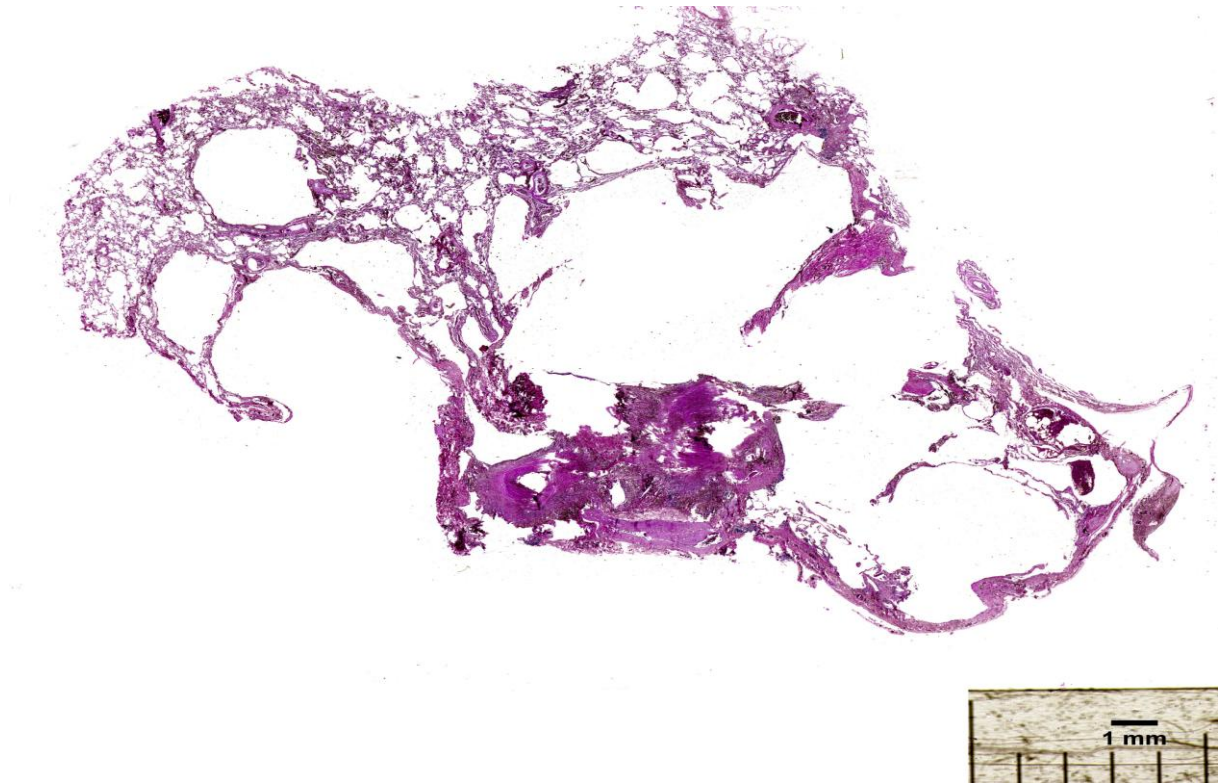


Abbildung 10 COPD

Abb. 10 Grobblasiges Lungenemphysem, HE-Färbung

2.5.3 Diagnostik und Begutachtung

Zu den Standardverfahren zählen eine ausführliche Anamnese (Nikotinabusus, Familienmitglieder mit COPD) und körperliche Untersuchung. Im Rahmen der apparativen Diagnostik zeigt die Spirometrie eine verminderte Flusskurve (postbronchodilatator FEV1/FEC < 70%). Je nach Beschwerdebild und Limitierung der FEV1 teilt die GOLD die COPD in 4 Schweregrade ein. Der eingeschränkte Gasaustausch spiegelt sich in einem erhöhten pCO₂ in der Blutgasanalyse wieder. Im Gehstest zeigt sich eine verminderte Belastbarkeit der Patienten. Die bildgebende Diagnostik (Röntgen- Thorax, CT) kann Klarheit in Bezug auf Abgrenzung zu anderen Erkrankungen bringen. Typisch sind Abflachung des Zwerchfells verursacht durch das sogenannte Airtrapping und eine erhöhte Transparenz des Lungengewebes¹².

2.5.4 Therapie

Neben dem Stopp des Nikotinabusus, Rehabilitation, Gewichtsreduktion, Sauerstofftherapie und nicht invasiver Beatmung ist die Medikamentgabe mit β 2-Agonisten, Anticholinergika, Kortikosteroide, Phosphodiesterase 4 Inhibitoren, Vakzinen, Antibiotika, Mukolytika, Antitussiva, Vasodilatoren bei pulmonaler Hypertonie zur Verbesserung der Symptomatik möglich. Als operative Therapieoptionen gelten die Bullektomie, die Lappenreduktion und schließlich die Transplantation^{12, 175}.

2.6 Idiopathische Lungenfibrose (UIP)

2.6.1 Definition

Die idiopathische Lungenfibrose wird zu den interstitiellen Lungenerkrankungen gezählt. Sie ist in der Regel eine progrediente, irreversible Erkrankung mit oft letalem Ausgang unbekannter Ursache. Nach der American Thoracic Society und der European Respiratory Society zählt die idiopathische Lungenfibrose gegenwärtig als eigenständige Entität zu den idiopathischen interstitiellen Pneumonien, welche in folgende Kategorien eingeteilt sind (siehe Abb. 11 und 12) ^{157 1-2}.

- NSIP (nonspecific interstitial pneumonia)
- DIP (desquamative interstitial pneumonia)
- RB-ILD (respiratory bronchiolitis interstitial lung disease)
- COP auch BOOP (bronchiolitis obliterans organizing pneumonia)
- AIP (acute interstitial pneumonia)
- LIP (lymphoid interstitial pneumonia)

Neben den sieben Kategorien besteht die Gruppe „nichtklassifizierbare interstitielle Pneumonie“, die dann verwendet wird, wenn keine genaue Zuordnung möglich ist.

Die IPF mit unbekannter Ursache nimmt aufgrund der aggressiven Verlaufsform und damit schlechten Prognose (MÜZ 2,8 Jahre) eine Sonderstellung ein. In der Regel manifestiert sie sich nach dem 5. Dezennium. Die Inzidenz liegt bei ca. 7-10 Fällen pro 100000 ⁴⁶. Nikotinabusus und genetische Veranlagung stellen eigenständige Risikofaktoren dar.

Dyspnoe und Husten sind erste unspezifische Anzeichen. Obwohl definitionsgemäß eine Ursache nicht bekannt ist, treten bei Rauchern und in der Metall- und Holzverarbeitung gehäuft Fälle mit UIP auf ³¹.



Abbildung 11 UIP

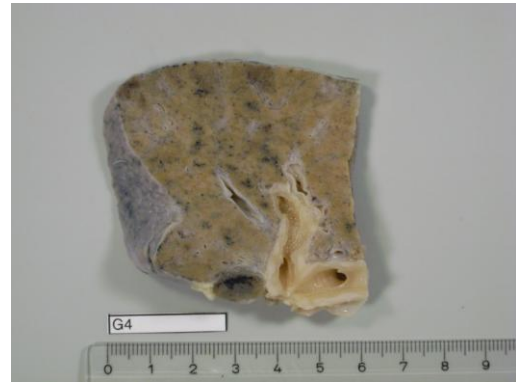


Abbildung 12 UIP

Abb. 11 und 12 Fibrotisch verändertes Lungengewebe eines UIP-Patienten

2.6.2 Histologie

Die UIP (Usual Interstitial Pneumonia) ist das histologische Korrelat zur idiopathischen Lungenfibrose. Typisch ist das Auftreten von sogenannte UIP-Muster (Siehe Anhang Abb. 63 und 64). Besonders in den subpleuralen und paraseptalen Bereichen treten sowohl Fibrosezonen als auch honigwabene Gewebsstrukturen auf. Die Lufträume können dabei mit Schleim gefüllt sein und das umliegende Gewebe imponiert mit eingeschwemmten Entzündungszellen. Neben dem meist durch vorangegangene Kollageneinlagerungen verändertem Lungenparenchym existieren parallel Lungenabschnitte mit akuten Prozessen, erkennbar an den Fibroblastenherden bei erhaltener Architektur (Abb. 13 und 14). Die Entzündungsreaktion ist eher schwach und es finden sich Lymphozyten, Plasmazellen und eine Hyperplasie der Typ 2 Pneumozyten^{1-2, 101, 157, 184}.

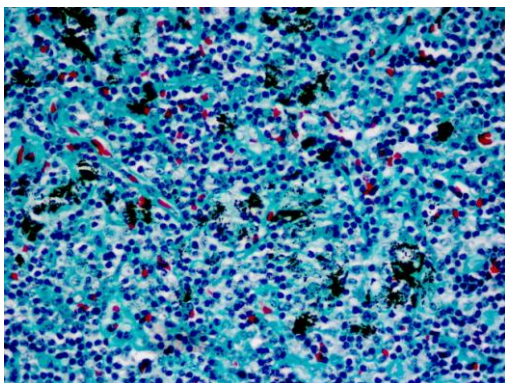


Abbildung 13 UIP

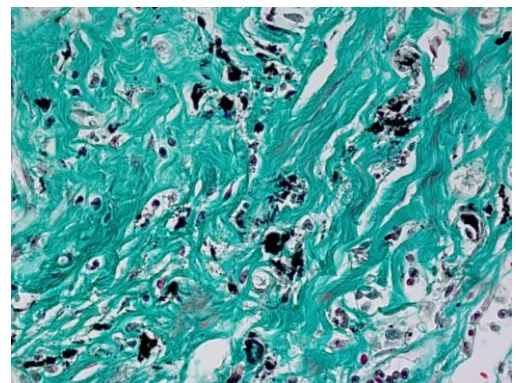


Abbildung 14 UIP

Abb. 13 und 14 Lungen- und Lymphknotengewebe mit anthrakotischen Ablagerungen bei UIP, (40x), Goldner-Färbung

2.6.3 Diagnostik und Begutachtung

Um die Diagnose einer UIP stellen zu können, ist der histopathologische oder radiologische Nachweis erforderlich. Darüber hinaus sollten alle anderen Ursachen (Asbestose, Kollagenosen und EAA) eines fibrotischen Gewebsumbaus ausgeschlossen sein ¹⁸. Seit 2011 ist es möglich aufgrund eines typischen CT-morphologischen UIP-Musters die Diagnose zu stellen ¹⁵⁷. Dem entsprechend ist das Bild einer idiopathische Lungenfibrose im HRCT charakterisiert durch retikuläre Verdichtungen, Bronchiektasien und subpleurale Honigwabenstrukturen, die als gebündelte zystische Lufträume von ca. 3-10 mm Durchmesser auftreten. Die mediastinalen Lymphknoten können vergrößert sein (<1,5 cm). (siehe Anhang Abb. 63 und 64). Treten im CT keine typischen UIP-Pattern auf, so kann eine Biopsie und mikroskopische Untersuchung Aufschluss geben. Histologisch sind UIP-Muster typischerweise durch eine subpleurale oder paraseptale Komplexfibrosierung sowie Honigwabenstrukturen, Heterogenität bezüglich der räumlichen Verteilung, Fibroblasten- Foci und dem Fehlen eines anderen Musters gekennzeichnet ¹⁸. Eine gründliche Anamnese und körperliche Untersuchung sind essenziell.

2.6.4 Therapie

Die Therapie besteht im Wesentlichen aus der Sauerstofftherapie und medikamentöser Therapie mit Azathioprin (Cyclophosphamid), Acetylcystein, Interferon- γ , Bosentan, Pirfenidon oder im kurativem Ansatz die Transplantation ¹⁵⁶. Aktuell kann eine Monotherapie mit Corticosteroiden oder Colchicin nicht empfohlen werden ¹⁸.

2.7 Anthrakose

2.7.1 Definition

Das Einatmen von Kohlestaub (Umweltbelastung, Tabakrauch, Untertage) führt über verschiedene Entzündungsreaktionen im Lungengewebe zu Kohlemakulae und Kohleknötchen. Bei anhaltender Kohlestaubexposition können die Inflammationen in einer progressiven massiven Fibrose enden. Zu den immer wieder diskutierten Risikofaktoren gehören die Kohlestaubkonzentrationen, Expositionsdauer, Technik der Kohlegewinnung, Inkohlungsgrad, genetische Disposition und nach neuesten Untersuchungen der Eisengehalt¹²⁴. Quarz scheint hierbei nur eine untergeordnete Rolle zu spielen. Die Therapie der Anthrakose besteht im Wesentlichen aus der Kontaktvermeidung und einer symptomatischen Behandlung.

2.7.2 Histologie

Makroskopisch lassen sich schwarze isolierte Knötchen, welche zum Teil miteinander vernetzt sind unterhalb der Pleura, entlang den Gefäßen und den Septen erkennen. Histologisch zeigen sich für die Anthrakose typisch irregulär auftretende Kohlemakulae vor allem in den oberen Lungenabschnitten (siehe Abb. 15 und 16). Diese Kohlemakulae wurden von dem Committee of the College of American Pathologists definiert.

Die Makulae können eine Größe von 1- 5 mm. Dennoch sollten bei irregulären Verdichtungen auch immer an andere Staubeinwirkungen gedacht werden. Zu beachten ist, dass die Unterscheidung der Zusammensetzung bei Menschen mit einer positiven Berufsanamnese von denen, die Umweltstäuben (Stadtbevölkerung) ausgesetzt sind, oft nicht möglich ist.

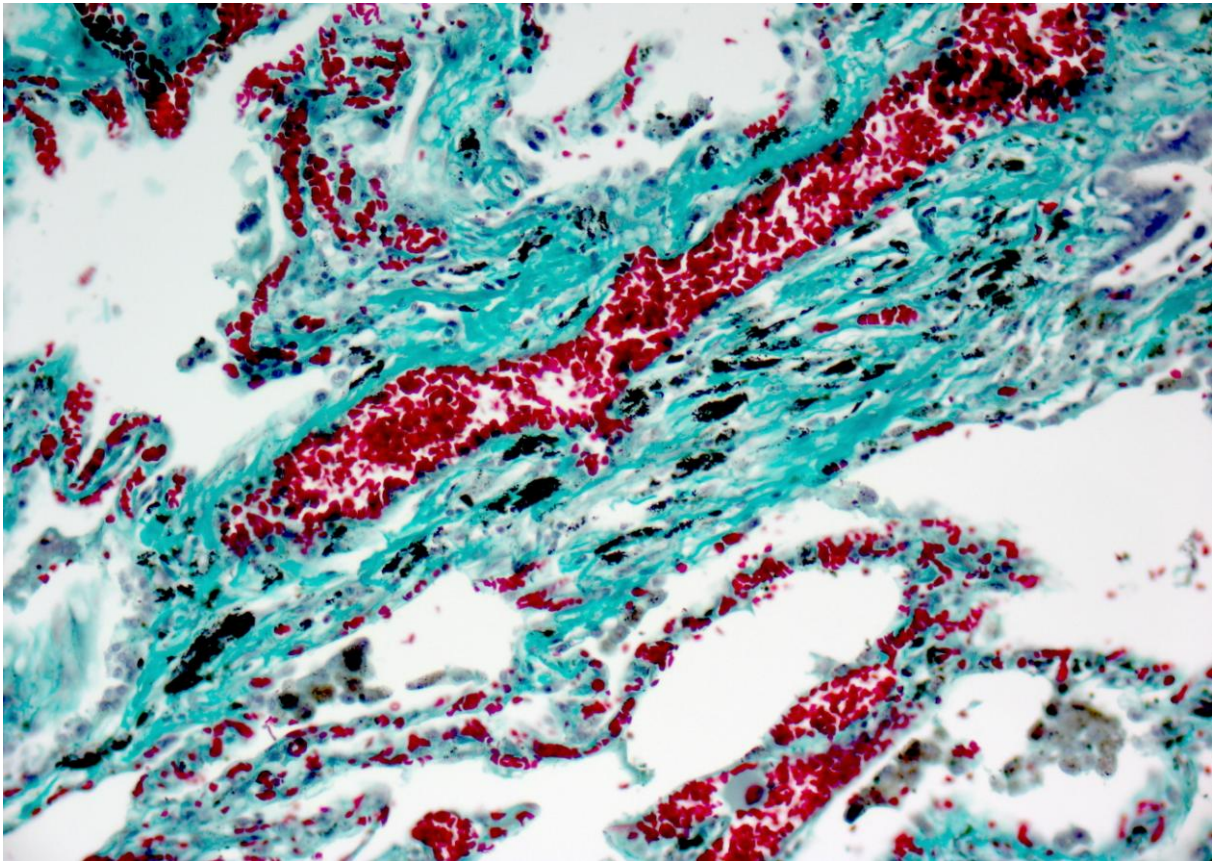


Abbildung 15 Anthrakose

Abb. 15 Lungengewebe mit anthrakotischen Ablagerungen, 20x, Goldner-Färbung

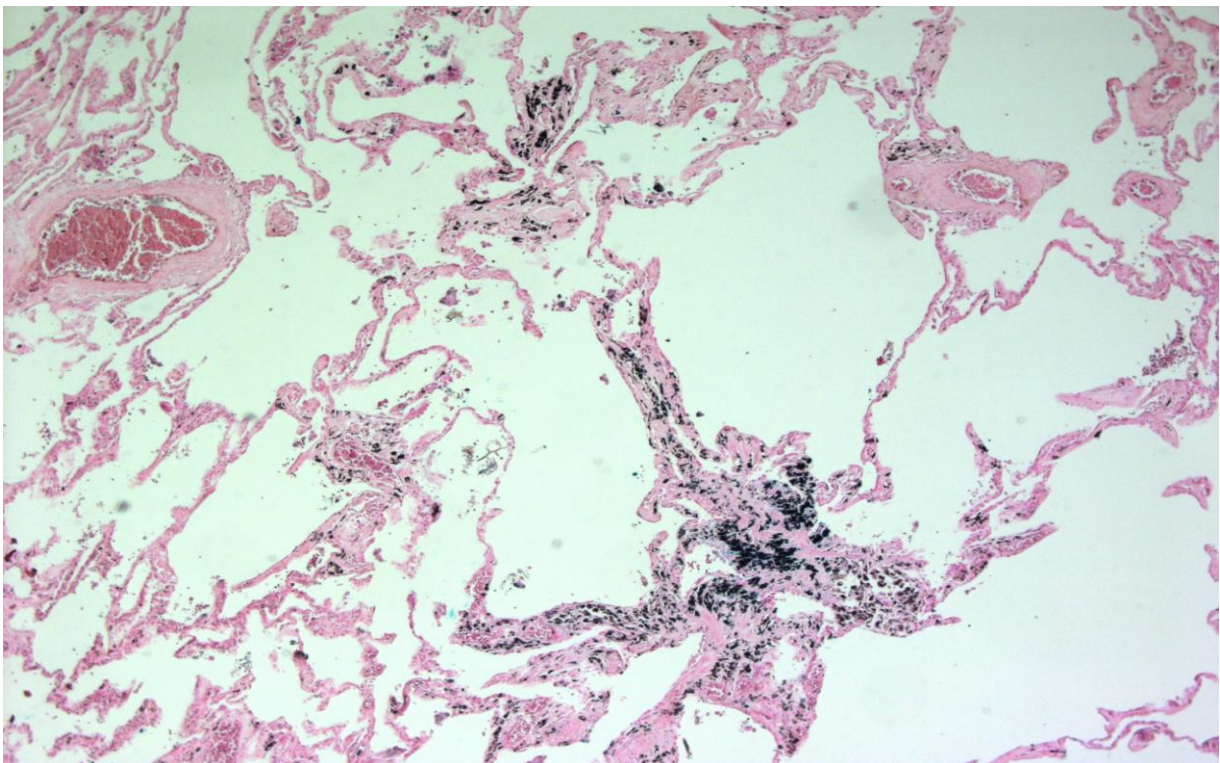


Abbildung 16 Anthrakose

Abb.16 Lungengewebe mit anthrakotischen Ablagerungen, 5x, Eisenfärbung

2.7.3 Klassifikation

Zur Einteilung steht die für die Pneumokoniosen geltende ILO-Klassifizierung zur Verfügung. Man unterscheidet zwischen dem Auftreten von kleinen und großen Verschattungen. Unterschreiten die Verdichtungen eine Größe von 2 cm spricht man von einer einfachen Anthrakose (coal workers simple pneumoconiosis)⁸⁶.

2.7.4 Therapie

Neben der Expositionsvermeidung bleibt oft nur die symptomatische Therapie.

2.8 Kontrollgruppe

Die autosomal rezessiv vererbte cystische Fibrose ist durch eine Genmutation im CFTR-Gen gekennzeichnet und resultiert in einem defekten Chloridkanal. Damit ist die Wassersekretion vermindert und es kommt zu einer viskösen Schleimproduktion⁶⁵. Makroskopisch fallen in den Luftwegen quer verlaufende Muskelwülste und Schleimhautausbuchtungen auf, welche mit Schleim gefüllt sind. Im Röntgenbild sind diese Schleimansammlungen als Sekretanschoppung zu erkennen. Neben dem beschriebenen pathologischen Gewebe finden sich auch nicht veränderte Lungenabschnitte.

2.8.1 Histologie

Histologisch zeigt sich eine Hypertrophie der submukösen Drüsen bzw. Hyper- und Metaplasien der Becherzellen. Diese bieten eine Angriffsfläche für Infektionen, die zu weiteren Veränderungen im Lungengewebe führen. Dafür charakteristisch ist die Infiltration von Granulozyten in den Bronchialwänden und im Lungenparenchym. Des Weiteren kann es zu einer Dilatation der distalen Atemwege, den sogenannten Bronchiektasien kommen.

Die cystische Fibrose ist eine sehr aggressive Erkrankung, die häufig nur mit einer Lungentransplantation im jugendlichen Alter überlebt wird. Damit sind die explantierten Lungen weniger stark mit Umweltgiften belastet, als in allen anderen Gruppen (siehe Abb. 17).

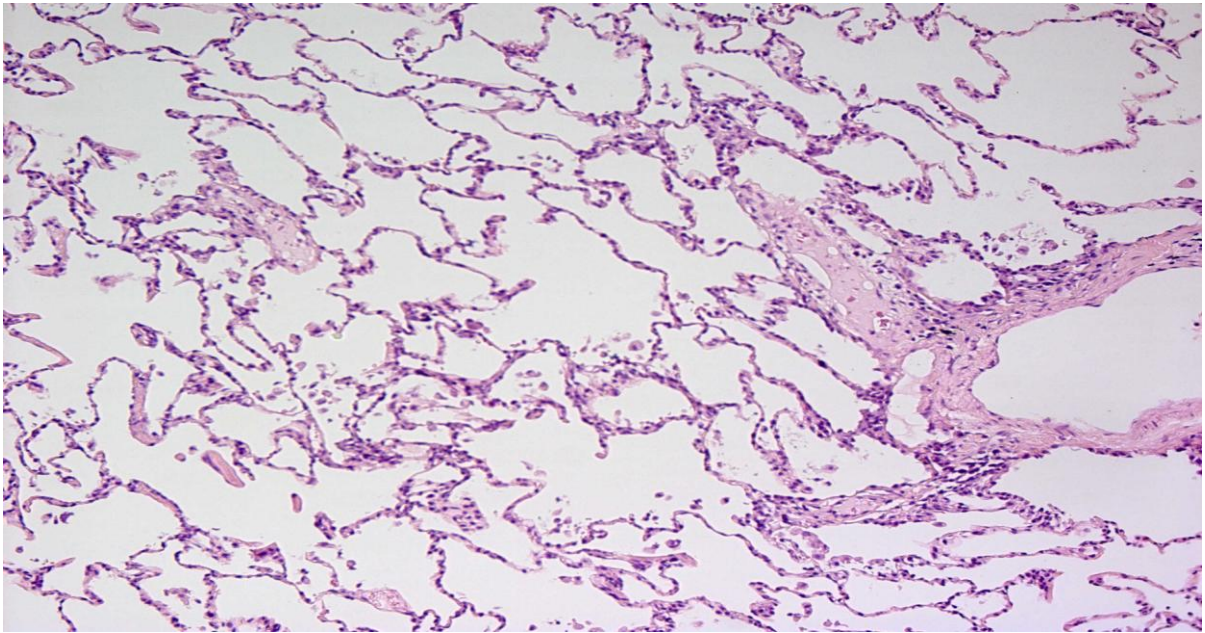


Abbildung 17 Kontrolle

Abb. 17 Gesundes Lungengewebe; 10x, HE-Färbung

2.9 Fragestellung

Ziel der Untersuchungen ist die rasterelektronenmikroskopische Charakterisierung energiedispersiver Spektren an einem gut dokumentierten klinischen Kollektiv von transplantationsbedürftigen Lungenerkrankungen (idiopathische Lungenfibrose, COPD) in Relation zu Fällen mit bekannter Asbestbelastung, Quarzstaubbelastung und einem Kontrollkollektiv (nicht-transplantierte Spenderlungen). Dabei sollen sowohl das Lungenparenchym wie auch regionäres Lymphknotengewebe analysiert werden.

Die Auswertung erfolgt hinsichtlich der qualitativen Zusammensetzung und (semi-)quantitativen Mengen mittels EDX nachgewiesener Elemente zum einen intraindividuell (Lunge vs. LK) aber auch gruppenspezifisch (z. B. idiopathische Lungenfibrose vs. Spenderlunge oder vs. Asbestselunge) bei verschiedenen Vergrößerungen (100x-4000x bzw. 5000x).

3 Material und Methoden

Im vorliegenden Projekt wurden rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen an Lungengewebe explantierter humaner Lungen sowie autoptisch gewonnener Lungen von Patienten mit transplantationsbedürftigen Lungenerkrankungen (z. B. idiopathische Lungenfibrose, Endstadium-COPD) und von Patienten mit bekannter Staub- bzw. Faserstaubbelastung durchgeführt. Dabei wurde sowohl Lungenparenchym aus peripheren Anteilen der Lunge wie auch zentral gelegene Hiluslymphknoten analysiert. Die histologische Beurteilung war zuvor in den Instituten für Pathologie an den Universitätskliniken Gießen und Homburg erfolgt.

Unter Beteiligung des Instituts für Arbeits- und Sozialmedizin in Düsseldorf, des Instituts und der Poliklinik für Arbeitsmedizin und Sozialmedizin in Gießen, der Gesellschaft für Schadstoffmessung und Auftragsanalytik in Neuss und des Mesotheliomregisters in Bochum, des berufsgenossenschaftlichen Instituts für Arbeitsschutz der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung (BGIA) und des Max-Planck-Instituts in Dortmund im Jahre 2000 bis 2001 sind die Unterscheidungskriterien der einzelnen Fasertypen im menschlichen Lungengewebe klar definiert (Lfg. III/2000 unter Verwendung eines Feldemissions-Rasterelektronenmikroskops-FE-REM-Methode, nach BIA Arbeitsmappe 26 Lfg. III/01; 7489/2001).

3.1 *Patientenkollektiv und Proben*

Zur rasterelektronenmikroskopischen Analytik mit anschließender Ermittlung der EDX-Spektren wurden 37 Lungengewebsproben untersucht. Von denselben Fällen wurde jeweils eine Probe von Lungenhiluslymphknotengewebe (n=37) zur EDX-Analytik vergleichend herangezogen. Insgesamt wurde Lungen- und Lymphknotengewebe von 6 Patienten mit idiopathischer Lungenfibrose mit UIP-Pattern, 6 Patienten mit fortgeschrittener COPD, 6 Patienten mit einer Asbestose, 7 Patienten mit einer Quarzstaubbelastung und 6 Patienten mit fortgeschrittener Anthrakose untersucht. (siehe Abb. 18).

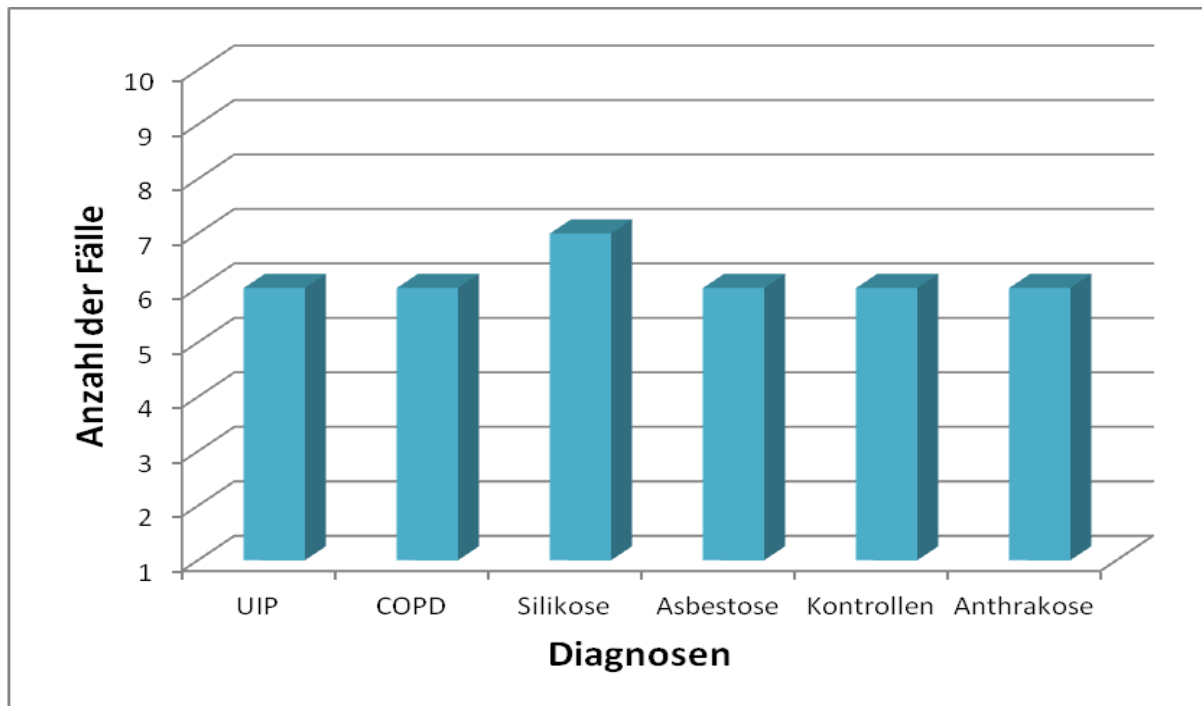


Abbildung 18 relevante Gruppen: Referenzlungen und Erkrankungsgruppen

Als Kontrolle diente nicht-transplantiertes Lungengewebe (n=6) ohne wesentlichen pathologischen Befund in der Lichtmikroskopie und Lungengewebe von Explantaten junger Transplantatempfänger bei Mukoviszidose.

Die Patientengruppe wurde dabei von den Jahren 1997- 2008 zusammengestellt und beinhaltet sowohl weibliche als auch männliche Patienten. Das durchschnittliche Alter der Patienten zum Zeitpunkt der Probegewinnung ist in Abb. 61 dargestellt.

Als Mindestanforderung ist eine Probe von ca. 1– 2 cm³ peripherem Lungengewebe erforderlich. Bei der Probe darf es sich nicht um Tumorgewebe oder entzündetes Gewebe handeln. Eine repräsentative Probe sollte weder im Hinblick auf eine besondere Unversehrtheit noch auf spezielle Ablagerungen oder Verfärbungen ausgesucht werden. Wenn kein Nassgewebe mehr vorhanden sein sollte, kann auch in Paraffin eingebettetes Gewebe verwendet werden. Der Gewebeaufschluss folgt den Vorgaben der BIA- Arbeitsmappe 26 Lfg III/01 (Institut für Arbeitsschutz–BGIA der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung e. V. (DGUV). Messung von Gefahrstoffen–BGIA-Arbeitsmappe–Expositionsermittlung bei chemischen und biologischen Einwirkungen. Loseblattsammlung, Stand 2009. Berlin: Erich Schmidt; 2009).

- 1. Kontrollgruppe:** Insgesamt wurden von 6 Probanden jeweils peripheres Lungengewebe und Hiluslymphknoten untersucht. Die autoptisch gewonnenen Gewebeproben stammten von jungen Patienten mit angeborenen organischen Dysfunktionen. Als weiteres Untersuchungsmaterial dienten Explantate von Patienten mit der Diagnose einer cystischen Fibrose. Aufgrund des Alters konnte von einer sehr geringen bis keinen Staubbelastung ausgegangen werden. Hinweise auf ein passives Einatmen von Nikotin im elterlichen Haushalt konnten nicht eruiert werden. Auch bei Patienten mit cystischer Fibrose sind neben den pathologisch veränderten Bereichen unveränderte Lungengewebsareale vorhanden, die mit gesundem funktionsfähigem Lungengewebe vergleichbar und somit als Kontrollgruppe geeignet sind.
- 2. Silikosegruppe:** f: (engl.) silicosis; syn. Quarzstaublunge; Form der progredienten, kollagenösen Pneumokoniosen durch Inhalation alveolengängigen, kiesel säureanhydridhaltigen Staubs (kristallines SiO₂; Cristabolit- o. Tridymit- Partikel < 5 Mikrometer), Es wurden jeweils 6 Lungengewebs- und 6 Lymphknotenproben analysiert. Zusätzlich ist eine gestanzte Lungengewebsprobe aus einem Paraffinblock untersucht worden. Das Material wurde von den oft untergewichtigen Lungen mit schwarz- grau verfärbter Pleura viszeralis und knötchenartigen Veränderung entnommen. Bei der Gewinnung der Lymphknoten wurde besonders auf die für die Silikose typischen verschwielten Lymphknoten geachtet.
- 3. Asbestosegruppe:** f: (engl.) asbestosis; syn. Asbeststaublunge, Bergflachslunge; Form der progredienten, kollagenösen Pneumokoniosen durch Inhalation asbestfaserhaltiger Stäube. Auch in dieser Gruppe waren von 6 Probanden jeweils eine Lungengewebsprobe und eine Lymphknotenprobe Gegenstand der Untersuchung. Die Proben wurden zum großen Teil von den unteren Lungenlappen entnommen. Auffällig waren vor allem die Plaques, welche sich über Pleura erstreckten.

- 4. COPD- Gruppe:** f: (engl.) chronic obstructive pulmonary disease. “Chronische Lungenkrankheit mit progredienter, nach Gabe von Bronchodilatoren und /oder Glukokortikoiden nicht vollständig reversibler Atemwegsobstruktion auf dem Boden einer chronischen Bronchitis und/oder eines Lungenemphysems.“ Von den 6 Patienten wurde das Lungengewebe aus den emphysemartigen Abschnitten der Lunge entnommen. Die Lymphknoten stammten vom Hilus.
- 5. Anthrakosegruppe:** f: (engl.) anthracosis, black lung; syn. Kohlenstaublunge; Form der persistierenden, nicht kollagenösen Pneumokoniosen durch Ablagerung eingeatmeten Kohlenstaubs. Besonderes Augenmerk wurde auf die makroskopisch sichtbaren anthrakotischen Ablagerungen bei der Resektion der Gewebeproben gelegt. Entnommen wurden von 6 Testpersonen jeweils eine Lungengewebs- und eine Lymphknotenprobe. Vorzugsweise wurden die Proben aus den unteren Lungenlappen gewonnen.
- 6. UIP- Gruppe:** Diese Erkrankung gehört zu den interstitiellen Lungenerkrankungen und führt im Verlauf zu Entzündungen des Lungeninterstitiums mit Einbeziehung der alveolo-kapillären Membranen. Durch Zunahme des Bindegewebes kommt es zu einer Lungenfibrose z.T. mit Honigwabenstruktur. Die zu untersuchende Probenzahl und –art ist mit den übrigen Gruppen identisch.

3.2 Rasterelektronenmikroskop mit EDX-Analysen

Die Proben wurden mit dem Rasterelektronenmikroskop von FEI/ Philips (FEI/ Philips XL30 FEI Company, Hillsboro, Oregon, USA) und mit EDX-Analysen (EDAX Super ultra thin 91 Mc Kee Drive, Window technology, Mahwah, NJ 07430, USA) gemessen. Die Messtechnik des Rasterelektronenmikroskop und der EDX-Analysen sind für die vorgenommenen Probenmessungen ein etabliertes Verfahren.

3.2.1 EDX- Analysen an asbesthaltigen Dachplatten

Bevor die Messungen der Proben stattfinden konnten, wurde das Gerät kalibriert. Anschließend erfolgten mehrere EDX-Analysen an asbesthaltigen Eternitplatten (Chrysotil) (siehe Abb. 19 und 20). Dazu wurde die Beschleunigungsspannung auf 20 kV und die Arbeitsentfernung (working distance) auf 10 mm eingestellt. Die Einstellung des Fokus ist über die z-Richtung des Probenstisches durchgeführt worden. Die abgebildeten Spektren zeigen die für Asbest typische Elementkonstellation. Alle für die Untersuchung wichtigen Elemente sind darstellbar. Da die Peakhöhen von dem verwendeten Detektor und den Geräteparametern abhängen, müssen unter den gegebenen Bedingungen eigene Referenzspektren von den Faserarten, z. B. unter Zuhilfenahme von Standardproben, erstellt werden.

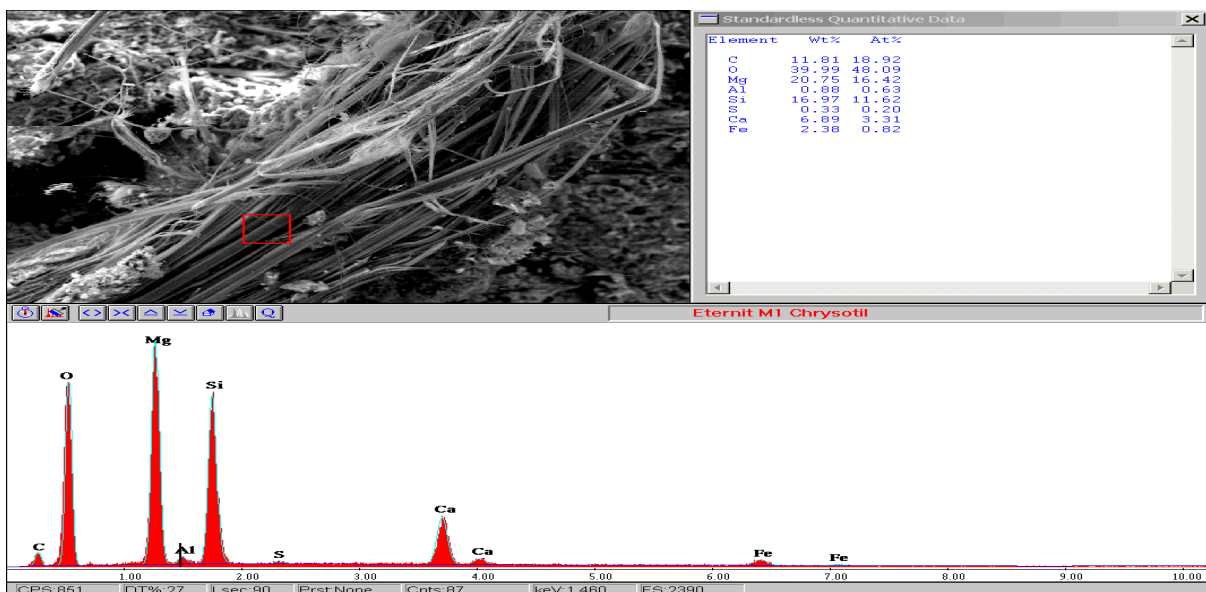


Abbildung 19 EDX- Analyse

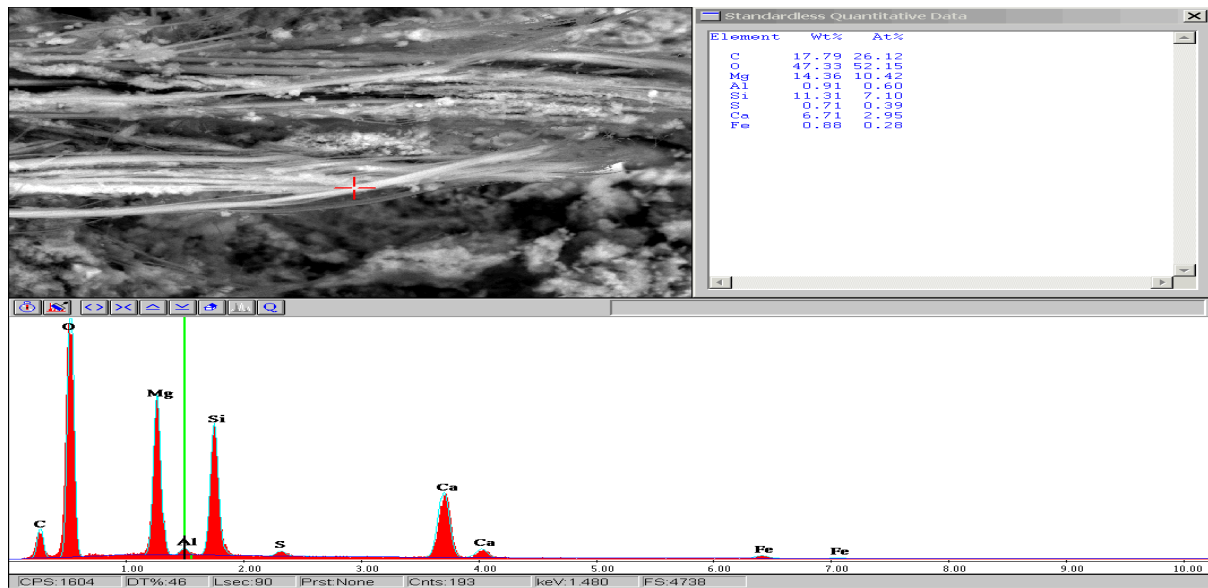


Abbildung 20 EDX- Analyse

3.2.2 Probenauswahl und Ausschlusskriterien

Vor Beginn der Untersuchung am REM wurde die Eignung der jeweiligen Proben durch die lichtmikroskopische Begutachtung an Routine- (HE) und Goldner-Färbungen der korrespondierenden Schnittfläche überprüft. Dabei bezogen sich die Auswahlkriterien auf die für die einzelnen Gruppen spezifischen histologischen Merkmale. Präparate mit entzündlichen Veränderungen oder Anzeichen für ein malignes Geschehen wurden von den Untersuchungen ausgeschlossen.

Die durchschnittliche Probengröße des peripheren Lungengewebes und der Hiluslymphknoten betrug ca. 0,5- 1cm³. Im Anschluss wurde eine Hälfte des Blockes in Paraffin (Paraffin, Müller GmbH KAUFMANNNS und Co. KG, Wetzlar, Deutschland) eingebettet. Dazu wurde das in Formalin (Formaldehydlösung 4 %, Otto Fischar GmbH & Co. KG, Saarbrücken, Deutschland) fixierte Gewebe mit Hilfe einer aufsteigenden Alkoholreihe (Ethylalkohol, Berkel AHK, Alkoholhandel GmbH & Co. KG, Ludwigshafen, Deutschland) entwässert und in das Intermedium Xylol (Xylol, Otto Fischar GmbH & Co. KG, Saarbrücken, Deutschland) gegeben. Anschließend wurde das Xylol durch heißes Paraffinwachs ersetzt. Die Gewebstücke wurden dann vollständig mit Paraffin in einer Schale bedeckt. Sobald das Paraffin erkaltet war, konnte es aus der Gießform entfernt und Paraffinschnitte angefertigt werden.

Die andere Hälfte wurde wieder in Formalin gegeben und diente der EDX-Analyse am REM. Die nicht korrespondierende Fläche wurde mittels Farbe zur späteren Identifizierung markiert (siehe Abb. 21).

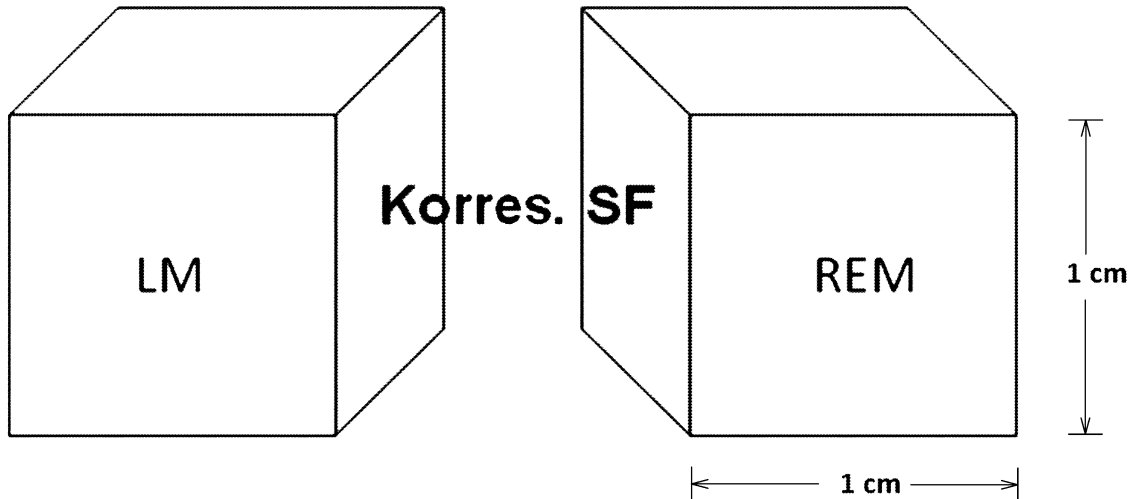


Abbildung 21 Schnittfläche.

Abb.21 Lichtmikroskop (LM), Rasterelektronenmikroskop (REM), korrespondierende Schnittfläche (Korres. SF).

3.2.2.1 Herstellung von Paraffin-Schnittpräparaten

Die Paraffinschnitte wurden mittels Schlittenmikrotom (Mod. 2035 Biocut, Leica, Instruments GmbH, Nussloch, Deutschland) angefertigt. Von dort werden die ca. 4 Mikrometer dicke Schnitte auf ein erhitztes Wasserbad (40 °C) (Typ WB 24, EDAX Nagel GmbH, Kiel, Deutschland) übertragen, wo durch die Oberflächenspannung der Schnitt gedehnt und Falten geglättet wurden. Hinterher konnten die Schnitte auf saubere und fettfreie Standardobjektträger (76x 26 mm, R. Langenbrinck, Emmendingen, Deutschland) aufgenommen und zum Trocknen in einem 37 °C warmen Brutschrank (Memmert GmbH & Co KG, Schwabach, Deutschland) platziert werden.

3.2.2.2 Hämatoxylin-Eosin-Färbung Automat

Die Paraffinschnitte wurden zum Entparaffinieren zuerst 4 x für eine Minute in Xylol und anschließend für eine weitere Minute in Alkohol gegeben. Nach einer kurzen Spülung mit Wasser (Aqua, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) wurden die Schnitte für 10 Minuten in die Hämatoxylinlösung (Hämatoxylinlösung, Waldeck GmbH & CoKG, Division Chroma Münster; Deutschland) getaucht. Dadurch werden vor allem die Zellkerne gefärbt. Sie erscheinen im Lichtmikroskop blau, dunkelviolett bis schwarz. Eine weitere 10-minütige Spülung mit Wasser folgte. Nach der Gegenfärbung mit Eosin (Eosin G 0,5% wässrig, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland) und erneuter Spülung wurden die Schnitte zum Wasserentzug in eine aufsteigende Alkoholreihe bis zu absolutem Alkohol für jeweils 3 Minuten gegeben. Durch das Eosin werden Zytoplasma, Kollagen, Erythrozyten und Keratin in unterschiedlichen Rottönen gefärbt. Schließlich werden die Proben 2 x in Xylol gegeben und eingedeckt. Nach kurzem Trocknen erfolgte eine Qualitäts- und Eignungskontrolle mittels Lichtmikroskop (Olympus BX 50, Olympus Deutschland GmbH, Hamburg, Deutschland).

3.2.2.3 Goldner-Färbung

Auch bei dieser Färbung wurden die Schnitte zunächst entparaffiniert und mit Alkohol bedeckt. Danach gelangten die Proben für 5 Minuten in die Elastikalösung (Elastika v. Gieson Kit A+B, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland). Nach ausreichendem Spülen mit Wasser wurde Ponceau-Säurefuchsin-Azophloxin (Ponceau-Säurefuchsin, MORPHISTO Evolutionsforschung und Anwendung GmbH, Frankfurt am Main, Deutschland) hinzugegeben, welche mit 1,5 % Essigsäurelösung (Essigsäure; MORPHISTO Evolutionsforschung und Anwendung GmbH, Frankfurt am Main, Deutschland) ausgewaschen wurde. Zur Entfärbung des Bindegewebes wurde die Phosphorwolframsäure Orange G Lösung, (Phosphormolybdänsäure Orange G II A, MORPHISTO Evolutionsforschung und Anwendung GmbH, Frankfurt am Main, Deutschland) verwendet. Diese Lösung wurde wiederum mit Essigsäure abgespült. Folglich fand eine Gegenfärbung mit Lichtgrün (Lichtgrün; MORPHISTO Evolutionsforschung und Anwendung GmbH, Frankfurt am Main, Deutschland) statt.

Abschließend konnten die Schnitte gereinigt und mit Hilfe von Alkohol entwässert werden. Die Vorgänge des Eindeckens und der Qualitätskontrolle entsprachen der HE-Färbung.

Diese Färbung dient der differenzierten Darstellung von Bindegewebskomponenten. Das Farbergebnis spiegelt sich in braunschwarze bis blauschwarze Kerne, orangem bis rotem Zytoplasma, leuchtend roten Erythrozyten, hellrotem Muskelgewebe und grünem Bindegewebe und Kollagen wider.

3.2.3 Versuchsablauf

3.2.3.1 Vorversuche

3.2.3.1.1 *Spektrenanalyse mit konventionellen Methoden*

Es stellte sich im Verlauf der Untersuchungen heraus, dass eine korrekte Beurteilung der EDX- Spektren nur dann vorgenommen werden konnte, wenn die konventionelle Probenvorbereitung der Rasterelektronenmikroskop modifiziert wurde, da das eingebrachte Osmium (Osmium, Science Services, München, Deutschland) zu Überlagerungen mit anderen Elementen (v.a. Aluminium) führte.

3.2.3.1.2 *Veraschungsfilter*

Als Alternative sollte die Untersuchung von Veraschungsfilter durch das REM dienen. Die Herstellung des Veraschungsfilters erfolgte nach dem Standard Operating Procedure des Instituts für Allgemeine und Spezielle Pathologie des Universitätsklinikums des Saarlandes, Homburg/Saar (Siehe Anhang, Tab. 16, SOP Asbestkörperchen Nachweis). Nach Empfehlungen der ERS Working Group sollten die Lungengewebsproben aus den Apices von Ober- und Unterlappen sowie aus den basalen Anteilen des Unterlappens eines Lungenflügels gewonnen werden. Als Mindestanforderung sind ca. 1-2 cm³ peripheres Lungengewebe erforderlich. Bei der Probe sollte es sich nicht um Tumorgewebe oder entzündetes Gewebe handeln. Die Probe sollte weder auf eine besondere Unversehrtheit noch auf massive Ablagerungen ausgesucht werden. Der Durchmesser des Veraschungsfilters beträgt ca. 5 cm. Da ein solch großer Probenteller zurzeit nicht im Sortiment des Elektronenmikroskopzubehörs auf dem Markt zu finden ist, wurde dieser manuell hergestellt. Dazu wurde wiederum das Technovit 3040 angerührt und in einen aus

Plastik bestehenden Messbehälter gegeben bis dieser bis zur 5 ml Grenze mit dem Kleber befüllt war. Nach der Polymerisation und Auskühlung wurde die nun harte Plastikscheibe aus dem Messbecher entfernt und die Scheibe konnte unmittelbar zur Weiterbearbeitung genutzt werden. Um diesen Probenträger vor Rückstrahlung/Streustrahlung zu schützen wurde er nun mit doppelseitig klebenden Kohleband (Kohleband G 3939 A, PLANO GmbH, Wetzlar, Deutschland) vollständig beklebt. Der Rand wurde zusätzlich mit Aluminium (Aluminisiertes G 265, PLANO GmbH, Wetzlar, Deutschland) versehen. Damit der Probenteller Halt auf dem Probentisch im REM hat, wurde ein konventioneller Probenteller an der Mitte der Unterseite befestigt. Soll ein bereits mit Entellan eingebetteter Filter untersucht werden, muss dieser bis zu mehreren Tagen in Xylol gelöst werden. Eine ausreichende Trocknung des Filters ist unumgänglich, da er sonst bei der Kohleverdampfung verbrennt. Deshalb sollte ein Besputtern mit Gold bevorzugt werden (siehe Abb. 22). Die Methode ist wie die Lichtmikroskopie zur Identifizierung von (Pseudo)- Asbestkörpern einsetzbar (siehe Abb. 23 und 24). Letztlich ist die Methode durch die Probengröße und den damit verbundenen Zeitaufwand sowie der Hitzeunbeständigkeit gegenüber dem Elektronenstrahl des Rasterelektronenmikroskops beschränkt.



Abbildung 22 Veraschungsfilter

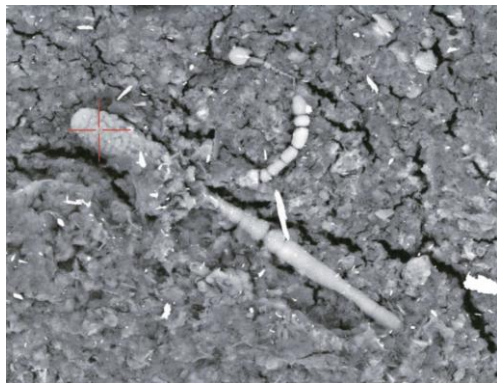


Abbildung 23 Asbestfaser

Abb. 23 Elektronenmikroskopaufnahme einer Asbestfaser

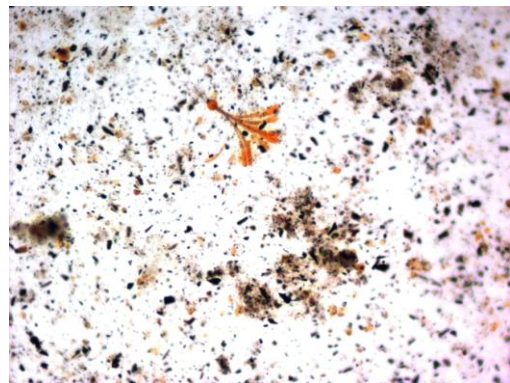


Abbildung 24 Asbestfaser

Abb. 24 Lichtmikroskopaufnahme (40 x) einer Asbestfaser

3.2.3.1.3 Gewebepvorbereitung für das REM

Zunächst mussten die Proben in Anpassung an die Größe in Alkohol in aufsteigender Reihe 30 %, 40 %, 50 %, 70 %, 80 % und 90 %, 96 % jeweils für eine halbe Stunde entwässert werden.

Danach wurden die Proben aus dem Alkoholbecken in das Becken mit der Fixierungslösung gelegt. Dabei sollten die Proben nicht zwischengelagert werden, um ein Austrocknen des Gewebes zu verhindern. Die Fixierungsflüssigkeit bestand zu gleichen Teilen aus 96%igen oder absoluten Ethanol (50 ml) und der Basislösung des Technovits 7100 (50 ml) (Technovit 7100, Heraeus Kulzer GmbH, Werheim/ Ts, Deutschland). Zu diesen 100 ml wurden 1 g Härter 1 (Pulver) (Technovit 7100, Heraeus Kulzer GmbH, Werheim/ Ts, Deutschland) gegeben. Diese Vorbereitungslösung ist für 4 Wochen gekühlt bei 4 °C haltbar. Je nach Gewebeart und -dicke wurden die Präparate 12 bis 24 h infiltriert. Nach dieser Zeit wurden zu 15 ml Vorbereitungslösung 1 ml Härter 2 (Technovit 7100, Heraeus Kulzer GmbH, Werheim/ Ts, Deutschland) gegeben und diese dann in die Histoform (Histoformen S, Heraeus Kulzer GmbH, Werheim/ Ts, Deutschland) eingebracht (siehe Abb. 25 und 26). Die Präparate wurden in diesen Formen ausgerichtet und evtl. mit weiterer Flüssigkeit aufgefüllt bis sie vollständig bedeckt waren. Hinterher musste die Form mit Plastikfolien luftdicht abgeschlossen werden. Evtl. entstandene Blasen können mit einer Nadel und einer Tuberkulinspritze (1 ml Spritzen, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) aufgefüllt werden. Mit elastischer Folie (Parafilm „M“ Laboratory Film, Pechiney Plastic Packing, Chicago, USA) wurde das gesamte System luftleer abgedichtet. Nach Aushärtung wurden die Plastikfolien entfernt und die Oberfläche trocken gewischt. Ein schnellhärtender Kunststoff (Technovit 3040, Heraeus Kulzer GmbH, Werheim/ Ts, Deutschland), welcher als Kleber zur Befestigung der Probe am Histoblock (Histoblock, Heraeus Kulzer GmbH, Werheim/ Ts, Deutschland) fungierte, wurde auf das ausgehärtete Methacrylat verteilt. Nachdem dieser ausgehärtet war, ließ sich das eingebettete Präparat aus der Histoform entfernen (siehe Abb. 26). Nun wurden die Proben mit Hilfe eines Mikrotoms (Feather Microtome Blade A 35, Produkte für die Medizin AG, Köln, Deutschland) so lang bearbeitet bis die gesamte Fläche des Gewebes angeschnitten war (siehe Abb. 27). Auch diese Schnitte wurden mittels Goldner-Färbung koloriert.

Die Färbezeiten mussten entsprechend angepasst werden. Nach lichtmikroskopischer Begutachtung wurden die zu messenden Stellen durch ein Skalpell für das REM markiert. Humanes Gewebe ist in der Regel nicht elektrisch leitend. Gold, Silber und Kohle stellen hier die gängigsten Sputtersubstanzen (Sputter Coater, Quorum Technologies, Newhaven, UK) dar, um die Proben leitfähig zu machen (siehe Abb. 28). Bei der Auswahl des Sputtermaterials wurde jedoch darauf geachtet, dass keine zusätzlichen Elemente im Spektumbild erscheinen, die besonderer Erläuterung bedürfen. Deshalb wurde auf die Kohlefadenverdampfung (Balzers SCD 030 Kohle-Verdampfer, Bal-Tec AG, Fürstentum, Lichtenstein) bei ca. 1 Torr Arbeitsvakuum zurückgegriffen. Eine Behinderung der Asbestidentifikation findet durch Kohle, Gold oder Silber nicht statt. Des Weiteren ist bei der Analyse die Schwefelkomponente des Probentellers (Probenteller LEO FEI/ Philips, FEI Company, Hillsboro, Oregon, USA) zu berücksichtigen. Der Kontakt zwischen dem Primär- Elektronenstrahl und dem Probenteller sollte daher unbedingt vermieden werden.



Abbildung 25 Histoform



Abbildung 26 Histoform



Abbildung 27 Histoblock mit Lymphknoten



Abbildung 28 REM Präparat

Abb. 25 bis 28 Probenvorbereitungen für das REM

3.2.4 Stanzen

Die Schnitte der in Paraffin eingebetteten Proben wurden ebenfalls lichtmikroskopisch untersucht. Folgend wurde der für die Analyse interessante Bereich aus dem Paraffinblock ausgestanzt (Biopsiestanze, pfm-Produkte für die Medizin AG, Köln, Deutschland). Für die folgenden Schritte musste die Probe zunächst entparaffiniert werden. Bei kleinerer Analysefläche und höherer Belastung durch den Elektronenstrahl wurde diese Probe in den härteren Kunststoff Epon (Epon, Dodecyl Succinic Anhydride, SEM bed-812, München; Deutschland) eingebettet. Dieser Kunststoff wurde in mehreren Schritten vorbereitet. Zunächst wurden dafür die zwei Stammlösungen A und B hergestellt. Die Stammlösung A bestand aus 116 ml Dodecyl Succinic Anhydride (DDSA) und aus 73,33 ml Epon EM bed- 812 (Epon). 100 ml Epon und 89 ml Nadic Methyl Anhydride (NMA) stellten die Bestandteile der Stammlösung B dar. Beide Stammlösungen wurden zu gleichen Teilen vermischt. Zur Fertigstellung des Kunststoffs wurde dann auf 10 ml 0,2 ml Benzoldimethylamin (BDMA) hinzugegeben. Die Fertigmischung muss dann ruhen bis alle Gasbläschen restlos verschwunden sind. Die Lösung muss dann im Gefrierschrank aufbewahrt werden. Die Stammlösungen bleiben im Kühlschrank haltbar. Für das Einbetten wurde das Gewebe zunächst für je 10 Minuten in 0,1 M Cacodylatpuffer (1% Glutaraldehyd + 1% Formalaldehyd) gewaschen. Der folgende Schritt bestand aus einer mehrstündigen Waschung in 2% iger Osmiumlösung (Osmiumtetroxid und Puffer 1:1) welches durch Aqua dest. wieder herausgewaschen wurde. Nun wurde das Gewebe in aufsteigender Reihe in Ethanol getränkt. Das 100 % Ethanol wurde dann durch 100% Aceton (Aceton, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland) ersetzt. Nach und nach wurde nun Epon dazugegeben bis das Verhältnis Aceton zu Epon 1:3 beträgt. Die Proben mussten dann eine Stunde in reinem Epon bei 40 °C und eine Stunde bei Raumtemperatur schwimmen. Zum Auspolymerisieren wurden die mit Epon befüllten Kautschukförmchen (12x6x5 mm; PO Box 550, Electron microscopy Sciences, Hatfield, USA) mit der bereits orientierten Probe für 2 Tage bei 60 °C in den Wärmeschrank gestellt. Auch diese Proben mussten für das REM leitfähig gemacht werden. Die dafür benötigten Arbeitsschritte sind identisch mit denen der Methacrylatproben. Je nach gewünschtem Härtegrad kann das Verhältnis der Stammlösungen variiert werden (siehe Tab.3).

Die Untersuchung von Lungengewebe in Stanzenform mittels Rasterelektronenmikroskop in Kombination mit der EDX-Analyse ist möglich. Aufgrund einer einzelnen Probengewinnung und Messung sind die Ergebnisse nicht in die statistische Berechnungen und Auswertung eingegangen.

Lsg. A	10	7	5	3	0
Lsg. B	0	3	5	7	10
BDMA	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
	weich -----> hart				
(Tab. 3).	ml	ml	ml	ml	ml

Tabelle 3 Eponmischung

3.2.5 Fotodokumentation

Die Makrobilder der zu untersuchenden Lungen und Lymphknoten wurden mit einer Digitalkamera (AxioCam MRc 5, Zeiss, Göttingen, Deutschland) und die histologischen Präparate mit Hilfe des Lichtmikroskops (Axioskop 40, Zeiss, Göttingen, Deutschland) unter Zuhilfenahme eines Programms (AxioCam MRc 5, Zeiss, Göttingen, Deutschland) fotografiert.

3.2.6 Analyse und Messungen

Nach den entsprechenden Einstellungen am REM wurde jede Probe bei den verschiedenen Vergrößerungen (100x, 200x, 400x, 800x, 1000x, 1500x, 2000x, 2500x, 3000x, 4000x). Danach wurden die Markierungen aufgesucht oder die Probe auf anthrako-/ silikotische Ablagerungen sowie faserähnliche Strukturen abgesucht. Da die Morphologie keine Rückschlüsse auf die Messergebnisse zulässt, wurden in jeder Vergrößerung 10 Bereiche gewählt Die entsprechenden Elemente und deren Spektrenbild wurde quantitativ in Wt% angegeben.

3.2.7 Software

Das Rasterelektronenmikroskop wurde mittels der „Microscope control“ Software gesteuert. Im Rahmen der EDX-Analyse wurde mit der EDX Control Software User´s Manual gearbeitet. Zur Nachbearbeitung der Fotografien wurde mit dem Programm „Photoshop Version 2008“ gearbeitet. Bei Bedarf wurden die Bilder maßstabsgetreu elektronisch angepasst.

Die Programme Sigmastat® 3.1, SPSS 17.0 Inc. (IBM, Chicago, IL, USA) dienten der statistischen Auswertung. Im Anschluss wurden mittels Microsoft Excel und SigmaPlot® 9.0 die Diagramme erstellt. Für die Textverarbeitung wurde Microsoft Word 2007 verwendet.

3.3 Statistik

Eine vor Beginn der Auswertung durchgeführte „power“-Analyse (gewünschte „power“ = 0,8; $p < 0,05$) ergab eine Probenanzahl von mindestens 12, um für die folgend beschriebenen Tests signifikante Ergebnisse zu erhalten. Pro Gruppe gab es 6 Patienten mit jeweils 10 Messungen bei unterschiedlichen Vergrößerungen. Die Messungen bei den Vergrößerungen 100x, 200x und 400x waren nicht ausreichend um alle Elemente zu messen, deswegen wurden für die Auswertung die Vergrößerungen von 800x bis 4000x ausgewählt. Dies waren insgesamt 7 Messungen für jeweils 6 Patienten. Damit kamen wir auf 42 Proben pro Gruppe und auf eine Power von größer 0,8, welches signifikante Aussagen ermöglichte.

Die Auswertung der ermittelten Daten erfolgte in Zusammenarbeit mit PD Dr. Gräber (ehem. Direktor des Instituts für Medizinische Biometrie, Epidemiologie und Medizinische Informatik). Alle Daten wurden als Mittelwert \pm SEM (standard error of the mean) angegeben. Die Analyse der verbundenen Stichproben, welche gleich der Zeitpunkte innerhalb einer Gruppe sind, wurde mittels einer "One Way Repeated Measures ANOVA" untersucht. Zuvor wurden die Daten mittels Kolmogorov-Smirnov-Test auf eine Gauß'sche Verteilung überprüft. Im Falle einer nicht-Gauß'schen Verteilung wurde eine "One Way Repeated Measures ANOVA on ranks" durchgeführt. Als post-hoc-Test kam ein Dunnett-Test zur Anwendung, ein $p < 0,05$ wurde als signifikant betrachtet.

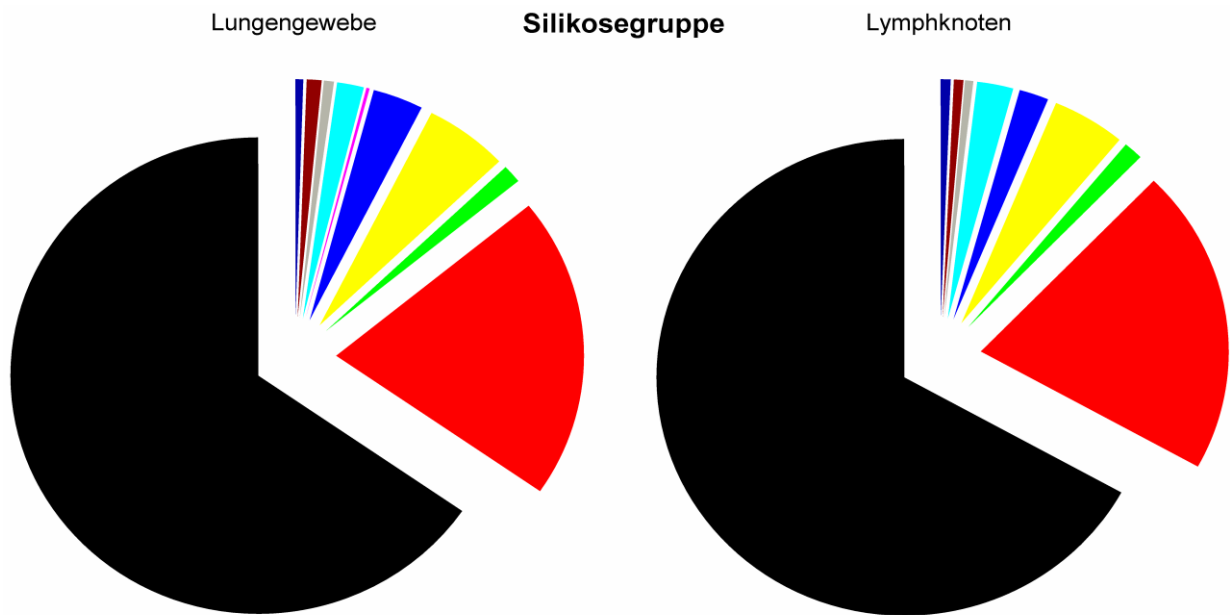
Die unverbundenen Stichproben wurden mit "Compare many groups One Way Analysis of Variance" (ANOVA) untersucht. Bei nicht-Gauß'scher-Verteilung wurde mit "Compare many groups ANOVA on ranks" untersucht. Als post-hoc-Test kam ein Student-Newman-Keuls-Test zur Anwendung. Die Gauss'sche Verteilung (normal Verteilung) wurde wie zuvor mit dem Kolmogorov-Smirnov-Test berechnet. Sämtliche statistische Analysen wurden mittels eines Statistik-Software-Programmes (Sigmastat® 3.1, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) durchgeführt.

4 Ergebnisse

4.1 *Nachweisbare chemische Elemente in den Gruppen*

Im Lungengewebe der Silikosegruppe wurde mit über 90 % Kohlenstoff (65,4 wt %), Sauerstoff (20,5 wt %) und Silicium (5,5 wt %) gemessen. Die restlichen messbaren Anteile entfielen auf Aluminium (3,3 wt %), Eisen (1,8 wt %), Schwefel (1,2 wt %), Kalium (1,0 wt %), Natrium (0,6 wt %) und Phosphat (0,5 wt %). In geringen Spuren konnten auch, Magnesium (0,2 wt %), Chlorid (0,01 wt %) und Calcium (0,08 wt %) gemessen werden (Abb. 28).

In den Lymphknoten der Silikosegruppe bildeten Kohlenstoff (66,4 wt %), Sauerstoff (20,6 wt %) und Silicium (4,7 wt %) den größten Anteil. Eisen (2,3 wt %), gefolgt von Aluminium 1,9 (wt %), Schwefel 1,3 (wt %), Phosphat (0,7 wt %), Kalium (0,6 wt %) und Natrium (0,5 wt %). In geringen Spuren wurden auch Chlorid (0,01 wt %), Calcium (0,07 wt %) und Magnesium (0,07 wt %) gemessen (siehe Abb. 29).



LG

Element	wt %	Element	wt %
C	65,4	Fe	1,8
O	20,5	Na	0,6
S	1,2	K	1
Si	5,5	Cl	0,01
Al	3,3	Ca	0,08
Mg	0,2	P	0,5

LK

Element	wt %	Element	wt %
C	66,4	Fe	2,3
O	20,6	Na	0,5
S	1,3	K	0,6
Si	4,7	Cl	0,01
Al	1,9	Ca	0,07
Mg	0,07	P	0,7

Abbildung 29 Elemente der Silikosegruppe in (wt %)

Im Lungengewebe rechts und in den Lymphknoten links. C: Kohlenstoff, O: Sauerstoff, S: Schwefel, Si: Silicium, Al: Aluminium, Mg: Magnesium, Fe: Eisen, Na: Natrium, K: Kalium, Cl: Chlorid, Ca: Calcium und P: Phosphat.

Die Messungen im Lungengewebe von Patienten mit Asbestose ergaben, dass Kohlenstoff (66,6 wt %), Sauerstoff (21,3 wt %) und Silicium (4,2 wt %) einen Anteil von über 90 % hatten. Danach folgten Aluminium (3,2 wt %), Kalium (0,9 wt %), Natrium (0,8 wt %), Schwefel (0,7 wt %) und Eisen (0,7 wt %) in den EDX-Analysen. In geringen Konzentrationen konnten ferner Calcium (0,4 wt %), Phosphat (0,3 wt %), Magnesium (0,2 wt %) und Chlorid (0,06 wt %) nachgewiesen werden (Abb. 29).

Im Lymphknotengewebe der Asbestosegruppe waren Kohlenstoff (67,6 wt %), Sauerstoff (19,6 wt %) und Silicium (4,9 wt %) am häufigsten messbar, gefolgt von Eisen (2,5 wt %), Aluminium (1,6 wt %), Natrium (1,1 wt %), Schwefel (0,9 wt %) und Kalium (0,8 wt %). In geringen Spuren konnten auch Magnesium (0,2 wt %), Calcium (0,1 wt %), Phosphat (0,1 wt %) und Chlorid (0,07 wt %) gemessen werden (siehe Abb. 30).

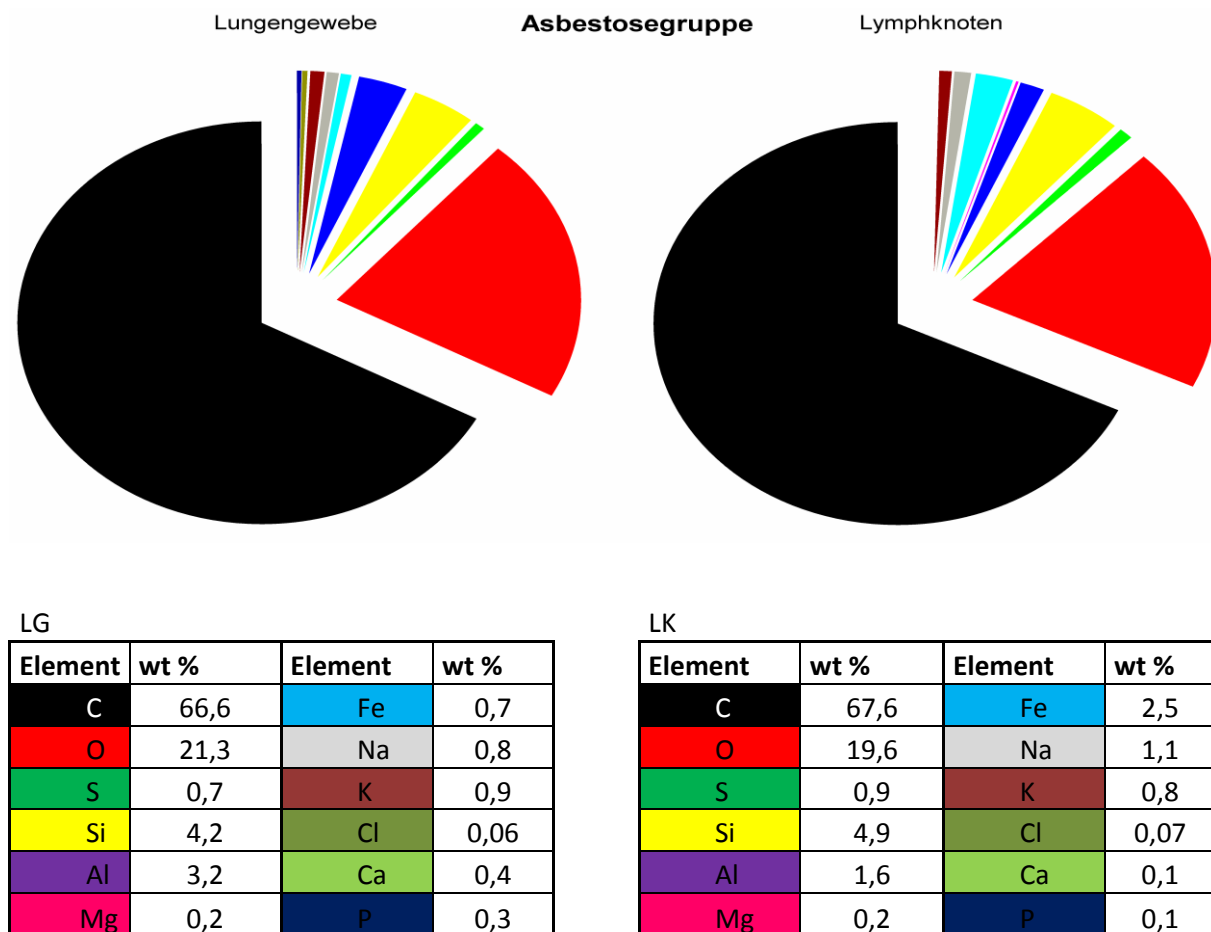


Abbildung 30 Elemente der Asbestosegruppe in (wt %)

Im Lungengewebe rechts und in den Lymphknoten links. C: Kohlenstoff, O: Sauerstoff, S: Schwefel, Si: Silicium, Al: Aluminium, Mg: Magnesium, Fe: Eisen, Na: Natrium, K: Kalium, Cl: Chlorid, Ca: Calcium und P: Phosphat.

Im Lungengewebe der COPD-Patienten sind Kohlenstoff (61,4 wt %), Sauerstoff (20,0 wt %) und Calcium (5,0 wt %) mit über 85 % am häufigsten gemessen worden, gefolgt von Eisen (3,7 wt %), Silicium (3,2 wt %), Aluminium (2,0 wt %), Schwefel (1,3 wt %), Phosphat (0,9 wt %), Natrium (0,6 wt %) und Kalium (0,6 wt %). In kleinsten Mengen wurden auch noch Magnesium (0,5 wt %) und Chlorid (0,1 wt %) gefunden (Abb. 30). Die Messung im Lymphknoten der COPD-Gruppe ergaben die höchsten Konzentrationen für Kohlenstoff (59,8 wt %), Sauerstoff (21,5 wt %) und Silicium (5,7 wt %), gefolgt von Aluminium (3,6 wt %), Calcium (3,3 wt %), Phosphat (2,2 wt %), Schwefel (2,0 wt %), Eisen (1,5 wt %) und Natrium (1,1 wt %). In Spuren konnten auch Kalium (0,5 wt %), Chlorid (0,2 wt %) und Magnesium (0,07 wt %) gemessen werden (siehe Abb. 31).

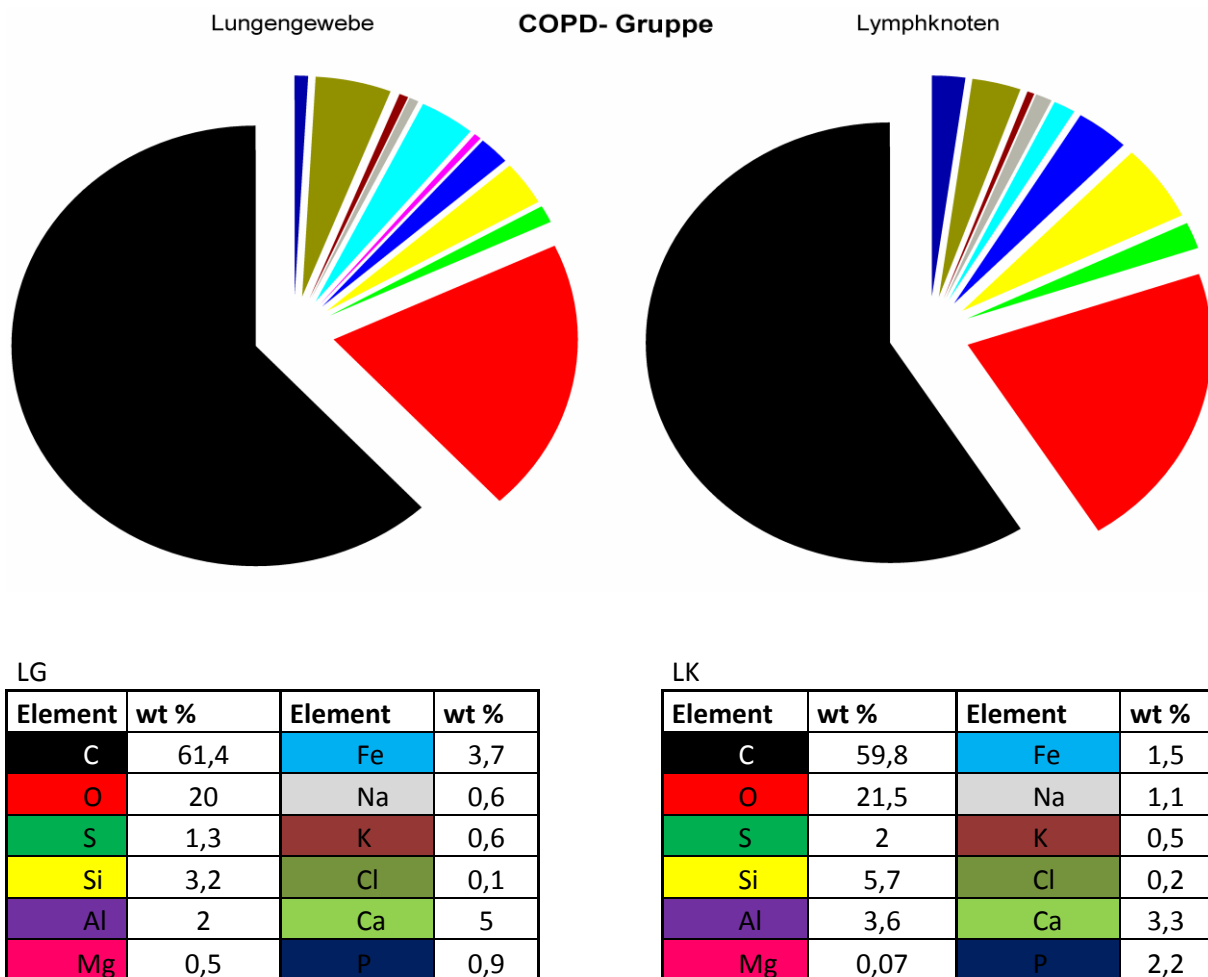


Abbildung 31 Elemente der COPD-Gruppe in (wt %)

Im Lungengewebe rechts und in den Lymphknoten links. C: Kohlenstoff, O: Sauerstoff, S: Schwefel, Si: Silicium, Al: Aluminium, Mg: Magnesium, Fe: Eisen, Na: Natrium, K: Kalium, Cl: Chlorid, Ca: Calcium und P: Phosphat.

In der UIP-Gruppe sind Kohlenstoff (67,4 wt %) und Sauerstoff (20,0 wt %) die Elemente mit den höchsten Konzentrationen im Lungengewebe, gefolgt von Silicium (2,1 wt %), Eisen (1,8 wt %), Phosphat (1,7 wt %), Schwefel (1,5 wt %), Natrium (1,5 wt %), Calcium (1,0 wt %) Aluminium (0,7 wt %) und Kalium (0,5 wt %). In Spuren konnte noch Chlorid (0,2 wt %) gemessen werden.

Im Lymphknoten der UIP-Gruppe liegen Kohlenstoff (68,9 wt %) und Sauerstoff (18,3 wt %) in den höchsten Konzentrationen vor, gefolgt von Silicium (5,1 wt %), Eisen (1,5 wt %), Aluminium (1,5 wt %), Schwefel (1,3 wt %), Phosphat (1,0 wt %), Natrium (0,8 wt %) und Kalium (0,5 wt %). In geringsten Mengen wurden ferner Calcium (0,4 wt %) und Magnesium (0,1 wt %) gemessen (siehe Abb. 32).

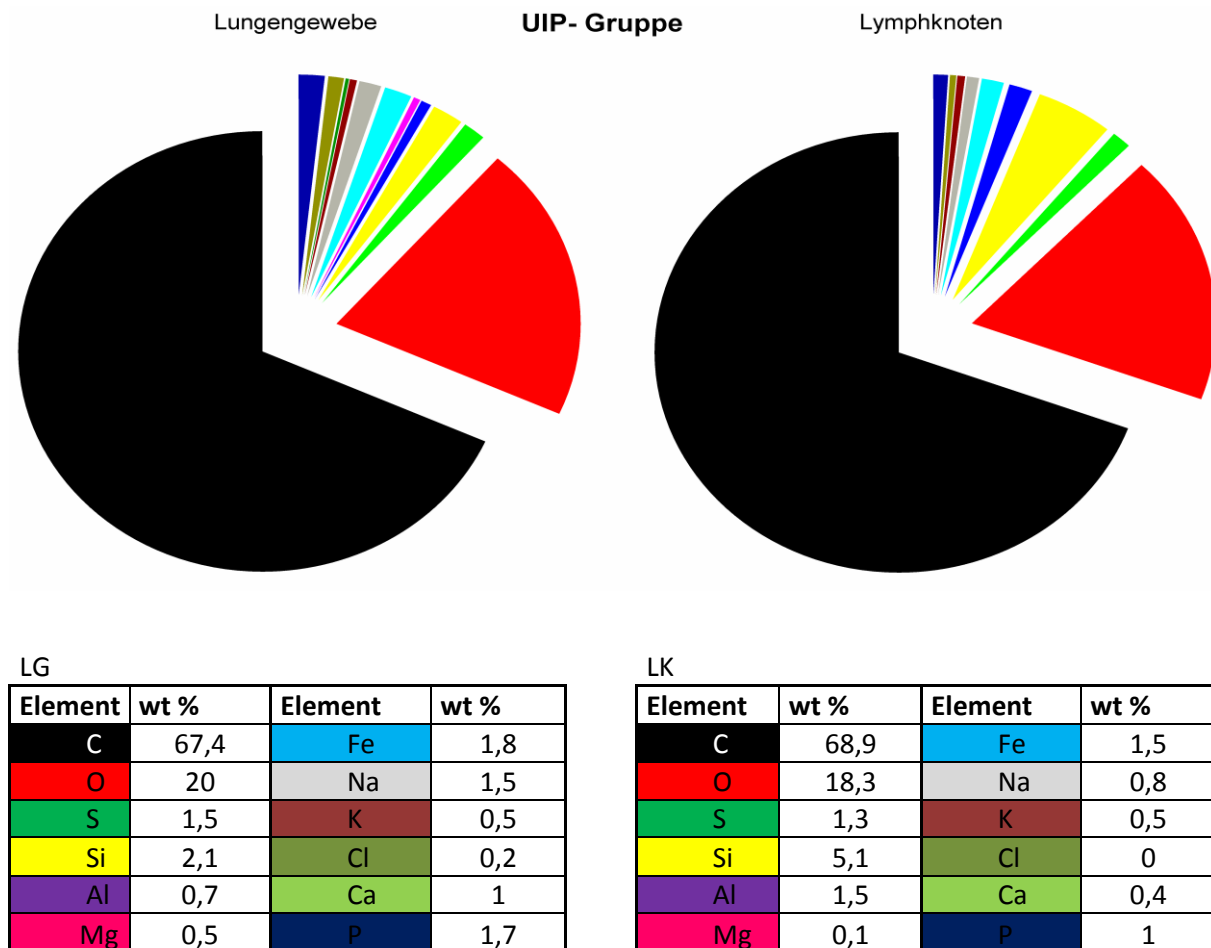


Abbildung 32 Elemente der UIP-Gruppe in (wt %)

Im Lungengewebe rechts und in den Lymphknoten links. C: Kohlenstoff, O: Sauerstoff, S: Schwefel, Si: Silicium, Al: Aluminium, Mg: Magnesium, Fe: Eisen, Na: Natrium, K: Kalium, Cl: Chlorid, Ca: Calcium und P: Phosphat.

In dem Lungengewebe der Anthrakosegruppe waren Kohlenstoff (67,1 wt %) und Sauerstoff (19,2 wt %), die in den höchsten Konzentrationen gemessenen Elemente. Eisen (2,6 wt %), Chlorid (2,5 wt %), Silicium (2,4 wt %), Calcium (1,9 wt %), Schwefel (1,5 wt %), Aluminium (1,5 wt %), Natrium (1,3 wt %), Phosphat (1,0 wt %) und Kalium (0,7 wt %) sind weitere im Lungengewebe nachgewiesene Elemente. In Spuren konnte auch Magnesium (0,3 wt %) nachgewiesen werden (Abb. 31). Kohlenstoff (63,2 wt %) und Sauerstoff (19,4 wt %) sind die am häufigste gemessenen Elemente in der Anthrakosegruppe im Lymphknoten, gefolgt von Silicium (5,3 wt %), Calcium (4,0 wt %), Phosphat (2,5 wt %), Aluminium (1,3 wt %), Schwefel (1,2 wt %), Magnesium (0,8 wt %), Eisen (0,5 wt %) und Natrium (0,5 wt %). In Spuren konnte noch Kalium (0,3 wt %) nachgewiesen werden (siehe Abb. 33).

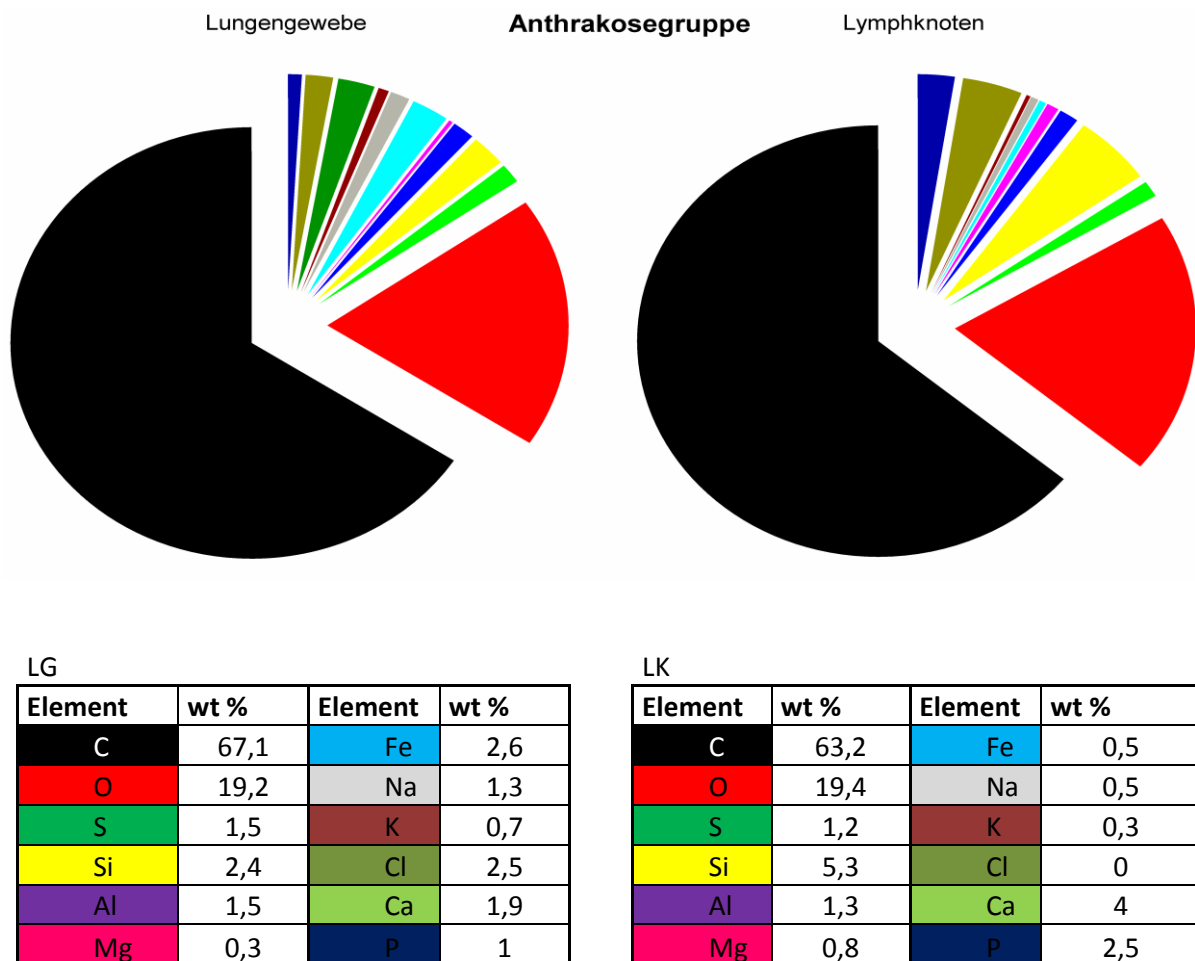


Abbildung 33 Elemente der Anthrakosegruppe in (wt %)

Im Lungengewebe rechts und in den Lymphknoten links. C: Kohlenstoff, O: Sauerstoff, S: Schwefel, Si: Silicium, Al: Aluminium, Mg: Magnesium, Fe: Eisen, Na: Natrium, K: Kalium, Cl: Chlorid, Ca: Calcium und P: Phosphat.

In der Kontrollgruppe waren Kohlenstoff (70,6 wt %) und Sauerstoff (21,7 wt %) mit über 90 % im Lungengewebe messbar, Schwefel (2,5 wt %), Calcium (2,1 wt %), Phosphat (1,3 wt %) und Natrium (1,0 wt %) mit über 7,5 %. In geringen Spuren konnten auch Silicium (0,3 wt %), Aluminium (0,3 wt %) und Kalium (0,07 wt %) im Lungengewebe nachgewiesen werden.

In den Lymphknoten der Kontrollgruppe war Kohlenstoff (71,1 wt %) am häufigsten auffindbar, gefolgt von Sauerstoff (13,4 wt %), Schwefel (2,3 wt %), Calcium (0,6 wt %) und Natrium (0,5 wt %). In geringen Spuren wurden auch Phosphat (0,3 wt %), Kalium (0,3 wt %), Aluminium (0,3 wt %), Chlorid (0,2 wt %), Eisen (0,09 wt %) und Silicium (0,06 wt %) gemessen (siehe Abb. 34).

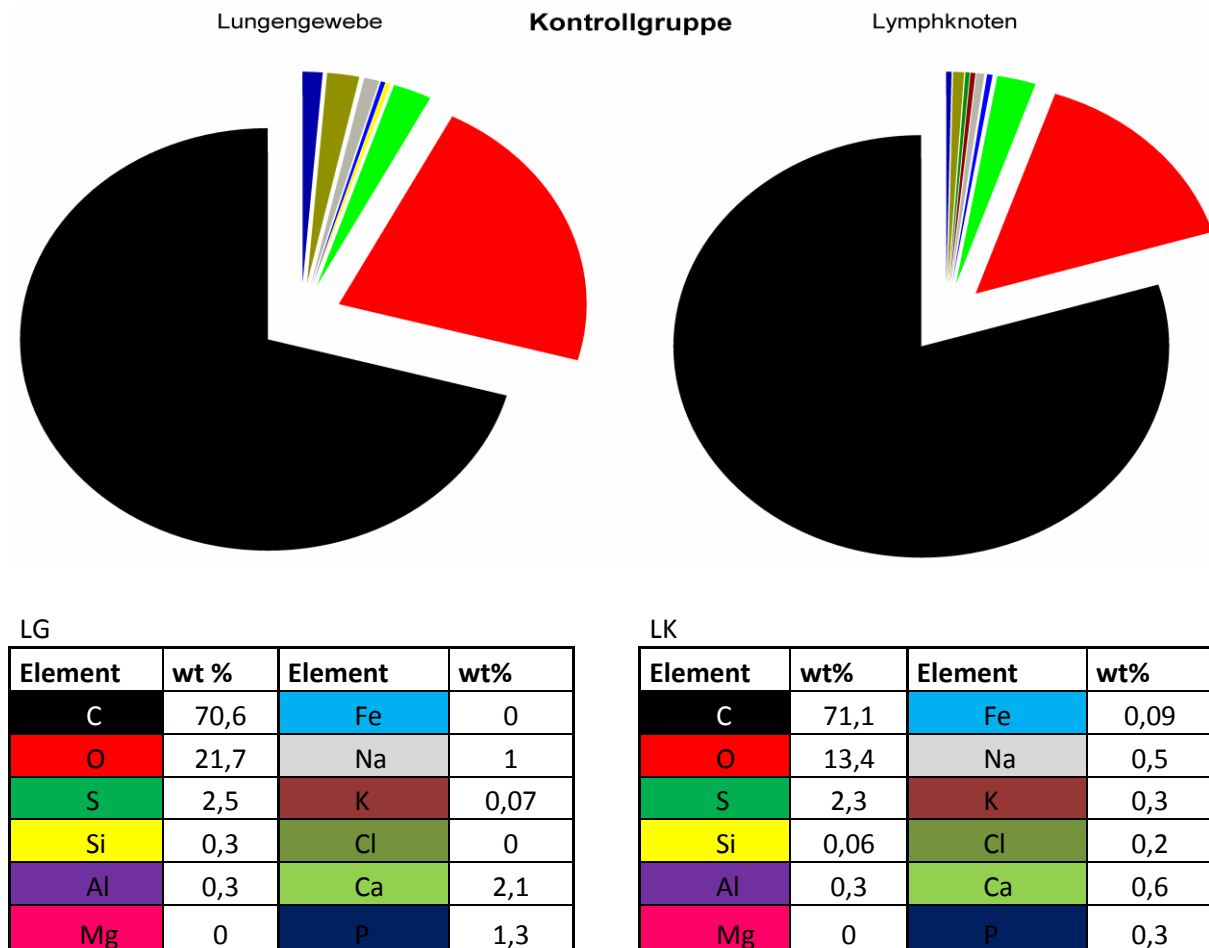


Abbildung 34 Elemente der Kontrollgruppe in (wt %)

Im Lungengewebe rechts und in den Lymphknoten links. C: Kohlenstoff, O: Sauerstoff, S: Schwefel, Si: Silicium, Al: Aluminium, Mg: Magnesium, Fe: Eisen, Na: Natrium, K: Kalium, Cl: Chlorid, Ca: Calcium und P: Phosphat.

4.2 Vergleich der Elemente zwischen Lungengewebe und Lymphknoten

In der Kontroll-, Asbestose- und COPD-Gruppe konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen Lungen- und Lymphknotengewebe festgestellt werden. In der Silikosegruppe konnte eine Tendenz ($p=0,086$) gemessen werden. Auch in der Anthrakosegruppe konnte eine Tendenz ($p=0,063$) gemessen werden. Das Lymphknotengewebe der UIP-Patienten enthielt signifikant mehr Silicium als das Lungengewebe (siehe Abb. 35).

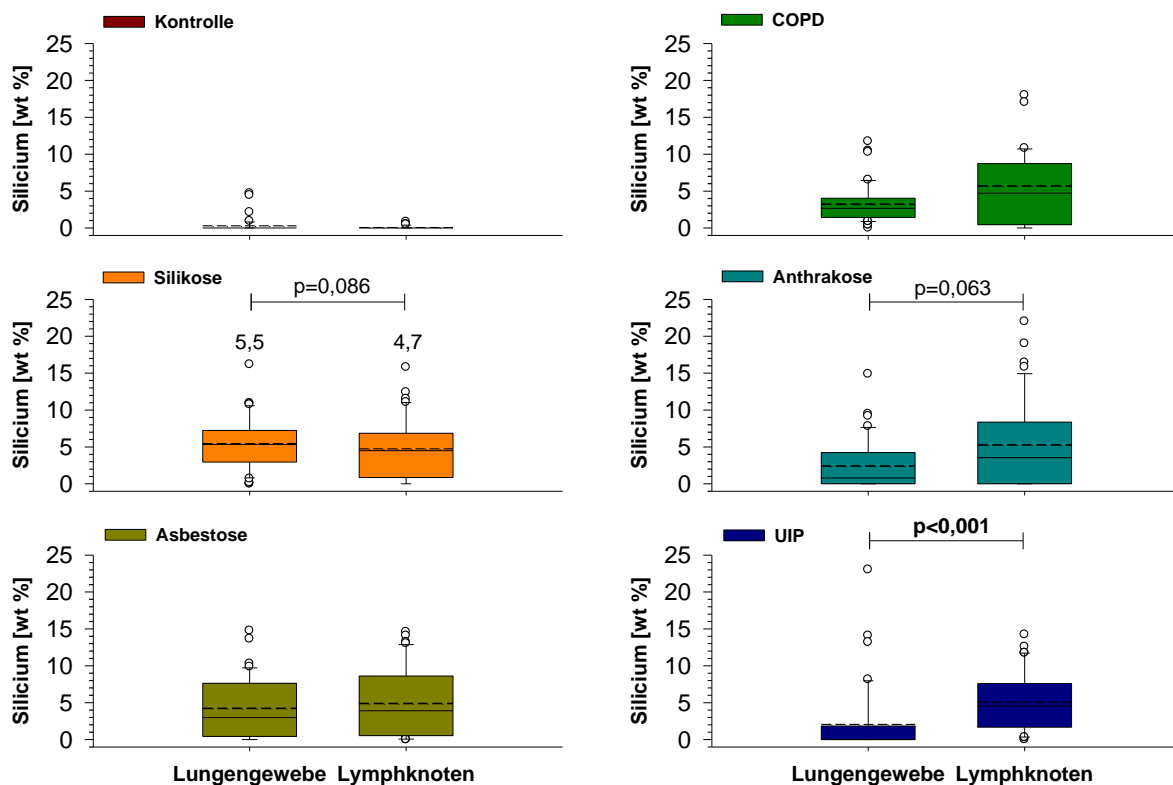


Abbildung 35 EDX-Spektrenanalyse zum Silicium (wt %) Lungen-vs.LK- Gewebe

Der Boxplot zeigt Standardabweichungen und Absolutwerte. Die durchgehende Linie ist der Median, die gestrichelte Linie stellt den Mittelwert dar. UIP (idiopathische Lungenfibrose).

Die Kontrollgruppe zeigt keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf Aluminium zwischen Lungengewebe und Lymphknoten. Dem gegenüber stehen die Silikose- und Asbestosepatienten. Die Probanden dieser Gruppen hatten signifikant mehr Aluminium im Lungengewebe als im Lymphknotengewebe. Für die COPD- Gruppe und Anthrakosegruppe konnten keine signifikanten Unterschiede in der EDX-Analyse festgestellt werden. Genauso wie die Siliciumwerte sind auch die Aluminiumwerte in der UIP-Gruppe im Lymphknoten signifikant höher als im Lungengewebe (siehe Abb. 36).

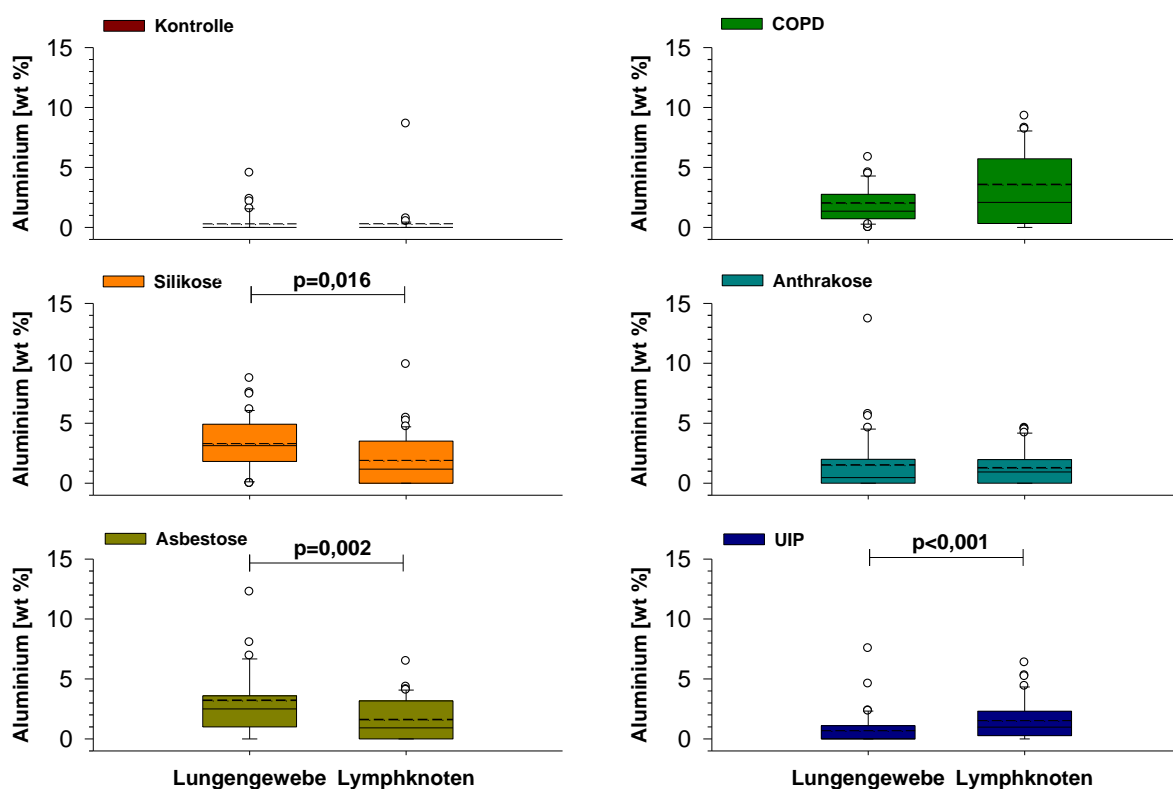


Abbildung 36 EDX-Spektrenanalyse zum Aluminium (wt %) Lungen-vs.LK- Gewebe

Der Boxplot zeigt Standardabweichungen und Absolutwerte. Die durchgehende Linie ist der Median, die gestrichelte Linie stellt den Mittelwert dar. UIP (idiopathische Lungenfibrose).

In der Kontrollgruppe konnte kein Magnesium im Lungengewebe und Lymphknoten gemessen werden. Das Lungengewebe in der Silikosegruppe enthielt signifikant mehr Magnesium als das Lymphknotengewebe. In der Asbestosegruppe und UIP-Gruppe konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Geweben ermittelt werden. Die COPD-Gruppe und die Anthrakosegruppe zeigten beide im Lungengewebe signifikant höhere Magnesiumwerte als im Lymphknotengewebe (siehe Abb. 37).

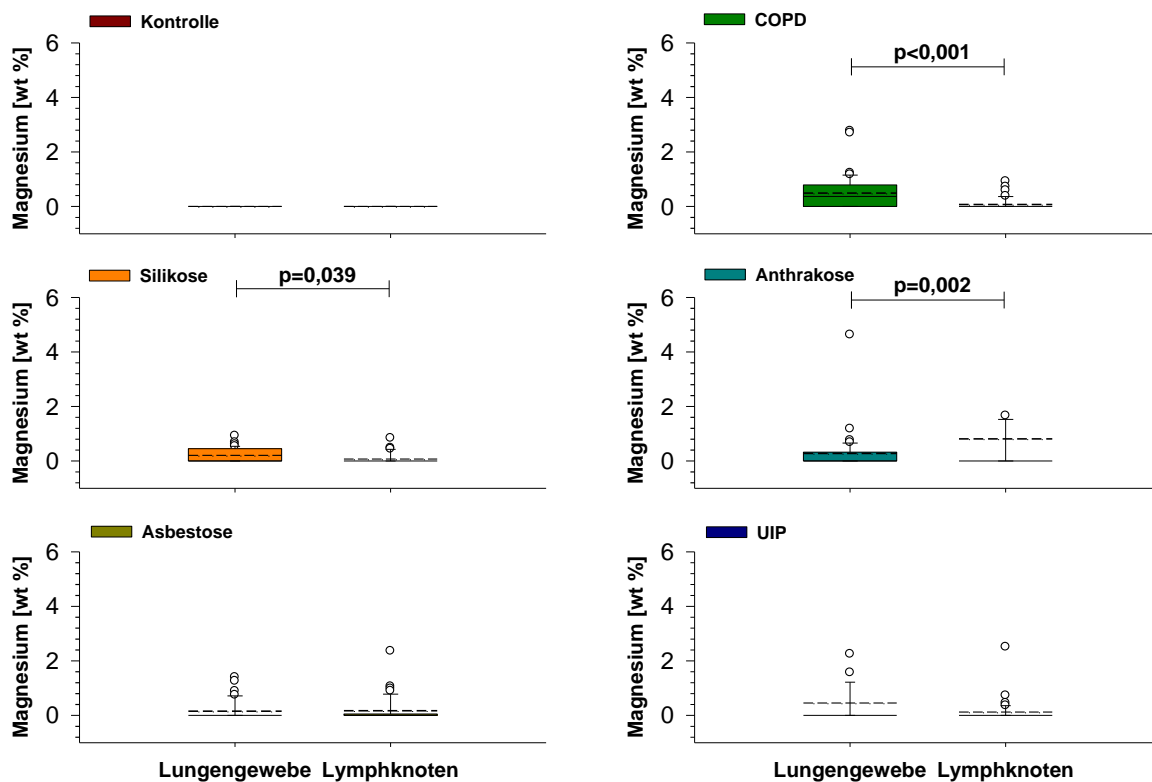


Abbildung 37 EDX-Spektrenanalyse zum Magnesium (wt %) Lungen-vs. LK- Gewebe

Der Boxplot zeigt Standardabweichungen und Absolutwerte. Die durchgehende Linie ist der Median, die gestrichelte Linie stellt den Mittelwert dar. UIP (idiopathische Lungenfibrose).

Die Kontroll-, Silikose- und UIP-Patienten zeigten keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf die Eisenwerte zwischen Lungengewebe und Lymphknoten. In der Asbestosegruppe konnte eine Tendenz ($p=0,074$) gezeigt werden, dass in den Lymphknoten mehr Eisen gemessen werden konnte als im Lungengewebe. Neben dem Magnesium ist auch Eisen in der COPD-Gruppe und in der Anthrakosegruppe signifikant mehr im Lungengewebe als im Lymphknoten vorhanden (siehe Abb. 38).

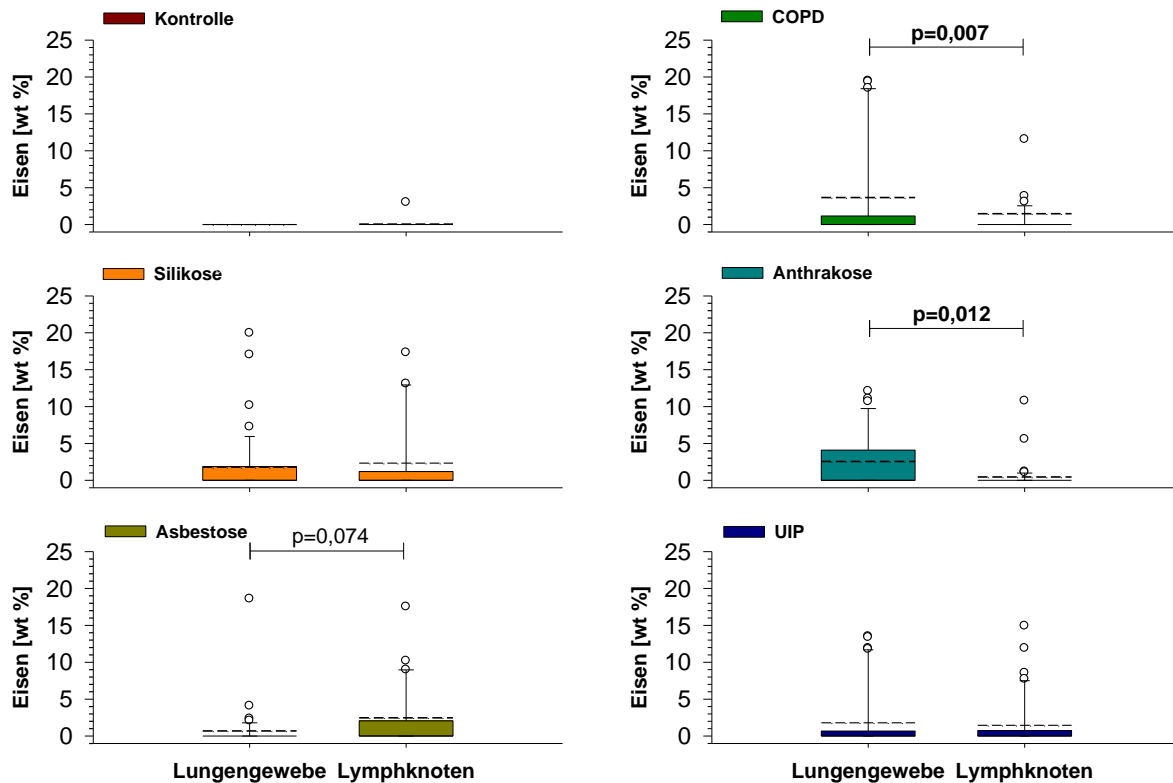


Abbildung 38 EDX-Spektrenanalyse zum Eisen (wt %) Lungen-vs. LK-Gewebe

Der Boxplot zeigt Standardabweichungen und Absolutwerte. Die durchgehende Linie ist der Median, die gestrichelte Linie stellt den Mittelwert dar. UIP (idiopathische Lungenfibrose).

In der Kontroll- und COPD-Gruppe gab es keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf Natrium zwischen dem Lungengewebe und dem Lymphknotengewebe. In der Silikosegruppe konnte signifikant mehr Natrium im Lungen- als im Lymphknotengewebe gemessen werden. Weiterhin konnte eine Tendenz ($p=0,095$) in der Asbestosegruppe gezeigt werden. Hier war tendenziell mehr Natrium im Lungengewebe messbar. Signifikante Unterschiede konnten auch in der Anthrakosegruppe gezeigt werden. Demzufolge war mehr Natrium im Lungengewebe. Die UIP-Patienten zeigten eine Tendenz ($p=0,078$) mit mehr Natrium im Lungengewebe (siehe Abb. 39).

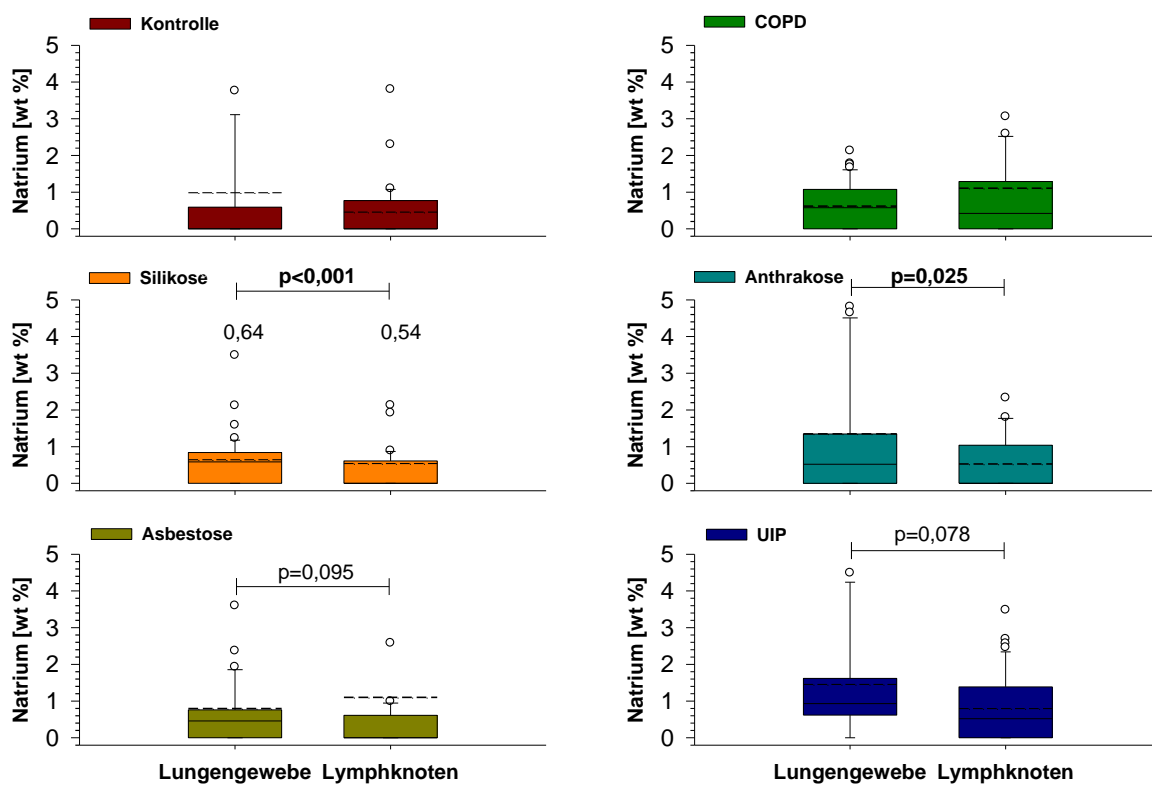


Abbildung 39 EDX-Spektrenanalyse zum Natrium (wt %) Lungen-vs LK-Gewebe

0,64 und 0,54 sind Mittelwerte. Der Boxplot zeigt Standardabweichungen und Absolutwerte. Die durchgehende Linie ist der Median, die gestrichelte Linie stellt den Mittelwert dar. UIP (idiopathische Lungenfibrose).

In allen untersuchten Gruppen konnte kein signifikanter Unterschied zwischen Lungengewebe und Lymphknoten in Bezug auf Kohlenstoff in der EDX-Analyse festgestellt werden (Abb. 45).

Die Kontroll-, Silikose-, Asbestosegruppe und COPD-Gruppe zeigten keine signifikanten Unterschiede der Calciummesswerte zwischen dem Lungengewebe und dem Lymphknotengewebe. Die Anthrakosegruppe zeigte im Lymphknoten signifikant höhere Calciumwerte als im Lungengewebe. Im Gegensatz dazu war im Lungengewebe mit idiopathischer Lungenfibrose signifikant mehr Calcium als im Lymphknoten (siehe Abb. 40).

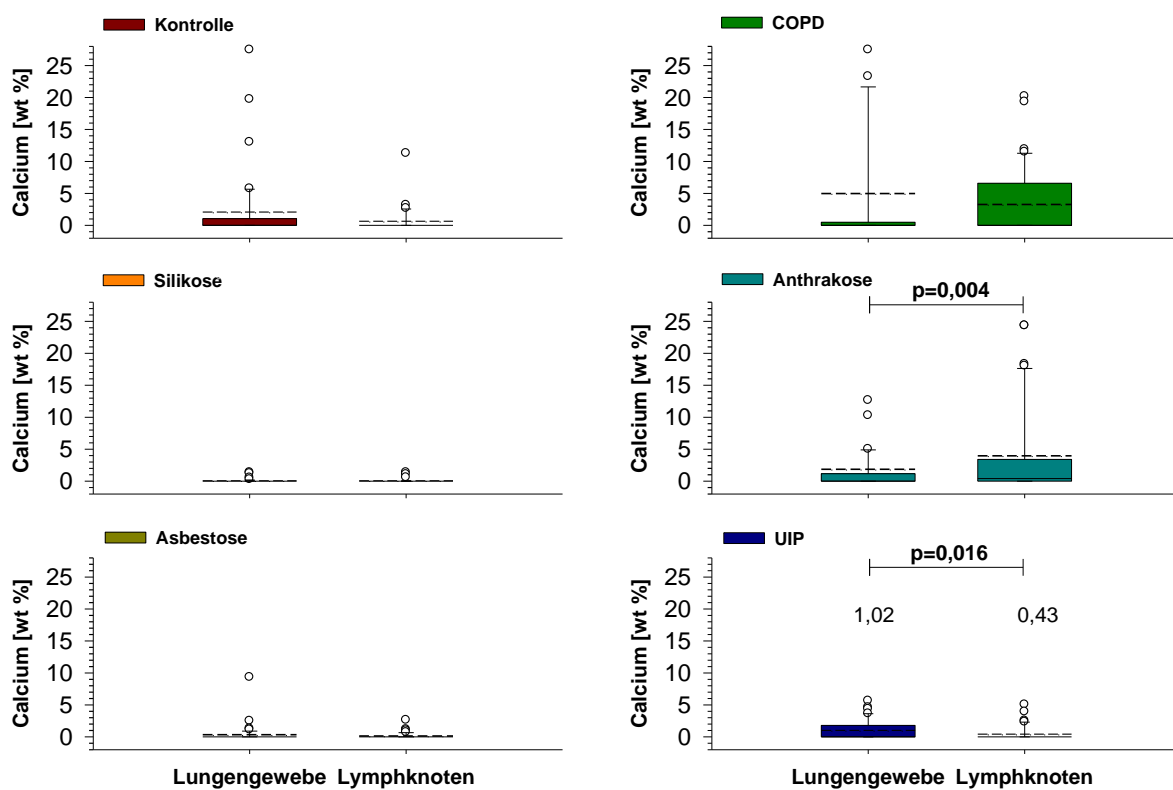


Abbildung 40 EDX-Spektrenanalyse zum Calcium (wt %) Lungen-vs. LK-Gewebe

1,02 und 0,43 sind Mittelwerte. Der Boxplot zeigt Standardabweichungen und Absolutwerte. Die durchgehende Linie ist der Median, die gestrichelte Linie stellt den Mittelwert dar. UIP (idiopathische Lungenfibrose).

In allen untersuchten Gruppen konnte kein signifikanter Unterschied zwischen Lungengewebe und Lymphknoten in Bezug auf Kohlenstoff in der EDX-Analyse festgestellt werden (siehe Abb. 41).

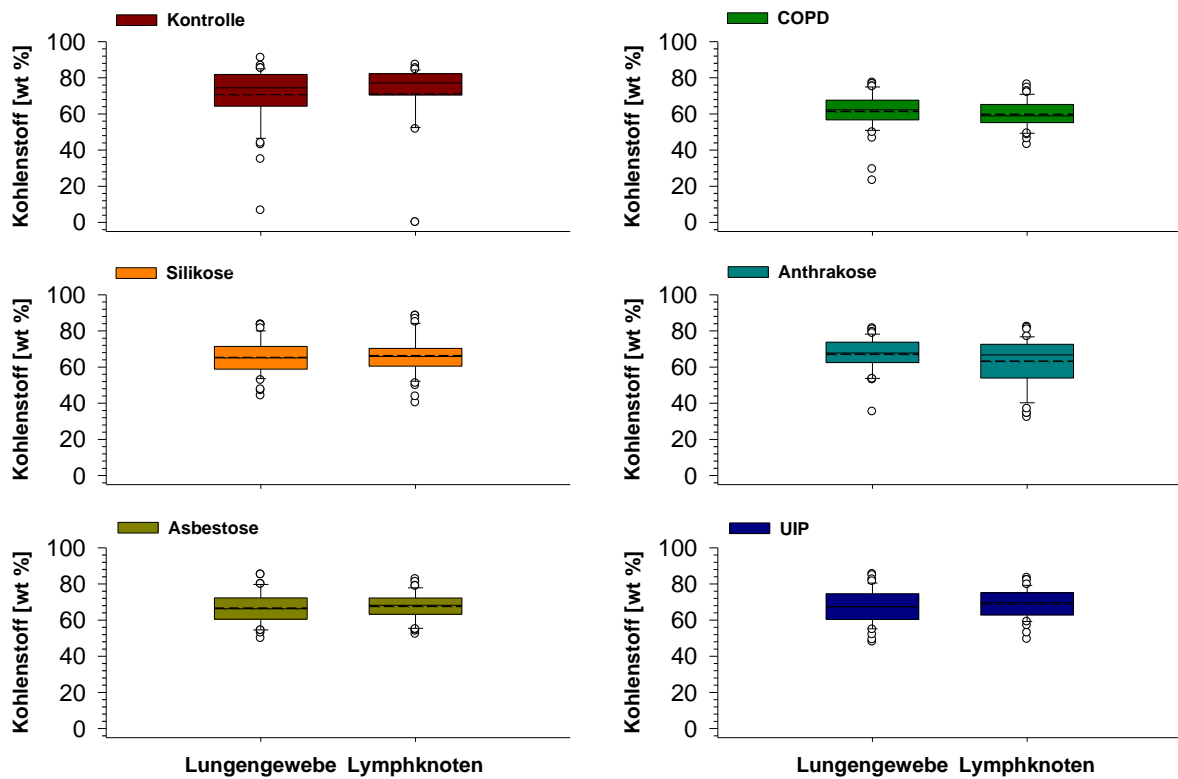


Abbildung 41 EDX-Spektrenanalyse zum Kohlenstoff (wt %) Lungen-vs. LK-Gewebe

Der Boxplot zeigt Standardabweichungen und Absolutwerte. Die durchgehende Linie ist der Median, die gestrichelte Linie stellt den Mittelwert dar. UIP (idiopathische Lungenfibrose).

Für das untersuchte Element Sauerstoff konnte nur in der Kontrollgruppe zwischen Lungengewebe und Lymphknoten eine Signifikanz festgestellt werden. Demzufolge enthält das Lungengewebe der Kontrollpatienten signifikant mehr Sauerstoff als das Lymphknotengewebe. Die übrigen Gruppen zeigten keine signifikanten Unterschiede (siehe Abb. 42).

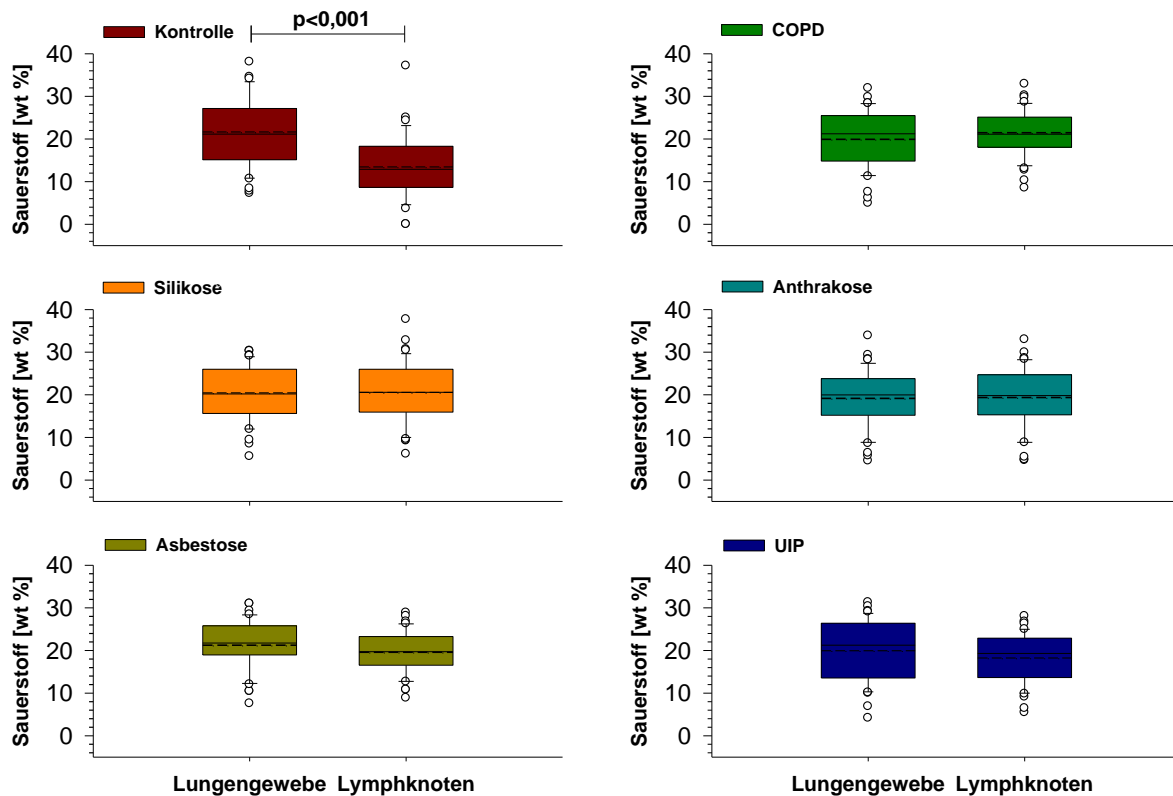


Abbildung 42 EDX-Spektrenanalyse zum Sauerstoff (wt %) Lungen-vs. LK-Gewebe

Der Boxplot zeigt Standardabweichungen und Absolutwerte. Die durchgehende Linie ist der Median, die gestrichelte Linie stellt den Mittelwert dar. UIP (idiopathische Lungenfibrose).

In allen untersuchten Gruppen konnte kein signifikanter Unterschied zwischen Lungengewebe und Lymphknoten in Bezug auf Schwefel in der EDX-Analyse festgestellt werden (siehe Abb. 43).

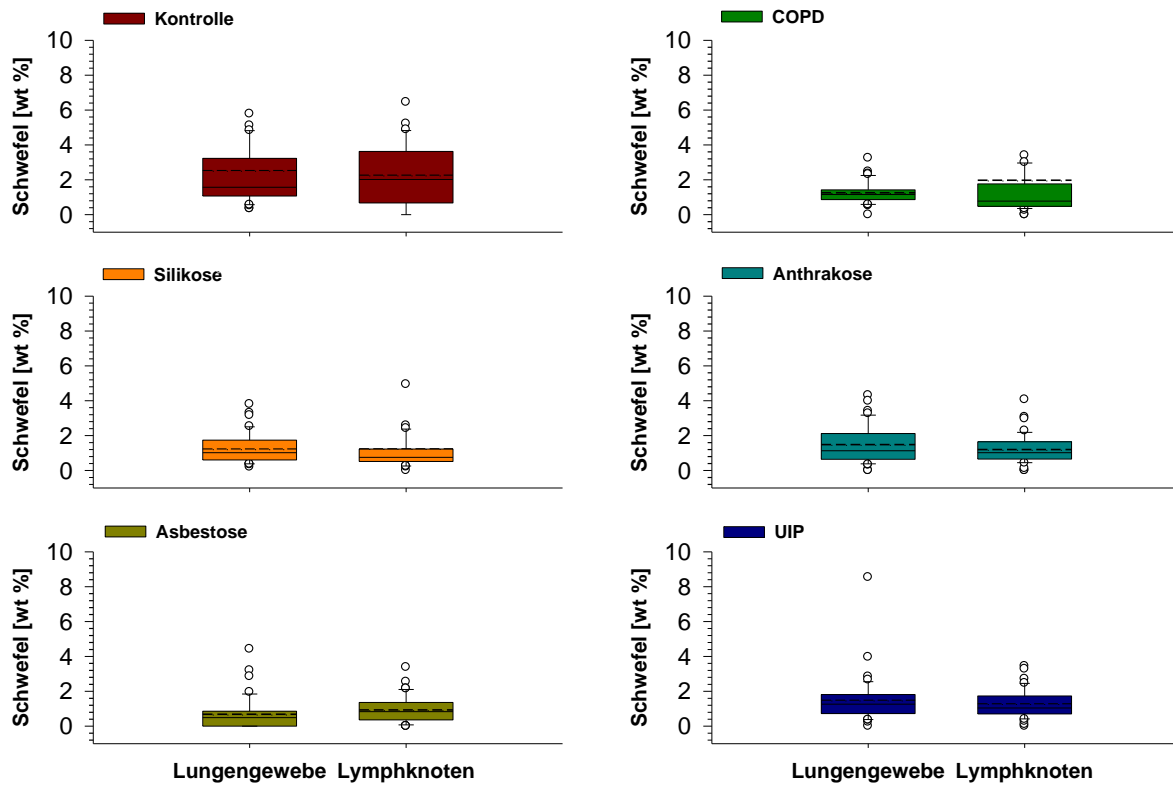


Abbildung 43 EDX-Spektrenanalyse zum Schwefel (wt %) Lungen-vs. LK-Gewebe

Der Boxplot zeigt Standardabweichungen und Absolutwerte. Die durchgehende Linie ist der Median, die gestrichelte Linie stellt den Mittelwert dar. UIP (idiopathische Lungenfibrose).

Die Probanden der Kontroll-, Asbestose- und UIP-Gruppe wiesen keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf die Kaliummesswerte zwischen Lungen- und Lymphknotengewebe auf. Jedoch zeigten die Silikose-, COPD- und Anthrakosegruppe signifikant höhere Kaliumwerte im Lungengewebe als in den Lymphknoten (siehe Abb. 44).

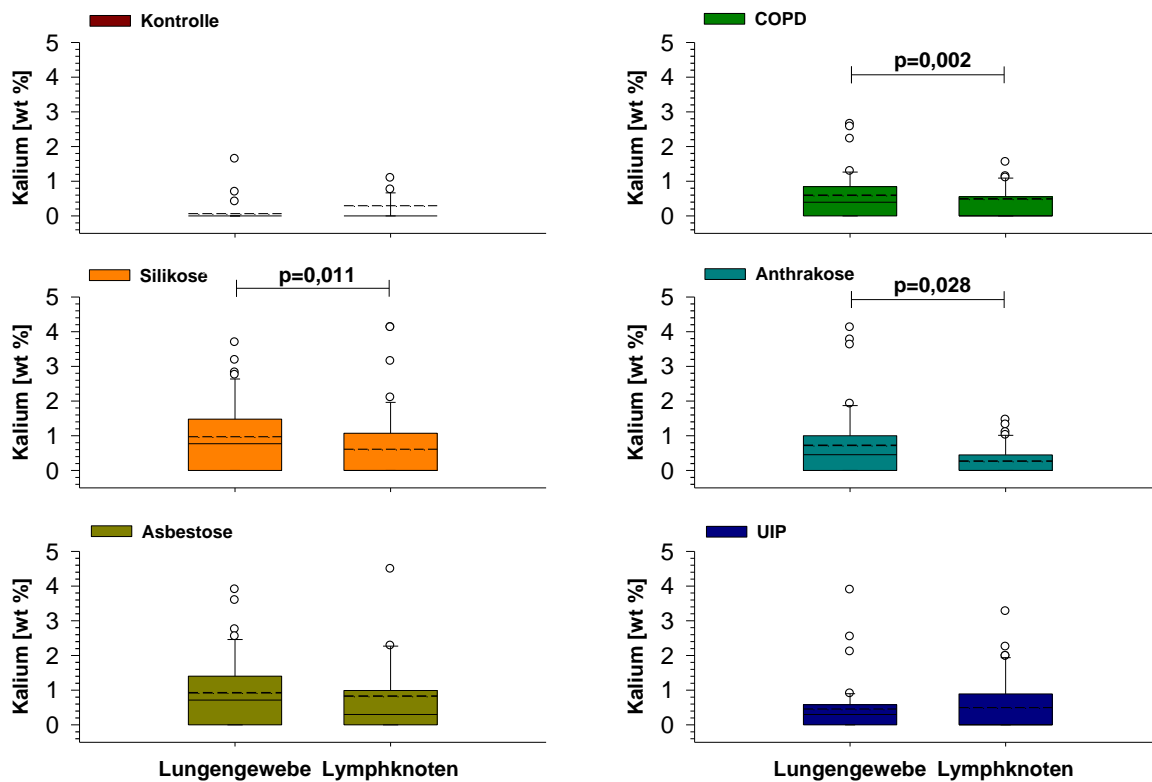


Abbildung 44 EDX-Spektrenanalyse zum Kalium (wt %) Lungen-vs. LK-Gewebe

Der Boxplot zeigt Standardabweichungen und Absolutwerte. Die durchgehende Linie ist der Median, die gestrichelte Linie stellt den Mittelwert dar. UIP (idiopathische Lungenfibrose).

Die Kontroll-, Silikose- und Asbestosegruppe zeigten keine signifikanten Unterschiede der Chloridmesswerte zwischen dem Lungengewebe und dem Lymphknotengewebe. Die übrigen drei Gruppen zeigten signifikant höhere Chloridwerte im Lungengewebe als im Lymphknotengewebe (siehe Abb. 45).

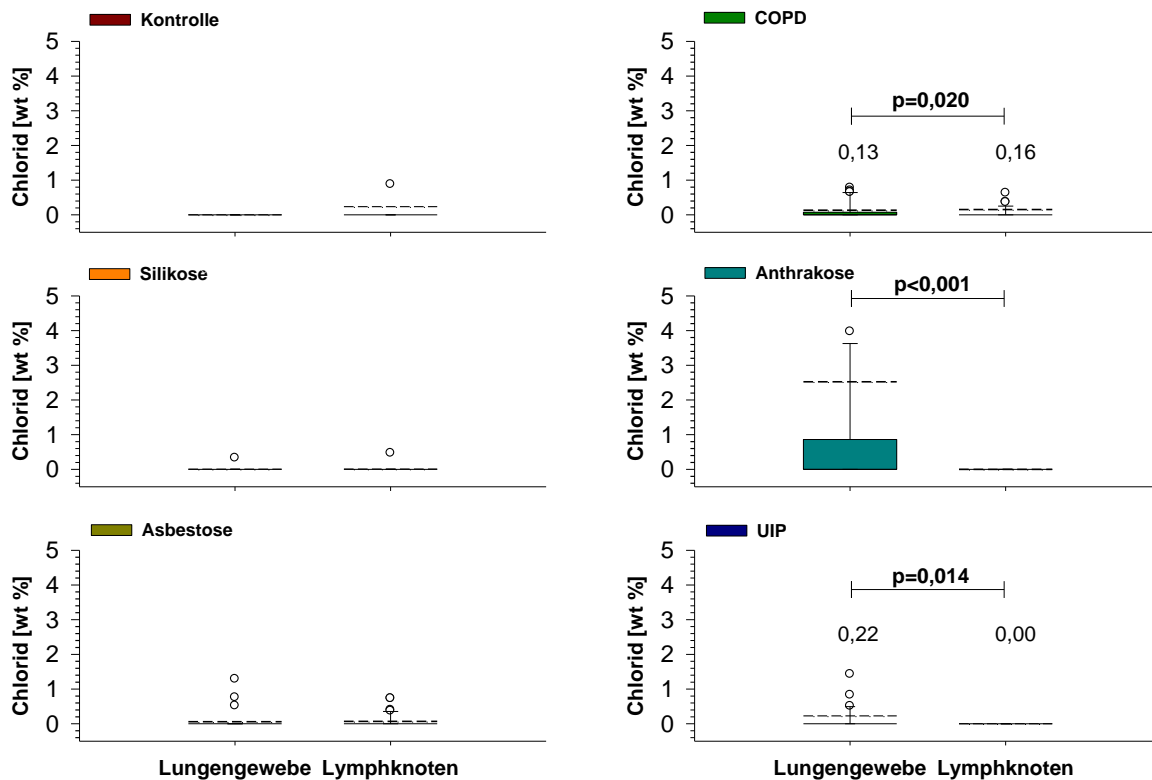


Abbildung 45 EDX-Spektrenanalyse zum Chlorid (wt %) Lungen-vs. LK-Gewebe

0,13 und 0,16 sind Mittelwerte. Der Boxplot zeigt Standardabweichungen und Absolutwerte. Die durchgehende Linie ist der Median, die gestrichelte Linie stellt den Mittelwert dar. UIP (idiopathische Lungenfibrose).

Die Kontroll- und Anthrakosegruppe zeigten keine signifikanten Unterschiede der Phosphatmesswerte zwischen dem Lungengewebe und dem Lymphknotengewebe. Tendenzen zeigten sich sowohl in der Silikosegruppe ($p=0,086$) als auch in der COPD-Gruppe ($p=0,058$). In beiden Gruppen gab es Hinweise auf einen gesteigerten Phosphatwert im Lymphknoten. In der Asbestose und UIP- Gruppe enthielt das Lungengewebe signifikant mehr Phosphat als in den Lymphknoten (siehe Abb. 46).

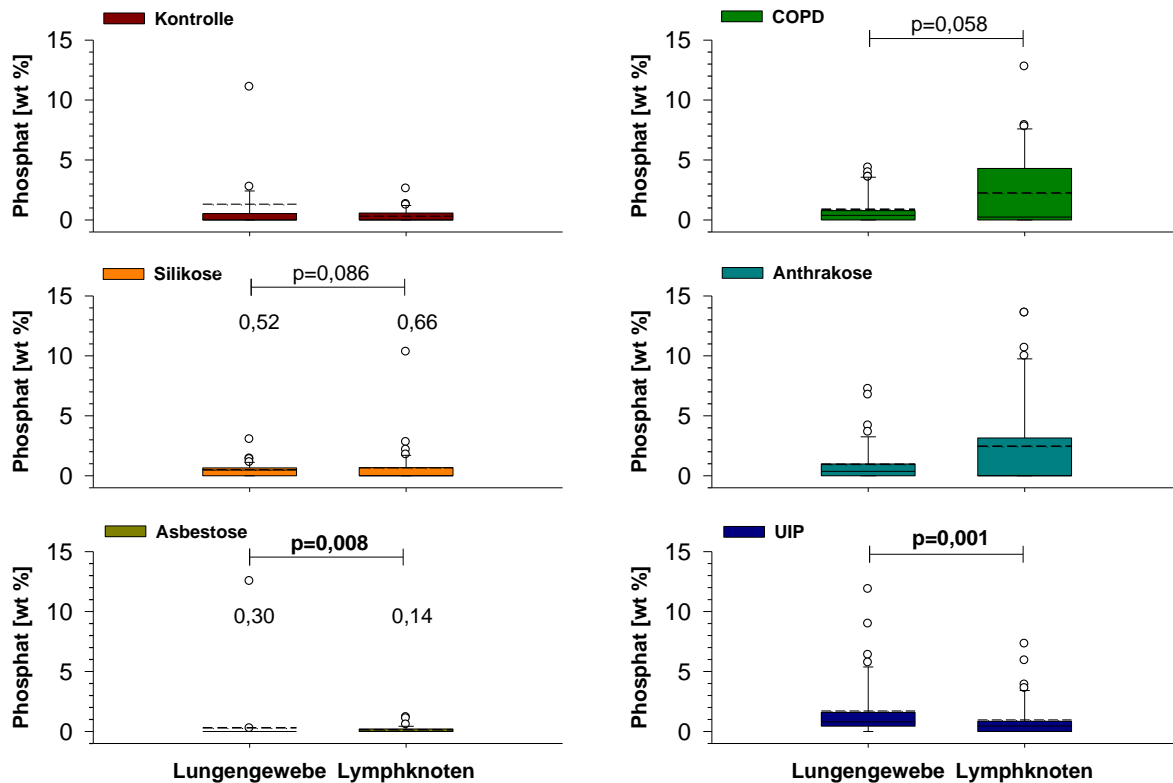


Abbildung 46 EDX-Spektrenanalyse zum Phosphat (wt %) Lungen-vs. LK-Gewebe

0,52, 0,66, 0,30 und 0,14 sind Mittelwerte. Der Boxplot zeigt Standardabweichungen und Absolutwerte. Die durchgehende Linie ist der Median, die gestrichelte Linie stellt den Mittelwert dar. UIP (idiopathische Lungenfibrose).

4.3 Vergleich der Elemente im Lungengewebe zwischen den Gruppen

Für die Lungengewebsproben der Kontrollgruppe wurde unter Spektralanalyse signifikant weniger Silicium ermittelt gegenüber den übrigen Gruppen. Mit Ausnahme der Asbestosegruppe zeigten Patienten mit Silikose signifikant höhere Siliciumwerte im Vergleich zu den anderen untersuchten Gruppen. Die Asbestosepatienten zeigten in ihren Lungengewebsproben signifikant höhere Werte gegenüber den Anthrakose- und UIP-Patienten. Die COPD-Patienten und Anthrakosepatienten zeigen ferner signifikant höhere Siliciumanreicherungen im Lungengewebe als Patienten mit UIP (siehe Abb. 47).

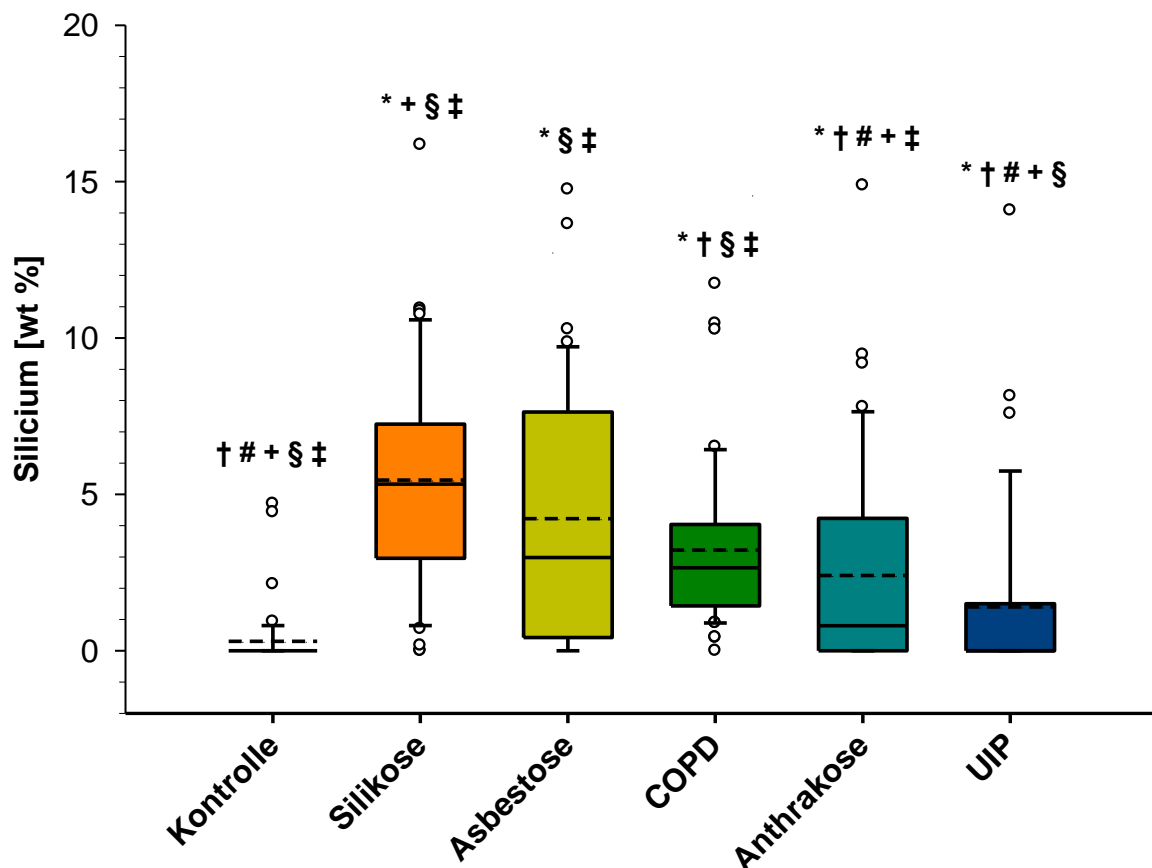


Abbildung 47 EDX-Spektrenanalyse zum Silicium (wt %) in der Lunge

Der Boxplot zeigt Standardabweichungen und Absolutwerte. Die durchgehende Linie ist der Median, die gestrichelte Linie stellt den Mittelwert dar. * $p < 0.05$ versus Kontrolle. † $p < 0.05$ versus Silikose. # $p < 0.05$ versus Asbestose. + $p < 0.05$ versus COPD. § $p < 0.05$ versus Anthrakose. ‡ $p < 0.05$ versus UIP (idiopathische Lungenfibrose).

Die Werte der Spektrenanalyse für Aluminium in der Kontrollgruppe sind abgesehen von den Patienten mit idiopathischer Lungenfibrose signifikant geringer gegenüber den übrigen Gruppen. Das Lungengewebe der Silikosegruppe enthielt signifikant mehr Aluminium als das Lungengewebe der COPD-, Anthrakose- und UIP-Gruppen. Dies gilt auch für die Asbestosegruppe. Zusätzlich konnten in der COPD-Gruppe signifikant höhere Aluminiumwerte nachgewiesen werden als in der UIP-Gruppe (siehe Abb. 48).

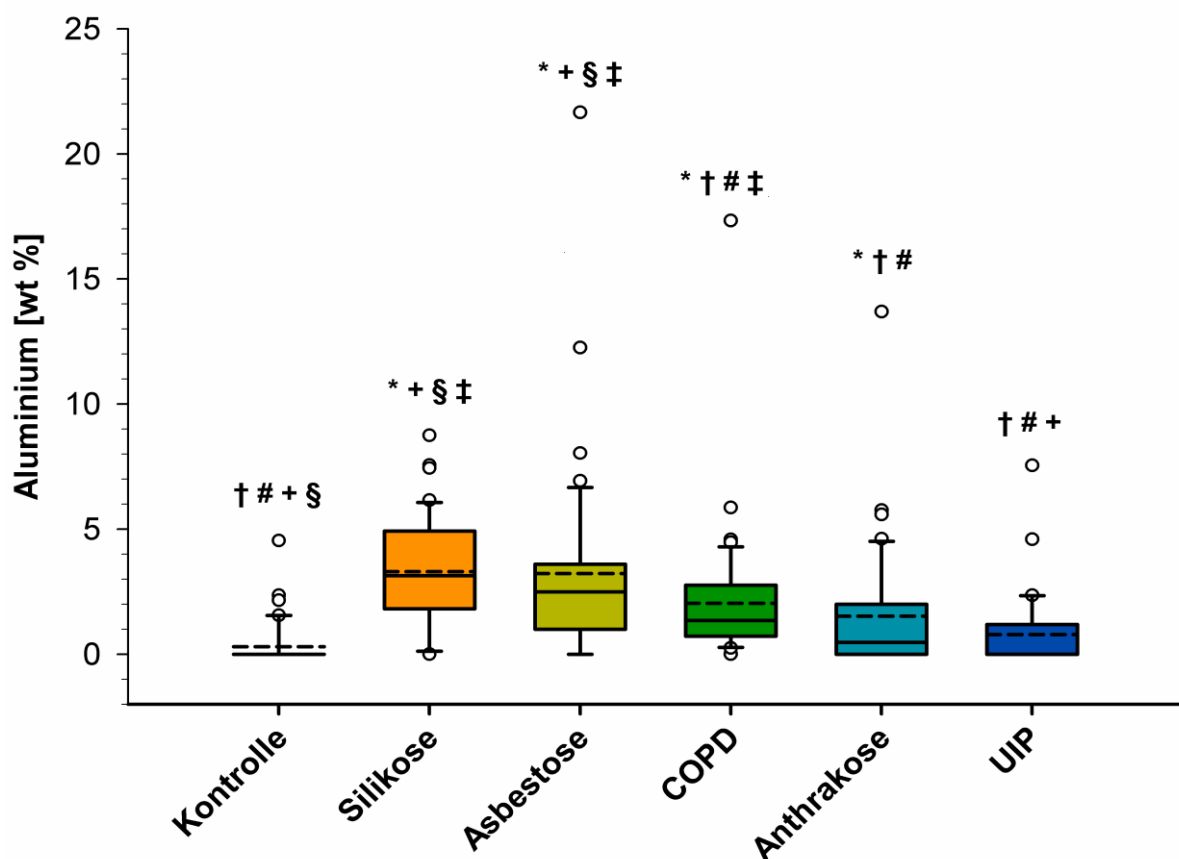


Abbildung 48 EDX-Spektrenanalyse zum Aluminium (wt %) in der Lunge

Der Boxplot zeigt Standardabweichungen und Absolutwerte. Die durchgehende Linie ist der Median, die gestrichelte Linie stellt den Mittelwert dar. * $p < 0.05$ versus Kontrolle. † $p < 0.05$ versus Silikose. # $p < 0.05$ versus Asbestose. + $p < 0.05$ versus COPD. § $p < 0.05$ versus Anthrakose. ‡ $p < 0.05$ versus UIP (idiopathische Lungenfibrose).

Die Kontrollgruppe zeigte signifikant geringere Messwerte für Magnesium gegenüber den übrigen Gruppen. Es konnten keine Rückstände von Magnesium im Lungengewebe der Kontrollgruppe nachgewiesen werden. Im Vergleich zu der Asbestose- und UIP-Gruppe waren in der Silikosegruppe signifikant höhere Magnesiumwerte messbar. In der COPD-Gruppe wurden die signifikant höchsten Messwerte gegenüber den anderen Gruppen ermittelt. Letztendlich zeigten sich in der Anthrakosegruppe signifikant größere Magnesiumwerte als bei Patienten mit idiopathischer Lungenfibrose (siehe Abb. 49).

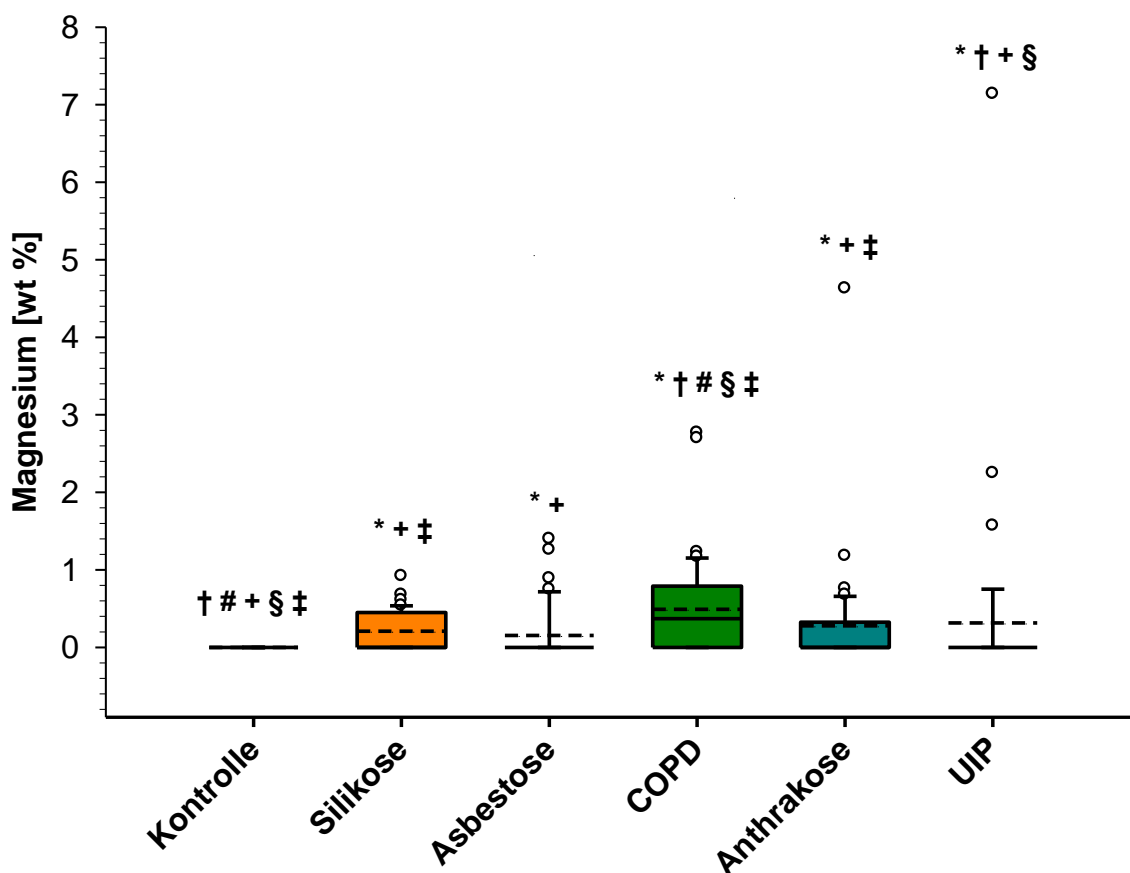


Abbildung 49 EDX-Spektrenanalyse zum Magnesium (wt %) in der Lunge

Der Boxplot zeigt Standardabweichungen und Absolutwerte. Die durchgehende Linie ist der Median, die gestrichelte Linie stellt den Mittelwert dar. * $p < 0.05$ versus Kontrolle. † $p < 0.05$ versus Silikose. # $p < 0.05$ versus Asbestose. + $p < 0.05$ versus COPD. § $p < 0.05$ versus Anthrakose. ‡ $p < 0.05$ versus UIP (idiopathische Lungenfibrose).

Im Lungengewebe der Kontrollgruppe war kein Eisen detektierbar. Somit sind die Messwerte für Eisen in der Kontrollgruppe signifikant geringer als in den anderen Untersuchungsgruppen. Das Lungengewebe der Silikose- und COPD-Patienten enthielt signifikant mehr Eisen als das der Asbestosegruppe (siehe Abb. 50).

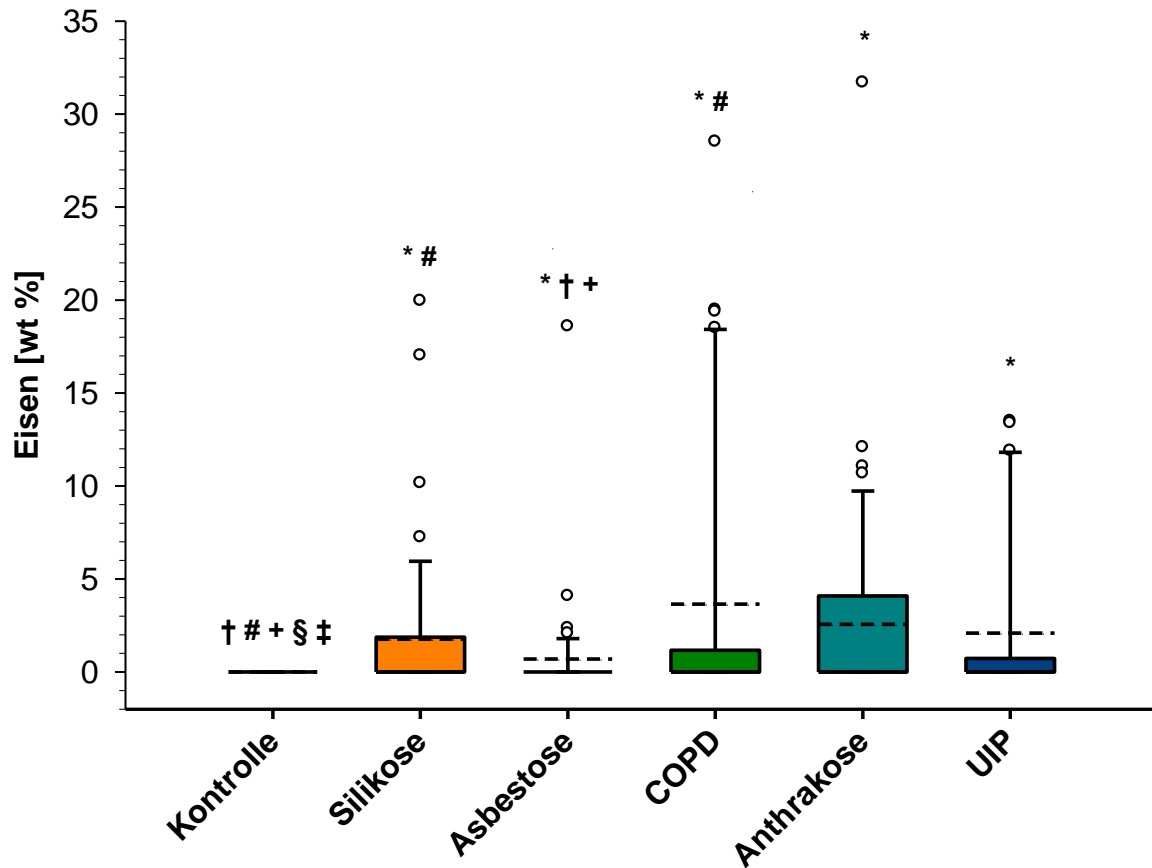


Abbildung 50 EDX-Spektrenanalyse zum Eisen (wt %) in der Lunge

Der Boxplot zeigt Standardabweichungen und Absolutwerte. Die durchgehende Linie ist der Median, die gestrichelte Linie stellt den Mittelwert dar. * $p < 0.05$ versus Kontrolle. † $p < 0.05$ versus Silikose. # $p < 0.05$ versus Asbestose. + $p < 0.05$ versus COPD. § $p < 0.05$ versus Anthrakose. ‡ $p < 0.05$ versus UIP (idiopathische Lungenfibrose).

Die Natriumwerte in der EDX-Analyse zeigten keine signifikanten Unterschiede innerhalb der einzelnen Gruppen und insbesondere im Vergleich mit der Kontrollgruppe (siehe Abb. 51).

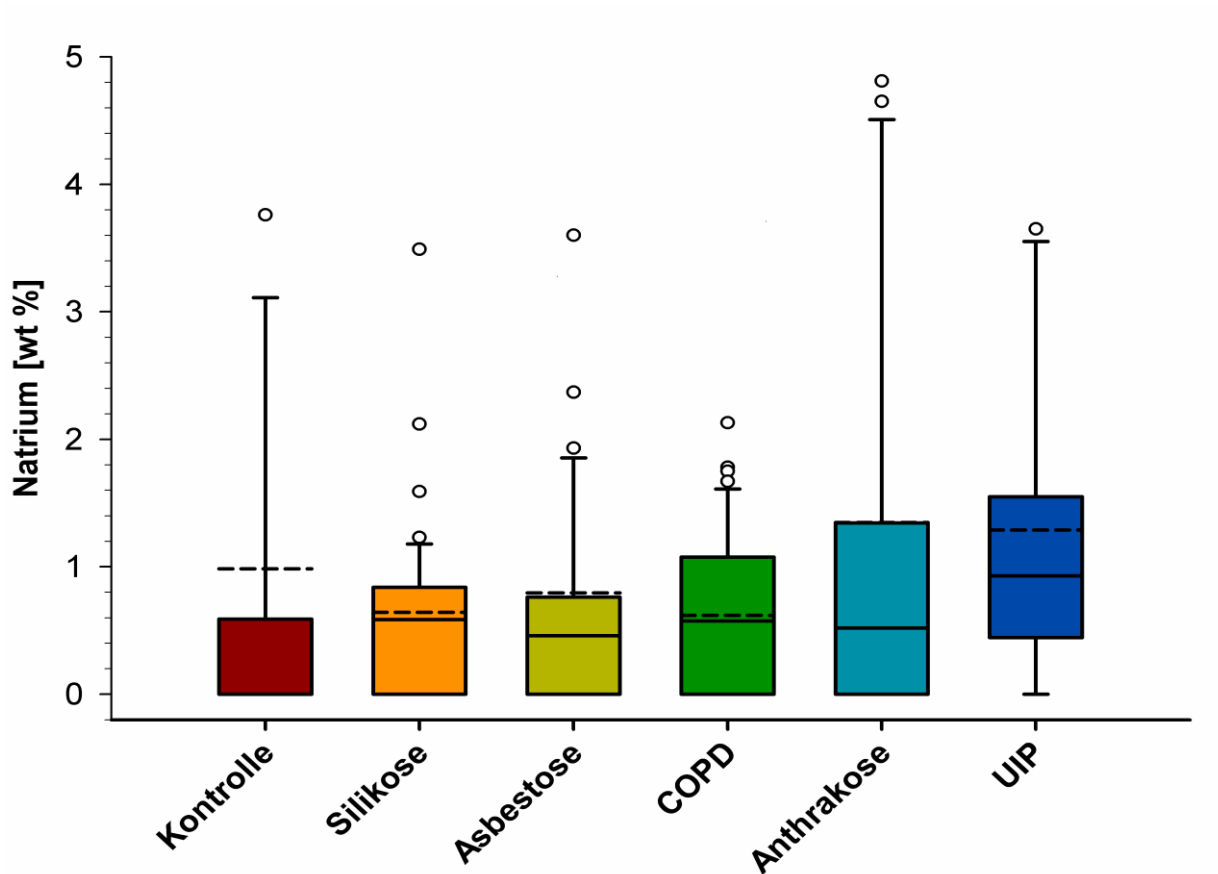


Abbildung 51 EDX-Spektrenanalyse zum Natrium (wt %) in der Lunge

Der Boxplot zeigt Standardabweichungen und Absolutwerte. Die durchgehende Linie ist der Median, die gestrichelte Linie stellt den Mittelwert dar. * $p < 0.05$ versus Kontrolle. † $p < 0.05$ versus Silikose. # $p < 0.05$ versus Asbestose. + $p < 0.05$ versus COPD. § $p < 0.05$ versus Anthrakose. ‡ $p < 0.05$ versus UIP (idiopathische Lungenfibrose).

Die Kontrollgruppe weist signifikant höhere Calciumwerte auf gegenüber der Silikose- und Asbestosegruppe. Die beiden zuletzt genannten Gruppen zeigten zusätzlich signifikant geringere Werte gegenüber der COPD-, Anthrakose- und UIP-Gruppe (siehe Abb. 52).

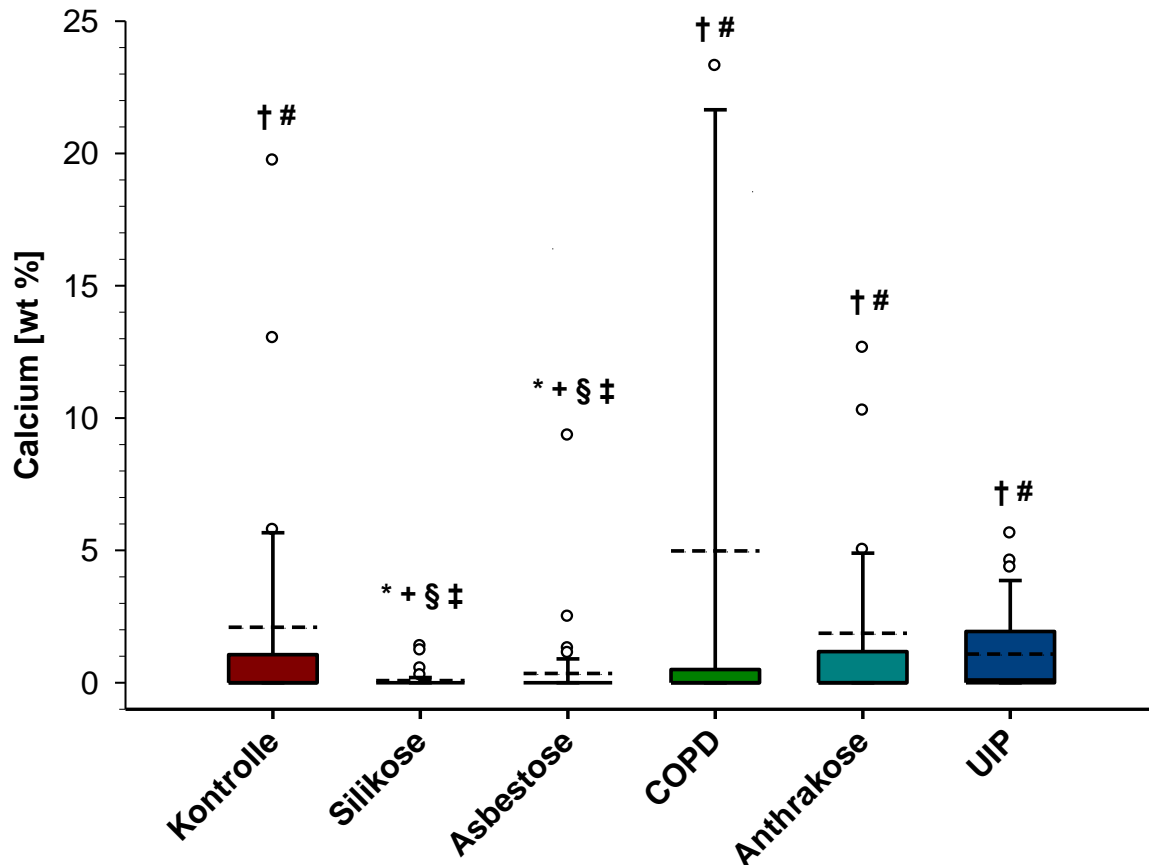


Abbildung 52 EDX-Spektrenanalyse zum Calcium (wt %) in der Lunge

Der Boxplot zeigt Standardabweichungen und Absolutwerte. Die durchgehende Linie ist der Median, die gestrichelte Linie stellt den Mittelwert dar. * $p < 0.05$ versus Kontrolle. † $p < 0.05$ versus Silikose. # $p < 0.05$ versus Asbestose. + $p < 0.05$ versus COPD. § $p < 0.05$ versus Anthrakose. ‡ $p < 0.05$ versus UIP (idiopathische Lungenfibrose).

Die übrigen Messwerte zu den folgenden Elementen Kohlenstoff, Sauerstoff, Schwefel, Kalium, Chlorid und Phosphat sind im Anhang in den Abbildungen 65- 70 zu finden.

4.4 Vergleich der Elemente im Lymphknotengewebe zwischen den Gruppen

Die Kontrollgruppe zeigte signifikant niedrigere Siliciumwerte gegenüber den übrigen Gruppen. Innerhalb der anderen Gruppen gab es keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Siliciumwerte in der EDX-Spektrenanalyse (siehe Abb. 53).

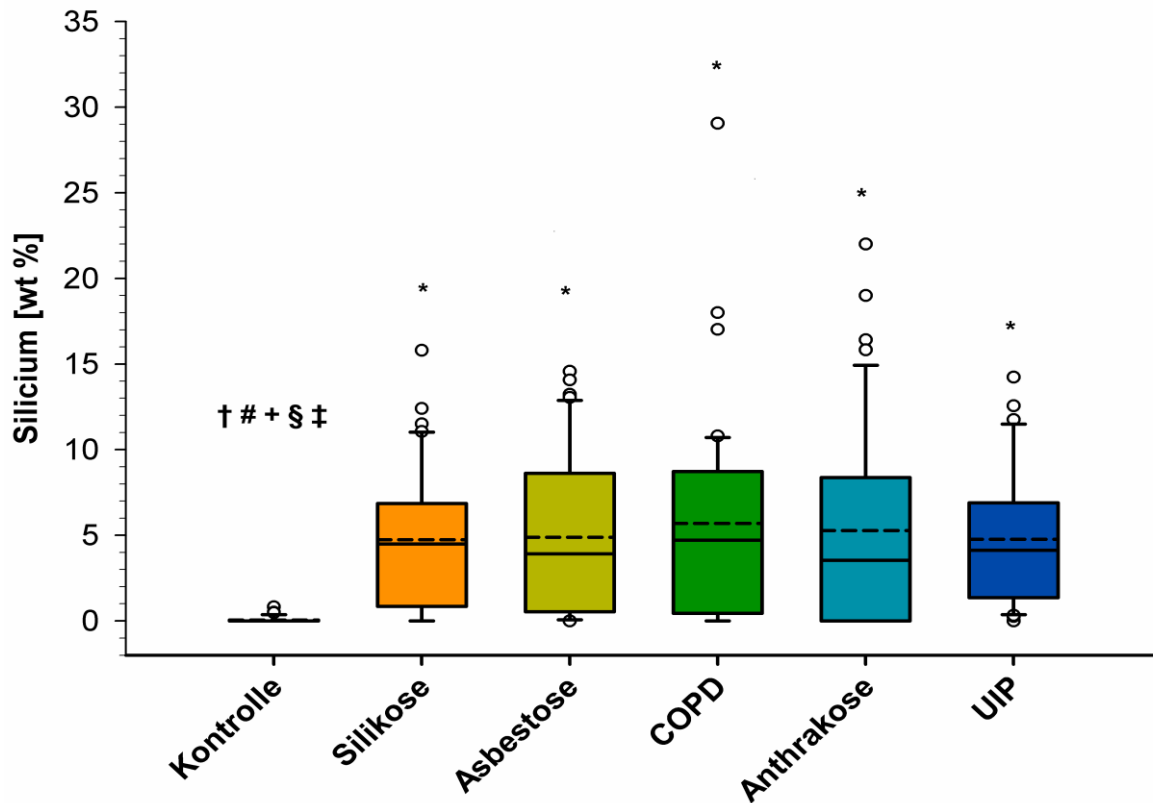


Abbildung 53 EDX-Spektrenanalyse zum Silicium (wt%) im LK-Gewebe

Der Boxplot zeigt Standardabweichungen und Absolutwerte. Die durchgehende Linie ist der Median, die gestrichelte Linie stellt den Mittelwert dar. * $p < 0.05$ versus Kontrolle. † $p < 0.05$ versus Silikose. # $p < 0.05$ versus Asbestose. + $p < 0.05$ versus COPD. § $p < 0.05$ versus Anthrakose. ‡ $p < 0.05$ versus UIP (idiopathische Lungenfibrose).

Die Kontrollgruppe zeigt signifikant niedrigere Aluminiumwerte gegenüber allen anderen Gruppen. Zudem ergaben die Messungen des Aluminiumgehalts in der COPD-Gruppe signifikant höhere Werte im Vergleich zur Silikose-, Asbestose-, Anthrakose und UIP-Gruppe (siehe Abb. 54).

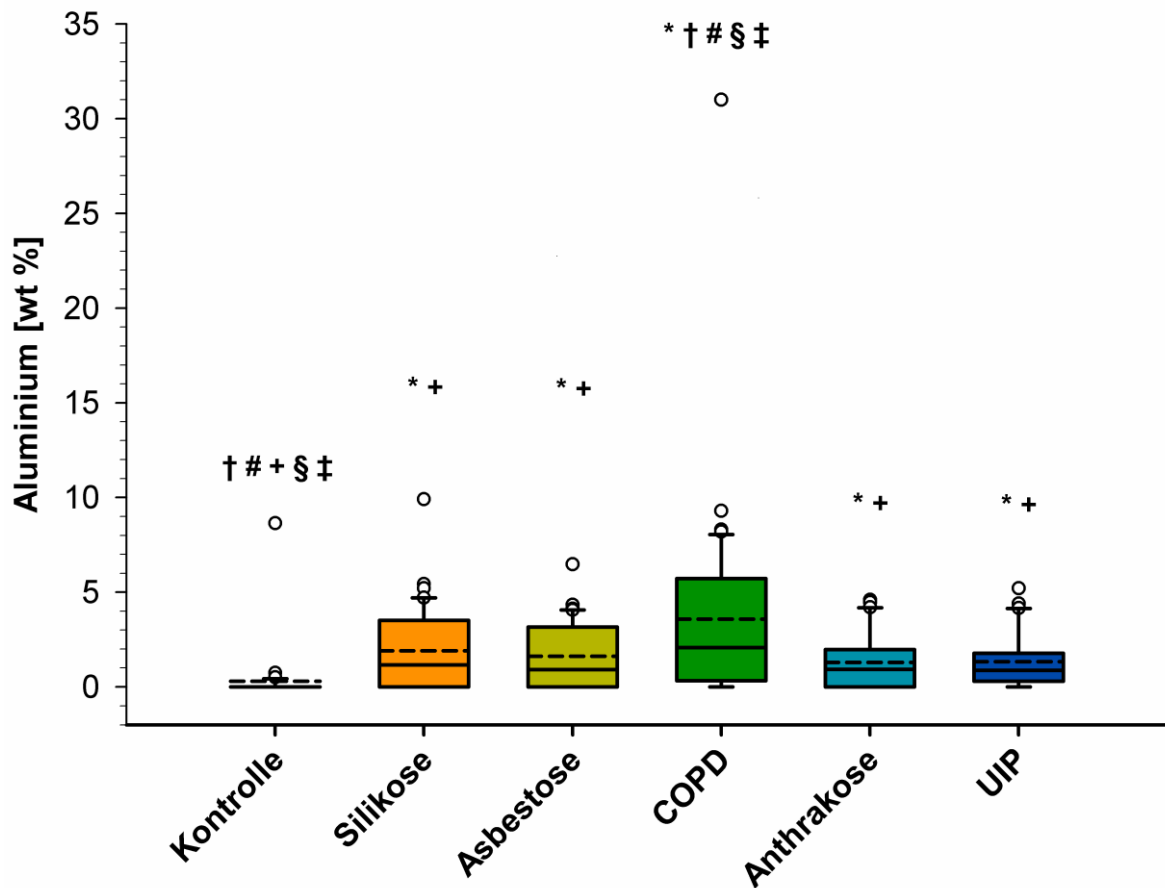


Abbildung 54 EDX-Spektrenanalyse zum Aluminium (wt%) im LK-Gewebe

Der Boxplot zeigt Standardabweichungen und Absolutwerte. Die durchgehende Linie ist der Median, die gestrichelte Linie stellt den Mittelwert dar. * $p < 0.05$ versus Kontrolle. † $p < 0.05$ versus Silikose. # $p < 0.05$ versus Asbestose. + $p < 0.05$ versus COPD. § $p < 0.05$ versus Anthrakose. ‡ $p < 0.05$ versus UIP (idiopathische Lungenfibrose).

Die EDX-Spektrenanalyse für Magnesium ergab signifikant niedrigere Werte in der Kontrollgruppe gegenüber der Silikose-, Asbestose- und der COPD-Gruppe. Innerhalb der anderen Gruppen gab es keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Magnesiumwerte in der EDX-Spektrenanalyse (siehe Abb. 55).

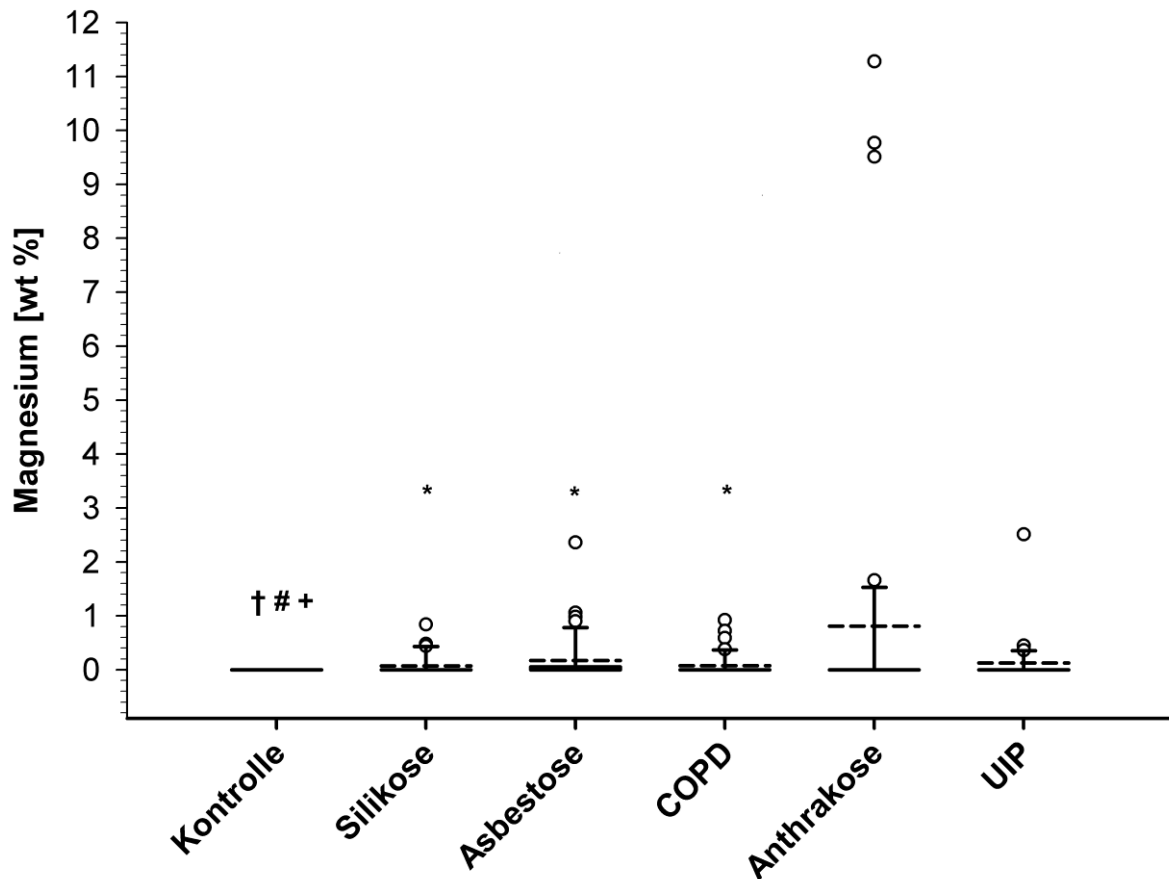


Abbildung 55 EDX-Spektrenanalyse zum Magnesium (wt%) im LK-Gewebe

Der Boxplot zeigt Standardabweichungen und Absolutwerte. Die durchgehende Linie ist der Median, die gestrichelte Linie stellt den Mittelwert dar. * $p < 0.05$ versus Kontrolle. † $p < 0.05$ versus Silikose. # $p < 0.05$ versus Asbestose. + $p < 0.05$ versus COPD. § $p < 0.05$ versus Anthrakose. ‡ $p < 0.05$ versus UIP (idiopathische Lungenfibrose).

Die Eisenmessungen in der EDX-Spektrenanalyse im Lymphknotengewebe der Kontrolle ergaben signifikant niedrigere Werte im Vergleich zur Silikose, Asbestose- und UIP-Gruppe. Innerhalb der anderen Gruppen gab es keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Eisenwerte in der EDX-Spektrenanalyse (siehe Abb. 56).

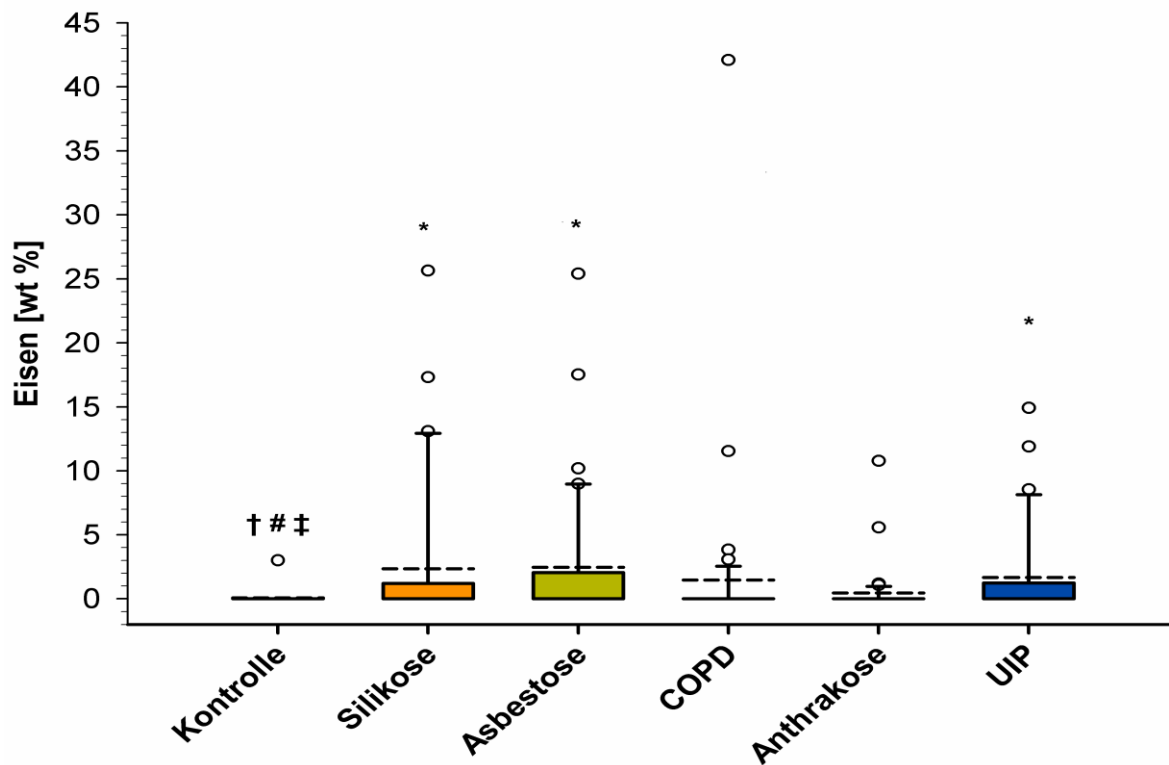


Abbildung 56 EDX-Spektrenanalyse zum Eisen (wt%) im LK-Gewebe

Der Boxplot zeigt Standardabweichungen und Absolutwerte. Die durchgehende Linie ist der Median, die gestrichelte Linie stellt den Mittelwert dar. * $p < 0.05$ versus Kontrolle. † $p < 0.05$ versus Silikose. # $p < 0.05$ versus Asbestose. + $p < 0.05$ versus COPD. § $p < 0.05$ versus Anthrakose. ‡ $p < 0.05$ versus UIP (idiopathische Lungenfibrose).

Die Messungen der Natriumwerte in den unten aufgeführten Gruppen ergab keine signifikanten Unterschiede (siehe Abb. 57).

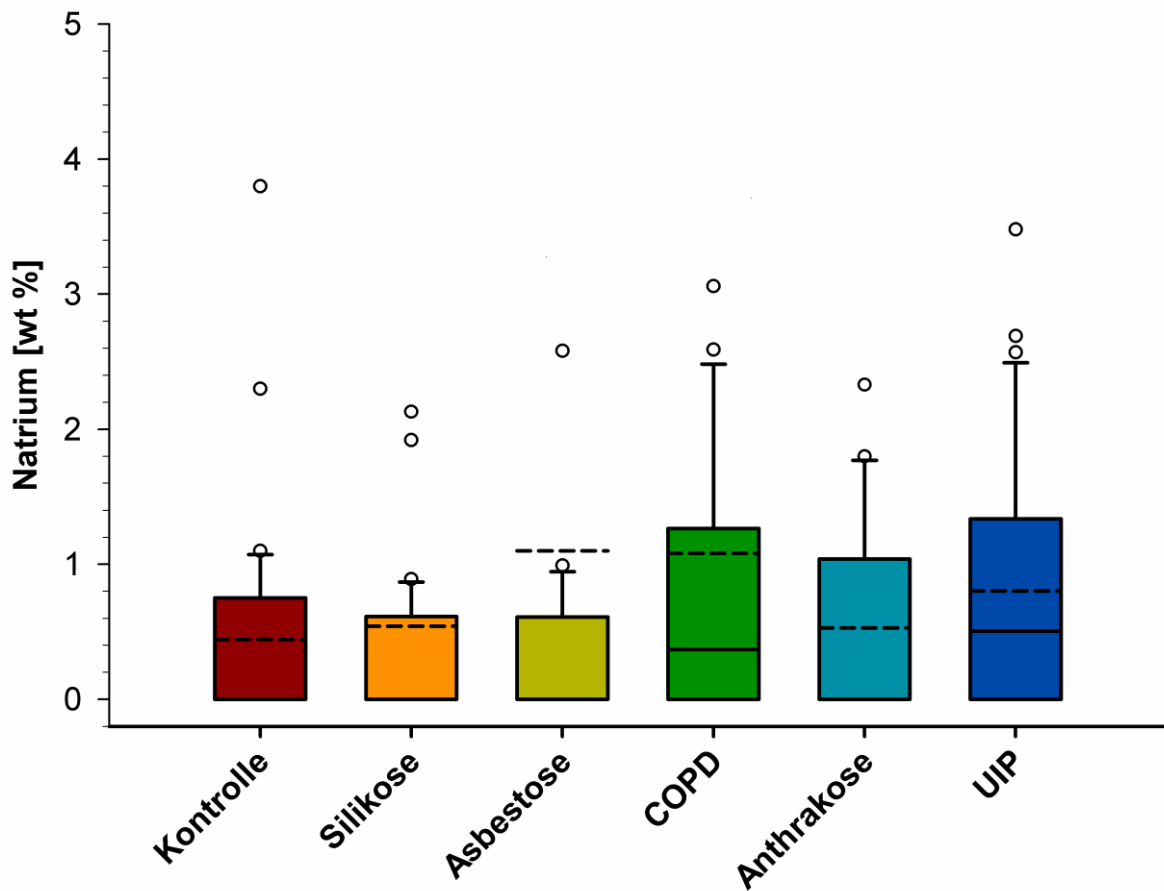


Abbildung 57 EDX-Spektrenanalyse zum Natrium (wt%) im LK-Gewebe

Der Boxplot zeigt Standardabweichungen und Absolutwerte. Die durchgehende Linie ist der Median, die gestrichelte Linie stellt den Mittelwert dar. * $p < 0.05$ versus Kontrolle. † $p < 0.05$ versus Silikose. # $p < 0.05$ versus Asbestose. + $p < 0.05$ versus COPD. § $p < 0.05$ versus Anthrakose. ‡ $p < 0.05$ versus UIP (idiopathische Lungenfibrose).

Die Messungen für Calcium zeigten signifikant höhere Werte in der COPD- und Anthrakosegruppe im Lymphknotengewebe gegenüber den anderen Gruppen. Zwischen der COPD- und der Anthrakosegruppe gibt es keinen signifikanten Unterschied hinsichtlich des Calciumgehalts (siehe Abb. 58).

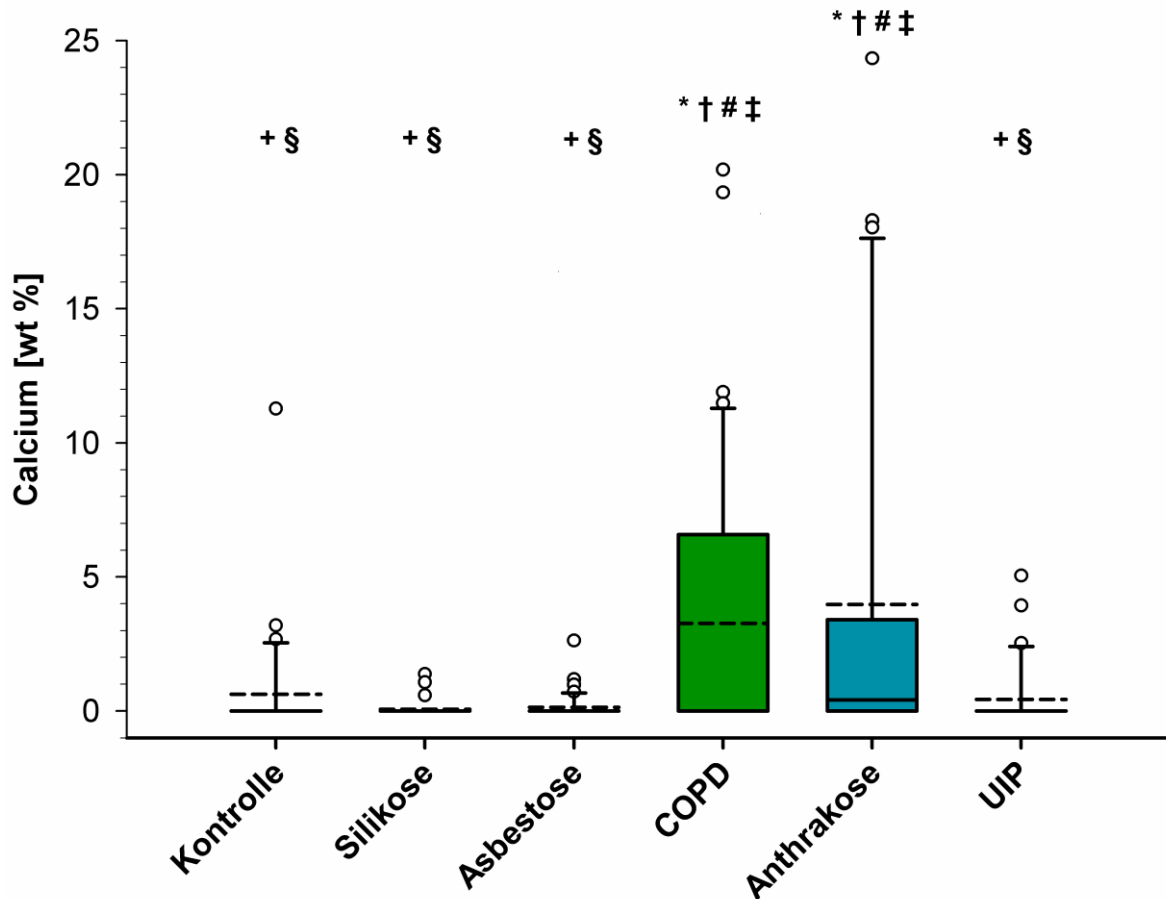


Abbildung 58 EDX-Spektrenanalyse zum Calcium (wt%) im LK-Gewebe

Der Boxplot zeigt Standardabweichungen und Absolutwerte. Die durchgehende Linie ist der Median, die gestrichelte Linie stellt den Mittelwert dar. * $p < 0.05$ versus Kontrolle. † $p < 0.05$ versus Silikose. # $p < 0.05$ versus Asbestose. + $p < 0.05$ versus COPD. § $p < 0.05$ versus Anthrakose. ‡ $p < 0.05$ versus UIP (idiopathische Lungenfibrose).

Die übrigen Messwerte zu den folgenden Elementen Kohlenstoff, Sauerstoff, Schwefel, Kalium, Chlorid und Phosphat sind im Anhang in den Abbildungen 71- 76 zu finden.

4.5 Nachweisbare Elemente in den einzelnen Mikroskopvergrößerungen

In der Silikosegruppe zeigen die unterschiedlichen Vergrößerungen, dass ab 800x eine große Anzahl von Elementen messbar waren (siehe Tab. 4). Es konnte keine Vergrößerung gefunden werden, mit der es möglich war, alle Elemente bei einer Patientenanzahl von n=6 zu messen. In der Vergrößerung 800x konnten die meisten Elemente im Lungengewebe und in den Lymphknoten gemessen werden (siehe Tab. 11 im Anhang)

Tabelle: Lungengewebe der Silikosegruppe bei unterschiedlichen Vergrößerungen.*												
	Elemente											
	C	O	S	Si	Al	Mg	Fe	Na	K	Cl	Ca	P
100x												
n	6	6	6	5	3	0	0	1	0	0	0	2
wt %	74±1	23±2	1,2±0,2	1,6±1,1	0,2±0,1	0	0	0,1±0,1	0	0	0	0,2±0,1
200x												
n	6	6	6	4	2	0	1	2	0	0	0	3
wt %	73±2	23±1	1,3±0,2	1,1±0,1	0,2±0,1	0	0,3±0,3	0,2±0,1	0	0	0	0,3±0,1
400x												
n	6	6	6	6	6	0	3	3	3	0	0	4
wt %	58±8	23±4	1,0±0,3	2,2±0,8	1,7±0,7	0	5,8±4,1	3,4±2,8	0,4±0,2	0	0	4,2±0,3
800x												
n	6	6	6	6	6	4	3	4	4	1	1	2
wt %	61±3	23±3	0,9±0,3	6,7±1,4	4,6±0,8	0,4±0,1	0,7±0,4	0,9±0,5	1,1±0,4	0,1±0,1	0,2±0,2	0,4±0,2
1000x												
n	6	6	6	6	6	4	3	4	6	0	1	4
wt %	67±2	16±1	1,0±0,2	7,5±0,8	5,3±0,6	0,3±0,1	0,8±0,5	0,4±0,2	1,5±0,4	0	0,1±0,1	0,3±0,2
1500x												
n	6	6	6	6	6	4	3	5	6	0	0	5
wt %	65±4	19±3	1,7±0,6	5,6±0,8	3,6±0,5	0,3±0,2	1,3±0,6	0,6±0,1	1,7±0,4	0	0	0,6±0,2
2000x												
n	6	6	6	5	5	1	1	4	3	0	0	4
wt %	71±4	19±2	1,4±0,5	4,3±1,0	2,3±0,7	0,1±0,1	0,2±0,2	0,6±0,3	0,5±0,3	0	0	0,3±0,1
2500x												
n	6	6	6	6	5	4	3	5	4	0	0	5
wt %	71±3	18±3	1,5±0,2	4,3±0,7	2,3±0,5	0,2±0,1	1,5±1,2	0,6±0,2	0,5±0,2	0	0	0,7±0,2
3000x												
n	6	6	6	5	5	1	1	6	3	0	1	3
wt %	56±5	27±2	1,1±0,3	6,8±2,5	3,0±1,3	0,1±0,1	3,3±3,3	1,0±0,1	0,8±0,6	0	0,1±0,1	1,0±0,4
4000x												
n	6	6	6	6	5	3	4	3	4	0	1	4
wt %	67±4	21±3	1,1±0,2	3,2±1,3	2,1±1,0	0,2±0,2	4,6±3,0	0,3±0,1	0,7±0,3	0	0,2±0,2	0,3±0,1

Tabelle 4 Vergrößerungen des Lungengewebes der Silikosegruppe.

Mittelwerte mit Standardfehler. n: Patientenanzahl bei denen das Element nachweisbar war. Die n<6 Werte betreffen in den Vergrößerungen 800x-4000x unterschiedliche Patienten. Um repräsentative Messungen von n>1 Patienten zu erhalten, wurden die Vergrößerungen 800x-4000x gemittelt.

Ab einer Vergrößerung von 800x konnte in der Asbestosegruppe eine große Patientenanzahl mit einer großen Anzahl von Elementen gemessen werden (siehe Tab. 5). Es konnte keine Vergrößerung gefunden werden, mit der es möglich war, alle Elemente bei einer Patientenanzahl von n=6 zu messen. In der Vergrößerung 2500x konnten die meisten Elemente bei großer Patientenanzahl für das Lungengewebe und in den Lymphknoten bei 800x gemessen werden (siehe Anhang Tab. 12).

Tabelle: Lungengewebe der Asbestosegruppe bei unterschiedlichen Vergrößerungen.*

	Elemente											
	C	O	S	Si	Al	Mg	Fe	Na	K	Cl	Ca	P
100x												
n	6	6	4	2	2	0	1	2	1	0	1	1
wt %	65±8	26±1	1,0±0,4	0,8±0,5	0,5±0,3	0	3,0±3,0	0,3±0,2	0,1±0,1	0	0,3±0,3	0,1±0,1
200x												
n	6	6	4	2	1	0	0	1	0	0	0	0
wt %	73±1	25±1	1,0±0,4	0,6±0,4	0,2±0,2	0	0	0,1±0,1	0	0	0	0
400x												
n	6	6	4	4	2	0	0	1	1	0	0	1
wt %	75±1	23±2	0,9±0,4	1,3±0,8	0,5±0,3	0	0	0,1±0,1	0,1±0,1	0	0	0,1±0,1
800x												
n	6	6	4	5	5	1	0	5	4	0	1	1
wt %	66±5	21±2	1,0±0,7	5,4±1,8	3,7±1,2	0,1±0,1	0	0,8±0,3	1,0±0,4	0	0,1±0,1	0,1±0,1
1000x												
n	6	6	5	3	3	0	2	3	3	0	1	0
wt %	65±5	20±3	1,0±0,5	4,7±2,5	2,3±1,2	0	3,2±3,1	0,3±0,1	1,3±0,7	0	1,6±1,6	0
1500x												
n	6	6	3	5	5	1	1	2	3	0	1	1
wt %	71±4	19±1	0,3±0,2	2,1±1,1	3,2±1,9	0,2±0,2	0,4±0,4	1,9±1,7	0,9±1,6	0	0,2±0,2	2,1±2,1
2000x												
n	6	6	3	6	6	1	1	4	5	2	0	0
wt %	64±1	27±2	0,3±0,1	3,9±1,0	2,8±0,7	0,2±0,2	0,4±0,4	1,2±0,6	0,9±0,3	0,2±0,1	0	0
2500x												
n	6	6	4	5	6	1	1	5	5	1	1	0
wt %	64±3	22±2	0,5±0,2	3,8±1,6	2,7±0,6	0,1±0,1	0,2±0,2	1,0±0,3	1,1±0,4	0,2±0,2	0,2±0,2	0
3000x												
n	6	6	4	5	5	2	1	2	4	0	1	0
wt %	68±3	18±3	0,9±0,5	5,0±1,7	5,9±3,3	0,2±0,1	0,1±0,1	0,2±0,1	0,7±0,3	0	0,4±0,4	0
4000x												
n	6	6	4	4	5	3	1	2	4	0	0	0
wt %	69±3	22±1	0,7±0,3	4,8±2,1	2,1±0,5	0,4±0,2	0,7±0,7	0,3±0,2	0,6±0,2	0	0	0

Tabelle 5 Vergrößerungen des Lungengewebes der Asbestosegruppe.

Mittelwerte mit Standardfehler. n: Patientenanzahl bei denen das Element nachweisbar war. Die n<6 Werte betreffen in den Vergrößerungen 800x-4000x unterschiedliche Patienten. Um repräsentative Messungen von n>1 Patienten zu erhalten, wurden die Vergrößerungen 800x-4000x gemittelt.

Ab der Vergrößerung 800x wurden in der COPD-Gruppe alle Elemente gemessen (siehe Tab. 6). Eine Vergrößerung mit allen Elementen bei einer Patientenanzahl von n=6 konnte nicht gefunden werden. Die Vergrößerung 3000x hatte die höchste Patientenanzahl bei der alle Elemente im Lungen- und Lymphknotengewebe nachzuweisen waren. (siehe Anhang Tab. 13).

Tabelle: Lungengewebe der COPD- Gruppe bei unterschiedlichen Vergrößerungen.*

	Elemente											
	C	O	S	Si	Al	Mg	Fe	Na	K	Cl	Ca	P
100x												
n	6	6	6	2	2	0	0	2	1	1	0	2
wt %	74±1	25±1	1,4±0,2	0,2±0,2	0,2±0,2	0	0	0,3±0,2	0,1±0,1	0,1±0,1	0	0,2±0,1
200x												
n	6	6	6	2	3	0	1	3	0	1	1	3
wt %	75±1	22±1	1,4±0,1	0,2±0,1	0,3±0,2	0	0,4±0,4	0,3±0,2	0	0,1±0,1	0,1±0,1	0,4±0,2
400x												
n	6	6	6	4	4	1	2	4	3	0	2	5
wt %	69±5	21±2	1,3±0,1	1,2±0,7	0,9±0,4	0,1±0,1	1,0±0,7	0,7±0,2	0,3±0,2	0	0,4±0,2	0,7±0,2
800x												
n	6	6	6	6	5	5	4	4	6	1	1	3
wt %	62±3	21±2	1,2±0,2	5,6±2,6	1,6±0,6	0,8±0,4	5,0±2,7	0,8±0,2	1,1±0,4	0,1±0,1	0,1±0,1	1,0±0,6
1000x												
n	6	6	6	6	5	3	4	2	5	1	4	4
wt %	64±4	22±2	1,1±0,1	2,0±0,7	0,8±0,4	0,4±0,2	2,5±2,3	0,3±0,2	0,4±0,1	0,1±0,1	6,0±4,5	0,6±0,5
1500x												
n	6	6	6	6	6	4	3	4	4	2	2	5
wt %	61±4	20±3	1,6±0,3	4,4±1,7	1,9±0,8	0,3±0,1	3,4±3,2	0,5±0,2	0,8±0,4	0,2±0,1	4,0±1,9	0,9±0,6
2000x												
n	6	6	6	5	5	3	2	4	4	1	3	5
wt %	66±4	22±2	1,1±0,2	1,6±0,5	1,3±0,4	0,5±0,2	3,2±3,1	0,9±0,3	0,5±0,2	0,1±0,1	2,5±2,3	1,0±0,5
2500x												
n	6	6	6	6	6	3	1	4	4	2	3	6
wt %	58±7	20±4	1,3±0,1	3,3±0,7	2,1±0,7	0,3±0,2	3,1±3,1	0,7±0,2	0,3±0,1	0,2±0,1	10±9	0,9±0,5
3000x												
n	6	6	6	6	6	5	1	4	6	2	3	4
wt %	62±2	20±3	1,3±0,3	3,0±0,7	4,8±2,6	0,6±0,4	3,3±3,3	0,6±0,3	0,7±0,2	0,2±0,1	3,1±2,9	0,9±0,6
4000x												
n	6	6	5	6	6	5	3	3	4	1	2	4
wt %	57±6	15±4	1,3±0,4	2,6±0,6	1,9±0,4	0,5±0,2	5,2±4,7	0,5±0,3	0,4±0,2	0,1±0,1	9±8	1,1±0,7

Tabelle 6 Vergrößerungen des Lungengewebes der COPD-Gruppe.

Mittelwerte mit Standardfehler. n: Patientenanzahl bei denen das Element nachweisbar war. Die n<6 Werte betreffen in den Vergrößerungen 800x-4000x unterschiedliche Patienten. Um repräsentative Messungen von n>1 Patienten zu erhalten, wurden die Vergrößerungen 800x-4000x gemittelt.

Ab den 800x Vergrößerungen wurden bis auf Chlorid in der UIP-Gruppe alle Elemente gemessen (siehe Tab. 7). Eine Vergrößerung mit allen Elementen konnte nicht ermittelt werden. Die Vergrößerung mit den meisten Elementen und höchsten Patientenzahlen war bei den Messungen im Lungengewebe 2500x und 3000x und in den Lymphknoten 1500x (siehe Anhang Tab. 15).

Tabelle: Lungengewebe der UIP- Gruppe bei unterschiedlichen Vergrößerungen.*												
	Elemente											
	C	O	S	Si	Al	Mg	Fe	Na	K	Cl	Ca	P
100x												
n	6	6	6	0	0	0	0	4	2	1	0	5
wt %	74±1	24±1	1,4±0,2	0	0	0	0	0,7±0,2	0,2±0,1	0,2±0,2	0	0,5±0,1
200x												
n	6	6	6	0	0	0	0	6	3	1	0	5
wt %	75±1	23±1	1,3±0,2	0	0	0	0	0,7±0,1	0,2±0,1	0,2±0,2	0	0,4±0,1
400x												
n	6	6	6	1	1	0	1	6	1	1	2	5
wt %	71±5	20±3	1,5±0,3	0,1±0,1	0,1±0,1	0	1,2±1,2	1,9±0,7	0,4±0,4	0,4±0,4	0,8±0,7	2,3±1,1
800x												
n	6	6	6	2	1	1	0	6	1	1	1	6
wt %	72±5	23±4	1,7±0,5	6,0±4,0	0,1±0,1	1,3±1,3	0	2,4±1,0	0,4±0,4	0,2±0,2	0,6±0,6	2,3±1,0
1000x												
n	6	6	6	2	1	0	1	5	3	1	4	5
wt %	62±4	23±3	1,2±0,3	1,4±1,3	1,3±1,3	0	1,1±1,1	3,4±1,0	0,6±0,4	0,1±0,1	1,9±0,8	4,7±2,0
1500x												
n	6	6	6	2	4	0	2	6	5	1	1	5
wt %	67±4	20±3	1,2±0,2	1,6±1,0	1,4±0,7	0	4,5±2,8	1,1±0,2	0,5±0,1	0,1±0,1	0,3±0,3	0,5±0,2
2000x												
n	6	6	5	1	1	1	2	5	3	0	3	6
wt %	67±4	20±3	1,0±0,2	2,3±2,3	0,4±0,4	1,2±1,2	2,3±1,9	0,8±0,3	0,4±0,2	0	0,5±0,3	1,1±0,3
2500x												
n	6	6	6	2	1	1	2	5	4	1	4	6
wt %	67±2	19±3	2,6±1,2	0,6±0,6	0,2±0,2	0,3±0,3	2,0±1,9	0,8±0,2	0,3±0,2	0,1±0,1	2,6±1,0	1,5±0,5
3000x												
n	6	6	6	4	4	1	3	4	3	1	2	4
wt %	74±4	19±4	1,2±0,2	1,1±0,5	1,1±0,4	0,1±0,1	2,5±1,9	0,6±0,2	0,2±0,1	0,1±0,1	0,4±0,2	0,5±0,2
4000x												
n	6	6	6	2	1	1	1	5	3	1	4	5
wt %	73±1	16±1	1,5±0,4	1,3±1,2	0,3±0,3	0,4±0,4	0,1±0,1	1,0±0,3	0,9±0,6	1,0±1,0	0,8±0,3	1,3±0,5

Tabelle 7 Vergrößerungen des Lungengewebes der UIP-Gruppe.

Mittelwerte mit Standardfehler. n: Patientenanzahl bei denen das Element nachweisbar war. Die n<6 Werte betreffen in den Vergrößerungen 800x-4000x unterschiedliche Patienten. Um repräsentative Messungen von n>1 Patienten zu erhalten, wurden die Vergrößerungen 800x-4000x gemittelt.

Die Vergrößerung 800x in der Anthrakosegruppe hatte in den Messungen eine große Patientenanzahl bei der alle Elemente nachweisbar waren (siehe Tab. 8). Es konnte keine Vergrößerung mit allen Elementen und allen Patienten gefunden werden. Alle Elemente mit der höchsten Patientenanzahl wurden im Lungengewebe bei 3000x und in den Lymphknoten bei 1500x gefunden (siehe Anhang Tab. 14).

Tabelle: Lungengewebe der Anthrakosegruppe bei unterschiedlichen Vergrößerungen.*

	Elemente											
	C	O	S	Si	Al	Mg	Fe	Na	K	Cl	Ca	P
100x												
n	6	6	6	5	3	0	0	1	0	0	0	2
wt %	73±1	25±1	1,3±0,2	0,4±0,1	0,2±0,1	0	0	0,1±0,1	0	0	0	0,2±0,1
200x												
n	6	6	6	5	2	0	1	2	1	1	1	2
wt %	72±2	20±3	1,3±0,3	0,4±0,1	0,1±0,1	0	0,3±0,3	0,2±0,1	0,1±0,1	0,1±0,1	0,5±0,5	0,4±0,3
400x												
n	6	6	6	3	4	3	1	4	1	1	2	3
wt %	65±8	23±3	1,5±0,4	1,4±1,2	12±11	0,3±0,2	1,2±1,2	0,7±0,3	0,2±0,2	0,1±0,1	3,6±3,4	2,5±2,0
800x												
n	6	6	5	3	3	3	1	5	3	2	3	3
wt %	59±5	21±4	1,6±0,6	0,5±0,3	0,3±0,1	0,2±0,1	2,0±2,0	2,8±1,8	0,7±0,3	3,2±2,1	6,4±4,9	1,5±0,8
1000x												
n	6	6	5	3	3	2	2	5	3	2	3	5
wt %	67±3	19±3	1,9±0,6	1,6±1,2	0,4±0,2	0,1±0,1	2,8±1,9	1,6±0,7	0,9±0,6	0,8±0,7	2,6±2,0	2,0±1,0
1500x												
n	6	6	6	5	5	3	0	5	6	2	2	3
wt %	64±4	23±2	1,0±0,3	4,6±1,6	2,5±0,9	0,9±0,8	0	2,8±1,1	1,3±0,5	0,6±0,5	1,0±0,8	0,2±0,1
2000x												
n	6	6	6	4	4	1	2	5	4	4	1	4
wt %	69±2	20±1	1,2±0,4	1,7±0,9	4,2±2,2	0,1±0,1	1,9±1,2	1,2±0,7	1,1±0,7	13±11	0,2±0,2	0,4±0,2
2500x												
n	6	6	6	2	3	1	3	5	3	3	2	3
wt %	72±3	16±2	1,3±0,4	2,4±1,6	0,5±0,3	0,1±0,1	7,2±5,2	0,3±0,1	0,3±0,1	0,3±0,2	3,5±2,7	0,5±0,3
3000x												
n	6	6	6	5	5	4	3	3	3	1	3	4
wt %	66±5	20±2	1,4±0,5	4,4±2,2	1,7±0,6	0,5±0,2	3,1±1,5	0,5±0,3	0,5±0,3	0,1±0,1	0,7±0,4	0,6±0,3
4000x												
n	6	6	6	4	4	1	2	1	3	1	1	4
wt %	74±2	15±3	1,9±0,4	1,6±0,8	1,1±0,6	0,1±0,1	1,0±0,8	0,3±0,2	0,4±0,2	0,2±0,2	1,7±1,7	1,4±1,2

Tabelle 8 Vergrößerungen des Lungengewebes der Anthrakosegruppe.

Mittelwerte mit Standardfehler. n: Patientenanzahl bei denen das Element nachweisbar war. Die n<6 Werte betreffen in den Vergrößerungen 800x-4000x unterschiedliche Patienten. Um repräsentative Messungen von n>1 Patienten zu erhalten, wurden die Vergrößerungen 800x-4000x gemittelt.

Die unterschiedlichen Vergrößerungen der Kontrollgruppe zeigen, dass ab der Vergrößerung 800x eine große Anzahl von Elementen gemessen werden konnte. Es gab keine Vergrößerung in der alle Elemente nachgewiesen konnte. Gleiches trifft für die Patientenzahl zu (siehe Tab. 9). Die Vergrößerung mit den meisten Elementen und den größten Patientenzahlen war für das Lungengewebe die 800fache und die 2500x für die Lymphknoten (siehe Anhang Tab. 10).

Tabelle: Lungengewebe der Kontrollgruppe bei unterschiedlichen Vergrößerungen.*

	Elemente											
	C	O	S	Si	Al	Mg	Fe	Na	K	Cl	Ca	P
100x												
n	6	6	6	0	0	0	0	1	0	0	0	1
wt %	73±1	25±1	1,7±0,2	0	0	0	0	0,2±0,2	0	0	0	0,1±0,1
200x												
n	6	6	6	0	0	0	0	1	0	0	0	1
wt %	74±1	25±1	5,4±3,9	0	0	0	0	0,2±0,2	0	0	0	0,3±0,2
400x												
n	6	6	6	0	0	0	0	2	0	0	0	2
wt %	67±6	27±2	1,3±0,2	0	0	0	0	0,3±0,3	0	0	0	2,1±2,0
800x												
n	6	6	6	2	2	0	0	3	1	0	1	2
wt %	63±8	26±4	1,8±0,7	0,9±0,7	0,5±0,3	0	0	2,7±2,5	0,3±0,3	0	3,3±3,3	2,0±1,8
1000x												
n	6	6	6	1	1	0	0	3	1	0	1	2
wt %	69±7	22±3	2,3±0,8	0,8±0,8	0,8±0,8	0	0	1,7±1,3	0,1±0,1	0	0,2±0,2	3,3±3,1
1500x												
n	6	6	6	0	0	0	0	1	0	0	3	1
wt %	64±12	24±5	5,6±3,4	0	0	0	0	0,1±0,1	0	0	6,5±4,4	0,1±0,1
2000x												
n	6	6	6	1	2	0	0	3	1	0	2	2
wt %	72±4	23±2	1,8±0,5	0,1±0,1	0,5±0,4	0	0	0,4±0,2	0,1±0,1	0	2,3±2,2	0,3±0,2
2500x												
n	6	6	6	1	1	0	0	2	0	0	1	2
wt %	74±5	19±3	2,2±0,7	0,4±0,4	0,4±0,4	0	0	1,2±1,1	0	0	0,1±0,1	3,0±2,7
3000x												
n	6	6	6	0	0	0	0	1	0	0	2	0
wt %	78±4	19±4	2,1±0,6	0	0	0	0	0,1±0,1	0	0	1,2±0,8	0
4000x												
n	6	6	6	0	0	0	0	2	0	0	2	2
wt %	75±3	20±3	2,0±0,5	0	0	0	0	0,8±0,6	0	0	1,1±0,6	0,6±0,5

Tabelle 9 Vergrößerungen des Lungengewebes der Kontrollgruppe.

Mittelwerte mit Standardfehler. n: Patientenzahl bei denen das Element nachweisbar war. Die n<6 Werte betreffen in den Vergrößerungen 800x-4000x unterschiedliche Patienten. Um repräsentative Messungen von n>1 Patienten zu erhalten, wurden die Vergrößerungen 800x-4000x gemittelt.

5 Diskussion

5.1 Hintergrund

Ziel der Untersuchungen ist die Charakterisierung energiedispersiver Spektren an einem gut dokumentierten klinischen Kollektiv von transplantationsbedürftigen Lungenerkrankungen (idiopathische Lungenfibrose, COPD) in Relation zu Fällen mit bekannter Asbestbelastung, Quarzstaubbelastung und einem Kontrollkollektiv (nicht-transplantierte Spenderlungen) mittels Rasterelektronenmikroskopie. Dabei sollen sowohl das Lungenparenchym wie auch regionäres Lymphknotengewebe analysiert werden.

Die Auswertung erfolgt hinsichtlich der qualitativen Zusammensetzung und (semi-)quantitativen Mengen mittels EDX nachgewiesener Elemente zum einen intraindividuell (Lunge vs. LK) aber auch gruppenspezifisch (z. B. idiopathische Lungenfibrose vs. Spenderlunge oder vs. Asbestose) in unterschiedlich großen Parenchymabschnitten bei 100x-4000x bzw. 5000x facher Vergrößerung. Hierbei wurde besonderer Wert auf die peribronchiolovasalen Parenchymzonen gelegt, in denen die interstitiellen Fibrosierungen bei Pneumokoniosen in der Regel beginnen.

Seit den 30er Jahren des letzten Jahrhunderts wird über den Zusammenhang von Asbestinhalation, Lungentumoren und Mesotheliomen berichtet¹⁸⁰.

Die Asbestexposition ist bisher die einzige identifizierte Hauptursache für das maligne Mesotheliom^{25, 49, 149}. Für die Entstehung von Lungenkarzinomen ist vor allem der Tabakkonsum ursächlich^{7, 59, 177}.

Etwa 4-12 % der malignen Lungentumore sollen auf eine berufliche Asbestexposition zurück zu führen sein^{93, 118, 160}. Bewiesen ist eine additive Wirkung zwischen Asbest und Tabakkonsum, so dass viele Asbest assoziierten Lungentumore im Zusammenhang mit Tabakkonsum stehen⁷⁷. Für die Anerkennung einer BK 4104 (Lungenkrebs oder Kehlkopfkrebs in Verbindung mit Asbeststaublungerkrankung oder mit durch Asbeststaub verursachter Erkrankung der Pleura) sind Brückenbefunde wie eine Asbestose, in Verbindung mit durch Asbeststaub verursachter Erkrankungen der Pleura oder der Nachweis der Einwirkung einer

kumulativen Asbestfaserstaubdosis am Arbeitsplatz von mindestens 25 Faserjahren vorausgesetzt³².

Sind eine oder mehrere der genannten Brückenbefunde nicht nachzuweisen, sind die Kriterien zur Durchführung einer Staubanalyse gegeben.

So lassen sich im Rahmen einer Staubanalyse mittels Rasterelektronenmikroskopie (REM) durch die Identifizierung der anorganischen Fasern/Stäube Noxen für die bestehende Erkrankung nachweisen und eine berufliche Asbestexposition von ggf. Heimatland-typischen Asbestfasern unterscheiden. Bei der Feststellung einer Kausalität zwischen einer Erkrankung und Asbesteinwirkung kann diese nicht durch den z.B. zusätzlichen privaten Tabakkonsum widerlegt werden.

Analysen zu Asbest Dosis-Wirkungs-Beziehungen sind schwierig, da die zu vergleichenden Gruppen oft weitere Risikofaktoren aufweisen und sich dahingehend unterscheiden⁶³.

Das größte karzinogene Potenzial für das Mesotheliom geht von Amphibol-Fasern aus im Vergleich mit Chrysotil-Fasern^{78, 91, 178}. Außerdem wurde für Amphibol-Fasern ein größeres Potenzial für Lungentumore beobachtet, als für Chrysotil-, Amosit- und Krokydolith-Fasern⁹¹.

Als Ursache für die Entstehung von Lungentumoren wird auch die asbestbedingte Lungenfibrose diskutiert⁸⁹. In Studien aus den 30er Jahren wurde angedeutet, dass die Lungentumore durch Asbest induzierte bronchiolo-alveoläre Hyperplasien und diffuse interstitielle Fibrosen ausgelöst werden¹⁴⁹.

Die Fibrose-Karzinom Hypothese sieht die asbestbedingte interstitielle Fibrose als eine obligatorische Vorstufe zum Lungenkarzinom^{94, 97}.

Befürworter dieser Hypothese führen Studien zur Usual interstitial pneumonia (Idiopathische Lungenfibrose, UIP) an^{9, 33}. In einer Studie zur UIP von Nagai et al. wird von einer Lungenkarzinom- Inzidenz von 38 % bei Rauchern berichtet und von 8 % bei Nichtrauchern¹³⁶.

Im Gegensatz dazu fanden Wells und Mannino bei UIP nur eine Inzidenz von 5 % für Lungenkarzinome im Vergleich mit einer Inzidenz von 27 % bei asbestbedingter Fibrose¹⁹³. Die Verbindung von Asbestose und Lungentumoren wird weiter dadurch untermauert, dass 25-45 % der Asbestose Patienten an Lungentumoren erkranken und dies die häufigste Todesursache darstellt^{133, 140}.

Paris et al. zeigten eine unabhängige Assoziation zwischen hochgradigen intraepithelialen bronchialen mukosalen Läsionen (jede Dysplasie und jedes Carcinoma in situ) und der Häufigkeit von Asbestose¹⁴³.

Die Mechanismen der Fibrose-Karzinom Hypothese sind nicht restlos aufgeklärt. Es wird vermutet, dass Asbest oxidative Schäden in der DNA verursacht und darüber Fibrose und Lungentumore induzieren kann^{100, 119}. Der Zusammenhang, dass Asbest zu Fibrose und Lungentumoren führt ist gut belegt. Aber der obligatorische Zusammenhang zwischen Fibrose und Lungentumoren konnte bislang nicht gefunden werden¹³⁷.

Bisherige Diagnostikverfahren wie Röntgenbilder bieten keine ausreichende Aussagekraft und Sicherheit in der Diagnostik von transplantationsbedürftigen parenchymatösen Lungenerkrankungen. Hnizdo et al. zeigten, dass besonders Röntgenbilder nur eine geringe Sensitivität für kleinere rundliche Verschattungen (ILO <1/1) und somit für die Anfangsstadien der einzelnen Krankheitsbilder besitzen. Allerdings können neben den falsch negativen auch falsch positive Befunde auffallen⁹⁰. Zusätzlich kommt es bei der Begutachtung bildgebender Verfahren oft zur Vernachlässigung weiterer morphologischer Veränderungen des Lungengewebes wie Emphysembildungen, welche im Frühstadium nicht immer durch das Röntgenbild zu diagnostizieren sind. Hilfreich und unterdessen Standard ist die hochauflösende Computertomographie. Weder die radiologischen noch die pathologisch-anatomischen Befunde sind pathognomonisch und erlauben, solange keine Asbestkörperchen oder Asbestfasern im Gewebe nachgewiesen werden, keine eindeutige Abgrenzung zwischen Asbestose und idiopathischer Lungenfibrose vom UIP-Typ. Des Weiteren konnte vor Jahren gezeigt werden, dass auch die Zählung von Asbestkörpern im Sputum zwar mit der Anzahl im Lungengewebe korreliert. Jedoch kann diese Methode lediglich eine stattgefundene Exposition untermauern, aber nicht als einziges diagnostisches Verfahren genutzt werden¹⁶².

Die Untersuchung von Gewebe mit Hilfe des Lichtmikroskops lässt eine Identifizierung von Asbestkörperchen zu, jedoch können sich die nicht umhüllten Fasern dem Untersucher entziehen. Zusätzlich kann die Veraschung von Lungengewebe richtungsweisend sein. Die Anzahl der Fasern sollte in Bezug auf das Feucht- bzw. Trockengewebe ermittelt werden. Einige Autoren empfehlen die Darstellung der Faseranzahl in Gramm Trockengewebe. Aber auch hier lassen sich

nur Fasern mit einer bestimmten Länge identifizieren und eine Zuordnung der Faser ist ebenfalls nicht möglich ³⁶.

Methoden, bei denen das Gewebe primär getrocknet wird, sollten vermieden werden, da dies zur Aufspaltung der Fasern führt ⁸.

Auch die gezielte Identifikation von Asbestose Patienten mit mineralhaltigen Fasern ist schwierig. Es hat sich bewährt, unterschiedliche Methoden miteinander zu kombinieren. Zu diesen Methoden gehören chemische Massenanalysen, Polarisations-Mikroskopie, röntgenographische Untersuchung der Feinstruktur, REM, Elektronenbeugung und EDX ³⁶.

In der Praxis gilt es folgende Probleme zu berücksichtigen: Die kleinen Fasern und die teilweise geringe Faseranzahl erschweren eine Abgrenzung zu dem umliegenden Lungengewebe und eine sichere Identifizierung. Umso wichtiger ist es diese mit Hilfe des hoch auflösenden Rasterelektronenmikroskops darzustellen und gleichzeitig die Zusammensetzung nicht humaner Partikel zu erkennen.

Die meisten in der Lunge gefundenen Partikel sind Silikate. Eine Trennung dieser Silikatminerale ist mit der röntgenographischen Untersuchung der Feinstruktur fast unmöglich, da die Spektralhöchstwerte sich überlappen. Das Gleiche gilt auch für die chemischen Massenanalysen, so dass beide Verfahren fast keine Anwendung finden.

Die kleine Größe der Fasern und die Einbettung ins Lungengewebe machen auch die Polarisations-Mikroskopie wirkungslos.

Im Gegensatz dazu ist das REM eine wertvolle Hilfe zur Identifikation von Weißasbest, aufgrund ihrer runden Form und tubulären Struktur.

Allerdings können Mineralien wie Halloysit und bakterielle Pilae ähnlich in Erscheinung treten. Ferner muss bedacht werden, dass Chrysotil-Asbestfasern durch chemische Kontaminierung ihre tubuläre Struktur verlieren können.

Andere faserhaltige Mineralien, die in der Lunge gefunden werden können wie Attapulgit (Lehm) und Apatit (Calcium Phosphat) sind gleich in Größe und Form mit chrysotilen Asbestfasern. Eine morphologische Unterscheidung ist nicht möglich, so dass weitere Analyseverfahren nötig sind.

Die amphibolen mineralhaltigen Asbestfasern sind besser zu unterscheiden. Sie sind länger und breiter als die chrysotilen Fasern und fast identisch untereinander. Amphibole Asbestfasern zeigen eine gerippte Struktur im REM, aber auch das ist

kein unikates Diagnostikmerkmal. Die Unterscheidung von amphibolen Fasern mit anderen mineralhaltigen Fasern wie Rutil (TiO_2) oder Calciumsulfat (CaSO_4) ist über die Morphologie nicht möglich.

Die Faseranalyse mittels REM ist in Kombination mit der EDX-Analyse in der Lage kleinste Partikel eindeutig chemisch zu analysieren und ist damit allen anderen Methoden der Identifikation von Asbestfasern überlegen.

Bei diesem Verfahren werden Elektronenstrahlen gezielt auf die zu untersuchende Probe gegeben. Dabei kommt es für jeden Bestandteil des Materials zur Entstehung von sogenannten Sekundärstrahlen, die über einen Detektor aufgefangen werden und ein für das Material charakteristisches Spektrenbild zeigen. Das Spektrenbild spiegelt Elementzusammensetzungen und Quantität der einzelnen Elemente wider.

In diesem Zusammenhang lassen sich Asbestfasern in ihre einzelnen Gruppen unterscheiden und dem Asbesttyp zuordnen. Als nachteilig sind der hohe Zeitaufwand und die relativ hohen Kosten durch Materialanschaffung anzuführen¹⁵⁵.

5.1.1 Risikofaktoren für Ablagerungen in der Lunge

Nicht nur der berufliche Werdegang trägt zur Ablagerung von Asbestfasern im Lungengewebe bei. Umweltbedingt lassen sich Asbestfasern auch in den Lungen der „Normalbevölkerung“ nachweisen³⁶. So beschreibt Schreiber et. al eine Konzentration von Asbestfasern im Jahresmittel zwischen 50-150 Fasern/ m^3 in der Außenluft von Ballungsgebieten¹⁷¹. An den entsprechenden Arbeitsplätzen liegt die Faserkonzentration oft bis zu 100.000 fach höher. Der EU-Arbeitsplatzgrenzwert wurde auf 100.000 Fasern/ m^3 festgelegt (EU-Richtlinie 2009/148/EG). Generell gibt es bei der Beurteilung der Asbestbelastung keine tolerierbare Asbestfaserkonzentration in der Atemluft. Romer et. al konnte zeigen, dass der Asbestkonzentrationsbereich in Normallungen (keine berufliche Staubbelastung) geringer gegenüber denen mit Mesotheliom und beruflicher Asbestbelastung ist. Allerdings lag bei 3 Fällen der Mesotheliomgruppe die Asbestkonzentration unter dem Durchschnittswert der Normallungen¹⁶⁶. Eine Referenzwertermittlung findet auch innerhalb des Deutschen Mesotheliomregisters statt. In der Normalbevölkerung (ohne berufliche Exposition) liegt die Grenze lichtmikroskopisch bei 22 Asbestkörper pro cm^3 bzw. pro Gramm Feuchtgewebe und elektronenmikroskopisch für Amphibolfasern $1,0 \times 10^4$ und für Chrysotilfasern $1,8 \times 10^4$ pro Gramm Feuchtgewebe

(Länge $>5\mu\text{m}$). Bei Asbestosen (Grad I-IV) wurde ein Richtwert für den gleichen Fasertyp von 10^6 bis 10^8 pro Gramm Feuchtgewebe ermittelt¹⁸⁷.

Studien zeigten in einem Vergleich von Lungengeweben mit Asbestfasern- und körnern, ohne Asbestfasern und die Kombination von Asbestfasern mit Nicht-Asbestfasern, dass diese zu verschiedenen asbestassoziierten Lungenerkrankungen führen können. So ist in fibrotisch verändertem Lungengewebe eine höhere Anzahl an Fasern nachzuweisen als in gesunden Lungenarealen. Ob eine höhere Faserlast mit einer vermehrten Fibrosebildung einhergeht oder mit einer verringerten Clearance der Fasern zusammen hängt, konnte nicht nachgewiesen werden. Ein weiterer Risikofaktor stellt die Gewebeart dar. So scheint die Pleura mehr sensitiv für anorganische Fasern zu sein als das Lungengewebe. Der Fasertyp spielt ebenfalls eine wichtige Rolle in der Entstehung von Gewebsveränderungen^{63, 91, 137, 178, 193}.

Im Rahmen der Feststellung zum Vorliegen einer Berufskrankheit kann ggf. neben den medizinischen Befunden auch die Ermittlung sogenannter Faserjahre (1×10^6 [(Fasern/ m^3) x Jahre]) nötig werden (siehe Anerkennung der BK 4104).

5.2 Methodik

Grundsätzlich sind sowohl das Rasterelektronenmikroskop als auch das Transmissionselektronenmikroskop (TEM) für diese Untersuchungen geeignet. Bereits seit über 30 Jahren werden Untersuchungen, mit dem Ziel ein standardisiertes Verfahren zur Analyse anorganischer Fasern zu etablieren, durchgeführt. Folgend kann festgehalten werden, dass es nicht nur zwischen den verschiedenen Analyseverfahren (Lichtmikroskop, REM, TEM) zu unterschiedlichen Messergebnissen, sondern auch bei der Anwendung der gleichen Methode zu Ergebnisabweichungen kommen kann. Gylseth et al. gaben diesbezüglich Lungengewebe der gleichen Probanden an verschiedene Labore, welche die oben aufgezählten Messverfahren anwendeten. Besonders bei der Anwendung des REM kam es zu Abweichungen der Messergebnisse. Ein Zusammenhang zwischen dem Gebrauch des REM und den abweichenden Messergebnissen konnte nicht hergestellt werden. Es sollte jedoch berücksichtigt werden, dass zum Zeitpunkt dieser Untersuchungen keine einheitliche Definition bezüglich der zu zählenden Asbestfasern und Fasergröße vorlag⁸³. Folgend wurden nicht zuletzt in der S2-Leitlinie zur Diagnostik und Begutachtung asbestbedingter Berufskrankheiten die

Anforderungen an das optimale Lungenareal sowie Gewebe und der kanzerogenen Fasergröße von Asbest festgehalten¹³.

Obwohl beide Verfahren (REM und TEM) mit der EDX-Analyse zu koppeln sind, müssen folgende Vor- und Nachteile berücksichtigt werden. Mit dem TEM lassen sich auch kleinste Fasern nachweisen ($< 5 \mu\text{m}$). Im Vergleich zwischen dem REM und TEM zeigte das TEM eine 3-fach höhere Faserzählung als das REM¹⁶¹. Auch kann mittels TEM und Feinbereichsbeugung die kristalline Struktur des anorganischen Materials festgestellt werden, wenn eine genaue Abgrenzung zu anderen Fasern bei ähnlichem Spektrenbild nicht möglich ist. Die Probenvorbereitung für beide Verfahren ist standardisiert, jedoch ist die Analyse sehr zeitaufwendig. Zudem ist die Probenvorbereitung für das REM einfacher, da ganzheitliche Gewebestücke mit einer Kantenlänge von 1 cm zur Analyse genutzt werden können, wohingegen für das TEM unter anderem Ultradünnschnitte erforderlich sind.

Lee et al. können die Verwendung zur Untersuchung von anorganischen Fasern mit dem Rasterelektronenmikroskop nicht empfehlen. Sie bevorzugen das Verfahren mit dem Transmissionselektronenmikroskop aufgrund der zeitgleichen Untersuchung mittels präzisiertem Elektronenstrahl und Elementanalyse¹⁵⁵.

Weiter kann mit dem TEM das Lungengewebe bei höheren Vergrößerungen (bis 50000x) untersucht werden. Allerdings lassen Vergrößerungen unter 5000x keine Detektion von Fasern dünner als 0-2 μm zu. So kann sich z. B. Krokydolith und Chrysotil der Analyse entziehen. Die Fasern können an unterschiedlicher Stelle analysiert werden und mittels EDX einem Fasertyp zugeordnet werden³⁸.

Des Weiteren unterliegt besonders Weißasbest dem sogenannten „Fahrerfluchtphänomen“. So können Fasern, die während und zeitnah nach der Exposition aufgedeckt werden nach Jahren im Gewebe nicht mehr nachweisbar sein. Tiermodelle zeigten, dass sogar einzelne Elemente wie Magnesium „verloren“ gehen können. Dies kann zu Fehlinterpretationen führen³⁶.

5.2.1 Proben "sample error"

In dieser Arbeit wurde sowohl Lungen- als auch Lymphknotengewebe untersucht. Wir wählten peribronchiale und hilusnahe Lymphknoten, da dort eine besonders hohe Belastung mit mineralhaltigen Makrophagen zu finden sein soll.⁷⁹ Sowohl in Formalin fixiertes Lungengewebe als auch unbehandeltes natives Gewebe kann für diese Methodik benutzt werden. Aus der Literatur von Gibbs et al. ergaben sich Hinweise auf eine variable Faseranzahl abhängig vom Lungenareal. Besonders bei vielen kleinen Proben der gleichen Lunge soll die Faseranzahl voneinander abweichen. Dennoch empfehlen die Autoren Proben aus den folgenden Lungenabschnitten zu entnehmen: Apikaler Anteil des oberen Lungenlappen, apikaler Anteil des unteren Lungenlappen und von basaler Anteil der Lunge. Wenn möglich sollen die Gewebeproben tumorfrei und frei von Entzündungen sein, da dies zu falsch negativen Ergebnissen oder zu einer geringeren Faserzahl pro Gramm Lungengewicht führen kann⁷⁶.

Laut Roggli et al. kann sich somit der Fasergehalt des einen Lungenareals um bis zum 3-10 fachen von einem anderen Lungenareal des selben Individuums unterscheiden¹⁶³.

Churg et al fanden keine Unterschiede in Hinsicht auf die Asbestkörperbelastungen zwischen peripheren und zentralen Lungengewebe^{38, 40}. Die Faserzählungen sind abhängig von der Faserlänge und der subjektiven Einschätzung und können von Labor zu Labor unterschiedlich sein. Neben den unverhüllten Fasern sind auch Asbestkörper im Lungengewebe und Lymphknoten zu finden. Churg et al. untersuchten dazu 600 Asbestkörper wovon 98% einen Amphibolkern und 2% einen Chrysotilkern hatten. Allerdings lassen sich diese Asbestkörper morphologisch nicht von den sogenannten Pseudoasbestkörpern (Talk, Quarz) abgrenzen^{36, 40}.

Zudem werden die Biopersistenz der Fasern, die Spaltung der Fasern im Rahmen der Probenpräparation, die Gewebefixation und die Lagerung des Gewebes für ein Abweichen der Messergebnisse verantwortlich gemacht. So kann eine Trocknung des Gewebes zu einem Zerbrechen der Fasern führen und in der Auswertung eine falsch hohe Faserzahl und kleinere Fasergrößen ergeben. Eine Verunreinigung mit Stärke und Talk durch den Gebrauch chirurgischer Handschuhe, organische Fasern

der Kleidung oder Asbest kontaminiertes Paraffin sind nur einige Beispiele, die zu einer Erschwerung der Analyse führen können^{76, 113}.

Des Weiteren kann trotz einer gründlichen Zwischenreinigung des Arbeitsplatzes eine Kontamination unter den verschiedenen Proben nicht gänzlich ausgeschlossen werden⁷⁶.

5.3 Diskussion der Resultate

5.3.1 Elementnachweis in Abhängigkeit der untersuchten Feldgröße

Wir konnten zeigen, dass die 800x bis 4000x Vergrößerungen zum Nachweis von chemischen Elementen (C, O, S, Si, Al, Mg, Fe, Na, K, Cl, Ca, P) im Lungen- und Lymphknotengewebe geeignet sind. Je nach Vergrößerung werden Feldmessungen (100x-400x) oder punktuelle Messungen (800x-4000x) durchgeführt. Die Feldgröße bewegt sich daher zwischen 248504,89 nm² und 693301562500,00 nm². Entscheidend ist dabei, dass der gleiche Abstand zur untersuchenden Probe eingehalten wird, da sich sonst trotz gleicher Bereichsmessung die Feldgröße ändern kann. Chronische Lungenerkrankungen, insbesondere die Pneumokoniosen entstehen u.a. durch die Inhalation von z.B. siliciumhaltigen Stäuben (Silikose) oder Eisenoxiden (Sidero-Silikose). Letztlich können alle in 5.4 diskutierten Elemente (Si, Al, Mg, Fe, Na, Ca) zur Entstehung von chronischen Lungenerkrankungen beitragen. Eine Überlegenheit einer einzelnen Vergrößerung zur Darstellung der Elemente konnte nicht gezeigt werden. Dargelegt werden konnte aber, dass sich die einzelnen Vergrößerungen in messbaren Elementen und Patientenanzahl ergänzen.

Müsste man sich auf eine optimale Vergrößerung pro Gruppe festlegen, so wäre das für das Lungengewebe der Silikosegruppe die 800x Vergrößerung mit der größten Patientenanzahl, bei denen die oben genannten Elemente nachweisbar waren. Vernachlässigt man hierbei die für die Silikose untypischen Elemente wie Cl und Ca und fokussiert sich auf die Silikose typischen Elemente wie Si, Al, S und P würde man in der Vergrößerung 1500x die höchste Patientenzahl mit den entsprechenden Elementen finden (siehe 5.3.3). In der Asbestosegruppe liegt die höchste Patientenzahl mit den am meisten nachgewiesenen Elementen in der Vergrößerung 2500x vor. Die höchste Patientenzahl mit den für die Asbestose typischen Elementen wie Fe und Mg war jedoch in der 4000x Vergrößerung zu dokumentieren. Die 3000x Vergrößerung war bei den COPD- Patienten, die 1500x Vergrößerung in der Anthrakose- und UIP-Gruppe die mit der höchsten Patientenzahl und entsprechenden Elementennachweis. In der Kontrollgruppe muss aus physiologischen Gründen mit allen genannten Elementen in geringer Dosierung gerechnet werden. So lassen sich für gesundes Lungengewebe in der 800x Vergrößerung alle wichtigen Elemente (C, O, S, Si, Al, Na, K, Ca, P) auch zur

Abgrenzung zur Elementverteilung der chronischen Lungenerkrankungen darstellen (siehe Tab. 4- 9).

In den Lymphknoten sind die aussagekräftigsten Vergrößerungen, die 2500x in der Kontrollgruppe, die 800x und 1000x in der Silikose- und Asbestosegruppe, die 3000x bei den COPD-Patienten, die 1500x in der Anthrakose- und UIP-Gruppe (siehe Anhang Tab. 10- 15). Eine Vergleichbarkeit ist bei einer einzigen Vergrößerung nicht gegeben. Für eine bestmögliche Vergleichbarkeit zwischen den Gruppen wählten wir die Mittelwerte der Vergrößerungen 800x bis 4000x. Dadurch erreichten wir eine Power von größer als 0,8 in den zu vergleichenden Elementen und eine Reproduzierbarkeit aller Elemente bei fast allen Patienten (siehe 3.3).

In der Literatur wird dieses Problem nicht thematisiert und die einzelnen Studien haben unterschiedliche Vergrößerungen. Auffallend ist, dass häufig die 1000x Vergrößerung gewählt wird^{99, 164, 169, 185}. Eine Vergrößerung, die auch wir zusammen mit der 800x Vergrößerung als Grenze zum Nachweis von Elementen gesetzt haben. Weitere Vergrößerung in der Literatur sind 1250x¹³², 1600x¹⁷⁹, 1800x⁶⁶ und 2000x^{64, 102, 121}. Alles Vergrößerungen, die wir in unserer Studie abgedeckt haben. Ob deren Vergrößerungen jedoch mit in dieser Arbeit angewendeten Vergrößerungen identisch sind, lässt sich nicht eruieren, da die Möglichkeit einer anderen Abstandsweite zur Probe besteht und auf diesen Umstand in den angegebenen Arbeiten nicht näher eingegangen wird. Zudem wurden in diesen Arbeiten neben Lungengewebe u.a. Veraschungsfilter untersucht und keineswegs Lymphknotengewebe. Es gibt ferner Studien, die deutlich größere Vergrößerungen angeben 10000x^{21, 62, 160}, 20000x⁵⁷ und 33000x¹²⁹. Wir konnten in Vorversuchen keine Reproduzierbarkeit bei solchen Vergrößerungen feststellen und beschränkten uns daher auf Vergrößerungen von maximal 4000x.

Eine Fragestellung dieser Arbeit ist, ob es eine optimale Vergrößerung gibt, um die zeitaufwendigen Analysen optimieren zu können.

Am ehesten ist die 2500x Vergrößerung zu empfehlen, da dort fast alle Elemente bei hoher Patientenzahl und noch wichtiger, alle relevanten Elemente, die zur Entstehung chronischer Lungenerkrankungen beitragen können und zur Charakterisierung der Asbestfasern dienen, gemessen werden konnten (siehe Tab. 4- 15).

5.3.2 Kontrollgruppe

Die Spektrenanalyse für Kohlenstoff in der Kontrollgruppe ergab relativ höhere Werte gegenüber all den anderen Gruppen (siehe Abb. 65). Für Sauerstoff konnten keine signifikanten Unterschiede zu den anderen Gruppen gemessen werden (siehe Abb. 66). Kohlenstoff und Sauerstoff sind die 2 Hauptelemente aus denen Lungengewebe besteht¹⁰². Dass beide Elemente mit über 92 % dominieren, spricht für eine geringe Verunreinigung mit exogenen Noxen. Die erhöhten Werte des Nicht-Metalls Schwefel im Vergleich mit den anderen Untersuchungsgruppen konnten auch bei Schweißlungenfibrose beobachtet werden, aber nur in Kombination mit extrem erhöhten Werten für Eisen³¹. Die metallischen Elemente konnten aber in der Kontrollgruppe nur in Spuren oder gar nicht gemessen werden. Silicium, Aluminium, Magnesium und Eisen waren signifikant geringer gegenüber allen anderen Untersuchungsgruppen (siehe Abb. 47-50). Damit sind die metallischen Elemente, welche charakteristisch für Asbestkörper sind, für das untersuchte Lungengewebe in der Kontrollgruppe nicht nachweisbar^{99, 121, 144}.

Auch Verunreinigungen, wie sie bei der Exposition mit Kohlestaub beobachtet werden, können damit ausgeschlossen werden²⁹.

Das physiologische Element Natrium ist in der Kontrollgruppe höher als in der Silikosegruppe und COPD-Gruppe und geringer als in den Lungenproben der Anthrakose- und UIP-Patienten (siehe Abb. 51). Ein Krankheitswert lässt sich daraus nicht rekonstruieren, da der Nachweis für die metallischen Elemente nicht erbracht werden konnte^{19, 150}. Dies gilt auch für die folgenden Elemente, beispielsweise Kalium, das in den Lungenproben der Kontrollgruppe wieder die geringsten Werte hat (siehe Abb. 68). Auch Chlorid, das nicht messbar war, ist signifikant geringer gegenüber den COPD-, Anthrakose- und UIP-Patienten (siehe Abb. 69).

Dagegen ist Calcium signifikant erhöht gegenüber der Silikose- und Asbestosegruppe (siehe Abb. 52). Der Nachweis von erhöhtem Calcium wird für Tremolit und Aktinolith beschrieben, aber nur im Zusammenhang mit erhöhten Magnesiumwerten¹⁵⁰, die nicht in der Kontrollgruppe gefunden wurden.

Mit Ausnahme der UIP-Gruppe ist auch Phosphat im Vergleich mit den anderen Gruppen signifikant mehr vorhanden (siehe Abb. 70). Für das Krankheitsbild der Anthrakose werden erhöhte Phosphatwerte beschrieben, aber nur im

Zusammenhang mit dem vermehrten Nachweis von Schwefel, Silicium und Aluminium⁹².

Diese Ergebnisse sind identisch mit vorangegangenen Studien zu Lungengewebe ohne Asbestbelastung. So wurde in der Arbeit von Ferrer et al. Lungengewebe und Pleura von Silikosepatienten, von Patienten mit positiver Berufsanamnese aber ohne entsprechenden Gewebsveränderungen und einer Referenzgruppe mittels REM und EDX-Analyse untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass Silicium und Calcium vermehrt bei Silikosepatienten auftreten, jedoch auch im Gewebe der Referenzgruppe nachweisbar ist. Dieser Zusammenhang wird vor allem durch die unweigerliche Inhalation von Umweltstäuben bei Stadtbewohnern erklärt. Zudem ist Calcium bereits physiologisch in den Körperflüssigkeiten zu finden. Die Detektion von Eisen wird durch das Vorhandensein von Eisen in der Erdoberfläche begründet^{62, 67, 71, 130}.

Die untersuchten Elemente zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen Lungengewebe und Lymphknoten (siehe Abb. 35-41, 44-46).

Auffällig ist, dass die Elemente Eisen und Chlorid in geringen Spuren nur im Lymphknoten messbar waren. Besonders Eisen würde in großen Mengen für exogene Noxen sprechen³⁰, aber nicht in so geringen Mengen wie in der Kontrollgruppe gemessen wurde (siehe Abb. 38).

Vergleicht man das Lymphknotengewebe der Kontrolle mit dem LK-Gewebe der anderen untersuchten Gruppen zeigt sich ebenfalls eine geringere Ansammlung von Silicium, Aluminium, Magnesium und Eisen. Kohlenstoff ist auch hier im LK-Gewebe der Kontrollgruppe relativ mehr vorhanden gegenüber den anderen Gruppen. Diese Messungen entsprechen denen der Lungengewebsuntersuchungen und sprechen für keine bis geringe Exposition gegenüber Stäuben oder anorganischen Fasern (siehe Abb. 53-58, 71).

5.3.3 Silikose

Silicium ist in den Lungengewebsproben gegenüber allen anderen Gruppen signifikant häufiger messbar, mit Ausnahme der Asbestose Gruppe (siehe Abb. 35). Silicium ist auch häufigster Bestandteil der Quarzstäube, dessen Inhalation zur Silikose führen⁶⁶. Des Weiteren sind die Werte der metallischen Elemente Aluminium, Eisen und Magnesium signifikant höher als im Lungengewebe der Kontrollgruppe. Alle Elemente, die für eine erhöhte Staubexposition mit letztlich kristallinen Strukturen sprechen können^{99, 121, 144}, aber nicht in den gemessenen Verhältnissen¹⁵⁰. Auch frühere Studien ergaben, dass in Silikoselungen im wesentlichen die Elemente Silicium, Aluminium, Eisen und Calcium nachzuweisen waren^{66-67, 71, 98, 130, 133}. In Quarzstaub Analysen wurden Silicium als häufigster Bestandteil beschrieben. Auffallend ist, dass Schwefel und Phosphat signifikant erhöht sind gegenüber der Asbestose Gruppe, welches für eine Silikose spricht (siehe Abb. 67 und 70)^{64, 98, 133}. Der Schwefel-Phosphat-Peak wurde von Evans et al. beschrieben und ist ein klares Unterscheidungsmerkmal im Vergleich mit der Asbestose⁶⁴. Für die Asbestose werden solche Peaks nicht beschrieben^{121, 150}. In der Spektrenanalyse für Kohlenstoff ergab sich ein signifikant geringerer prozentualer Anteil als im Lungengewebe der Kontrollgruppe (siehe Abb. 41, Anhand Abb. 65).

Die Elemente Natrium und Kalium sind im Lungengewebe signifikant mehr vorhanden als im Lymphknoten (siehe Abb. 39 und 44). Dagegen war das Element Phosphat tendenziell mehr im Lymphknoten messbar als im Lungengewebe (siehe Abb. 46). Für Silicium konnte in der Silikosegruppe eine tendenziell geringere Konzentration im Lymphknoten gemessen werden ($p=0,086$) (siehe Abb. 35). Auch für Aluminium und Magnesium wurden im Lungengewebe höhere Anteile nachgewiesen als in den Lymphknoten, die sogar signifikant waren (siehe Abb. 36 und 37). Alle Elemente, die in exogenen Noxen nachweisbar sind²¹.

Für das Lymphknotengewebe können die Ergebnisse der Lungengewebsuntersuchungen nur teilweise übernommen werden. So gab es zwischen den einzelnen Gruppen hinsichtlich des Siliciums keinen signifikanten Unterschied. Ebenso wenig für Magnesium, Schwefel und Eisen. Allerdings konnten auch im Lymphknotengewebe signifikant höhere Werte für Phosphat gegenüber der

Asbestosegruppe gemessen werden, was wie bereits beschrieben ein Abgrenzungsmerkmal zur Asbestose darstellen kann (siehe Abb. 53-56, 73, 76).

5.3.4 Asbestose

Die Identifizierung von lungengängigen Asbestfasern und die Unterscheidung von Asbestfasertypen erfolgt mit dem von Berufsgenossenschaften anerkannten REM-Analyseverfahren BGI (Berufsgenossenschaftlichen Informationen) 505-46. Demnach werden 4 verschiedene Fasertypen unterschieden:

Chrysotilasbest: Mg- und Si-Linie deutlich, Fe, Al, Mn-Linien schwach möglich, andere Linien je nach Begleitsubstanz möglich.

Amphibolasbest (Amosit, Krokydolith, Aktinolyth, Tremolit und Anthophyllit): Si- und Fe-Linie deutlich, Mg-Linie schwach möglich, andere Linien je nach Begleitsubstanz möglich.

Calciumsulfat: Ca-Linie deutlich, S-Linie vorhanden, andere Linien, bei nicht reinem CaSO₄

Sonstige anorganische Fasern: andere Elementspektren mit mindestens einer Linie

Die alleinige Anwendung der oben genannten Kriterien beinhaltet eine Verwechslungsgefahr mit anderen Mineralpartikeln (Magmatiten, Talk, Schiefer), welche ebenfalls Si, Al, Mg und Fe enthalten können. Ergänzend bzw. zur Abgrenzung zu anderen typischen Mineralen potenziell asbesthaltiger Gesteine erarbeitete Mattenklott et al. einen Kriterienkatalog der chemischen Elemente zur Bestimmung der Asbestfasern und/oder Mineralen. Des Weiteren werden sogenannte „exotische“ Asbestvarianten“ erwähnt, bei denen z.B. Chrysotil ungewöhnlich viel Ca oder auffallend niedrigere Werte an Mg aufweisen kann oder fehlende Ca-Anteile in Tremolit/ Aktinolith auftreten¹²². Aufgrund von Mischkristallbildungen kann in Hinsicht der Verteilung der chemischen Elemente nur eine Spannbreite angegeben werden¹⁵⁹.

Berücksichtigt werden sollte, dass die zitierten Arbeiten Materialien untersuchten, welche nicht den physiologischen Abbauvorgängen des menschlichen Organismus unterlagen.

Der Nachweis für Silicium, Aluminium, Magnesium und Eisen deckt sich mit den Bestandteilen von Amosit-Fasern^{99, 150, 192}. Der Nachweis von Silicium und Magnesium mit Chrysotil-Fasern^{99, 121, 150, 192}. Chrysotil-Fasern werden in der Literatur mit einer prozentualen Sterblichkeit pro Faserjahr bzw. ml-Jahr von 0,0009 bis 0,0130 beschrieben^{77, 91}. Im Gegensatz dazu wird für Amosit-Fasern eine prozentuale Sterblichkeit pro Faserjahr bzw. ml-Jahr von 0,06 bis 0,12 berichtet^{77, 91}. Eine potentere karzinogene Wirkung für Amosit-Fasern im Gegensatz zu Chrysotil-Fasern wird auch von Roggli et al. beschrieben, nach der Analyse von 234 Fällen¹⁶⁴. Das stärkste karzinogene Potenzial wird den Krokydolith-Fasern zugeschrieben mit einer prozentualen Sterblichkeit pro Faserjahr bzw. ml-Jahr von 0,59 bis 0,68^{77, 91}. Durch die Konstellation mit dem Element Natrium könnten auch Krokydolith-Fasern im Lungengewebe enthalten sein^{99, 150, 192}, die das größte karzinogene Potenzial aller Asbestfasern zeigen^{77, 91}.

Silicium ist in der Asbestosegruppe signifikant häufiger vorhanden (siehe Abb. 47) gegenüber der Kontroll-, der Anthrakose- und UIP-Gruppe. Die Unterscheidung zu den COPD-Patienten ist über signifikant höhere Aluminiumwerte möglich (siehe Abb. 48). Die Aluminiumwerte sind mit Ausnahme der Silikosegruppe gegenüber allen Gruppen signifikant erhöht. Die Abgrenzung zur Silikose ist unter anderem über Schwefel und Phosphat möglich, da der Asbestose der Schwefel-Phosphat-Peak der Silikose fehlt^{52, 64}.

Die Metalle Aluminium, Magnesium und Eisen sind in der Asbestose signifikant mehr vorhanden als in der Kontrolle (siehe Abb. 48- 50). Diese Konstellation ist für die Asbestose in Studien bereits beschrieben worden¹⁹². Kohlenstoff ist in der Asbestosegruppe in signifikant geringeren Dosen vorhanden als in der Kontrollgruppe (siehe Abb. 59). Interessant in unseren Messungen sind insbesondere die Verteilungen. Die größten Peaks sind für Silicium und Aluminium gemessen worden, gefolgt von Eisen und Magnesium. Genau diese Verteilung hat Dernevik aus der Herz-Thorax-Chirurgie in Sahlgrenska 1985 für die Asbestose bei "shrinking pleuritis" mit Atelektasen beschrieben⁵². "shrinking pleuritis" mit Atelektasen ist auch assoziiert mit dem Postmyokardinfarkt-Syndrom¹⁷⁰ bei Asbestose^{53, 88}.

Eine Sonderstellung nimmt Magnesium ein. Magnesium ist nicht immer in den Asbestfasern enthalten, sondern ist Bestandteil der Hülle, die sich um die

Asbestfaser im Lungengewebe bildet¹⁴⁴. Nachgewiesen wurde, dass Magnesium in Verbindung mit viszeralen Kalzifikationen beobachtet wurde¹⁸⁶. Es wird spekuliert, dass die Unlöslichkeit der Asbestkörperchen im Zusammenhang mit den von Magnesium vermittelten Kalzifikationen steht⁷⁴⁻⁷⁵.

Für Aluminium und Phosphat wurden in den Lymphknoten signifikant geringere Werte gemessen (siehe Abb. 36 und 46). Dagegen sind für Eisen und Natrium in den Lymphknoten tendenziell höhere Werte vorhanden (siehe Abb. 38 und 39). Dies sind Elemente, die vor allem in Amosit- und Krokydolith-Fasern vorkommen und nicht in Chrysotil-Fasern^{21, 99, 150}. Es konnte nachgewiesen werden, dass die Elemente wie Mg, Ca, C, O, S, K und Cl im Lungengewebe auch in den Lymphknoten messbar sind⁵⁷. Signifikante Unterschiede ergaben sich dabei nicht, was auch für die Vergleiche der Lymphknotengewebe zwischen den Gruppen zutrifft.

Ferner wird vermutet, dass eine höhere Exposition mit einer Noxe, eine erhöhte Clearance im Lungengewebe oder eine verminderte Clearance in den Lymphknoten zu einer höheren Konzentration der Elemente im Lymphknoten führt⁵⁸.

Die Clearance der Asbestfasern im Lungengewebe ist einerseits abhängig von der Fasergröße. Fasern kleiner als 5 µm werden 7 bis 80mal langsamer abgebaut, als Fasern größer als 20 µm^{21, 173}. Andererseits ist die Clearance abhängig von der Faserqualität. Chrysotil Fasern (<20 µm) sind nach 90 Tagen um den Faktor 100 im Lungengewebe reduziert. Dagegen ist die Anzahl von Amosit-Fasern (<20 µm)/ g Lungengewebe selbst nach 350 Tagen nicht stark verringert²¹. Diese deutlich verlängerte Biopersistenz kann das höhere karzinogene Potenzial der Amosit- und Krokydolithfasern mit erklären^{77, 91}. Da in den Lymphknoten unserer Asbestosegruppe vor allem Elemente der Amosit- und Krokydolith-Fasern vorhanden sind, kann vermutet werden, dass eine erhöhte Exposition gegenüber diesen Fasern bestand.

5.3.5 COPD

Die COPD-Patienten zeigen eine höhere Siliciumanreicherung gegenüber der UIP-Gruppe. Die Schwefel- und Phosphatkonzentrationen sind auf dem Niveau der Silikosegruppe. Die Silikosegruppe hat aber signifikant höhere Bestandteile von Silicium und Aluminium im Lungengewebe als das untersuchte Lungengewebe der COPD-Patienten (siehe Abb. 47 und 48) und ist damit klar von der COPD abgrenzbar. Das Lungengewebe der COPD-Gruppe hat die relativ geringsten Kohlenstoffkonzentrationen von allen Gruppen (siehe Abb. 65). Ein weiteres klares Unterscheidungsmerkmal im Vergleich zu allen anderen Gruppen: Magnesium, welches in signifikant höheren Konzentrationen im Lungengewebe vorhanden ist (siehe Abb. 49).

Magnesium ist bei inflammatorischen Gewebe- und Tumorerkrankungen erhöht¹⁹⁷⁻¹⁹⁸. Weitere Studien sehen Magnesium bei der Vermittlung inflammatorischer Prozesse und bei Geweberegenerationen^{123, 172}. Ferner wird postuliert, dass Magnesium über verschiedene Mechanismen als Antioxidans im Körper wirkt^{106, 139}. Die COPD entsteht durch chronische Entzündungen des Lungengewebes¹². Die häufigste Noxe mit 97 % ist der Zigarettenkonsum¹². Durch Inhalation von Zigarettenrauch im Tiermodell der Maus wurde eine COPD induziert, unter anderem durch die Freisetzung von Proteasen und Elastasen²⁷. EDX-Analysen an Zigarettenfiltern zeigen Peaks für Aluminium und Calcium⁴. Dies deckt sich mit unseren Messungen im Lungengewebe. Calcium ist interessanterweise auch signifikant höher als in der Silikose- und Asbestosegruppe und damit ein weiteres Unterscheidungsmerkmal (siehe Abb. 52).

Nichtsdestotrotz entwickeln auch Patienten ohne Zigarettenkonsum eine COPD, aus unterschiedlichen Gründen. Der Nachweis von Magnesium und Silicium in unseren Messungen kann auch vom Talk kommen. Talk besteht aus Magnesium und Silicium⁴⁸ und wird bei industrieller Luftverschmutzung gemessen³⁷. Es konnte in mehreren Studien gezeigt werden, dass Talk im Lungengewebe zur Entstehung einer COPD führt^{82, 142, 188}. Mineralhaltige Stäube aus der Luftverschmutzung können zur Freisetzung von Proteasen und Elastasen führen und damit auch zur Entstehung einer COPD^{37, 48, 174, 194-195}.

Magnesium, Eisen und Kalium sind in den Lymphknoten in signifikant geringeren Mengen vorhanden als im Lungengewebe (siehe Abb. 37,38 und 44). Dagegen sind Calcium signifikant mehr und Phosphat mehr in den Lymphknoten gemessen worden als im Lungengewebe (siehe Abb. 40 und 46). Dies spricht für eine geringe Exposition von Noxen mit einer langen Biopersistenz und hohen Metallanteilen, wie Asbestfasern^{21, 99, 150}. Die höhere Konzentration von Calcium in den Lymphknoten im Vergleich zum Lungengewebe und im Übrigen auch gegenüber dem Lymphknotengewebe der anderen Gruppen könnte mit den typischen Entzündungsvorgängen der COPD in Verbindung stehen (siehe Abb. 58). Entzündungsmediatoren wie Leukotrien B₄, TNF- alpha und Interleukin 8 sind für die erhöhte Anzahl von Makrophagen und Neutrophilen verantwortlich. Der durch die Zellen sezernierte Mukosaschleim kann Calcium enthalten. Außerdem konnte bereits gezeigt werden, dass das Gewebshormon Histamin zu einer Aktivierung der Calciumkanäle führt und somit zu einer vermehrten Calciumausschüttung führt. Andere Entzündungsmediatoren könnten den gleichen Effekt haben¹². Passend zum Lungengewebe ist auch im Lymphknotengewebe der COPD-Gruppe Aluminium signifikant mehr vorhanden als in den anderen Gruppen (siehe Abb. 54).

5.3.6 UIP

Die UIP ist klar von der Silikose, Asbestose, COPD und Anthrakose abgrenzbar durch signifikant geringere Konzentrationen von Silicium und Aluminium (siehe Abb. 47 und 48). Dies deckt sich mit Beobachtungen einer vorangegangenen Studie von Dufresne et al., bei der Lungengewebe mit fibrotischen Veränderungen mit oder ohne Lungenkarzinom auf den Gehalt verschiedener Elemente wie z.B. Silicium, Calcium und Phosphat untersucht wurde. Die Resultate zeigten, dass Silicium weniger in der Gruppe mit fibrotischen Gewebsstrukturen als bei den Lungengewebsproben mit einer Silikose, fibrotischen Anteilen und Lungenkarzinom vorhanden war. Der Phosphat- und Calciumgehalt war dagegen erhöht⁶². Monso et al. berichten über ein erhöhtes Silicium/Schwefel Verhältnis von über 0,6 im Vergleich mit einer Kontrolle, wo das Verhältnis unter 0,2 lag¹³¹. In unserer Kontrolle lag das Verhältnis bei 0,12 und bei der UIP bei 1,4, was somit den Ergebnissen der Studie entspricht (siehe Abb. 47 und 67). Die Ergebnisse decken sich auch mit Analysen von UIP- Patienten, bei denen das Auftreten der UIP nicht nur mit einem erhöhten Silicium/Schwefel Verhältnis assoziiert war, sondern auch mit erhöhten Aluminium-, Magnesium- und Eisenkonzentrationen¹⁰². Alle drei Elemente waren auch in unseren Ergebnissen in höheren Konzentrationen in der UIP vorhanden als in der Kontrolle (siehe Abb. 47-50). Der erhöhte Nachweis im Lungengewebe der UIP-Gruppe von Metallen wie Silicium, Eisen, Aluminium und Magnesium gegenüber einer Kontrolle wurde auch von Monso et al. und Tsuchiya et al. gezeigt. Da die genannten Elemente auch ohne entsprechender Berufsanamnese nachweisbar waren, wird vermutet, dass es oft zu Staubinhalationen kommt, denen keine größere Beachtung geschenkt werden^{132, 185}. Im Tiermodell der Ratte konnte gezeigt werden, dass unter anderem die Inhalation von Eisen bei Schweißerrauch nach 90 Tagen zur Fibrose im Lungengewebe führt²⁰⁰. Ferner können auch andere messbare Elemente der täglichen Luftverschmutzung, wie Silicium, Magnesium etc., die auch in unseren Untersuchungen vermehrt nachweisbar waren, zur Entstehung der Fibrose beitragen^{37, 45}. Fibrose kann auch durch Asbestfasern ausgelöst werden⁸⁰. In der UIP-Gruppe ist die Kohlenstoffkonzentration relativ geringer als in der Kontrolle (siehe Abb. 65), dies deutet auf eine erhöhte Konzentration von Fremdelementen hin.

Silicium und Aluminium sind in den Lymphknoten in signifikant höheren Konzentrationen messbar als im Lungengewebe der UIP (siehe Abb. 35 und 36). Der erhöhte Nachweis dieser Elemente konnte auch von Kitamura et al. erbracht werden¹⁰². Chlorid, Calcium und Phosphat sind in signifikant kleineren Mengen im Lymphknoten vorhanden als im Lungengewebe (siehe Abb. 40,45 und 46). Die Ergebnisse zeigen eine lange Exposition mit nicht-organischen Noxen, wie sie für die Pathogenese der UIP beschrieben wird^{101-102, 132, 185}.

Hinsichtlich der Elementverteilungen im Lymphknotengewebe der UIP-Gruppe ergaben sich keine nennenswerten Besonderheiten.

5.3.7 Anthrakose

Die für die Asbestose und Silikose typischen hohen Konzentrationen von Silicium und Aluminium konnten in der Anthrakosegruppe nicht gemessen werden (siehe Abb. 47 und 48). Trotzdem sind die Konzentrationen von Silicium und Aluminium signifikant höher als in der Kontrolle oder der UIP. Eine weitere Differenzierung bietet Chlorid, das signifikant zu allen Gruppen erhöht ist, mit Ausnahme der COPD, bei der es im Vergleich nur tendenziell erhöht vorliegt (siehe Abb. 69). Aber eine eindeutige Unterscheidung zur COPD ist über die signifikant geringen Konzentrationen von Magnesium im Lungengewebe möglich (siehe Abb. 49).

Eisen und Silicium sind signifikant erhöht gegenüber der Kontrolle, Beobachtungen die auch in aktuellen Studien gemacht wurden^{79, 92}. Eine weitere Studie berichtet über erhöhte Bestandteile von Kalium, Natrium und Magnesium¹⁴⁸. Alle Elemente, die auch in unseren Messungen in signifikant höheren Konzentrationen im Lungengewebe der Anthrakose zu finden sind als in der Kontrollgruppe.

Anthrakose kann durch Luftverschmutzung induziert werden⁴⁵, insbesondere durch Kohlestaub²⁹. EDX-Analysen ergaben als Hauptelemente Silicium, Aluminium, Eisen und Calcium²⁹. Auch Calcium ist im Lungengewebe der Anthrakose in signifikant höheren Konzentrationen zu finden als in der Kontrolle (siehe Abb. 52). Unsere Ergebnisse zeigen, dass die Elemente der auslösenden Noxen im Lungengewebe der Anthrakose alle nachweisbar sind. In der Anthrakosegruppe ist die relative Kohlenstoffkonzentration niedriger als in der Kontrollgruppe, was für eine Verunreinigung der Lunge mit inhalierten Stäuben spricht (siehe Abb. 65).

Für Silicium sind tendenziell höhere Konzentrationen in den Lymphknoten gefunden worden als im Lungengewebe (siehe Abb. 35). Diese deckt sich mit Beobachtungen in einer früheren Studie¹⁴⁸. Eisen, Natrium, Kalium und Chlorid sind in den Lymphknoten signifikant weniger vorhanden als im Lungengewebe (siehe Abb. 38, 39, 44 und 45). Dagegen sind Magnesium und Calcium signifikant mehr im Lymphknoten messbar (siehe Abb. 37 und 40). Die Ergebnisse sprechen für eine lange Exposition mit pathogenen Noxen, wie Kohlestaub^{29, 58}, welches im Einklang mit der Pathogenese der Anthrakose ist¹²⁴.

Vergleicht man das Lymphknotengewebe der Anthrakose-Gruppe mit den übrigen Gruppen, fallen signifikant höhere Calcium- und Phosphatwerte gegenüber der

Kontroll-, Silikose-, Asbestose- und UIP-Gruppe auf (siehe Abb. 58,76). Die Verbindung zu erhöhten Calcium- und Phosphatwerten im Lungengewebe ist bereits erläutert worden. In Bezug auf das Lymphknotengewebe gibt es bislang keine stichhaltige Erklärung.

5.4 Diskussion der Elemente Si, Al, Mg, Fe, Na, Ca

Die Morphologie und die Zusammensetzung der Elemente der inhalierten Fasern oder Partikel erlaubt mit Hilfe des Rasterelektronenmikroskops und der anschließenden EDX-Analyse eine Klassifizierung der anorganischen Partikel. Die Gruppen anorganischer Teilchen werden in Silikate, nicht-faserreiche Silikate, Asbestfasern und Teilchen von Schwermetallen unterteilt. Hinsichtlich der Elementverteilung sind in der nicht-faserreichen Silikatgruppe alle o.a. Elemente vertreten¹³⁴. Die Konstellationen der Elemente der verschiedenen Asbesttypen sind in der Tabelle 2 unter 2.4.2.5 dargestellt. Dass Asbestfasern ein kanzerogenes Potential aufweisen ist allgemein bekannt. Pott et al. untersuchten die Kanzerogenität von Nicht- Asbestfasern.

Aus den Untersuchungen ergab sich ein Zusammenhang zwischen der Kanzerogenität und der Fasergröße. Ein handfester Beweis dafür, dass die chemische Zusammensetzung und die Mineralstruktur für den Mechanismus der Kanzerogenität verantwortlich sind, fehlt bislang. Dagegen können die folgend beschriebenen Elemente die Biobeständigkeit der Fasern beeinflussen und infolgedessen deren Aktivität^{5,165}.

5.4.1 Silicium

Silicium ist ein klassisches Halbmetall und kommt in unterschiedlichen Verbindungen im menschlichen Körper vor. In die Lunge gelangt es unter anderem durch die Inhalation von kristallinem Quarzstaub (< 10 µm) und führt zu makro- und mikroskopisch nachweisbaren Gewebsveränderungen¹¹⁴. Eine langandauernde Exposition begünstigt die Entstehung der sogenannten Silikose, der COPD und Lungenkrebs.

Es konnten bereits im Tiermodell mittels EDX-Analyse erhöhte Siliciumwerte im Lungengewebe mit Quarzstaubablagerungen nachgewiesen werden⁶⁴. Eine Untersuchung an Schweinen zeigte neben dem Auftreten von Silicium bei Quarzexposition Schwefel, Kalium, Calcium, Aluminium und Eisen¹⁶⁷. Auch in humanem Lungengewebe wurden signifikant erhöhte Siliciumwerte bei Mitarbeitern einer Gießerei festgestellt¹⁵³.

Diese Ergebnisse stimmen weitestgehend mit den Resultaten der Untersuchungen der vorliegenden Arbeit überein. Patienten mit Silikose zeigten mit Ausnahme der Asbestosegruppe signifikant höhere Siliciumwerte im Vergleich zu den anderen Gruppen (siehe Abb. 47). Silicium ist in nahezu allen Asbestfasertypen vorhanden. So überrascht es nicht, dass auch die Asbestosegruppe erhöhte Siliciumwerte aufweist¹⁴⁵.

5.4.2 Aluminium

Aluminium zählt als Spurenelement zu den natürlichen Bestandteilen des menschlichen Körpers und verteilt sich zu großen Teilen in der Lunge. Zudem befindet sich Aluminium in kristallinen Fasern wie Asbestfasern. Aluminium wird jedoch nicht nur bei untersuchtem Lungengewebe mit bekannter Exposition, sondern auch bei Patienten ohne entsprechende Berufsanamnese nachgewiesen. Man weiß, dass durch alltägliche Inhalation des Umweltstaubes Aluminium in die Lunge gelangt. Zur kanzerogenen Wirkung von Aluminium liegen bisher keine Daten vor. Dessen ungeachtet kann der Zusammenhang von Aluminium- haltigen Staub und der Entstehung von Fibrose bzw. UIP Aufschluss über das Potenzial von Aluminium mit humanem Gewebe in Interaktion zu treten, geben¹⁸⁵.

In den dargestellten Ergebnissen konnte kein erhöhter Aluminiumgehalt in der UIP-Gruppe nachgewiesen werden (siehe Abb. 48).

5.4.3 Magnesium

Kristalline Fasern wie Chrysotil, Amosit und Tremolit sowie Talk beinhalten Magnesium. Die signifikant höchsten Magnesiumwerte wurden in der COPD-Gruppe nachgewiesen, gefolgt von der Silikosegruppe. Mögliche Ursachen dafür sind unter 5.3.4 erläutert. Der geringere Anteil in der Asbestosegruppe kann durch den Verlust von Magnesium besonders bei Asbestfasern vom Chrysotiltyp erklärt werden, da das Magnesiummolekül an der Außenseite der Fasern und somit durch den Prozess der Faser clearance direkt angegriffen werden kann^{21 108}. Der Nachweis mittels EDX-Analyse wird dadurch erschwert. Auf der anderen Seite wird davon ausgegangen, dass die Ablagerungen von Magnesium auf den Chrysotilfasern durch die Aufnahme weiterer exogener Noxen begründet werden kann.

Die Rolle für Magnesium in Hinsicht auf die Kanzerogenität ist noch nicht ausreichend geklärt. Man geht davon aus, dass Magnesium als Kofaktor der DNA-Polymerase der Krebsentstehung entgegen wirkt¹⁹⁹. Andere Untersuchungen zeigten jedoch einen erhöhten Anteil von Magnesium im malignen Gewebe neben Zink, Eisen und Calcium¹⁹⁸.

5.4.4 Eisen

Eisen ist ein elementarer Bestandteil vieler enzymatischer Reaktionen im Organismus des Menschen und wird u.a. mit der Nahrung aufgenommen. Asbestkörper- und Fasern können Eisen beinhalten. Der Eisengehalt variiert unter den einzelnen Asbesttypen. Neuste Untersuchungen bei Ratten zeigen jedoch, dass besonders Chrysotil und eine lokale Eisenüberladung zur Entstehung eines malignen Mesothelioms beitragen⁹⁶. Man geht davon aus, dass die Entstehung freier Radikale durch Eisenionen an der Faseroberfläche die Zytotoxizität und Genotoxizität durch DNA-Strangbrüche begünstigen⁷³. Dagegen wird in einer anderen Arbeit von Shannahan et al. vermutet, dass Eisen zu einer Hemmung der Entzündungsreaktionen im Lungengewebe führt¹⁷⁶.

In den vorliegenden Ergebnissen konnte kein erhöhter Eisengehalt in der Asbestosegruppe gegenüber den anderen untersuchten Gruppen nachgewiesen werden (siehe Abb.50).

5.4.5 Natrium

Natrium ist ein für den menschlichen Körper unverzichtbares Element und gehört physikalisch betrachtet zu den Leichtmetallen. Es gibt zahlreiche Natriumverbindungen wie zum Beispiel Kryolith, was zur Herstellung von Aluminium verwendet wird. Zudem dient es häufig als Zusatz von Silicium-Aluminium-Legierungen. Asbestfasern vom Typ Aktinolith und Krokydolith können Natrium in der Spektrenanalyse aufweisen²⁴.

Die signifikant höchsten Natriumwerte mit Ausnahme gegenüber der Anthrakosegruppe konnten in der UIP-Gruppe nachgewiesen werden (siehe Abb.51). Bisher liegen keine Daten vor, die den Zusammenhang zwischen Natrium und einer kanzerogenen Wirkung beschreiben.

5.4.6 Calcium

Calcium ist im humanen Organismus vor allem in den Knochen und Zähnen zu finden. In der Umwelt kommt es als Anteil von Mineralien wie Kalk, Kreide und Gips vor. Calcium ist ein Bestandteil der Hülle der Asbestkörper und konnte nicht in den „nackten Fasern“ nachgewiesen werden. Der Nachweis von Calcium wird auf eine mögliche Kalzifizierung zurückgeführt, welche im Beisein von Eisen auftreten kann¹⁴⁵. Dies könnte zumindest die erhöhten Messungen von Kalzium in der Kontrollgruppe gegenüber der Asbestose- und Silikosegruppe erklären (siehe Abb. 52).

Eine direkte kanzerogene Wirkung von Calcium in anorganischen Fasern ist bisher nicht bekannt. Allerdings geht ein paraneoplastisches Geschehen oft mit einer laborchemisch nachweisbaren Hyperkalzämie einher⁹⁵. Bolland et al. konnten durch die Einnahme von Calciumpräparaten zwar ein erhöhtes Herzinfarktrisiko durch vorzeitige Verkalkungen der Koronararterien nachweisen, jedoch keine Beziehung zwischen einer Kalziemeinnahme und einem erhöhten Krebsrisiko herstellen^{26, 28}.

5.5 Fazit

In dieser Arbeit wurden 6 verschiedene Lungenerkrankungen auf ihre Elementverteilungen im Lungengewebe und Lymphknoten mit der REM-EDX Analyse untersucht. Alle Untersuchungen und Analysen wurden von einer Person unter immer gleichen und reproduzierbaren Bedingungen durchgeführt. Die Messungen jedes Präparates erfolgten jeweils in 10 verschiedenen Vergrößerungen. In die Auswertung eingeschlossen sind 7 Vergrößerungen, die alle die Kriterien der Reproduzierbarkeit erfüllen und eine statistische Power (ANOVA, ANOVA on ranks, Dunnett-Test) von größer als 0,8 haben.

Von besonderem Interesse war die Elementverteilung bzw. Konstellation zwischen den untersuchten Patientengruppen. Die Ergebnisse der Untersuchungen decken sich mit den Ergebnissen in der Literatur zu den Elementen im Lungengewebe für die Krankheitsbilder Silikose, Asbestose, COPD, Anthrakose und UIP. Darüber hinaus konnten bei den Fällen der Silikose, Asbestose und Anthrakose auch die Elemente der dazu gehörigen Noxen nachgewiesen werden. Die Unterscheidung der einzelnen Krankheitsbilder anhand der Elemente ist wie folgt.

1. Die Spektrenanalyse für Kohlenstoff in der Kontrollgruppe ergab relativ höhere Werte gegenüber allen anderen Gruppen.
2. Das Krankheitsbild der Silikose ist in der gezielten EDX-Analyse über den höheren prozentualen Anteil des Siliciums abgrenzbar zur Kontrolle, COPD, Anthrakose und UIP. Die Unterscheidung zur Asbestose ist über die Elemente Schwefel und Phosphat möglich, welche erhöht sind im Lungengewebe der Silikose.
3. In den asbestosebedingten Fibrosierungszonen ist Silicium signifikant häufiger vorhanden als in der Kontrolle, der Anthrakose und der UIP. Die Unterscheidung zu den COPD-Patienten ist über signifikant höhere Aluminiumwerte möglich. Die Aluminiumwerte sind, mit Ausnahme der Silikosegruppe, gegenüber allen Gruppen signifikant erhöht. Die Abgrenzung zur Silikose ist unter anderem über Schwefel und Phosphat messbar, da der Asbestose der Schwefel-Phosphat-Peak der Silikose fehlt.
4. Die COPD ist in den Zonen mit Pigmentablagerungen klar von den anderen Gruppen abgrenzbar, durch ihren signifikant geringeren Anteil an Kohlenstoff und den signifikant höchsten Anteilen an Magnesium.

5. Die Anthrakose ist deutlich abgrenzbar zur Silikose und Asbestose über geringere Konzentrationen von Silicium und Aluminium. Bis auf die COPD lassen sich alle Gruppen durch signifikant geringere Konzentrationen von Chlorid unterscheiden.

6. Die UIP ist klar von der Silikose, Asbestose, COPD und Anthrakose abgrenzbar durch signifikant geringere Konzentrationen von Silicium und Aluminium.

Der Nachweis von Asbestfasern anhand ihrer Elemente war mit EDX-Messungen für Lungengewebe mit Asbestose erfolgreich. Insbesondere der Nachweis der karzinogenen Asbestfaser Krokydolith.

Weiterhin wurde die Elementverteilung in der Lunge und den zugehörigen Lymphknoten gruppenspezifisch untersucht. In der UIP-Gruppe sollte nach den vorliegenden Ergebnissen eine zusätzliche Untersuchung der Lymphknoten stattfinden, da vor allem Silicium und Aluminium hier signifikant höher als im Lungengewebe auftrat. Überwiegend ließen sich die Elemente im Lungengewebe zum Teil signifikant erhöht gegenüber dem Lymphknotengewebe nachweisen.

Eine weitere Fragestellung dieser Arbeit war, ob es eine optimale Vergrößerung gibt, um die zeitaufwendigen Analysen optimieren zu können. Insbesondere stellte sich diese Frage für die Asbestosegruppe, da dort nach wie vor ein sehr aufwendiges Diagnostikschema zur Erkennung genutzt wird.

Die elektronenmikroskopische Vergrößerung 2500x war zu empfehlen. Dort ließen sich fast alle Elemente bei zahlreichen Untersuchungsproben sicher nachweisen. Insbesondere konnten alle Elemente zur Charakterisierung von Asbestfasern gemessen werden. Morphologisch relevante Befunde ließen sich bei dieser Vergrößerung am besten zuordnen.

Insgesamt ergab sich, dass die heterogene Verteilung der Elemente durch die Kombination von Licht- und Rasterelektronenmikroskopie erleichtert wurde und im Wesentlichen die rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen in Verbindung mit der EDX-Analyse bei einer 2500fachen Vergrößerung für differenzierte diagnostischen Untersuchungen am geeignetsten erschienen. Zudem können charakteristische Spektrenbilder bei fibrosierenden Lungenerkrankungen zu einer

klaren Unterscheidung von Lungenerkrankungen wie der Asbestose führen und somit eine idiopathische Lungenfibrose (UIP) abgrenzen.

5.6 Ausblick

Es wurde eine Vielzahl von nicht-organischen Elementen im Lungengewebe der verschiedenen Krankheiten identifiziert, die alle zu einem pathologischen Geschehen passen. Insbesondere die Asbestose ist seit Jahrzehnten in Ursache und Wirkung bekannt, sodass heute Asbest als offenes Baumaterial in Deutschland verboten ist. Die Hoffnung besteht, dass nach dem zu erwartenden Peak an malignen Lungenerkrankungen wie dem malignen Mesotheliom im Jahre 2030 ein Rückgang der Inzidenz zu erwarten ist.

Einen Rückgang der Inzidenz von Lungenkrebserkrankungen hatte man sich auch durch den Rückgang des Zigarettenkonsums erhofft. Zwar sind die Plattenepithelkarzinome in der Inzidenz gesunken, aber dafür ist das Adenokarzinom in der Inzidenz gestiegen. Eine Erkrankung, die vor allem jüngere Menschen betrifft und fatal im Krankheitsverlauf ist, mit kaum Aussicht auf Heilung. Die Ursache für den Anstieg der Inzidenz ist spekulativ^{6, 55, 191}.

Vor diesem Hintergrund ist eine gute Diagnostik umso wichtiger. Im Rahmen dieser Arbeit konnte durch EDX-Analysen am Rasterelektronenmikroskop gezeigt werden, dass mit Hilfe charakteristischer Elementverteilungen eine Identifizierung bzw. Abgrenzung von idiopathischen Lungenerkrankungen (UIP) zu Lungenerkrankungen mit positiver Berufsanamnese möglich sind.

Nanopartikel sind aus der modernen Industrie nicht mehr wegzudenken. In den letzten Jahren sind EDX-Analysen zu Nanopartikeln (Gold-, Silber-, Eisen- und Siliciumnanopartikel) mehr und mehr in den Fokus gerückt¹⁴⁶. Die Ergebnisse der Studien sind erstaunlich. Es werden einerseits die gleichen pathogenen Elemente im Lungengewebe gefunden, wie sie aus der Asbestforschung bereits bekannt sind und andererseits die gleichen pathophysiologischen Wirkungen auf die menschlichen Zellen^{151, 202}. Die EDX-Analysen von z.B. Siliciumnanopartikel zeigen nahezu identische Spektrenbilder wie die der in der Arbeit untersuchten Lungengewebsproben der Asbestose- und Silikosegruppe^{61, 115}.

Es wird daher noch zu klären sein, ob die gleichen Elemente mit den gleichen Wirkungen auf das Lungengewebe womöglich zu den gleichen Krankheiten führen. Es gilt weitere Untersuchungsverfahren zu entwickeln, um auch in Zukunft z.B. idiopathische Lungenerkrankungen von denen durch Nanopartikel verursachte Gewebsveränderungen der Lunge unterscheiden zu können. Aus der

Asbestoseforschung wissen wir, dass Jahrzehnte vergehen können bis die begleitenden Krankheitsbilder auftreten. Aber wir wissen auch, dass das karzinogene Potenzial umso größer ist, je kleiner die Fasern sind^{77, 91}. Nanopartikel sind noch kleiner und damit könnte die Inkubationszeit kürzer sein. Untersuchungen am Tiermodell zeigten bereits, dass durch Nanopartikel hervorgerufene entzündliche Reaktionen des Organismus nicht von der applizierten Masse abhängig sind, sondern viel mehr von der Beschichtung und Oberfläche der Nanopartikel. So ist eine umfassende Charakterisierung der Nanopartikel unumgänglich.

Deswegen ist die Forschung von Ursache und Wirkung und damit die EDX-Analyse am Lungengewebe nach wie vor hochaktuell und notwendig.

6 Anhang

Internationale Staublungenklassifikation (ILO 2000 – Deutsche Version)													
<p>Schema nach Prof. Dr. med. J. Thürauf, © 2004 (Vgl. ILO Occup. Saf. Hlth. Ser. No. 22 (Rev. 2000) ISBN 92-2-102463-6; Hering KG et al. (15 Zweiteurteiler): Die Weiterentwicklung der Internationalen Staublungenklassifikation – von der ILO 1980 zur ILO 2000/Version Bundesrepublik Deutschland, Arbeitsmed. Sozialmed. Umweltmed. 38, 10, 504-512, 2003 dito in: Pneumologie, 57; 10; 576-584, 2003)</p>													
Bildgüte	<p> + = gut + = annehmbar + = mangelhaft u = unbrauchbar ↪ zusätzlich mit Begründung: T = Technik; Kommentar zu Mängeln </p>												
Lungen-Schatten	<p>Streuung 12-Stufen-Skala für Streuungsdichte (vgl. Standard-Filme)</p> <table style="width: 100%; text-align: center;"> <tr> <td>0/-</td> <td>1/0</td> <td>2/1</td> <td>3/2</td> </tr> <tr> <td>0/0</td> <td>1/1</td> <td>2/2</td> <td>3/3</td> </tr> <tr> <td>0/1</td> <td>1/2</td> <td>2/3</td> <td>3/+</td> </tr> </table> <p>Verbreitung (Lungenfelder) Rechtes Oberfeld = [RO][LO] = Linkes Oberfeld Rechtes Mittelfeld = [RM][LM] = Linkes Mittelfeld Rechtes Unterfeld = [RU][LU] = Linkes Unterfeld</p>	0/-	1/0	2/1	3/2	0/0	1/1	2/2	3/3	0/1	1/2	2/3	3/+
0/-	1/0	2/1	3/2										
0/0	1/1	2/2	3/3										
0/1	1/2	2/3	3/+										
Größe	<p>kleine Schatten</p> <p>Form: rundlich p = ● -1,5 mm q = ● >1,5 - 3 mm r = ● >3 - 10 mm unregelmäßig (Breite) s = / -1,5 mm t = / >1,5 - 3 mm u = / >3 - 10 mm gemischt (z.B.) p/q p/s t/q s/t, etc.</p> <p>große Schatten (in cm bzw. RO-Fläche) A = 1-5 cm ø (+ø) B >5 cm – RO C = > RO</p>												
Kostophrenischer Winkel	<p>Adhärenz Rechtsseitig = R L = Linksseitig (vgl. Standard-Filme 1/1 t/t rechtsseitig)</p>												
Pleura-Verdickung	<p>[] im Profil [] in Aufsicht</p> <p>Dicke (max. Saumbreite in mm) [] = < 3 [a] = 3 - 5 [b] = 5 - 10 [c] = >10</p> <p>Verbreitung (Gesamt-Länge, Summe maximaler Ausdehnungen, getrennt für jede Seite) laterale Brustwand als Bezugsgröße [0] = o.B. [1] = < 1 [2] = 1 - 1 [3] = > 1</p> <p>► diffus, seitliche Brustwand (Saum, tangential im Profil/Aufsicht)</p> <p>Lokalisation vgl. Vorderseite, z.B. RechtsOben = RO etc.</p>												
<p>► umschrieben</p> <p>– hyaline Plaques</p> <p>– verkalkte Plaques</p>	<p>Lokalisation – Brustwand – Zwerchfell (unberücksichtigt bei Gesamtlänge) jeweils Rechts = R L = Links</p>												
<p>► Pleuraverkalkung</p>	<p>Lokalisation (als einzige Angabe) Zwerchfell – Brustwand – Sonstige (z.B. Mediastinum); jeweils Rechts = R L = Links</p>												
Symbole (mit oder ohne Bezug zu pneumokoniotischen Veränderungen; Originaltext englisch)													
<p>aa = Aorten-Atheromatose at = Pleurakuppenschwiele ax = Koaleszenz bu = bullöses Emphysem ca = Karzinom der Lunge cg = verkalkte Granulome oder andere nicht-pneumokoniotische Knötchen cn = Calcification in kleinen pneumokoniotischen Schatten co = Cor, Größe/Form-Veränderungen cp = Cor pulmonale cv = Caverne</p>	<p>di = Distorsion (Verzierung) ef = Effusion (Pleuraerguss) em = Emphysem es = Eierschalenhilus (Verkalkungen) fr = Fraktur der Rippe(n) hl = Hilus- oder Mediastinal-Lymphknotenvergrößerung ho = Honigwablenkunge id = Zwerchfellunschärfe (> 1/3 Zwerchfellhälfte) lh = Herzkonturunschärfe (> 1/3 li. Herzrand) kl = Kerley-Linien (basal, perihilar)</p>												
<p>me = Mesothelium der Pleura od = sonstige Auffälligkeiten/Erkrankungen angeben (z.B. Penumonie; Aspergillom, Struma; Hiatushernie) pa = Plattenatektase pb = Parenchymband pl = Pleuraverdickung, (interlobär, ca. 1 mm) px = Pneumothorax ra = Rundherdatektase rp = rheumatoide Pneumokoniose (Caplan-Syndrom) tb = Tuberkulose</p>													

Abbildung 59 Staublungenklassifikation

Abb. 59 Beurteilungsbogen für Arbeitsmedizinische Vorsorgeuntersuchungen, Satz IV
 "Röntgenbefund nach der ILO-Klassifikation 2000 / Bundesrepublik" ⁸⁶.

CT-Klassifikation											
GDNR: <input type="text"/>					CT-Nr. / Datum					Qualität	Position
Name:					Schichtzahl	Sequenztechnik		<input type="checkbox"/> kV	1	<input type="checkbox"/> BL	
Vorname:					Schichtdicke	Single slice Spir.		<input type="checkbox"/> mAs als Summe	2	<input type="checkbox"/> RL	
geb.:					Fenster-einstellungen	Multi slice Spir.		<input type="checkbox"/> sec	3	<input type="checkbox"/>	
					CTDI:	DLP:		4	<input type="checkbox"/>	BMI:	

CT-Befund 2001

Ist der gesamte Film ohne Befund ? nein ja

Lunge

Rundliche Schatten (scharf begrenzt)
nein ja

P = < 1,5 mm nein ja Häufigste Größe

Q = 1,5 - 3 mm nein ja

R = > 3 - 10 mm nein ja

Irreguläre und/oder lineare Schatten
nein ja

Intralobulär nein ja Häufigster Typ

Interlobulär nein ja

Inhomogene Verschattung
nein ja

Ground glass
nein ja

Honeycombing
nein ja

Emphysem
nein ja

Grosse Schatten
nein ja

A R L
B O O

C M M

U U U

Häufigster parenchymaler Befund
RS IR GG HC EM GS

Symbole

- Nein
- AX
- BE
- BR
- BU
- CA
- CG
- CV
- DI
- DO
- EF
- ES
- FP
- FR
- HI
- ME
- MP
- OD
- PB
- RA
- SC
- TB
- TD

Pleura

Pleurale Befunde
nein ja

W parietaler Typ nein ja Häufigster Typ

visceraler Typ nein ja

M nein ja

D nein ja

Pleurale Verkalkungen
nein ja

Lokalisation
W M D

Ausdehnung / Dicke

R				L			
0	1	2	3	0	1	2	3
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
0	a	b	c	0	a	b	c

Bemerkungen / Zusammenfassung

Datum Unterschrift 9666451513

Abbildung 60 Beurteilungsbogen

Abb. 60 Beurteilungsbogen für Arbeitsmedizinische Vorsorgeuntersuchungen, Satz IV
"Röntgenbefund nach der ILO-Klassifikation 2000 / Bundesrepublik" ⁸⁶.

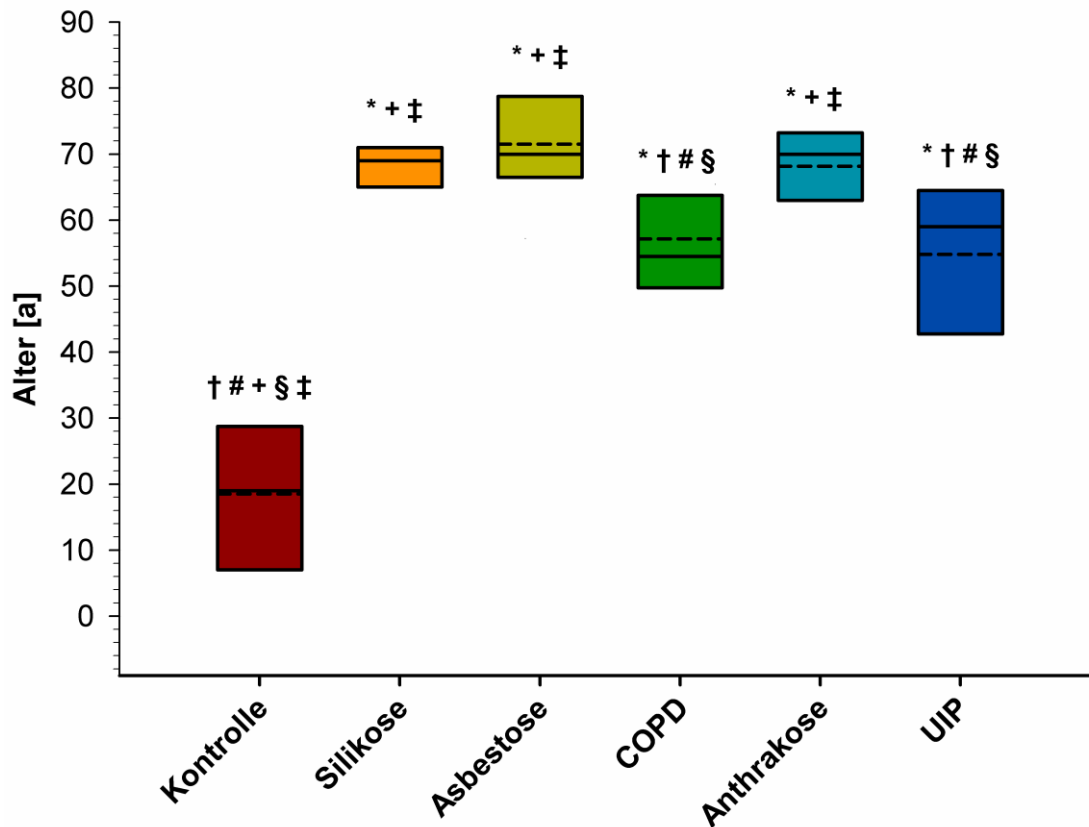


Abbildung 61 Alter der Patienten

Der Boxplot zeigt Standardabweichungen und Absolutwerte. Die durchgehende Linie ist der Median, die gestrichelte Linie stellt den Mittelwert dar. * $p < 0.05$ versus Kontrolle. † $p < 0.05$ versus Silikose. # $p < 0.05$ versus Asbestose. + $p < 0.05$ versus COPD. \$ $p < 0.05$ versus Anthrakose. ‡ $p < 0.05$ versus UIP (idiopathische Lungenfibrose).

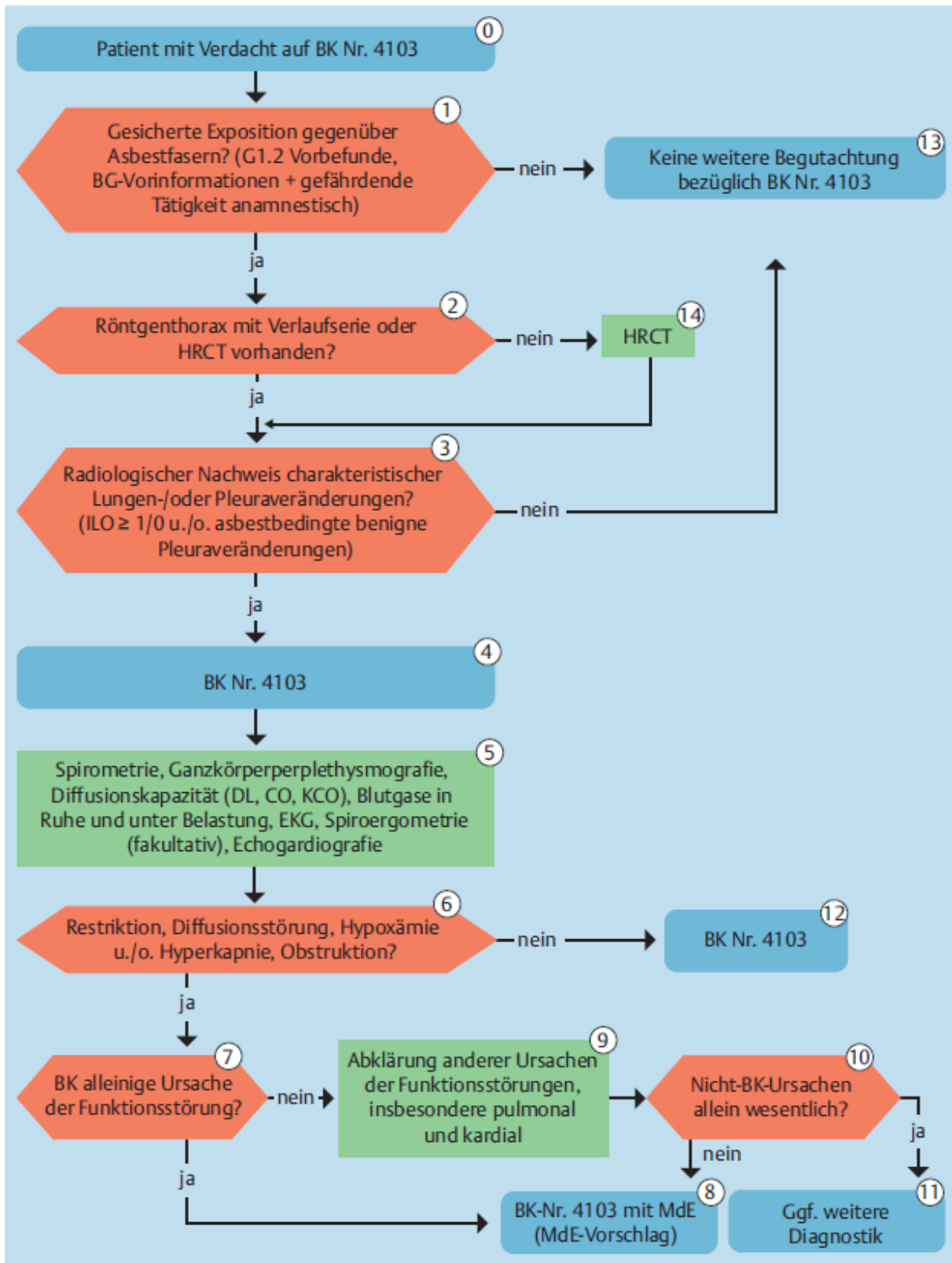


Abbildung 62 Algorithmus zur Diagnostik der Asbestose ¹³

Tabelle 2 Zentrale Stellung der hochauflösenden Computertomografie (HRCT) bei der Diagnostik der IPF: HRCT-Kriterien (modifiziert nach [33])		
UIP Muster (alle 4 Kriterien)	UIP möglich (alle 3 Kriterien)	keine UIP
subpleural, basal betont	subpleural, basal betont	Betonung Ober-, Mittelfeld
retikuläres Muster	retikuläres Muster	peribronchovaskulär
Honigwaben mit/ohne Traktionsbronchiektasien	kein anderes Muster	deutliches Milchglas
kein anderes Muster		Mikronoduli
		zystisches Bild
		Mosaikpattern
		Konsolidierung
<i>UIP: usual interstitial pneumonia</i>		

Abbildung 63 Bildmorphologische Diagnostik von UIP-Muster ¹⁴⁹

Tabelle 3 Histopathologie der VATS-Biopsie bei der Diagnostik der IPF: Kriterien (modifiziert nach [33])		
UIP Muster (alle 4 Kriterien)	UIP wahrscheinlich	UIP möglich
subpleural, paraseptale Komplexfibrosierung +/- Honigwaben	Komplexfibrosierung +/- Honigwaben	fleckige oder diffuse Fibrosierung +/- Inflammation
Heterogenität bzgl. der räumlichen Verteilung	Fehlen der Heterogenität bzgl. der räumlichen Verteilung oder der Fibroblasten-Foci (aber nicht beides)	keine weiteren UIP-Kriterien
Fibroblasten-Foci	kein anderes Muster oder nur Honigwaben	kein anderes Muster
kein anderes Muster		
keine UIP		
hyaline Membranen		
Bronchiolitis obliterans oder organisierende Pneumonie (BO, OP)		
Granulome		
ausgeprägte interstitielle Entzündung jenseits der Honigwaben		
bronchiolozentrisches Muster		
<i>VATS: video assisted thorascopic surqery; UIP: usual interstitial pneumonia</i>		

Abbildung 64 Histopathologische Diagnostik von UIP-Muster ¹⁴⁹

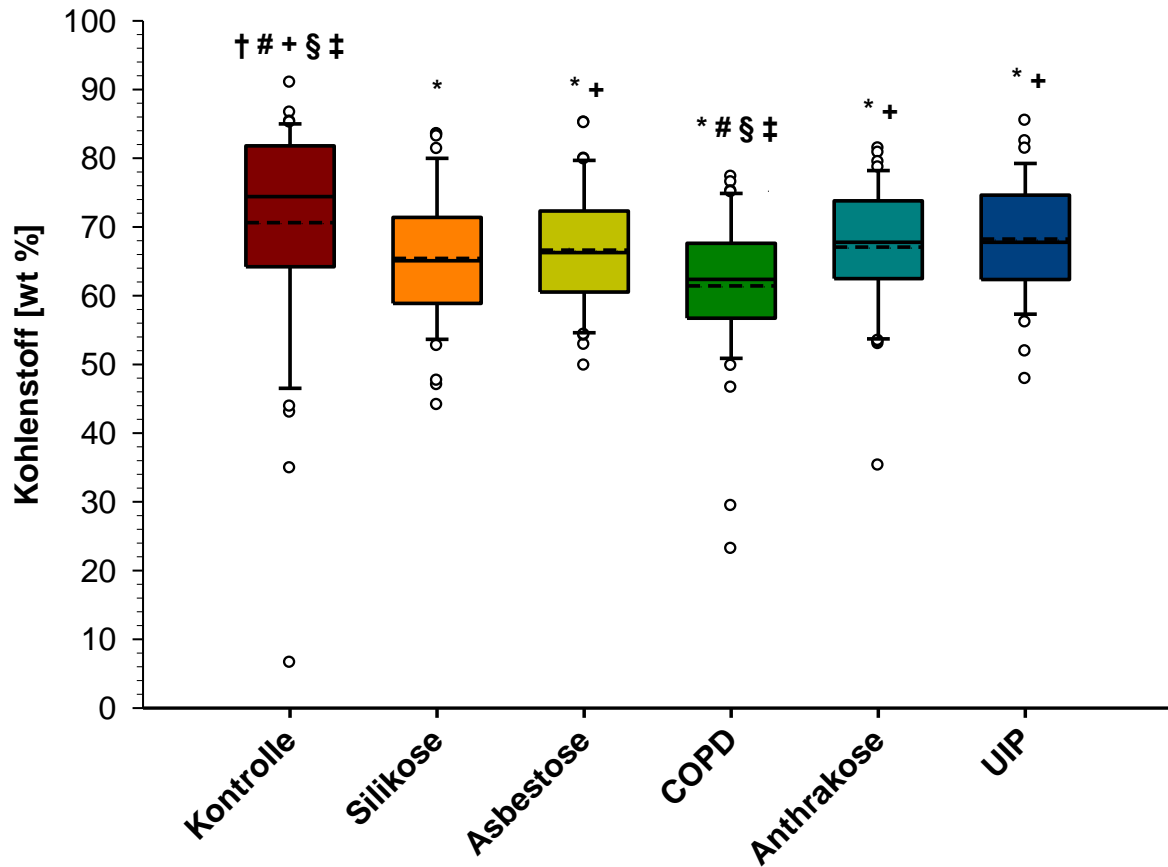


Abbildung 65 EDX-Spektrenanalyse zum Kohlenstoff (wt %) in der Lunge

Der Boxplot zeigt Standardabweichungen und Absolutwerte. Die durchgehende Linie ist der Median, die gestrichelte Linie stellt den Mittelwert dar. * $p < 0.05$ versus Kontrolle. † $p < 0.05$ versus Silikose. # $p < 0.05$ versus Asbestose. + $p < 0.05$ versus COPD. § $p < 0.05$ versus Anthrakose. ‡ $p < 0.05$ versus UIP (idiopathische Lungenfibrose).

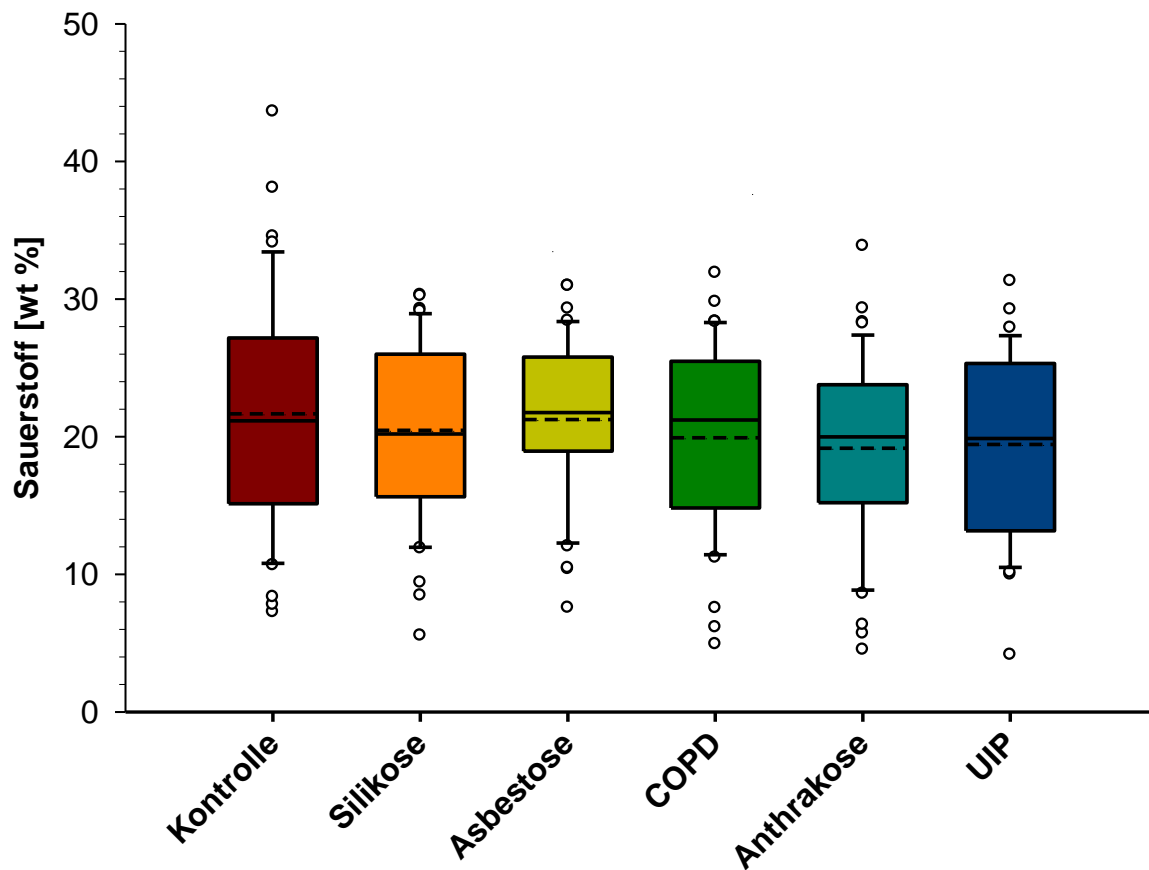


Abbildung 66 EDX-Spektrenanalyse zum Sauerstoff (wt %) in der Lunge

Der Boxplot zeigt Standardabweichungen und Absolutwerte. Die durchgehende Linie ist der Median, die gestrichelte Linie stellt den Mittelwert dar. * $p < 0.05$ versus Kontrolle. † $p < 0.05$ versus Silikose. # $p < 0.05$ versus Asbestose. + $p < 0.05$ versus COPD. § $p < 0.05$ versus Anthrakose. ‡ $p < 0.05$ versus UIP (idiopathische Lungenfibrose).

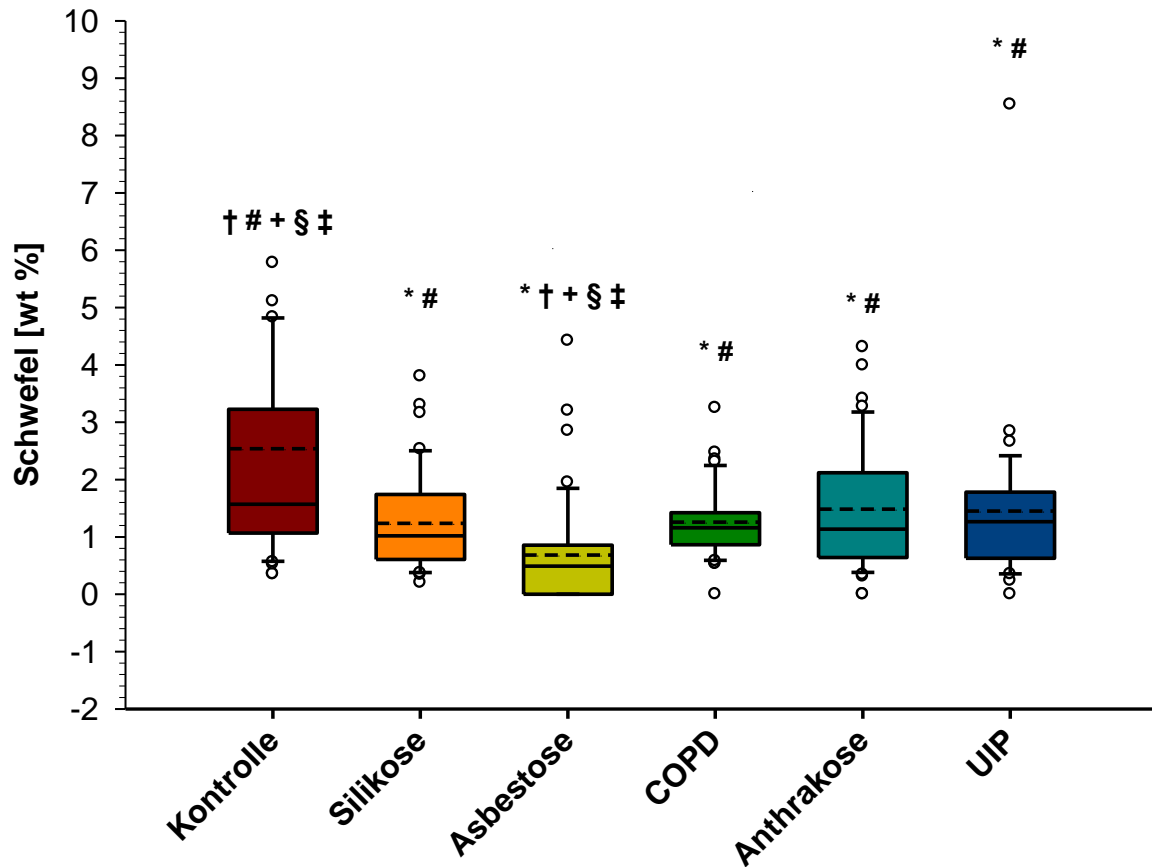


Abbildung 67 EDX-Spektrenanalyse zum Schwefel (wt %) In der der Lunge

Der Boxplot zeigt Standardabweichungen und Absolutwerte. Die durchgehende Linie ist der Median, die gestrichelte Linie stellt den Mittelwert dar. * $p < 0.05$ versus Kontrolle. † $p < 0.05$ versus Silikose. # $p < 0.05$ versus Asbestose. + $p < 0.05$ versus COPD. § $p < 0.05$ versus Anthrakose. ‡ $p < 0.05$ versus UIP (idiopathische Lungenfibrose).

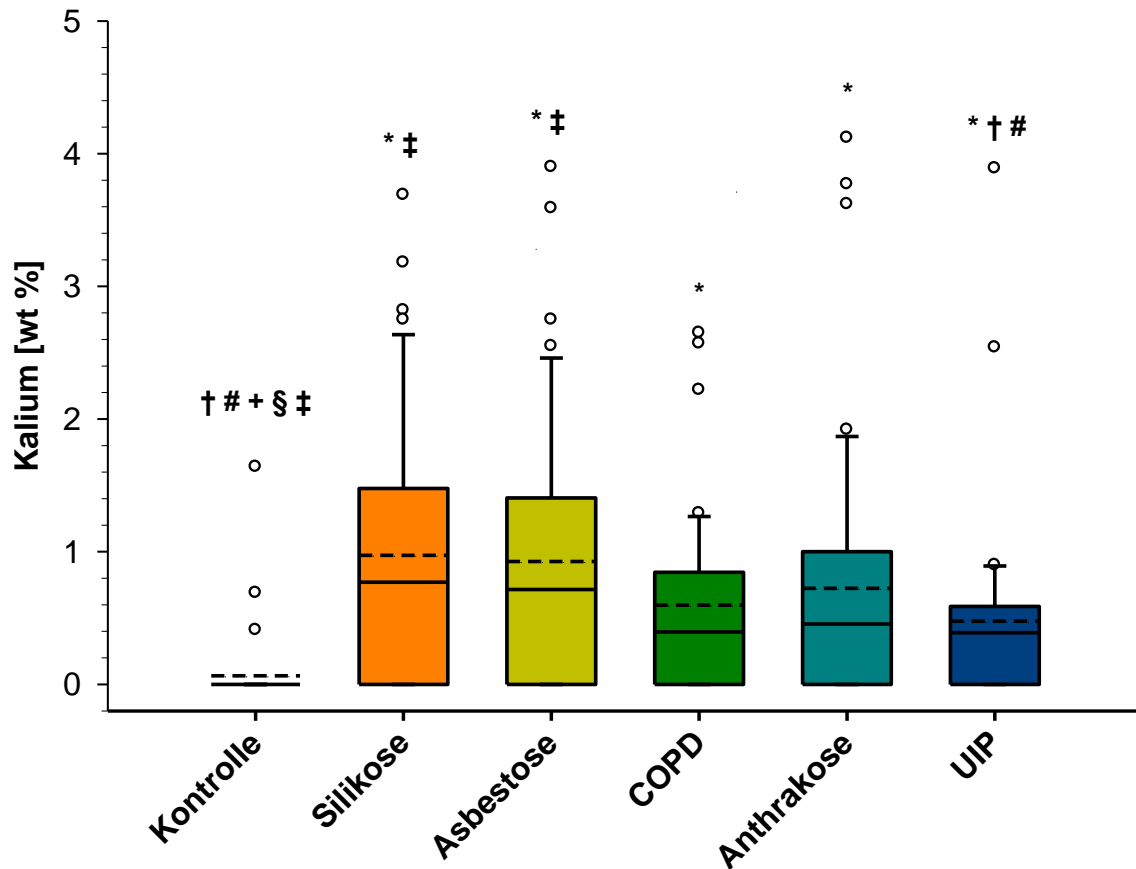


Abbildung 68 EDX-Spektrenanalyse zum Kalium (wt %) in der Lunge

Der Boxplot zeigt Standardabweichungen und Absolutwerte. Die durchgehende Linie ist der Median, die gestrichelte Linie stellt den Mittelwert dar. * $p < 0.05$ versus Kontrolle. † $p < 0.05$ versus Silikose. # $p < 0.05$ versus Asbestose. + $p < 0.05$ versus COPD. § $p < 0.05$ versus Anthrakose. ‡ $p < 0.05$ versus UIP (idiopathische Lungenfibrose).

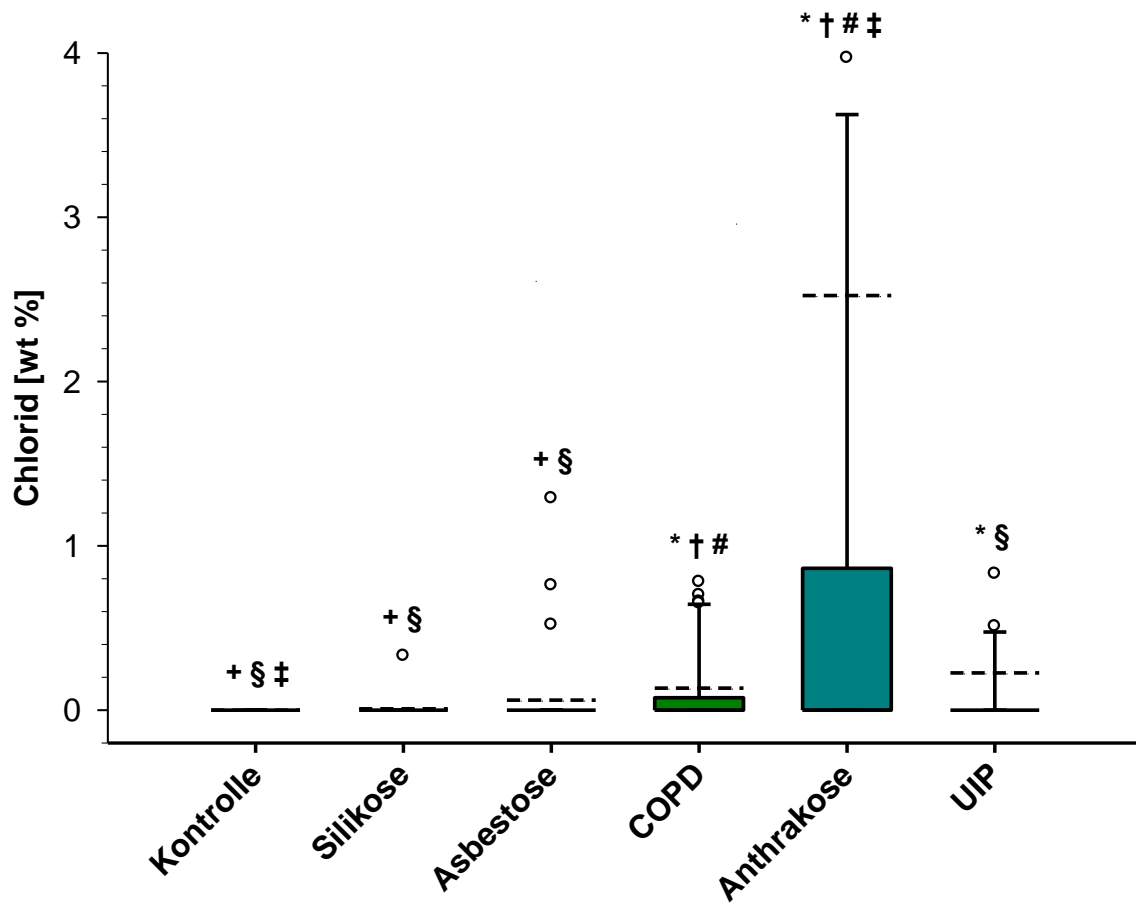


Abbildung 69 EDX-Spektrenanalyse zum Chlorid (wt %) in der Lunge

Der Boxplot zeigt Standardabweichungen und Absolutwerte. Die durchgehende Linie ist der Median, die gestrichelte Linie stellt den Mittelwert dar. * $p < 0.05$ versus Kontrolle. † $p < 0.05$ versus Silikose. # $p < 0.05$ versus Asbestose. + $p < 0.05$ versus COPD. § $p < 0.05$ versus Anthrakose. ‡ $p < 0.05$ versus UIP (idiopathische Lungenfibrose).

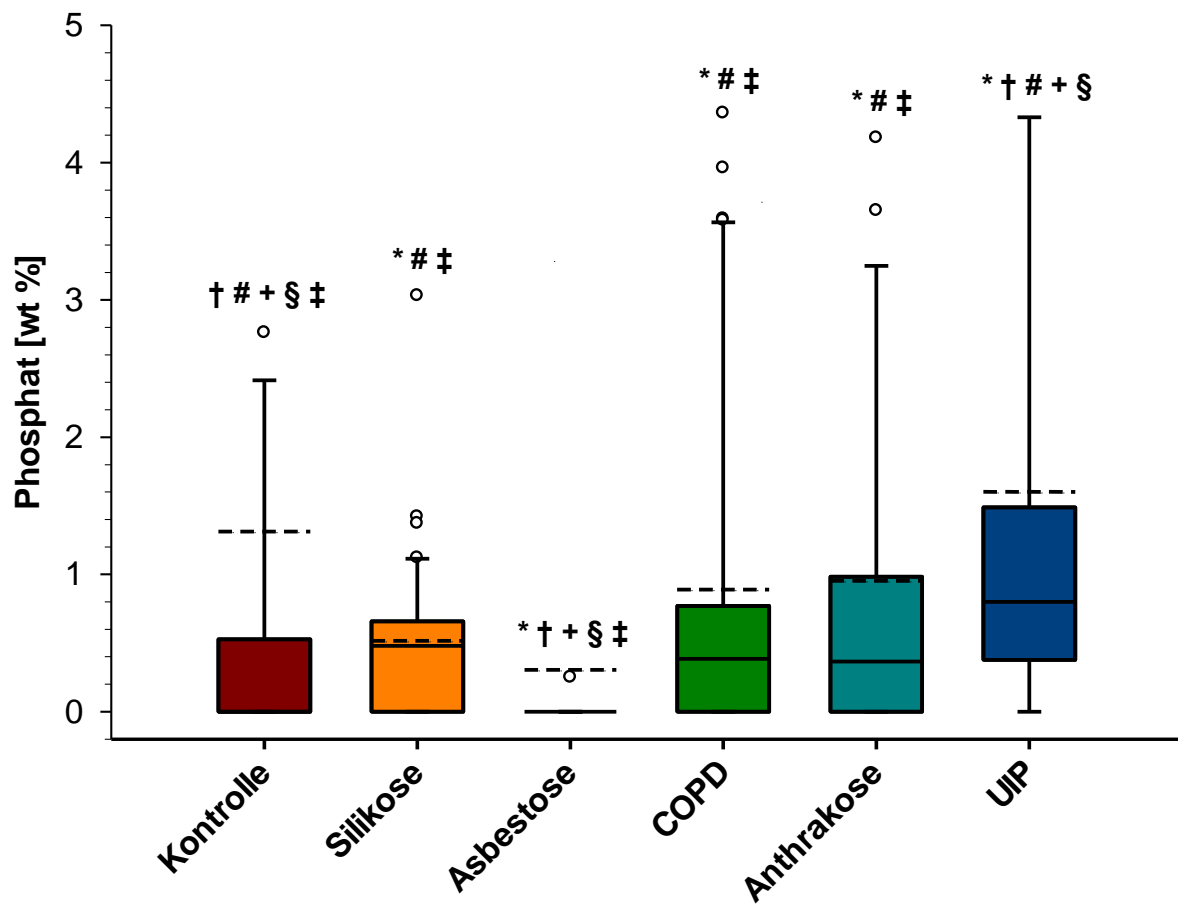


Abbildung 70 EDX-Spektrenanalyse zum Phosphat (wt %) in der Lunge

Der Boxplot zeigt Standardabweichungen und Absolutwerte. Die durchgehende Linie ist der Median, die gestrichelte Linie stellt den Mittelwert dar. * $p < 0.05$ versus Kontrolle. † $p < 0.05$ versus Silikose. # $p < 0.05$ versus Asbestose. + $p < 0.05$ versus COPD. § $p < 0.05$ versus Anthrakose. ‡ $p < 0.05$ versus UIP (idiopathische Lungenfibrose).

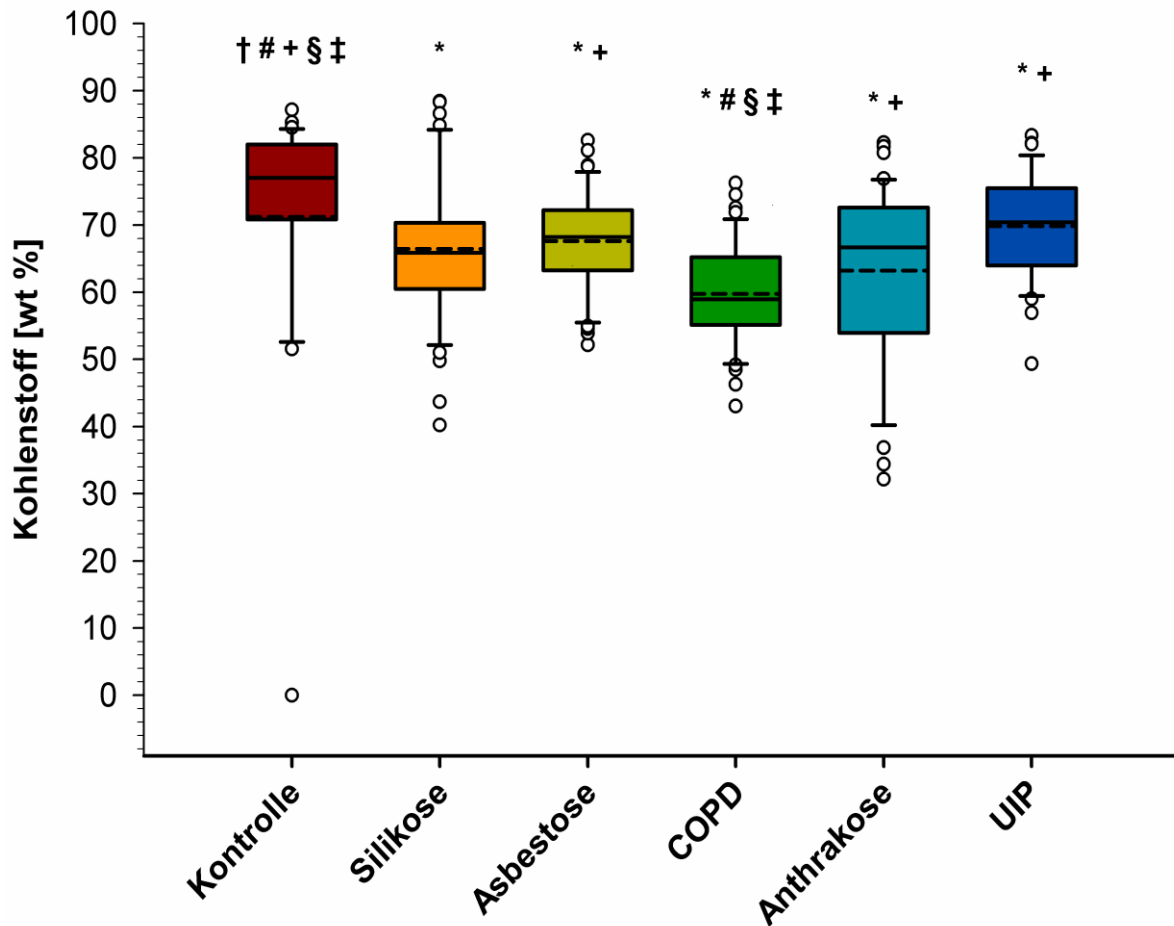


Abbildung 71 EDX-Spektrenanalyse zum Kohlenstoff (wt%) im LK-Gewebe

Der Boxplot zeigt Standardabweichungen und Absolutwerte. Die durchgehende Linie ist der Median, die gestrichelte Linie stellt den Mittelwert dar. * $p < 0.05$ versus Kontrolle. † $p < 0.05$ versus Silikose. # $p < 0.05$ versus Asbestose. + $p < 0.05$ versus COPD. § $p < 0.05$ versus Anthrakose. ‡ $p < 0.05$ versus UIP (idiopathische Lungenfibrose).

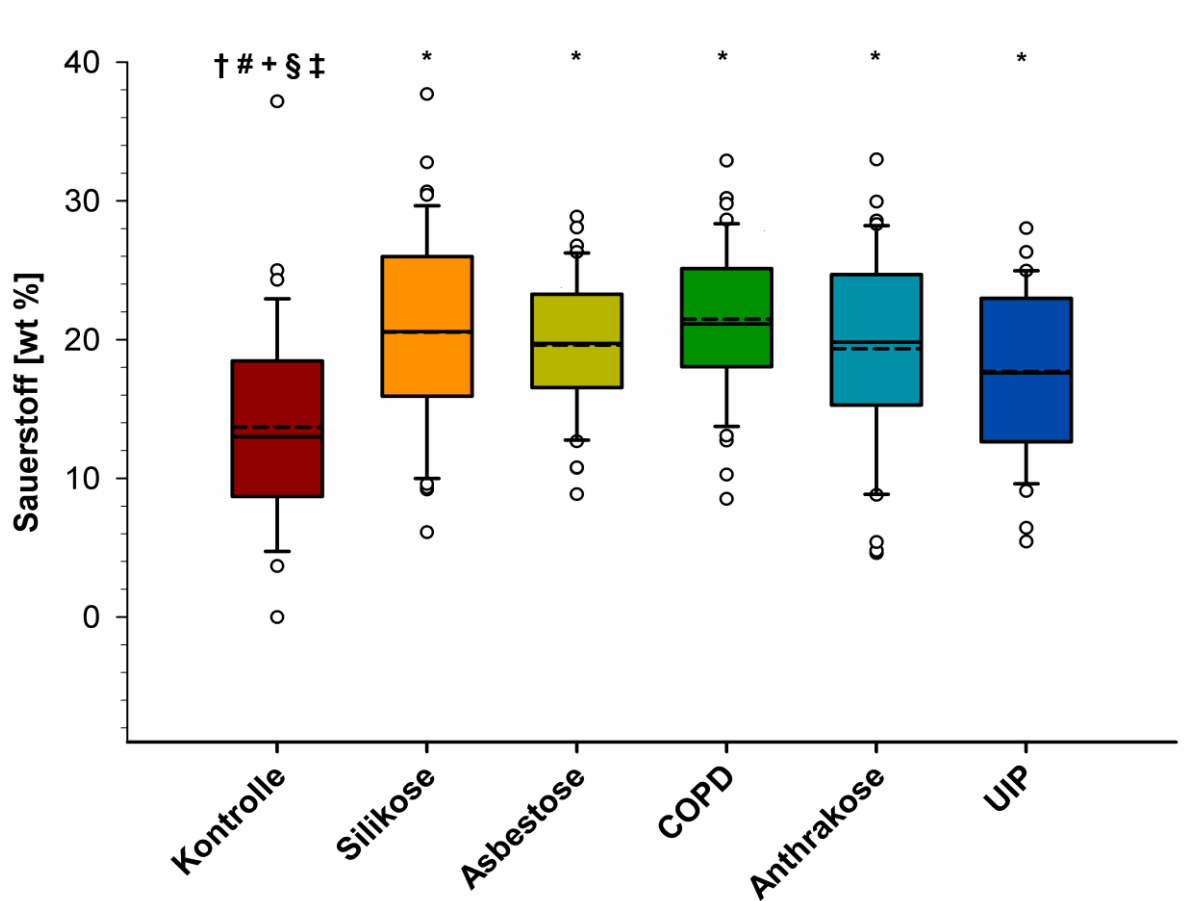


Abbildung 72 EDX-Spektrenanalyse zum Sauerstoff (wt%) im LK-Gewebe

Der Boxplot zeigt Standardabweichungen und Absolutwerte. Die durchgehende Linie ist der Median, die gestrichelte Linie stellt den Mittelwert dar. * $p < 0.05$ versus Kontrolle. † $p < 0.05$ versus Silikose. # $p < 0.05$ versus Asbestose. + $p < 0.05$ versus COPD. § $p < 0.05$ versus Anthrakose. ‡ $p < 0.05$ versus UIP (idiopathische Lungenfibrose).

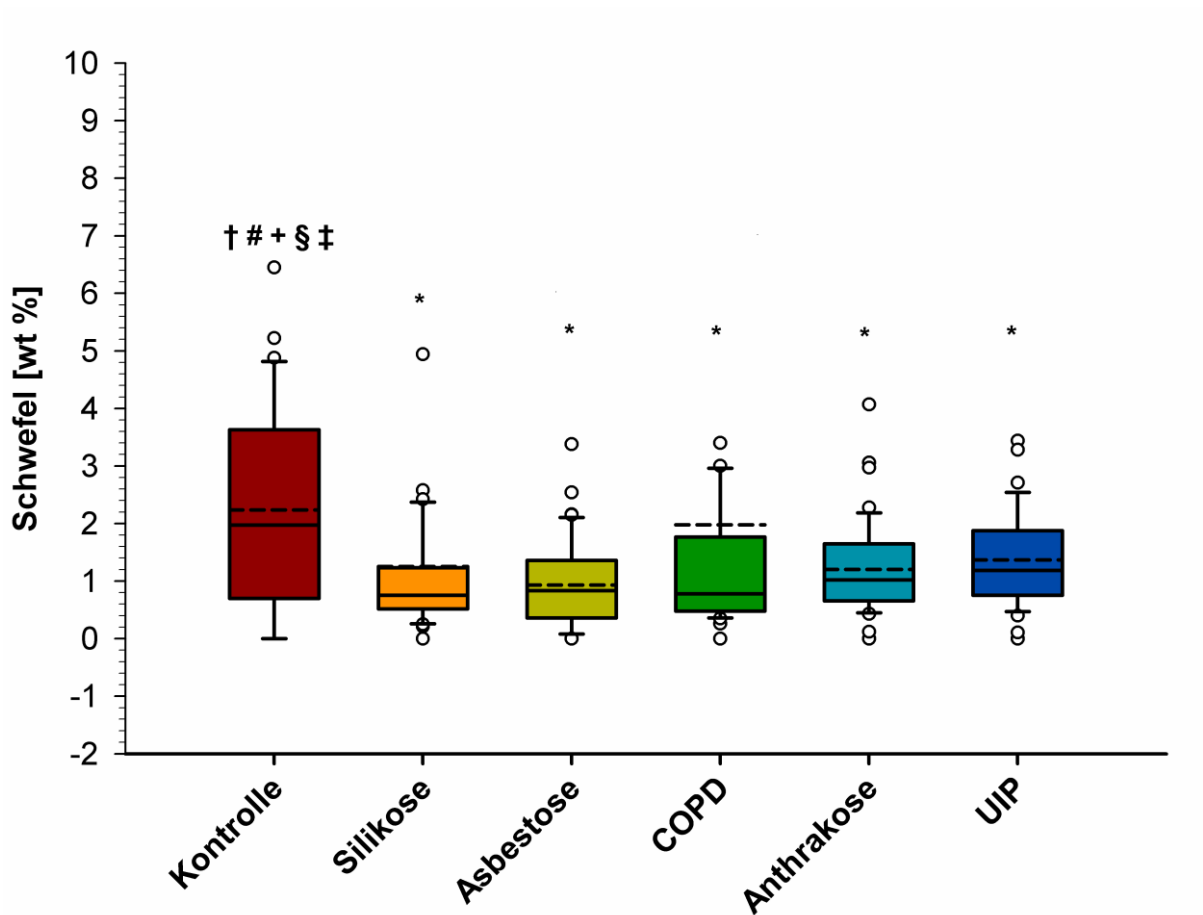


Abbildung 73 EDX-Spektrenanalyse zum Schwefel (wt%) im LK-Gewebe

Der Boxplot zeigt Standardabweichungen und Absolutwerte. Die durchgehende Linie ist der Median, die gestrichelte Linie stellt den Mittelwert dar. * $p < 0.05$ versus Kontrolle. † $p < 0.05$ versus Silikose. # $p < 0.05$ versus Asbestose. + $p < 0.05$ versus COPD. § $p < 0.05$ versus Anthrakose. ‡ $p < 0.05$ versus UIP (idiopathische Lungenfibrose).

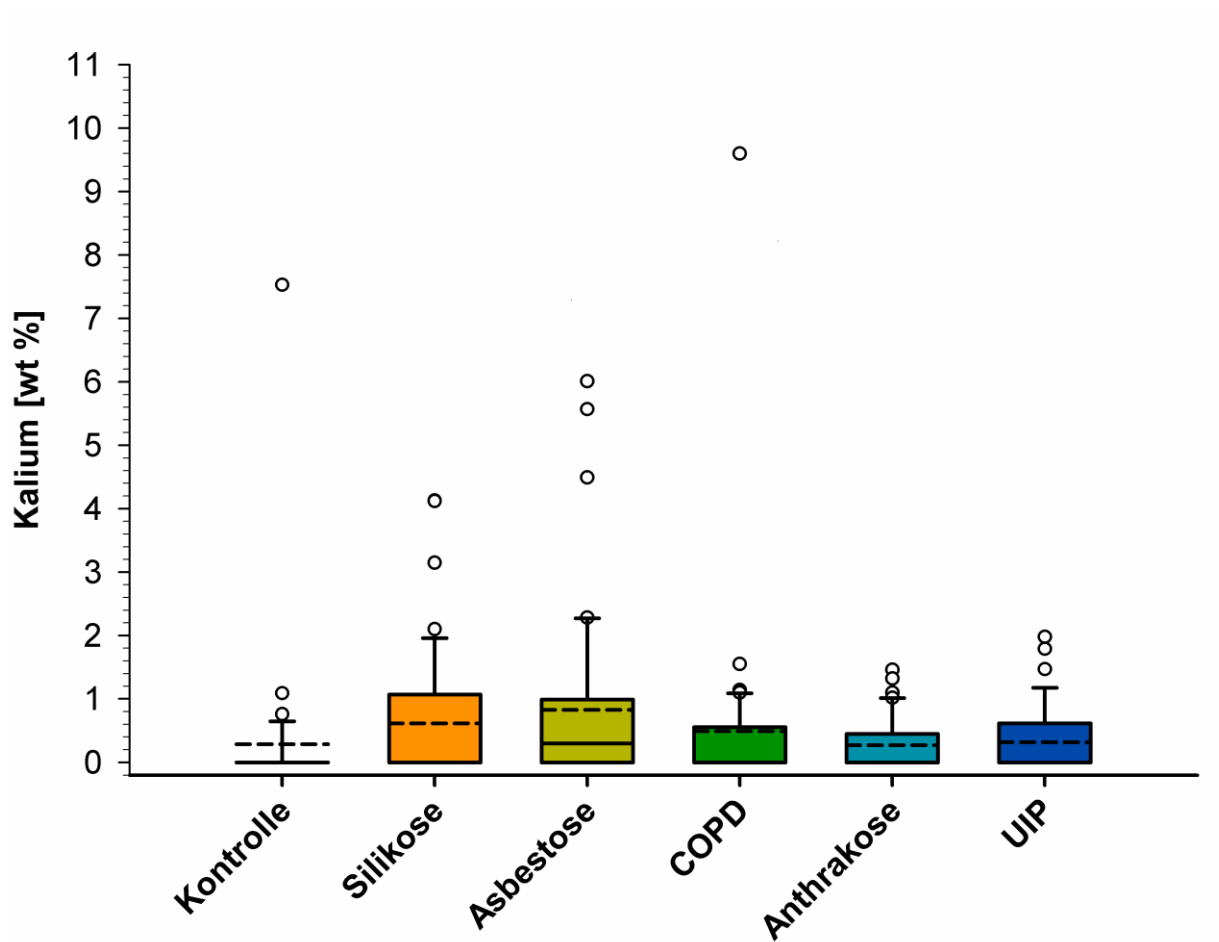


Abbildung 74 EDX-Analyse zum Kalium (wt%) im LK-Gewebe

Der Boxplot zeigt Standardabweichungen und Absolutwerte. Die durchgehende Linie ist der Median, die gestrichelte Linie stellt den Mittelwert dar. * $p < 0.05$ versus Kontrolle. † $p < 0.05$ versus Silikose. # $p < 0.05$ versus Asbestose. + $p < 0.05$ versus COPD. § $p < 0.05$ versus Anthrakose. ‡ $p < 0.05$ versus UIP (idiopathische Lungenfibrose).

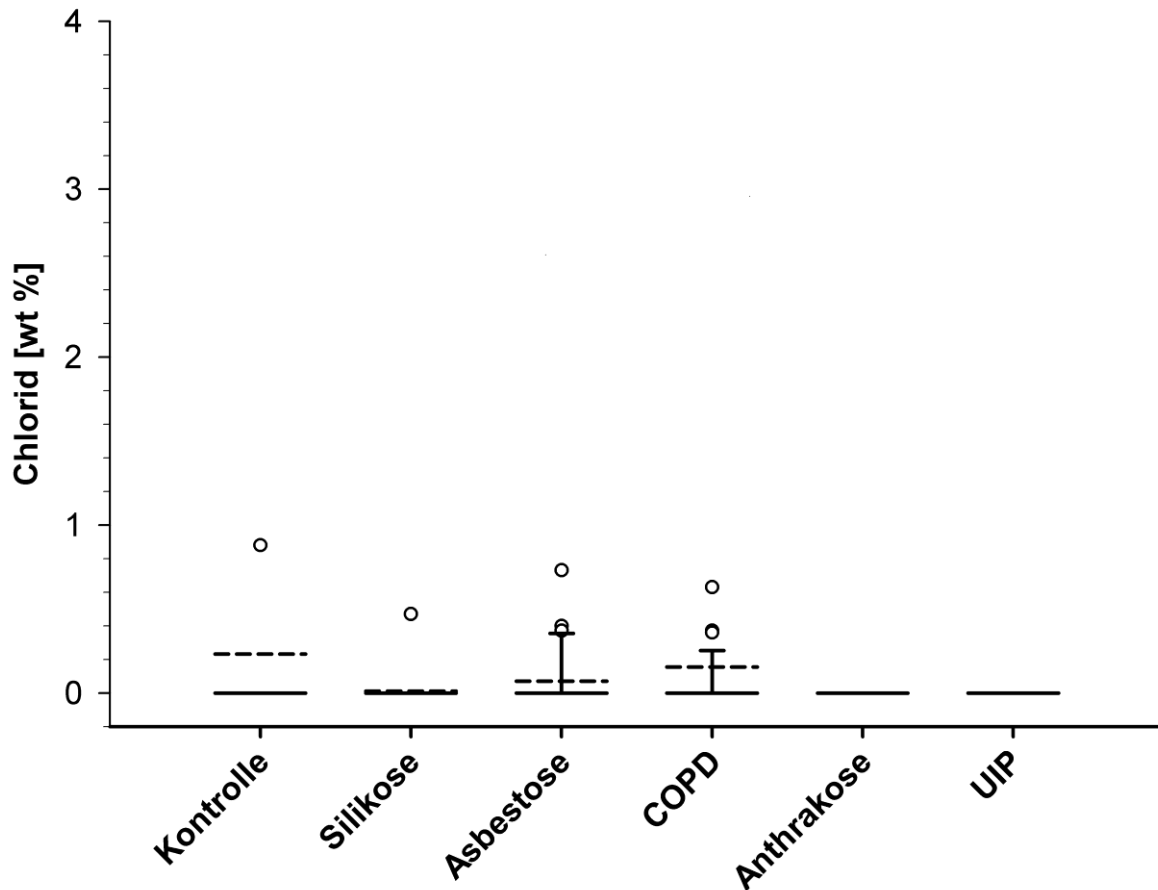


Abbildung 75 EDX Analyse zum Chlorid (wt%) im LK-Gewebe

Der Boxplot zeigt Standardabweichungen und Absolutwerte. Die durchgehende Linie ist der Median, die gestrichelte Linie stellt den Mittelwert dar. * $p < 0.05$ versus Kontrolle. † $p < 0.05$ versus Silikose. # $p < 0.05$ versus Asbestose. + $p < 0.05$ versus COPD. § $p < 0.05$ versus Anthrakose. ‡ $p < 0.05$ versus UIP (idiopathische Lungenfibrose).

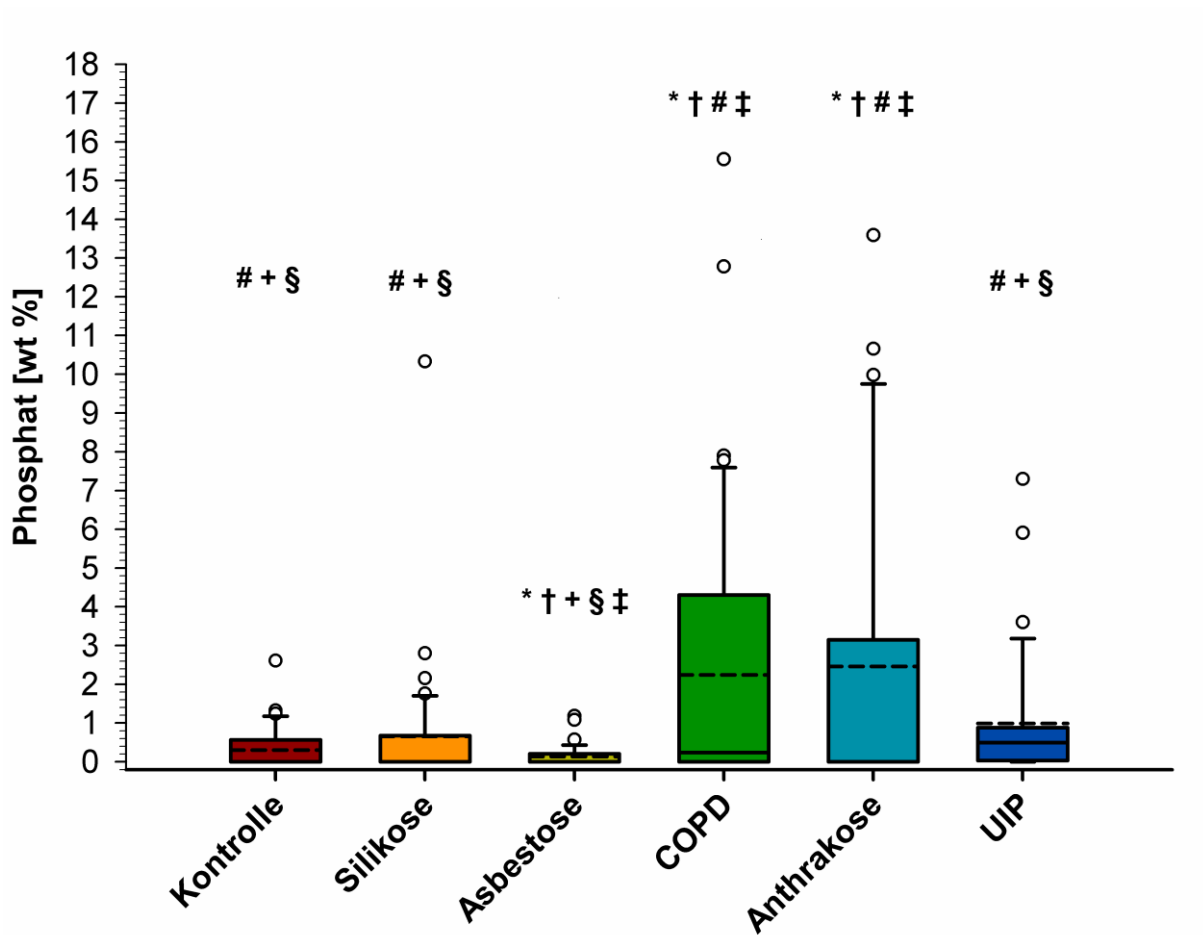


Abbildung 76 EDX-Analyse zum Phosphat (wt%) im LK-Gewebe

Der Boxplot zeigt Standardabweichungen und Absolutwerte. Die durchgehende Linie ist der Median, die gestrichelte Linie stellt den Mittelwert dar. * $p < 0.05$ versus Kontrolle. † $p < 0.05$ versus Silikose. # $p < 0.05$ versus Asbestose. + $p < 0.05$ versus COPD. § $p < 0.05$ versus Anthrakose. ‡ $p < 0.05$ versus UIP (idiopathische Lungenfibrose).

Tabelle: Lymphknoten der Kontrollgruppe bei unterschiedlichen Vergrößerungen.*													
		Elemente											
		C	O	S	Si	Al	Mg	Fe	Na	K	Cl	Ca	P
100x													
	N	6	6	6	0	0	0	0	1	0	0	0	1
	wt	74±1	24±1	1,6±0,2	0	0	0	0	0,2±0,2	0	0	0	0,2±0,2
%													
200x													
	N	6	6	4	0	0	0	0	1	0	0	0	1
	wt	75±1	23±1	1,5±0,4	0	0	0	0	0,2±0,2	0	0	0	0,3±0,2
%													
400x													
	N	6	6	5	0	0	0	0	1	0	0	0	2
	wt	76±2	22±2	1,6±0,5	0	0	0	0	0,3±0,3	0	0	0	0,4±0,3
%													
800x													
	N	6	6	5	1	1	0	0	2	1	0	1	2
	wt	75±5	12±4	1,6±0,9	0,1±0,1	0,1±0,1	0	0	1,0±0,7	0,1±0,1	0	0,1±0,1	0,2±0,1
%													
1000x													
	N	6	6	5	0	1	0	0	2	1	0	2	2
	wt	67±6	18±6	2,6±0,7	0	1,7±1,7	0	0	1,7±1,3	0,2±0,2	0	2,5±2,2	0,3±0,3
%													
1500x													
	N	6	5	5	0	0	0	0	2	0	0	0	2
	wt	65±16	10±3	2,6±0,8	0	0	0	0	0,4±0,3	0	0	0	0,7±0,5
%													
2000x													
	N	5	5	5	1	1	0	1	2	0	0	0	1
	wt	58±15	11±4	1,4±0,5	0,2±0,2	0,2±0,2	0	0,6±0,6	0,6±0,5	0	0	0	0,2±0,2
%													
2500x													
	N	6	6	6	1	1	0	0	2	2	1	1	2
	wt	74±4	13±4	2,7±1,0	0,1±0,1	0,1±0,1	0	0	0,3±0,2	1,6±1,5	1,5±1,5	0,6±0,6	0,2±0,2
%													
3000x													
	N	6	6	6	0	0	0	0	2	1	1	2	1
	wt	78±2	18±2	2,2±0,7	0	0	0	0	0,3±0,2	0,2±0,2	0,2±0,2	1,0±0,6	0,3±0,3
%													
4000x													
	N	6	6	6	1	1	0	0	2	0	0	2	2
	wt	80±3	12±2	2,8±0,9	0,1±0,1	0,1±0,1	0	0	0,4±0,2	0	0	0,3±0,3	0,4±0,3
%													

Tabelle 10 Vergrößerungen der Lymphknoten der Kontrollgruppe.

Mittelwerte mit Standardfehler. n: Patientenanzahl bei denen das Element nachweisbar war. Die n<6 Werte betreffen in den Vergrößerungen 800x-4000x unterschiedliche Patienten. Um repräsentative Messungen von n>1 Patienten zu erhalten, wurden die Vergrößerungen 800x-4000x gemittelt.

Tabelle: Lymphknoten der Silikosegruppe bei unterschiedlichen Vergrößerungen.*													
		Elemente											
		C	O	S	Si	Al	Mg	Fe	Na	K	Cl	Ca	P
100x													
N		6	6	6	1	1	0	0	0	0	0	0	2
wt		75±1	23±1	1,1±0,1	0,2±0,2	0,1±0,1	0	0	0	0	0	0	0,1±0,1
%													
200x													
N		6	6	6	3	3	0	0	0	0	0	0	2
wt		76±1	23±1	1,1±0,1	0,3±0,2	0,2±0,1	0	0	0	0	0	0	0,2±0,1
%													
400x													
N		6	6	6	3	3	0	2	1	1	1	1	2
wt		75±1	20±1	1,2±0,1	0,4±0,2	0,3±0,2	0	5,6±4,1	0,2±0,2	0,1±0,1	0,1±0,1	0,3±0,3	0,5±0,3
%													
800x													
N		6	6	6	4	4	1	2	3	2	0	0	4
wt		57±5	27±3	0,5±0,2	8,4±2,3	3,4±1,5	0,1±0,1	0,2±0,2	0,5±0,3	1,0±0,7	0,1±0,1	0,2±0,2	0,4±0,2
%													
1000x													
N		6	6	6	4	4	1	3	2	3	0	0	3
wt		63±5	21±2	0,9±0,2	3,8±1,7	2,3±1,0	0,1±0,1	2,3±2,2	1,8±1,5	0,8±0,7	0	0	0,3±0,2
%													
1500x													
N		6	6	6	4	4	1	3	2	3	0	0	3
wt		69±3	19±2	2,8±1,9	2,6±0,9	2,0±0,7	0,1±0,1	4,3±2,9	0,3±0,2	0,6±0,3	0	0	0,6±0,2
%													
2000x													
N		6	6	6	5	5	1	2	3	2	0	0	2
wt		71±4	20±3	1,0±0,3	2,9±0,9	2,3±0,7	0,1±0,1	2,3±2,1	0,3±0,2	0,4±0,2	0	0	0,3±0,1
%													
2500x													
N		6	6	6	4	4	1	3	2	2	0	1	4
wt		70±5	15±3	1,7±0,7	4,2±1,5	1,8±0,9	0,1±0,1	9,7±8,0	0,2±0,1	0,5±0,4	0	0,2±0,2	0,9±0,4
%													
3000x													
N		6	6	6	5	4	0	2	2	4	0	1	3
wt		64±4	24±3	1,0±0,3	6,7±1,8	1,0±0,4	0	0,5±0,3	0,3±0,2	0,8±0,5	0	0,1±0,1	0,4±0,2
%													
4000x													
N		6	6	6	5	2	1	4	2	2	0	0	2
wt		71±5	18±3	0,9±0,3	4,6±1,6	0,5±0,2	0,1±0,1	0,8±0,3	0,4±0,3	0,3±0,2	0	0	0,1±0,1
%													

Tabelle 11 Vergrößerungen der Lymphknoten der Silikosegruppe.

Mittelwerte mit Standardfehler. n: Patientenanzahl bei denen das Element nachweisbar war. Die n<6 Werte betreffen in den Vergrößerungen 800x-4000x unterschiedliche Patienten. Um repräsentative Messungen von n>1 Patienten zu erhalten, wurden die Vergrößerungen 800x-4000x gemittelt.

Tabelle: Lymphknoten der Asbestosegruppe bei unterschiedlichen Vergrößerungen.*													
Elemente													
	C	O	S	Si	Al	Mg	Fe	Na	K	Cl	Ca	P	
100x													
N	6	6	6	2	1	0	0	0	1	0	0	0	0
wt	74±1	24±1	1,1±0,3	0,3±0,2	0,1±0,1	0	0	0	0,1±0,1	0	0	0	0
%													
200x													
N	6	6	6	6	3	0	0	1	2	1	1	1	1
wt	75±1	22±1	0,8±0,2	2,6±1,8	0,3±0,2	0	0	0,1±0,1	0,2±0,1	0,1±0,1	0,1±0,1	0,1±0,1	0,1±0,1
%													
400x													
N	6	6	6	6	4	1	0	2	3	1	1	2	2
wt	72±2	22±2	1,0±0,3	3,4±1,5	0,8±0,3	0,1±0,1	0	0,2±0,1	0,3±0,2	0,1±0,1	0,6±0,6	0,1±0,1	0,1±0,1
%													
800x													
N	6	6	6	5	5	2	3	4	4	1	2	1	1
wt	65±4	19±2	0,6±0,1	5,5±2,2	2,1±1,0	0,1±0,1	3,4±2,9	0,7±0,4	0,5±0,2	0,1±0,1	0,5±0,4	0,1±0,1	0,1±0,1
%													
1000x													
N	6	6	6	6	5	4	4	3	4	0	0	4	4
wt	61±2	23±3	0,7±0,2	6,9±1,9	2,8±0,7	0,8±0,4	2,7±1,4	0,2±0,1	1,7±0,9	0	0	0,3±0,2	0,3±0,2
%													
1500x													
N	6	6	4	5	4	0	1	3	3	0	1	1	1
wt	66±2	20±3	0,6±0,3	7,5±2,4	1,8±0,8	0	0,5±0,5	0,2±0,1	1,8±1,1	0	0,1±0,1	0,1±0,1	0,1±0,1
%													
2000x													
N	6	6	6	5	4	2	3	3	3	1	1	2	2
wt	70±4	17±2	1,3±0,4	3,3±1,9	1,2±0,5	0,2±0,2	5,8±4,2	0,3±0,2	0,4±0,2	0,1±0,1	0,2±0,2	0,3±0,2	0,3±0,2
%													
2500x													
N	6	6	5	4	3	1	2	2	3	2	0	1	1
wt	71±3	20±2	1,2±0,5	2,1±0,9	1,2±0,6	0,1±0,1	3,0±1,9	0,2±0,1	0,4±0,2	0,2±0,1	0	0,1±0,1	0,1±0,1
%													
3000x													
N	6	6	5	6	5	1	1	2	3	1	1	1	1
wt	69±3	20±2	1,1±0,2	4,9±2,1	1,3±0,6	0,1±0,1	0,4±0,4	2,3±2,1	0,6±0,4	0	0,1±0,1	0,1±0,1	0,1±0,1
%													
4000x													
N	6	6	6	4	3	0	1	2	2	2	1	1	1
wt	72±2	19±3	1,1±0,3	4,0±1,3	1,0±0,6	0	1,5±1,5	3,8±3,6	0,5±0,3	0,2±0,1	0,2±0,2	0,1±0,1	0,1±0,1
%													

Tabelle 12 Vergrößerungen der Lymphknoten der Asbestosegruppe.

Mittelwerte mit Standardfehler. n: Patientenanzahl bei denen das Element nachweisbar war. Die n<6 Werte betreffen in den Vergrößerungen 800x-4000x unterschiedliche Patienten. Um repräsentative Messungen von n>1 Patienten zu erhalten, wurden die Vergrößerungen 800x-4000x gemittelt.

Tabelle: Lymphknoten der COPD- Gruppe bei unterschiedlichen Vergrößerungen.*													
		Elemente											
		C	O	S	Si	Al	Mg	Fe	Na	K	Cl	Ca	P
100x													
	N	6	6	6	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	wt	74±1	24±1	1,3±0,1	0,2±0,2	0	0	0	0	0	0	0	0
%													
200x													
	N	6	6	6	2	0	0	0	0	0	0	0	1
	wt	75±1	23±1	1,2±0,2	0,5±0,1	0	0	0	0	0	0	0	0,1±0,1
%													
400x													
	N	6	6	6	4	2	0	0	3	0	1	2	3
	wt	74±1	20±1	1,1±0,2	1,1±0,5	0,3±0,2	0	0	1,2±0,7	0	0,1±0,1	0,4±0,3	1,0±0,5
%													
800x													
	N	6	6	5	4	6	1	1	3	4	0	3	2
	wt	52±3	24±3	0,7±0,4	9,7±4,7	4,3±1,5	0,2±0,2	0,5±0,5	2,0±1,6	0,3±0,1	0	5,5±3,5	3,8±2,6
%													
1000x													
	N	6	6	6	6	4	1	1	3	0	1	1	2
	wt	55±2	23±3	0,8±0,3	6,1±1,9	8,6±4,7	0,1±0,1	7,0±7,0	1,8±1,5	0	0,1±0,1	1,1±1,1	1,1±0,9
%													
1500x													
	N	6	6	6	4	5	0	0	5	3	0	3	4
	wt	62±2	22±2	4,1±3,1	4,6±1,7	3,6±1,3	0	0	0,9±0,4	2,0±1,6	0	3,1±1,9	2,1±1,3
%													
2000x													
	N	6	6	6	5	5	0	0	5	2	0	2	4
	wt	63±3	20±1	1,0±0,2	5,6±1,4	2,2±0,9	0	0	1,1±0,3	0,3±0,2	0	4,7±3,3	3,3±2,1
%													
2500x													
	N	6	6	6	6	5	0	1	4	2	1	3	3
	wt	60±2	21±2	1,4±0,4	6,3±1,8	2,5±1,3	0	0,2±0,2	1,2±0,5	0,2±0,1	0,1±0,1	3,7±1,9	2,4±1,3
%													
3000x													
	N	6	6	6	4	5	2	1	1	4	1	2	4
	wt	63±4	21±2	4,3±2,9	4,3±2,8	1,4±0,7	0,2±0,1	0,6±0,6	0,2±0,2	0,4±0,2	0,1±0,1	1,7±1,1	1,5±0,8
%													
4000x													
	N	6	6	6	5	5	2	1	3	3	1	2	3
	wt	64±2	19±2	1,5±0,4	3,3±1,3	2,4±1,0	0,1±0,1	1,9±1,9	0,4±0,2	0,3±0,2	0,9±0,9	3,1±2,0	1,5±1,3
%													

Tabelle 13 Vergrößerungen der Lymphknoten der COPD-Gruppe.

Mittelwerte mit Standardfehler. n: Patientenanzahl bei denen das Element nachweisbar war. Die n<6 Werte betreffen in den Vergrößerungen 800x-4000x unterschiedliche Patienten. Um repräsentative Messungen von n>1 Patienten zu erhalten, wurden die Vergrößerungen 800x-4000x gemittelt.

Tabelle: Lymphknoten der Anthrakosegruppe bei unterschiedlichen Vergrößerungen.*													
		Elemente											
		C	O	S	Si	Al	Mg	Fe	Na	K	Cl	Ca	P
100x													
N		6	6	6	1	1	0	0	1	0	0	1	1
wt		69±4	24±1	1,3±0,1	0,1±0,1	0,2±0,1	0	0	0,2±0,2	0	0	3,0±3,0	1,7±1,7
%													
200x													
N		6	6	6	1	1	0	0	1	0	0	1	1
wt		72±2	23±1	1,2±0,2	0,2±0,2	0,1±0,1	0	0	0,1±0,1	0	0	1,7±1,7	0,8±0,8
%													
400x													
N		6	6	5	2	1	0	0	1	0	0	2	2
wt		69±4	22±1	1,1±0,3	0,7±0,5	0,1±0,1	0	0	0,4±0,3	0	0	4,0±2,5	2,4±1,5
%													
800x													
N		6	6	5	4	3	1	0	2	1	0	3	3
wt		61±4	21±2	1,2±0,5	6,8±3,3	1,1±0,7	0,3±0,3	0	0,4±0,3	0,1±0,1	0	3,9±2,9	3,0±1,9
%													
1000x													
N		6	6	6	5	3	1	1	3	2	0	4	3
wt		58±4	22±4	0,9±0,3	6,8±2,8	1,6±0,8	1,9±1,9	0,2±0,2	1,2±0,9	0,2±0,2	0	4,2±2,6	2,5±1,5
%													
1500x													
N		6	6	6	5	5	1	2	2	3	0	3	2
wt		66±7	19±2	1,1±0,2	3,1±1,4	1,5±0,7	0,1±0,1	1,1±0,9	0,4±0,3	0,5±0,3	0	4,7±4,0	2,8±2,2
%													
2000x													
N		6	6	6	4	4	1	1	1	2	0	3	3
wt		65±7	18±3	1,3±0,2	4,5±2,0	0,8±0,4	1,6±1,6	1,9±1,2	0,2±0,2	0,3±0,3	0	4,6±4,0	3,7±2,2
%													
2500x													
N		6	6	6	4	3	2	0	2	3	0	3	3
wt		70±5	16±3	2,0±0,5	2,1±0,9	0,6±0,3	1,8±0,5	0	0,4±0,2	0,5±0,2	0	3,5±2,7	2,2±1,5
%													
3000x													
N		6	6	6	5	4	0	1	2	1	0	2	2
wt		63±6	17±3	1,2±0,4	9,0±2,7	1,6±0,6	0	1,8±1,8	0,7±0,4	0,1±0,1	0	3,8±3,0	2,3±1,8
%													
4000x													
N		6	6	6	4	4	0	0	2	2	0	3	3
wt		61±7	23±1	0,8±0,2	4,6±2,5	1,7±0,7	0	0	0,3±0,2	0,2±0,2	0	3,1±2,6	1,8±1,4
%													

Tabelle 14 Vergrößerungen der Lymphknoten der Anthrakosegruppe.

Mittelwerte mit Standardfehler. n: Patientenanzahl bei denen das Element nachweisbar war. Die n<6 Werte betreffen in den Vergrößerungen 800x-4000x unterschiedliche Patienten. Um repräsentative Messungen von n>1 Patienten zu erhalten, wurden die Vergrößerungen 800x-4000x gemittelt.

Tabelle: Lymphknoten der UIP- Gruppe bei unterschiedlichen Vergrößerungen.*												
	Elemente											
	C	O	S	Si	Al	Mg	Fe	Na	K	Cl	Ca	P
100x												
N	6	6	6	4	2	1	0	3	0	0	0	2
wt	74±1	23±1	1,4±0,2	0,7±0,3	0,2±0,1	0,1±0,1	0	0,3±0,2	0	0	0	0,2±0,1
%												
200x												
N	6	6	6	5	2	0	0	4	0	0	0	4
wt	74±1	23±1	1,3±0,2	0,9±0,3	0,2±0,1	0	0	0,5±0,2	0	0	0	0,5±0,2
%												
400x												
N	6	6	6	4	2	0	0	5	0	0	1	4
wt	75±5	21±1	1,2±0,2	1,0±0,5	0,3±0,2	0	0	0,7±0,2	0	0	0,2±0,2	0,9±0,3
%												
800x												
N	6	6	6	5	4	1	1	5	4	0	1	4
wt	63±3	22±1	0,8±0,2	7,0±1,8	2,7±1,1	0,1±0,1	0,3±0,3	0,8±0,3	1,6±0,5	0	0,4±0,4	0,9±0,6
%												
1000x												
N	6	6	5	5	5	1	2	4	1	0	2	5
wt	67±3	20±2	1,1±0,3	3,4±1,5	1,3±0,6	0,1±0,1	1,5±1,3	0,9±0,5	0,3±0,3	0	0,9±0,8	2,0±1,2
%												
1500x												
N	6	6	6	6	6	2	1	4	1	0	2	4
wt	68±4	18±3	1,3±0,4	6,4±2,3	2,3±0,9	0,1±0,1	0,8±0,8	1,1±0,6	0,1±0,1	0	0,3±0,3	0,5±0,2
%												
2000x												
N	6	6	6	6	5	2	2	2	3	0	0	4
wt	75±2	14±3	1,7±0,4	4,8±0,8	1,6±0,6	0,1±0,1	2,3±1,9	0,3±0,2	0,5±0,2	0	0	0,4±0,2
%												
2500x												
N	6	6	6	4	1	1	1	5	2	0	2	5
wt	69±4	20±3	1,3±0,4	4,9±1,8	1,1±0,4	0,1±0,1	0,9±0,9	0,9±0,3	0,3±0,2	0	0,2±0,2	0,8±0,3
%												
3000x												
N	6	6	6	6	5	0	2	4	2	0	0	4
wt	69±2	20±1	1,3±0,3	3,7±1,1	1,3±0,6	0	1,7±1,4	1,0±0,4	0,6±0,4	0	0	1,0±0,6
%												
4000x												
N	6	6	6	2	5	1	1	3	2	0	1	5
wt	72±3	14±3	1,5±0,4	5,5±2,0	0,5±0,2	0,4±0,4	2,5±2,5	0,6±0,4	0,2±0,1	0	0,7±0,7	1,4±0,9
%												

Tabelle 15 Vergrößerungen der Lymphknoten der UIP-Gruppe.

Mittelwerte mit Standardfehler. n: Patientenanzahl bei denen das Element nachweisbar war. Die n<6 Werte betreffen in den Vergrößerungen 800x-4000x unterschiedliche Patienten. Um repräsentative Messungen von n>1 Patienten zu erhalten, wurden die Vergrößerungen 800x-4000x gemittelt.

Arbeitsanweisung Standard Operating Procedure	
Titel:	Asbestkörperchen Nachweis
Diese SOP gilt ab:	Sofort
Diese SOP ersetzt die Fassung vom:	Neue Vorschrift
Zielsetzung:	Allgemeine Arbeitsanweisung (SOP) für den Asbestkörperchen Nachweis
Verantwortlich für die Ausführung:	Mitarbeiter im Mol. Pathologie Labor
Änderungshinweise:	Neue Vorschrift
	Datum / Unterschrift
Verfasst: A. Römer
Überprüft: Prof. Dr. R. Grobholz
Genehmigt: Prof. Dr. R. M. Bohle
Verteiler:	Mol. Pathologie

Asbestkörperchen im Gewebe	
1. Ziel der Methode:	Quantitative Ermittlung der Asbestkörperchen pro Gramm Trockengewebe.
2. Prinzip der Methode:	<p>Nach Empfehlungen der ERS Working Group sollen die Lungengewebsproben aus den Apices von Ober- und Unterlappen sowie aus dem basalen Unterlappen eines Lungenflügels gewonnen werden. Von dort werden jeweils zwei benachbarte etwa 1 cm³ große Würfel herausgeschnitten, möglichst ohne große Blutgefäße, große Bronchien, Tumor und fibrosierte Pleura. Die Würfel nach der Präparation nochmals mit Formalin nassen und abwiegen. Die jeweils benachbarten Würfel sollten gleich viel wiegen. Anschließend wird einer der Würfel in kleinere Stücke geschnitten und über Nacht in 50ml Wasserstoffperoxid zersetzt (keine Trocknung, da eine eventuelle Zerstörung der Asbestfasern droht). Der Vergleichswürfel wird gut luftgetrocknet und am nächsten Tag nochmals abgewogen und das Trockengewicht bestimmt (dient zur Ermittlung eines Umrechnungsfaktors von Anzahl Asbestkörperchen/g feuchtes Lungengewebe in Anzahl Asbestkörperchen/g trockenes Lungengewebe). Das in Wasserstoffperoxid vorgedaute Gewebe wird am Tag darauf durch erwärmen auf handelsüblichen Kochplatten vollständig aufgelöst.</p> <p>Mit Hilfe einer Vakuumpumpenvorrichtung wird die Flüssigkeit durch einen Cellulose-Nitrat Filter gesaugt, welcher anschließend luftgetrocknet wird. Nach Klärung des weißen Filters in Xylol wird er auf einen Objektträger aufgezogen und mit Entellan eingedeckelt. Auf dem Deckglas wird mit Filzstift ein aus 1 cm großen Quadraten bestehendes Raster eingezeichnet. Anschließend erfolgt die mikroskopische Asbestkörperchen-Auszählung bei 100- bis 400-facher Vergrößerung. Die ermittelte Asbestkörperchen-Anzahl wird mit dem Kehrwert des Trockengewichts multipliziert um die Anzahl an Asbestkörperchen in 1 g trockenem Lungengewebe zu bestimmen.</p>

3. Manual:	<ul style="list-style-type: none"> - aus Apex OL und UL sowie Basis UL jeweils zwei benachbarte 1 cm³ große formalinfixierte Lungengewebsstücke präparieren - in Formalin nassen und abwiegen, Gewicht der jeweils benachbarten Stücke sollte gleich sein - einen Würfel lufttrocken lassen und am nächsten Tag das Trockengewicht bestimmen. - den zweiten Würfel in kleine Stücke zerschneiden und in 50ml 30%Wasserstoffperoxid vorzugsweise über Nacht bei RT inkubieren - Durch Erwärmen auf 60°C. und gelegentliches Umrühren die Lungenstücke vollständig verkochen, einkochen vermeiden, evtl. Wasserstoffperoxid zugeben - abkühlen lassen - durch einen Cellulose Nitrat Filter filtrieren - Filter sehr gut lufttrocknen lassen, evtl. im Brutschrank - in Xylol geben, vollständig klären lassen - auf einen Grossflächen-OT Entellan geben - Filter mit der Seite nach oben luftblasenfrei auf die Entellanschicht geben - ein großes Deckglas mit Entellan beschichten - Filter mit Deckglas luftblasenfrei eindecken - Ränder mit Entellan gut versiegeln - Über Nacht trocknen lassen und danach evtl. vorhandene Blasen eliminieren - Mit Xylol den OT reinigen wenn er verklebt ist
4. Solution Manual / Haltbarkeit	Wasserstoffperoxid 30% (Apotheke) Xylol Entellan
5. Material	Skalpell und Schneidebrett Bechergläser für 150ml, Glasrührstäbchen Petrischalen Cellulose Nitrat Filter Porengröße 1,2 µm (Sartorius / Goettingen / Bst.Nr. 11303-47-N) Glasgefäße für die Vakuumpumpe Objektträger für Grossflächenschnitte und passende Deckgläser
6. Geräte / Messgeräte	Thermoplatten (IKA) Vakuumpumpe
7. Hinweis:	<u>FFPE-Material</u> Den Paraffinblock 2h in gewärmtes in Xylol geben um das Gewebestück zu entparaffinieren. Anschließend das Gewebestück für 1h in 100 % Ethanol geben um das Xylol zu ersetzen. Danach das Gewebestück 1 Tag lufttrocken. Das Trockengewicht bestimmen und dann kleinschneiden. Restliche Verarbeitung bleibt gleich.
8. Troubleshooting	Beim Eintauchen ins Xylol werden die Filter nicht klar: Filter sind nicht trocken genug. Bei 37°C im Ofen

	trocknen
9. Auswertung / Dokumentation / Beurteilung :	Im Ordner für Asbestnachweis, Eingangsdatum sowie Fall und Anzahl , Nass und Trockengewicht vermerken, ebenso das Ausgangsdatum
10. Literatur :	De Vuyst P, Karjalainen A, Dumontier P, Pairn JC, Monsó E, Brochard P, Teschler H, Tossavainen A, Gibbs A. Guidelines for mineral fibre analyses in biological samples: report on ERS working group. Eur Respir J. 11:1416-1426, 1998

Tabelle 16 Arbeitsanweisung zur Herstellung eines Veraschungsfilters

7 Literaturverzeichnis

1. American thoracic society. Idiopathic pulmonary fibrosis: Diagnosis and treatment. International consensus statement. American thoracic society (ats), and the european respiratory society (ers). *Am J Respir Crit Care Med.* 2000;161:646-664
2. American thoracic society/european respiratory society international multidisciplinary consensus classification of the idiopathic interstitial pneumonias. This joint statement of the american thoracic society (ats), and the european respiratory society (ers) was adopted by the ats board of directors, june 2001 and by the ers executive committee, june 2001. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002;165:277-304
3. Diagnosis and initial management of nonmalignant diseases related to asbestos. *Am J Respir Crit Care Med.* 2004;170:691-715
4. Agyei-Aye K, Appleton S, Rogers RA, Taylor CR. Assessment of the elution of charcoal, cellulose acetate, and other particles from cigarettes with charcoal and activated charcoal/resin filters. *Inhal Toxicol.* 2004;16:615-635
5. Akiyama I, Ogami A, Oyabu T, Yamato H, Morimoto Y, Tanaka I. Pulmonary effects and biopersistence of deposited silicon carbide whisker after 1-year inhalation in rats. *Inhal Toxicol.* 2007;19:141-147
6. Alberg AJ, Brock MV, Samet JM. Epidemiology of lung cancer: Looking to the future. *J Clin Oncol.* 2005;23:3175-3185
7. Alberg AJ, Samet JM. Epidemiology of lung cancer. *Chest.* 2003;123:21-49
8. Ashcroft T, Heppleston AG. The optical and electron microscopic determination of pulmonary asbestos fibre concentration and its relation to the human pathological reaction. *J Clin Pathol.* 1973;26:224-234
9. Aubry MC, Myers JL, Douglas WW, Tazelaar HD, Washington Stephens TL, Hartman TE, Deschamps C, Pankratz VS. Primary pulmonary carcinoma in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Mayo Clin Proc.* 2002;77:763-770
10. Auerbach O, Conston AS, Garfinkel L, Parks VR, Kaslow HD, Hammond EC. Presence of asbestos bodies in organs other than the lung. *Chest.* 1980;77:133-137
11. Balmes J, Becklake M, Blanc P, Henneberger P, Kreiss K, Mapp C, Milton D, Schwartz D, Toren K, Viegi G. American thoracic society statement: Occupational contribution to the burden of airway disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003;167:787-797
12. Barnes PJ. Chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med.* 2000;343:269-280

13. Baur X, Clasen M, Fisseler-Eckhoff A, Heger M, Hering KG, Hofmann-Preiss K, Kohler D, Kranig A, Kraus T, Letzel S, Neumann V, Tannapfel A, Schneider J, Sitter H, Teschler H, Voshaar T, Weber A. Diagnostics and expert opinion of asbestos-induced occupational diseases. *Pneumologie*. 2011;65:e1-47
14. Baur X, Heger M, Kohler D, Kranig A, Letzel S, Schultze-Werninghaus G, Tannapfel A, Teschler H, Voshaar T, Bohle MR, Erlinghagen N, Hering KG, Hofmann-Preiss K, Kraus T, Merget R, Michaely G, Neumann V, Nowak D, Ozbek I, Piasecki HJ, Staubach-Wicke N. Diagnostics and expert opinion in the occupational disease no. 4101 silicosis (including coal worker's pneumoconiosis). Guideline (s2; awmf) of the deutsche gesellschaft fur pneumologie und beatmungsmedizin and the deutsche gesellschaft fur arbeitsmedizin und umweltmedizin. *Pneumologie*. 2008;62:659-684
15. Baur X, Kohler D, Voshaar T. Position paper of the german society of pneumology on medical expert opinion for silicosis. *Pneumologie*. 2005;59:549-553
16. Baur X, Marczynski B, Rozynek P, Voss B. Bronchopulmonary precancerous conditions and tumors--risk groups from the occupational medicine viewpoint. *Pneumologie*. 1994;48:825-834
17. Becklake MR. Asbestos-related diseases of the lung and other organs: Their epidemiology and implications for clinical practice. *Am Rev Respir Dis*. 1976;114:187-227
18. Behr J. Idiopathic pulmonary fibrosis: Modern guideline-concordant diagnostics and innovative treatment. *Dtsch Med Wochenschr*. 2012;137:601-604
19. Bellmann B, Muhle H, Pott F, Konig H, Kloppel H, Spurny K. Persistence of man-made mineral fibres (mmmf) and asbestos in rat lungs. *Ann Occup Hyg*. 1987;31:693-709
20. Bernstein D, Rogers R, Smith P. The biopersistence of canadian chrysotile asbestos following inhalation: Final results through 1 year after cessation of exposure. *Inhal Toxicol*. 2005;17:1-14
21. Bernstein DM, Rogers R, Smith P. The biopersistence of canadian chrysotile asbestos following inhalation. *Inhal Toxicol*. 2003;15:1247-1274
22. Berry G, Newhouse ML, Turok M. Combined effect of asbestos exposure and smoking on mortality from lung cancer in factory workers. *Lancet*. 1972;2:476-478
23. Berry JP, Henoc P, Galle P, Pariente R. Pulmonary mineral dust. A study of ninety patients by electron microscopy, electron microanalysis, and electron microdiffraction. *Am J Pathol*. 1976;83:427-456
24. BGZ. Verfahren zur getrennten Bestimmung der Konzentrationen von anorganischen Fasern in arbeitsbereichen – rasterelektronenmikroskopisches Verfahren. *Fachausschuss „Chemie“*. 2004;BGI-505-46-01

25. Boffetta P. Health effects of asbestos exposure in humans: A quantitative assessment. *Med Lav.* 1998;89:471-480
26. Bolland MJ, Grey A. Calcium supplements associated with increased risk of cardiovascular death in men but not women. *Evid Based Nurs.* 2013
27. Braber S, Koelink PJ, Henricks PA, Jackson PL, Nijkamp FP, Garssen J, Kraneveld AD, Blalock JE, Folkerts G. Cigarette smoke-induced lung emphysema in mice is associated with prolyl endopeptidase, an enzyme involved in collagen breakdown. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2011;300:L255-265
28. Bristow SM, Bolland MJ, MacLennan GS, Avenell A, Grey A, Gamble GD, Reid IR. Calcium supplements and cancer risk: A meta-analysis of randomised controlled trials. *Br J Nutr.* 2013:1-10
29. Brown P, Jones T, BeruBe K. The internal microstructure and fibrous mineralogy of fly ash from coal-burning power stations. *Environ Pollut.* 2011;159:3324-3333
30. Buerke U, Schneider J, Muller KM, Voitowitz HJ. Interstitial pulmonary siderofibrosis: Requirements for acceptance as new occupational disease. *Pneumologie.* 2003;57:9-14
31. Buerke U, Schneider J, Rosler J, Voitowitz HJ. Interstitial pulmonary fibrosis after severe exposure to welding fumes. *Am J Ind Med.* 2002;41:259-268
32. Bundesministerium für Arbeit und Sozialordnung SB. Wissenschaftliche Begründung zur BK 4104. *BArbBl.* 1996:25-28
33. Cagle PT. Criteria for attributing lung cancer to asbestos exposure. *Am J Clin Pathol.* 2002;117:9-15
34. Celli BR, MacNee W. Standards for the diagnosis and treatment of patients with copd: A summary of the ats/ers position paper. *Eur Respir J.* 2004;23:932-946
35. Chung FH. Quantitative interpretation of x-ray diffraction patterns. I. Matrix-flushing method of quantitative multicomponent analysis. *Jour. of Applied Crystallography.* 1974;7:519-525
36. Churg A. Fiber counting and analysis in the diagnosis of asbestos-related disease. *Hum Pathol.* 1982;13:381-392
37. Churg A, Brauer M. Ambient atmospheric particles in the airways of human lungs. *Ultrastruct Pathol.* 2000;24:353-361
38. Churg A, Warnock ML. Analysis of the cores of ferruginous (asbestos) bodies from the general population. I. Patients with and without lung cancer. *Lab Invest.* 1977;37:280-286
39. Churg A, Warnock ML. Asbestos fibers in the general population. *Am Rev Respir Dis.* 1980;122:669-678

40. Churg A, Wright J, Wiggs B, Depaoli L. Mineralogic parameters related to amosite asbestos-induced fibrosis in humans. *Am Rev Respir Dis.* 1990;142:1331-1336
41. Churg A, Wright JL. Airway wall remodeling induced by occupational mineral dusts and air pollutant particles. *Chest.* 2002;122:306-309
42. Coenen W. Ermittlung von Risikogruppen bei Asbestexponierten. *Die BG.* 1990:718-772
43. Coin PG, Roggli VL, Brody AR. Persistence of long, thin chrysotile asbestos fibers in the lungs of rats. *Environ Health Perspect.* 1994;102 Suppl 5:197-199
44. Cooke WE. Fibrosis of the lungs due to the inhalation of asbestos dust. *Br Med J.* 1924;2:147-140 142
45. Costa DL, Dreher KL. Bioavailable transition metals in particulate matter mediate cardiopulmonary injury in healthy and compromised animal models. *Environ Health Perspect.* 1997;105 Suppl 5:1053-1060
46. Coultas DB, Zumwalt RE, Black WC, Sobonya RE. The epidemiology of interstitial lung diseases. *Am J Respir Crit Care Med.* 1994;150:967-972
47. Craighead JE, Abraham JL, Churg A, Green FH, Kleinerman J, Pratt PC, Seemayer TA, Vallyathan V, Weill H. The pathology of asbestos-associated diseases of the lungs and pleural cavities: Diagnostic criteria and proposed grading schema. Report of the pneumoconiosis committee of the college of american pathologists and the national institute for occupational safety and health. *Arch Pathol Lab Med.* 1982;106:544-596
48. Crouch E, Churg A. Progressive massive fibrosis of the lung secondary to intravenous injection of talc. A pathologic and mineralogic analysis. *Am J Clin Pathol.* 1983;80:520-526
49. Darby SC, Whitley E, Howe GR, Hutchings SJ, Kusiak RA, Lubin JH, Morrison HI, Tirmarche M, Tomasek L, Radford EP, et al. Radon and cancers other than lung cancer in underground miners: A collaborative analysis of 11 studies. *J Natl Cancer Inst.* 1995;87:378-384
50. Davis JM. Electron-microscope studies of asbestosis in man and animals. *Ann N Y Acad Sci.* 1965;132:98-111
51. De Vuyst P, Karjalainen A, Dumortier P, Pairen JC, Monso E, Brochard P, Teschler H, Tossavainen A, Gibbs A. Guidelines for mineral fibre analyses in biological samples: Report of the ers working group. European respiratory society. *Eur Respir J.* 1998;11:1416-1426
52. Dernevik L. Exogenous particles in lymph nodes in patients with shrinking pleuritis with atelectasis. *Thorax.* 1985;40:948-951
53. Dernevik L, Gatzinsky P, Hultman E, Selin K, William-Olsson G, Zettergren L. Shrinking pleuritis with atelectasis. *Thorax.* 1982;37:252-258

54. DeTreville RT, Gross P. Asbestos bodies and their bioeffects. *JAMA*. 1968;203:1142-1143
55. Devesa SS, Bray F, Vizcaino AP, Parkin DM. International lung cancer trends by histologic type: Male:Female differences diminishing and adenocarcinoma rates rising. *Int J Cancer*. 2005;117:294-299
56. Dibiasi W. Pathological anatomy of silicosis and silicotuberculosis and its significance in x-ray diagnosis. *Radiologe*. 1965;5:113-118
57. Dodson RF, Shepherd S, Levin J, Hammar SP. Characteristics of asbestos concentration in lung as compared to asbestos concentration in various levels of lymph nodes that collect drainage from the lung. *Ultrastruct Pathol*. 2007;31:95-133
58. Dodson RF, Williams MG, Jr., Corn CJ, Brollo A, Bianchi C. Asbestos content of lung tissue, lymph nodes, and pleural plaques from former shipyard workers. *Am Rev Respir Dis*. 1990;142:843-847
59. Doll R, Peto R, Wheatley K, Gray R, Sutherland I. Mortality in relation to smoking: 40 years' observations on male british doctors. *BMJ*. 1994;309:901-911
60. Donaldson K, Tran CL. Inflammation caused by particles and fibers. *Inhal Toxicol*. 2002;14:5-27
61. Duan J, Yu Y, Li Y, Huang P, Zhou X, Peng S, Sun Z. Silica nanoparticles enhance autophagic activity, disturb endothelial cell homeostasis and impair angiogenesis. *Part Fibre Toxicol*. 2014;11:50
62. Dufresne A, Begin R, Dion C, Jagirdar J, Rom WN, Loosereewanich P, Muir DC, Ritchie AC, Perrault G. Angular and fibrous particles in lung in relation to silica-induced diseases. *Int Arch Occup Environ Health*. 1998;71:263-269
63. Egilman D, Fehnel C, Bohme SR. Exposing the "Myth" Of abc, "Anything but chrysotile": A critique of the canadian asbestos mining industry and mcgill university chrysotile studies. *Am J Ind Med*. 2003;44:540-557
64. Evans MG, Slocombe RF, Schwartz LD. Pulmonary silicosis in captive ring-necked pheasants: Definitive diagnosis by electron probe x-ray microanalysis. *Vet Pathol*. 1988;25:239-241
65. Fahy JV, Dickey BF. Airway mucus function and dysfunction. *N Engl J Med*. 2010;363:2233-2247
66. Ferg EE, Loyson P, Gromer G. The influence of particle size and composition on the quantification of airborne quartz analysis on filter paper. *Ind Health*. 2008;46:144-151
67. Ferrer J, Orriols R, Tura JM, Lirola J, Xaus C, Vidal X. Energy-dispersive x-ray analysis and scanning electron microscopy of pleura. Study of reference, exposed non-pneumoconiotic, and silicotic populations. *Am J Respir Crit Care Med*. 1994;149:888-892

68. Finkelstein MM, Dufresne A. Inferences on the kinetics of asbestos deposition and clearance among chrysotile miners and millers. *Am J Ind Med.* 1999;35:401-412
69. Friel JJ, Lyman CE. X-ray mapping in electron-beam instruments. *Microsc Microanal.* 2006;12:2-25
70. Fujimura N. Pathology and pathophysiology of pneumoconiosis. *Curr Opin Pulm Med.* 2000;6:140-144
71. Funahashi A, Schlueter DP, Pintar K, Bemis EL, Siegesmund KA. Welders' pneumoconiosis: Tissue elemental microanalysis by energy dispersive x ray analysis. *Br J Ind Med.* 1988;45:14-18
72. Gaensler EA, Addington WW. Asbestos or ferruginous bodies. *N Engl J Med.* 1969;280:488-492
73. Gazzano E, Turci F, Foresti E, Putzu MG, Aldieri E, Silvagno F, Lesci IG, Tomatis M, Riganti C, Romano C, Fubini B, Roveri N, Ghigo D. Iron-loaded synthetic chrysotile: A new model solid for studying the role of iron in asbestos toxicity. *Chem Res Toxicol.* 2007;20:380-387
74. Ghio AJ, Churg A, Roggli VL. Ferruginous bodies: Implications in the mechanism of fiber and particle toxicity. *Toxicol Pathol.* 2004;32:643-649
75. Ghio AJ, Funkhouser W, Pugh CB, Winters S, Stonehuerner JG, Mahar AM, Roggli VL. Pulmonary fibrosis and ferruginous bodies associated with exposure to synthetic fibers. *Toxicol Pathol.* 2006;34:723-729
76. Gibbs AR, Pooley FD. Analysis and interpretation of inorganic mineral particles in "Lung" Tissues. *Thorax.* 1996;51:327-334
77. Gibbs GW, Berry G. Mesothelioma and asbestos. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2008;52:S223-231
78. Goldberg M. [asbestos and risk of cancer: Exposure-effect relationships for occupationally exposed populations]. *Rev Mal Respir.* 1999;16:1278-1285
79. Gounant V, Ninane V, Janson X, Colombat M, Wislez M, Grunenwald D, Bernaudin JF, Cadranet J, Fleury-Feith J. Release of metal particles from needles used for transbronchial needle aspiration. *Chest.* 2011;139:138-143
80. Green FH, Harley R, Vallyathan V, Althouse R, Fick G, Dement J, Mitha R, Pooley F. Exposure and mineralogical correlates of pulmonary fibrosis in chrysotile asbestos workers. *Occup Environ Med.* 1997;54:549-559
81. Greim H, Borm P, Schins R, Donaldson K, Driscoll K, Hartwig A, Kuempel E, Oberdorster G, Speit G. Toxicity of fibers and particles. Report of the workshop held in munich, germany, 26-27 october 2000. *Inhal Toxicol.* 2001;13:737-754
82. Groth DH, Mackay GR, Crable JV, Cochran TH. Intravenous injection of talc in a narcotics addict. *Arch Pathol.* 1972;94:171-178

83. Gylseth B, Churg A, Davis JM, Johnson N, Morgan A, Mowe G, Rogers A, Roggli V. Analysis of asbestos fibers and asbestos bodies in tissue samples from human lung. An international interlaboratory trial. *Scand J Work Environ Health*. 1985;11:107-110
84. Hammond EC, Selikoff IJ, Seidman H. Asbestos exposure, cigarette smoking and death rates. *Ann N Y Acad Sci*. 1979;330:473-490
85. Hendry NW. The geology, occurrences, and major uses of abestos. *Ann N Y Acad Sci*. 1965;132:12-22
86. Hering KG, Jacobsen M, Bosch-Galetke E, Elliehausen HJ, Hieckel HG, Hofmann-Preiss K, Jacques W, Jeremie U, Kotschy-Lang N, Kraus T, Menze B, Raab W, Raithel HJ, Schneider WD, Strassburger K, Tuengerthal S, Woitowitz HJ. Further development of the international pneumoconiosis classification--from ilo 1980 to ilo 2000 and to ilo 2000/german federal republic version. *Pneumologie*. 2003;57:576-584
87. Hering KG, Tuengerthal S, Kraus T. Standardized ct/hrct-classification of the german federal republic for work and environmental related thoracic diseases. *Radiologe*. 2004;44:500-511
88. Hillerdal G, Hemmingsson A. Pulmonary pseudotumours and asbestos. *Acta Radiol Diagn (Stockh)*. 1980;21:615-620
89. Hillerdal G, Henderson DW. Asbestos, asbestosis, pleural plaques and lung cancer. *Scand J Work Environ Health*. 1997;23:93-103
90. Hnizdo E, Murray J, Sluis-Cremer GK, Thomas RG. Correlation between radiological and pathological diagnosis of silicosis: An autopsy population based study. *Am J Ind Med*. 1993;24:427-445
91. Hodgson JT, Darnton A. The quantitative risks of mesothelioma and lung cancer in relation to asbestos exposure. *Ann Occup Hyg*. 2000;44:565-601
92. Hofer F, Pabst MA. Characterization of deposits in human lung tissue by a combination of different methods of analytical electron microscopy. *Micron*. 1998;29:7-15
93. Howie RM. An important source of error in asbestos-related lung cancer estimates. *Ann Occup Hyg*. 2000;44:484-487
94. Hughes JM, Weill H. Asbestosis as a precursor of asbestos related lung cancer: Results of a prospective mortality study. *Br J Ind Med*. 1991;48:229-233
95. Jasti P, Lakhani VT, Woodworth A, Dahir KM. Hypercalcemia secondary to gastrointestinal stromal tumors: Parathyroid hormone-related protein independent mechanism? *Endocr Pract*. 2013:1-15
96. Jiang L, Akatsuka S, Nagai H, Chew SH, Ohara H, Okazaki Y, Yamashita Y, Yoshikawa Y, Yasui H, Ikuta K, Sasaki K, Kohgo Y, Hirano S, Shinohara Y, Kohyama N, Takahashi T, Toyokuni S. Iron overload signature in chrysotile-induced malignant mesothelioma. *J Pathol*. 2012;228:366-377

97. Jones RN, Hughes JM, Weill H. Asbestos exposure, asbestosis, and asbestos-attributable lung cancer. *Thorax*. 1996;51 Suppl 2: 9-15
98. Jung JW, Lee BO, Lee JH, Park SW, Kim BM, Choi JC, Shin JW, Park IW, Choi BW, Kim JY. Silicosis caused by chronic inhalation of snail shell powder. *J Korean Med Sci*. 2012;27:93-95
99. Kakooei H, Marioryad H. Evaluation of exposure to the airborne asbestos in an automobile brake and clutch manufacturing industry in iran. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2010;56:143-147
100. Kamp DW, Weitzman SA. The molecular basis of asbestos induced lung injury. *Thorax*. 1999;54:638-652
101. King TE, Jr., Pardo A, Selman M. Idiopathic pulmonary fibrosis. *Lancet*. 2011;378:1949-1961
102. Kitamura H, Ichinose S, Hosoya T, Ando T, Ikushima S, Oritsu M, Takemura T. Inhalation of inorganic particles as a risk factor for idiopathic pulmonary fibrosis--elemental microanalysis of pulmonary lymph nodes obtained at autopsy cases. *Pathol Res Pract*. 2007;203:575-585
103. Knoll M, Ruska E. Das electronenmikroskop. *Z Physik*. 1932;78:318-339
104. Kobayashi H, Ming ZW, Watanabe H, Ohnishi Y. A quantitative study on the distribution of asbestos bodies in extrapulmonary organs. *Acta Pathol Jpn*. 1987;37:375-383
105. Könn G. SV, Oellig W.P. Die pathologische Anatomie der Pneumokoniosen. 1976:101-134
106. Kowaltowski AJ, Naia-da-Silva ES, Castilho RF, Vercesi AE. Ca²⁺-stimulated mitochondrial reactive oxygen species generation and permeability transition are inhibited by dibucaine or mg²⁺. *Arch Biochem Biophys*. 1998;359:77-81
107. Kühn J. Über mikroskopische Untersuchungen an Asbeststaub und Asbestlungen. *Arch Gewerbepath Gewerbhyg*. 1941;10:473-485
108. Langer AM, Nolan RP. Chrysotile: Its occurrence and properties as variables controlling biological effects. *Ann Occup Hyg*. 1994;38:427-451, 407
109. Langer AM, Rubin IB, Selikoff IJ. Chemical characterization of asbestos body cores by electron microprobe analysis. *J Histochem Cytochem*. 1972;20:723-734
110. Langer AM, Rubin IB, Selikoff IJ, Pooley FD. Chemical characterization of uncoated asbestos fibers from the lungs of asbestos workers by electron microprobe analysis. *J Histochem Cytochem*. 1972;20:735-740
111. Lazarus AA, Philip A. Asbestosis. *Dis Mon*. 2011;57:14-26

112. Lee BW, Wain JC, Kelsey KT, Wiencke JK, Christiani DC. Association of cigarette smoking and asbestos exposure with location and histology of lung cancer. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998;157:748-755
113. Lee RJ, Florida RG, Stewart IM. Asbestos contamination in paraffin tissue blocks. *Arch Pathol Lab Med.* 1995;119:528-532
114. Leung CC, Yu IT, Chen W. Silicosis. *Lancet.* 2012;379:2008-2018
115. Lin W, Huang YW, Zhou XD, Ma Y. In vitro toxicity of silica nanoparticles in human lung cancer cells. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2006;217:252-259
116. Liu W, Ernst JD, Broaddus VC. Phagocytosis of crocidolite asbestos induces oxidative stress, DNA damage, and apoptosis in mesothelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2000;23:371-378
117. Lopez AD, Shibuya K, Rao C, Mathers CD, Hansell AL, Held LS, Schmid V, Buist S. Chronic obstructive pulmonary disease: Current burden and future projections. *Eur Respir J.* 2006;27:397-412
118. Mandi A, Posgay M, Vadasz P, Major K, Rodelsperger K, Tossavainen A, Ungvary G, Voitowitz HJ, Galambos E, Nemeth L, Soltesz I, Egervary M, Boszormenyi Nagy G. Role of occupational asbestos exposure in hungarian lung cancer patients. *Int Arch Occup Environ Health.* 2000;73:555-560
119. Manning CB, Vallyathan V, Mossman BT. Diseases caused by asbestos: Mechanisms of injury and disease development. *Int Immunopharmacol.* 2002;2:191-200
120. Marchand F. Über eigentümliche pigmentkristalle in den lungen. *Verhandl d Deutsch path Gesellsch.* 1906;10:223-228
121. Marioryad H, Kakooei H, Shahtaheri SJ, Yunesian M, Azam K. Assessment of airborne asbestos exposure at an asbestos cement sheet and pipe factory in iran. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2011;60:200-205
122. Mattenklott M. Identifizierung von Asbestfasern in Stäuben, Pulvern und Pudern mineralischer Rohstoffe. *Teil 1: Grundlagen, Kriterienkatalog. Gefahrstoffe-Reinhaltung der Luft.* 1998;58:Seite 15-22
123. Mazur A, Maier JA, Rock E, Gueux E, Nowacki W, Rayssiguier Y. Magnesium and the inflammatory response: Potential physiopathological implications. *Arch Biochem Biophys.* 2007;458:48-56
124. McCunney RJ, Morfeld P, Payne S. What component of coal causes coal workers' pneumoconiosis? *J Occup Environ Med.* 2009;51:462-471
125. McDonald JC, Becklake MR. Asbestos-related disease in canada. *Hefte Unfallheilkd.* 1975:521-535

126. Miller MR, Crapo R, Hankinson J, Brusasco V, Burgos F, Casaburi R, Coates A, Enright P, van der Grinten CP, Gustafsson P, Jensen R, Johnson DC, MacIntyre N, McKay R, Navajas D, Pedersen OF, Pellegrino R, Viegi G, Wanger J. General considerations for lung function testing. *Eur Respir J.* 2005;26:153-161
127. Miserocchi G, Sancini G, Mantegazza F, Chiappino G. Translocation pathways for inhaled asbestos fibers. *Environ Health.* 2008;7:4
128. Mollo F, Magnani C, Bo P, Burlo P, Cravello M. The attribution of lung cancers to asbestos exposure: A pathologic study of 924 unselected cases. *Am J Clin Pathol.* 2002;117:90-95
129. Monchaux G, Bignon J, Hirsch A, Sebastien P. Translocation of mineral fibres through the respiratory system after injection into the pleural cavity of rats. *Ann Occup Hyg.* 1982;26:309-318
130. Monso E, Carreres A, Tura JM, Ruiz J, Fiz J, Xaus C, Llatjos M, Morera J. Electron microscopic microanalysis of bronchoalveolar lavage: A way to identify exposure to silica and silicate dust. *Occup Environ Med.* 1997;54:560-565
131. Monso E, Tura JM, Marsal M, Morell F, Pujadas J, Morera J. Mineralogical microanalysis of idiopathic pulmonary fibrosis. *Arch Environ Health.* 1990;45:185-188
132. Monso E, Tura JM, Pujadas J, Morell F, Ruiz J, Morera J. Lung dust content in idiopathic pulmonary fibrosis: A study with scanning electron microscopy and energy dispersive x ray analysis. *Br J Ind Med.* 1991;48:327-331
133. Mossman BT, Churg A. Mechanisms in the pathogenesis of asbestosis and silicosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998;157:1666-1680
134. Mossman BT, Gee JB. Asbestos-related diseases. *N Engl J Med.* 1989;320:1721-1730
135. Muller KM, Verhoff MA. Lgradation of sideropneumoconiosis. *Pneumologie.* 2000;54:315-317
136. Nagai A, Chiyotani A, Nakadate T, Konno K. Lung cancer in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Tohoku J Exp Med.* 1992;167:231-237
137. Nelson HH, Kelsey KT. The molecular epidemiology of asbestos and tobacco in lung cancer. *Oncogene.* 2002;21:7284-7288
138. Neumann V, Kraus T, Fischer M, Loseke S, Tannapfel A. Relevance of pathological examinations and lung dust analyses in the context of asbestos-associated lung cancer-no. 4104 of the list of occupational diseases in germany. *Pneumologie.* 2009;63:588-593
139. Nielsen FH. Magnesium, inflammation, and obesity in chronic disease. *Nutr Rev.* 2010;68:333-340

140. Oksa P, Klockars M, Karjalainen A, Huuskonen MS, Vattulainen K, Pukkala E, Nordman H. Progression of asbestosis predicts lung cancer. *Chest*. 1998;113:1517-1521
141. Oxman AD, Muir DC, Shannon HS, Stock SR, Hnizdo E, Lange HJ. Occupational dust exposure and chronic obstructive pulmonary disease. A systematic overview of the evidence. *Am Rev Respir Dis*. 1993;148:38-48
142. Pare JP, Cote G, Fraser RS. Long-term follow-up of drug abusers with intravenous talcosis. *Am Rev Respir Dis*. 1989;139:233-241
143. Paris C, Benichou J, Bota S, Sagnier S, Metayer J, Eloy S, Auliac JB, Nouvet G, Thiberville L. Occupational and nonoccupational factors associated with high grade bronchial pre-invasive lesions. *Eur Respir J*. 2003;21:332-341
144. Pascolo L, Gianoncelli A, Kaulich B, Rizzardi C, Schneider M, Bottin C, Polentarutti M, Kiskinova M, Longoni A, Melato M. Synchrotron soft x-ray imaging and fluorescence microscopy reveal novel features of asbestos body morphology and composition in human lung tissues. *Part Fibre Toxicol*. 2011;8:7
145. Pascolo L, Gianoncelli A, Schneider G, Salome M, Schneider M, Calligaro C, Kiskinova M, Melato M, Rizzardi C. The interaction of asbestos and iron in lung tissue revealed by synchrotron-based scanning x-ray microscopy. *Sci Rep*. 2013;3:1123
146. Peckys DB, de Jonge N. Visualizing gold nanoparticle uptake in live cells with liquid scanning transmission electron microscopy. *Nano Lett*. 2011;11:1733-1738
147. Pellegrino R, Viegi G, Brusasco V, Crapo RO, Burgos F, Casaburi R, Coates A, van der Grinten CP, Gustafsson P, Hankinson J, Jensen R, Johnson DC, MacIntyre N, McKay R, Miller MR, Navajas D, Pedersen OF, Wanger J. Interpretative strategies for lung function tests. *Eur Respir J*. 2005;26:948-968
148. Perillo A, Paciello O, Tinelli A, Morelli A, Losacco C, Troncone A. Lesions associated with mineral deposition in the lymph nodes and lungs of cattle: A case-control study of environmental health hazard. *Folia Histochem Cytobiol*. 2009;47:633-638
149. Peto J, Decarli A, La Vecchia C, Levi F, Negri E. The european mesothelioma epidemic. *Br J Cancer*. 1999;79:666-672
150. Petry R, Mastalerz R, Zahn S, Mayerhofer TG, Volksch G, Viereck-Gotte L, Kreher-Hartmann B, Holz L, Lankers M, Popp J. Asbestos mineral analysis by uv raman and energy-dispersive x-ray spectroscopy. *Chemphyschem*. 2006;7:414-420
151. Pfefferkorn FE, Bello D, Haddad G, Park JY, Powell M, McCarthy J, Bunker KL, Fehrenbacher A, Jeon Y, Virji MA, Gruetzmacher G, Hoover MD. Characterization of exposures to airborne nanoscale particles during friction stir welding of aluminum. *Ann Occup Hyg*. 2010;54:486-503
152. Pigg BJ. The uses of chrysotile. *Ann Occup Hyg*. 1994;38:453-458, 408

153. Pintar K, Funahashi A, Siegesmund KA. A diffuse form of pulmonary silicosis in foundry workers. *Arch Pathol Lab Med.* 1976;100:535-538
154. Pooley FD. Asbestos fibre in the lung and mesothelioma. A re-examination of the malmo material. *Acta Pathol Microbiol Scand A.* 1973;81:390-400
155. Pooley FD. The identification of asbestos dust with an electron microscope microprobe analyser. *Ann Occup Hyg.* 1975;18:181-186
156. Raghu G, Brown KK, Bradford WZ, Starko K, Noble PW, Schwartz DA, King TE, Jr. A placebo-controlled trial of interferon gamma-1b in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *N Engl J Med.* 2004;350:125-133
157. Raghu G, Collard HR, Egan JJ, Martinez FJ, Behr J, Brown KK, Colby TV, Cordier JF, Flaherty KR, Lasky JA, Lynch DA, Ryu JH, Swigris JJ, Wells AU, Ancochea J, Bouros D, Carvalho C, Costabel U, Ebina M, Hansell DM, Johkoh T, Kim DS, King TE, Jr., Kondoh Y, Myers J, Muller NL, Nicholson AG, Richeldi L, Selman M, Dudden RF, Griss BS, Protzko SL, Schunemann HJ. An official ats/ers/jrs/alat statement: Idiopathic pulmonary fibrosis: Evidence-based guidelines for diagnosis and management. *Am J Respir Crit Care Med.* 2011;183:788-824
158. Robledo R, Mossman B. Cellular and molecular mechanisms of asbestos-induced fibrosis. *J Cell Physiol.* 1999;180:158-166
159. Rödelsperger K. Asbest: Mineralogie- Eigenschaften, Verwendung. *Asbest-Handbuch.* 1991
160. Rodelsperger K, Mandi A, Tossavainen A, Bruckel B, Barbisan P, Voitowitz HJ. Inorganic fibres in the lung tissue of hungarian and german lung cancer patients. *Int Arch Occup Environ Health.* 2001;74:133-138
161. Roggli VL, Gibbs AR, Attanoos R, Churg A, Popper H, Cagle P, Corrin B, Franks TJ, Galateau-Salle F, Galvin J, Hasleton PS, Henderson DW, Honma K. Pathology of asbestosis- an update of the diagnostic criteria: Report of the asbestosis committee of the college of american pathologists and pulmonary pathology society. *Arch Pathol Lab Med.* 2010;134:462-480
162. Roggli VL, Greenberg SD, McLarty JW, Hurst GA, Hieger LR, Farley ML, Mabry LC. Comparison of sputum and lung asbestos body counts in former asbestos workers. *Am Rev Respir Dis.* 1980;122:941-945
163. Roggli VL, Pratt PC, Brody AR. Asbestos content of lung tissue in asbestos associated diseases: A study of 110 cases. *Br J Ind Med.* 1986;43:18-28
164. Roggli VL, Sanders LL. Asbestos content of lung tissue and carcinoma of the lung: A clinicopathologic correlation and mineral fiber analysis of 234 cases. *Ann Occup Hyg.* 2000;44:109-117
165. Roller M, Csicsaky M, Pott F. Methods of risk assessment from data of experimental carcinogenesis studies. *Zentralbl Hyg Umweltmed.* 1992;192:479-493

166. Romer M. Anorganische Partikel in der menschlichen Lunge. *Eclogae geol. Helv.* . 1994;87/2:503-512
167. Roperto F, Damiano S, De Vico G, Galati D. Silicate pneumoconiosis in pigs: Optical and scanning electron microscopical investigations with x-ray microanalysis. *J Comp Pathol.* 1994;110:227-236
168. Ruud C. Selected area electron diffraction and energy-dispersive x-ray analysis for the identification of asbestos fibers – a comparison. *Micron.* 1974;7:115-136
169. Schneider F, Sporn TA, Roggli VL. Asbestos fiber content of lungs with diffuse interstitial fibrosis: An analytical scanning electron microscopic analysis of 249 cases. *Arch Pathol Lab Med.* 2010;134:457-461
170. Schneider HJ, Felson B, Gonzalez LL. Rounded atelectasis. *AJR Am J Roentgenol.* 1980;134:225-232
171. Schreiber H. Umweltbelastungen durch Asbest. *Umweltbundesamt.* 1991
172. Schroeder JA, Weingart C, Coras B, Hausser I, Reinhold S, Mack M, Seybold V, Vogt T, Banas B, Hofstaedter F, Kramer BK. Ultrastructural evidence of dermal gadolinium deposits in a patient with nephrogenic systemic fibrosis and end-stage renal disease. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2008;3:968-975
173. Sebastien P, Begin R, Masse S. Mass, number and size of lung fibres in the pathogenesis of asbestosis in sheep. *J Exp Pathol (Oxford).* 1990;71:1-10
174. Senior RM, Connolly NL, Cury JD, Welgus HG, Campbell EJ. Elastin degradation by human alveolar macrophages. A prominent role of metalloproteinase activity. *Am Rev Respir Dis.* 1989;139:1251-1256
175. Sethi S, Murphy TF. Infection in the pathogenesis and course of chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med.* 2008;359:2355-2365
176. Shannahan JH, Ghio AJ, Schladweiler MC, Richards JH, Andrews D, Gavett SH, Kodavanti UP. Transcriptional activation of inflammasome components by libby amphibole and the role of iron. *Inhal Toxicol.* 2012;24:60-69
177. Simonato L, Agudo A, Ahrens W, Benhamou E, Benhamou S, Boffetta P, Brennan P, Darby SC, Forastiere F, Fortes C, Gaborieau V, Gerken M, Gonzales CA, Jockel KH, Kreuzer M, Merletti F, Nyberg F, Pershagen G, Pohlmann H, Rosch F, Whitley E, Wichmann HE, Zambon P. Lung cancer and cigarette smoking in europe: An update of risk estimates and an assessment of inter-country heterogeneity. *Int J Cancer.* 2001;91:876-887
178. Stayner LT, Dankovic DA, Lemen RA. Occupational exposure to chrysotile asbestos and cancer risk: A review of the amphibole hypothesis. *Am J Public Health.* 1996;86:179-186

179. Stefaniak AB, Day GA, Harvey CJ, Leonard SS, Schwegler-Berry DE, Chipera SJ, Sahakian NM, Chisholm WP. Characteristics of dusts encountered during the production of cemented tungsten carbides. *Ind Health*. 2007;45:793-803
180. Stewart M, Haddow A. Demonstration of the peculiar bodies of pulmonary asbestosis ("Asbestosis bodies") in material obtained by lung puncture and in the sputum. *J Pathol Bacteriol*. 1929;32:172
181. Suganuma N, Kusaka Y, Hering KG, Vehmas T, Kraus T, Arakawa H, Parker JE, Kivisaari L, Letourneux M, Gevenois PA, Tuengerthal S, Crane MD, Shida H, Akira M, Henry DA, Nakajima Y, Hiraga Y, Itoh H, Hosoda Y. Reliability of the proposed international classification of high-resolution computed tomography for occupational and environmental respiratory diseases. *J Occup Health*. 2009;51:210-222
182. Suzuki Y, Kohyama N. Translocation of inhaled asbestos fibers from the lung to other tissues. *Am J Ind Med*. 1991;19:701-704
183. Tossavainen A, Kotilainen M, Takahashi K, Pan G, Vanhala E. Amphibole fibres in chinese chrysotile asbestos. *Ann Occup Hyg*. 2001;45:145-152
184. Travis WD, Matsui K, Moss J, Ferrans VJ. Idiopathic nonspecific interstitial pneumonia: Prognostic significance of cellular and fibrosing patterns: Survival comparison with usual interstitial pneumonia and desquamative interstitial pneumonia. *Am J Surg Pathol*. 2000;24:19-33
185. Tsuchiya K, Inase N, Ichinose S, Usui Y, Miyazaki Y, Ohtani Y, Ando N, Akashi T, Kondoh Y, Taniguchi H, Yoshizawa Y. Elemental analysis of inorganic dusts in lung tissues of interstitial pneumonias. *J Med Dent Sci*. 2007;54:9-16
186. Ullmer E, Borer H, Sandoz P, Mayr M, Dalquen P, Soler M. Diffuse pulmonary nodular infiltrates in a renal transplant recipient. Metastatic pulmonary calcification. *Chest*. 2001;120:1394-1398
187. Unfallversicherung DG. Empfehlung für die begutachtung asbestbedingter berufskrankheiten — falkensteiner empfehlung —. *3satz Verlag & Medienservice GmbH, Bochum*. 2011
188. Vevaina JR, Civantos F, Viamonte M, Jr., Avery WG. Emphysema associated with talcum granulomatosis in a drug addict. *South Med J*. 1974;67:113-116
189. Viegi G, Pistelli F, Sherrill DL, Maio S, Baldacci S, Carrozzi L. Definition, epidemiology and natural history of copd. *Eur Respir J*. 2007;30:993-1013
190. Wagner GR. Asbestosis and silicosis. *Lancet*. 1997;349:1311-1315
191. Wahbah M, Boroumand N, Castro C, El-Zeky F, Eltorkey M. Changing trends in the distribution of the histologic types of lung cancer: A review of 4,439 cases. *Ann Diagn Pathol*. 2007;11:89-96
192. Warnock ML, Wolery G. Asbestos bodies or fibers and the diagnosis of asbestosis. *Environ Res*. 1987;44:29-44

193. Wells C, Mannino DM. Pulmonary fibrosis and lung cancer in the united states: Analysis of the multiple cause of death mortality data, 1979 through 1991. *South Med J.* 1996;89:505-510
194. White R, Kuhn C. Effects of phagocytosis of mineral dusts on elastase secretion by alveolar and peritoneal exudative macrophages. *Arch Environ Health.* 1980;35:106-109
195. White R, Lin HS, Kuhn C, 3rd. Elastase secretion by peritoneal exudative and alveolar macrophages. *J Exp Med.* 1977;146:802-808
196. Worth H, Buhl R, Cegla U, Criece CP, Gillissen A, Kardos P, Kohler D, Magnussen H, Meister R, Nowak D, Petro W, Rabe KF, Schultze-Werninghaus G, Sitter H, Teschler H, Welte T, Wettengel R. Guidelines for the diagnosis and treatment chronic obstructive bronchitis and pulmonary emphysema issued by Deutsche Atemwegsliga und Deutsche Gesellschaft für Pneumologie. *Pneumologie.* 2002;56:704-738
197. Yaman M. Comprehensive comparison of trace metal concentrations in cancerous and non-cancerous human tissues. *Curr Med Chem.* 2006;13:2513-2525
198. Yaman M, Atici D, Bakirdere S, Akdeniz I. Comparison of trace metal concentrations in malign and benign human prostate. *J Med Chem.* 2005;48:630-634
199. Yang L, Arora K, Beard WA, Wilson SH, Schlick T. Critical role of magnesium ions in DNA polymerase beta's closing and active site assembly. *J Am Chem Soc.* 2004;126:8441-8453
200. Yu IJ, Song KS, Chang HK, Han JH, Kim KJ, Chung YH, Maeng SH, Park SH, Han KT, Chung KH, Chung HK. Lung fibrosis in sprague-dawley rats, induced by exposure to manual metal arc-stainless steel welding fumes. *Toxicol Sci.* 2001;63:99-106
201. Zenker F. Über Staubinhalationskrankheiten der Lunge. *Dtsch Arch Klin Med.* 1867;2:116-172
202. Zhang XQ, Yin LH, Tang M, Pu YP. Zno, tio(2), sio(2,) and al(2)o(3) nanoparticles-induced toxic effects on human fetal lung fibroblasts. *Biomed Environ Sci.* 2011;24:661-669

8 Danksagung

Für meine Doktorarbeit schulde ich sehr vielen Menschen einen herzlichen Dank.

Mein Dank gilt meinem Doktorvater Prof. Dr. med. R. M. Bohle für die vielfältige Unterstützung durch immerwährende Diskussionsbereitschaft, Anregungen und konstruktive Kritik. Er sorgte mit wertvollen und fachspezifischen Ratschlägen für das Gelingen dieser Arbeit.

Nicht versäumen möchte ich, mich bei den Mitarbeitern des Instituts der Speziellen und Allgemeinen Pathologie zu bedanken, die mich während der gesamten Zeit mit viel Engagement, guten Ideen und unermüdlichen Einsatz unterstützten und mir Hilfe aller Art zuteilwerden ließen.

Ferner danke ich Herrn Prof. Dr. R. Grobholz für die wertvollen Tipps in der Gestaltung und Verfassung der Dissertation. Zudem konnte ich durch die zahlreichen Erfahrungen, welche Herr Grobholz gerne teilte, wichtige Erkenntnisse für die Zukunft und das Arbeiten in der Klinik sammeln.

Dem Chefsekretariat, insbesondere Frau B. Weide und Frau S. Jander, danke ich für die administrative Unterstützung.

Ein besonderes Wort des Dankes sei an die Mitarbeiter der Abteilung Rasterelektronenmikroskopie, allen voran und stellvertretend Herrn Norbert Pütz, gerichtet. Durch die ausführliche Einführung in die Bedienung des Rasterelektronenmikroskops konnte die Auswertung der Proben beschleunigt und die Arbeit im Labor erleichtert werden.

An dieser Stelle sei auch Herrn Prof. Dr. Gräber und den Mitarbeitern der Biometrie für die freundliche Beratung und Hilfe im Rahmen der statistischen Auswertung gedankt.

Des Weiteren danke ich dem Homburger Forschungsförderungsprogramm HOMFOR für die Bereitstellung von Drittmitteln, die eine Durchführung und Beendigung dieses Projekts erst möglich machte.

9 Publikationen

Münch J, Volk T. [nerve injuries associated with nerve blocks: Clinic and incidence].
Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther. 2012; 47:320-325; quiz 326

