

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

Inflammationsinduzierte Vaskulopathien bei Patienten mit Cystischer Fibrose

**Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der
UNIVERSITÄT DES SAARLANDES
2023**

vorgelegt von Alicia Diehl, geb. am 25.07.1993 in Herrenberg

I. Inhaltsverzeichnis

I. Inhaltsverzeichnis	1
II. Verzeichnis der Abkürzungen & Begrifflichkeiten	3
III. Abbildungsverzeichnis	4
IV. Zusammenfassung auf Englisch.....	5
V. Zusammenfassung auf Deutsch	6
1. Einleitung	8
1.1 Cystische Fibrose – Grundlagen.....	8
1.2 Lungentransplantation bei Cystischer Fibrose	10
1.3 Anatomie der Gefäßwand – Grundlagen.....	12
1.4 Vaskulitis – Grundlagen.....	14
1.5 Vaskulitiden der Pulmonalgefäße	16
2. Problemstellung.....	17
3. Material und Methoden	18
3.1 Patientenkollektiv.....	18
3.2 Herstellung der Schnittpräparate	21
3.2.1 Zuschnitt.....	21
3.2.2 Fixierung.....	22
3.2.3 Entwässerung und Paraffineinbettung.....	23
3.2.4 Paraffinschnitt.....	24
3.2.5 Histologische Färbung allgemein	26
3.2.6 Standardfärbung Hämatoxylin-Eosin	26
3.2.7 Sonderfärbung.....	29
3.2.8 Eindecken	32
3.2.9 Begutachtung der Schnittpräparate	33
3.3 Mikroskopieren.....	34
3.3.1 Einstellung der Beleuchtung nach Köhler	35
3.3.2 Mikroskopische Untersuchung der Präparate.....	36
3.3.3 Fotodokumentation	37
3.3.4 Klinische Daten	38
3.4 Statistische Methoden	38
4. Ergebnisse	39
4.1 Gesamtkollektiv.....	39
4.1.1 Genotypisierung	41
4.1.2 Keimbesiedelung.....	42
4.2 Klinischer Zustand Prä-OP	43
4.2.1 Lungenfunktionsparameter Prä-OP	43
4.2.2 Blutgasanalyse Prä-OP	45
4.2.3 Therapieansätze vor Transplantation.....	46
4.3 Gefäßanalyse.....	47

4.3.1	Kategorisierung	47
4.3.2	Gefäßwandvermessung.....	49
4.3.3	Intimamorphometrie.....	50
4.3.4	Einfluss der demographischen Daten auf die Vaskulopathien	51
4.3.5	Einfluss der klinisch erhobenen Parameter auf die Vaskulopathien	58
4.4	Kontrollgruppe	62
5.	Diskussion.....	63
6.	Schlussfolgerung.....	70
7.	Danksagung	71
8.	Literaturverzeichnis	72
9.	Lebenslauf	76
10.	Anhang	77

II. Verzeichnis der Abkürzungen & Begrifflichkeiten

BGA	Arterielle Blutgasanalyse
CF	Mukoviszidose; "cystic fibrosis"
CFTR	Mukoviszidose-assoziiierter Membrankanal; "cystic fibrosis transmembrane regulator"
CO₂	Kohlendioxid
FEV₁	Forcierte Einsekundenkapazität: "forced expiratoric volume in 1 second"
Hb	Hämoglobin
HCO₃⁻	Bikarbonat
ICD-10	Klassifikationssystem für Krankheiten
LTx	Lungentransplantation
Lumacaftor/Ivacaftor	Orkambi®
P.a.	Pseudomonas aeruginosa
PAH	Pulmonal-Arterielle Hypertonie
P_aCO₂	Arterieller Kohlendioxidpartialdruck
P_aO₂	Arterieller Sauerstoffpartialdruck
SD	Standardabweichung
UKS	Universitätskliniken des Saarlandes

III. Abbildungsverzeichnis

Abbildungen:

Abbildung 1: Indikationen für eine Lungentransplantation, Deutschland 2019, aus dem DSO Jahresbericht 2019.....	11
Abbildung 2: Warteliste Transplantation inkl. Anmeldungen und Abgängen, Deutschland 2018, aus dem DSO Jahresbericht 2019.....	11
Abbildung 3: Gefäßanatomie im Vergleich.....	13
Abbildung 4: Neue Chapel-Hill-Klassifikation 2012, <i>Lege artis</i> – Das Magazin zur ärztlichen Weiterbildung 2014, 4(05): 310 - 317	15
Abbildung 5: Alte Chapel-Hill-Klassifikation primär systemischer Vaskulitiden, <i>Pathologie</i> 2009, 31:67-76	15
Abbildung 6: Zeiss Axioskop40	34
Abbildung 7: Durchlicht-Helffeldeinstellung nach Köhler	35
Abbildung 8: Verteilung der Erkrankungsdauer von Erstmanifestation bis Transplantation in Jahren	40
Abbildung 9: Häufigkeitsverteilung des Genotyps im Kollektiv	41
Abbildung 10: Keimbeseidung im Kollektiv	42
Abbildung 11: Therapie vor Transplantation	46
Abbildung 12: Durchschnittliche Gefäßgröße (μm^2)	47
Abbildung 13: Verteilung der durchschnittlichen Intimadicke in μm nach Geschlecht sortiert	51
Abbildung 14: Mittlere Intimadicke in μm (nach Erstdiagnosealter gruppiert)	53
Abbildung 15: Durchschnittliche Intimadicke in μm nach Erkrankungsdauer gruppiert	55
Abbildung 16: Verteilung der durchschnittlichen Intimadicke in μm nach Genotyp sortiert	57
Abbildung 17: Durchschnittliche Intimadicke in Zusammenhang mit dem Erregerspektrum.....	59
Abbildung 18: Durchschnittliche Intimadicke in Zusammenhang mit einer Azithromycin Therapie.....	61
Abbildung 19: Durchschnittliche Gefäßgröße in der Kontrollgruppe in μm^2	62
Abbildung 20: Durchschnittliche Intimadicke in der Kontrollgruppe in μm	62

Tabellen:

Tabelle 1: ICD-10-Kodierung der Zystischen Fibrose	18
Tabelle 2: Verwendete Reagenzien bei der Hämatoxylin-Eosin Färbung.....	27
Tabelle 3: Färbeprotokoll Hämatoxylin-Eosin.....	28
Tabelle 4: Färbeprotokoll Elastika-HE	30
Tabelle 5: Verwendete Reagenzien bei der Elastika-HE Färbung	31
Tabelle 6: Alter bei Erstmanifestation.....	39
Tabelle 7: Parameter zur Beurteilung des klinischen Zustandes der Patienten.....	44
Tabelle 8: Gruppierung nach Querschnittsfläche in μm^2	48
Tabelle 9: Gefäßwanddicke.....	49
Tabelle 10: Intimaveränderungen	50
Tabelle 11: Geschlechtsspezifische durchschnittliche Intimadicke.....	51
Tabelle 12: Erstdiagnosealter im Vergleich ≤ 1 Jahr vs. > 1 Jahr.....	52
Tabelle 13: Anzahl der untersuchten Gefäße (nach Erstdiagnosealter gruppiert)	52
Tabelle 14: Mittlere Intimadicke in μm (nach Erstdiagnosealter gruppiert)	53
Tabelle 15: Durchschnittliche Intimadicke in μm nach Erkrankungsdauer gruppiert.....	54
Tabelle 16: Durchschnittliche Intimadicke in μm sortiert nach Genotyp	56
Tabelle 17: Durchschnittliche Intimadicke in μm in Zusammenhang mit dem Erregerspektrum.....	58
Tabelle 18: Durchschnittliche Intimadicke in Zusammenhang mit einer Azithromycin Therapie	60

IV. Zusammenfassung auf Englisch

Introduction: Cystic fibrosis is a disease that is primarily associated with pulmonary involvement. Frequent infections and increased pulmonary arterial pressure are prominent in this disease, leading to alterations of the bronchi and bronchioli, the interstitial tissues and the pulmonary vessels. Structural changes of the vessels are rarely considered in the current literature.

Methods: Retrospective analysis and microscopic examination of explanted lungs from cystic fibrosis patients in the period from 06/1998 - 12/2016, at the Institute of General and Special Pathology, Saarland University. Intrapulmonary arteries were qualitatively and quantitatively analyzed focussing on remodeling and clinical parameters.

Results and discussion: Explanted lungs of 35 cystic fibrosis patients were analyzed. All had a double lung transplantation. The average age at transplantation was 28.5 ± 8.5 (SD) years. The average duration of disease was 23.2 ± 8.4 years. Most of the patients were in a markedly reduced clinical condition and had limited lung function. More than 900 vessels were histologically examined and structural changes of the intima recorded. Intimal thickening accounted for up to 51.7% of the total wall thickness. There was a significant difference in intimal thickness in patients whose transplantation took place before the age of 18. In addition, there was a significantly greater intimal thickness in patients who had received azithromycin therapy prior to transplantation. No significant results could be found for genotype of the CFTR gene, preoperative immunosuppression, preoperative condition of the patients or demographic differences.

Conclusions: Intimal changes of the pulmonary vessels could be found in varying degrees in cystic fibrosis patients. The age at lung transplantation and azithromycin therapy correlated significantly with arterial intimal remodeling. In univariate analysis it was not possible to detect other significantly correlation parameters. The changes were based on multifactorial causes and influences. Possible therapy effects showed no significant influence as well.

V. Zusammenfassung auf Deutsch

Einleitung: Die Mukoviszidose ist eine Erkrankung, die vor allem auch mit einer pulmonalen Beteiligung einhergeht. Häufige Inflammationen und ein erhöhter pulmonal arterieller Druck sind bei dieser Erkrankung ausgeprägt und können strukturelle Veränderungen der pulmonalen Gefäße bedingen oder aggravieren. Das pulmonale „remodelling“ findet in der aktuellen Literatur kaum Beachtung.

Methoden: Retrospektive Analyse und mikroskopische Untersuchung aller explantierter Lungen von Mukoviszidosepatienten, die im Zeitraum von 06/1998 - 12/2016, im Institut für Allgemeine und Spezielle Pathologie der Universität des Saarlandes untersucht worden sind.

Ergebnisse und Diskussion:

In dieser Studie wurden die explantierten Lungen von 35 Mukoviszidosepatienten aufgenommen. Bei allen lag eine Doppellungentransplantation vor. Das durchschnittliche Alter bei Transplantation lag bei $28,5 \pm 8,5$ (SD) Jahren. Die durchschnittliche Erkrankungsdauer lag bei $23,2 \pm 8,4$ Jahren. Die meisten Patienten waren in einem reduzierten klinischen Zustand und hatten eine reduzierte Lungenfunktion. In mehr als 900 histologisch analysierten Gefäßen, fanden sich Veränderungen der Intima im Sinne einer Intimahyperplasie. Diese Intimahyperplasie machte bis zu 51,7% der Gesamtwanddicke aus. Es fand sich ein signifikanter Unterschied der Intimadicke bei Patienten, deren Transplantation bereits vor dem 18. Lebensjahr stattfand. Zusätzlich zeigte sich eine signifikant größere Intimadicke bei den Patienten, die vor Transplantation eine Azithromycintherapie erhalten hatten. Zu den übrigen in dieser Studie untersuchten potentiellen Einflussfaktoren wie Genotyp, Erregerspektrum der Keimbesiedelung, präoperativer klinischer Zustand der Patienten, präoperative Immunsuppression, sowie demographische Unterschiede, konnten keine signifikanten Ergebnisse nachgewiesen werden.

Schlussfolgerung:

Bei Mukoviszidosepatienten lassen sich Intimaveränderungen der intrapulmonalen Arterien in unterschiedlichem Ausmaß finden. Die Benennung eines einzelnen auslösenden Faktors war nicht möglich. In der Analyse der Daten konnte keine signifikante Korrelation zu demographischen Unterschieden, verschiedenen Genotypen, Erregerspektrum der Keimbesiedelung, sowie zur präoperativen Immunsuppression nachgewiesen werden. Den

Veränderungen liegen multifaktorielle Ursachen und Einflüsse zu Grunde. Mögliche
Therapiekonzepte zeigten keinen signifikanten Einfluss.

1. Einleitung

1.1 Cystische Fibrose – Grundlagen

Die Cystische Fibrose (CF) auch Mukoviszidose genannt, ist in der kaukasischen Bevölkerung mit einem Aufkommen von 1:2000-3000 die am häufigsten tödlich verlaufende autosomal-rezessiv vererbte Erkrankung. (KAZEMI-SHIRAZI et al., 2013) Sie ist bedingt durch Mutationen des Chromosom 7, auf welchem der “cystic fibrosis transmembrane regulator”(CFTR)-Kanal lokalisiert ist. (BOWEN & HULL, 2015)

Diese Mutationen führen zu einer Dysfunktion des CFTR-Ionenkanals. Daraus resultiert ein reduzierter Ionentransport an der Zellmembran exokriner Drüsen, was zur Bildung hochvisköser Sekrete führt. Es entwickelt sich progressiv eine Multiorganerkrankung, welche unter anderem das Pankreas, den Magen-Darm-Trakt und die Lunge betrifft. In der Lunge kommt es durch die erhöhte Viskosität des Sekretes auf der Bronchialschleimhaut zu einer verringerten mukociliären Clearance, die Infektionen begünstigt und zu wiederkehrenden Inflammationen führt. (ESCHENHAGEN & SCHWARZ, 2019)

Die verringerte mukociliäre Clearance begünstigt außerdem eine chronische Besiedlung mit resistenten Keimen wie etwa *Pseudomonas aeruginosa*. Diese chronische bakterielle Besiedlung führt zu wiederholten Infektionen der Bronchien, der Bronchioli und des Lungparenchyms und daraus folgend zu einer sukzessiven Verschlechterung der respiratorischen Funktion. Dies betrifft im Verlauf der Erkrankung ca. 80 - 95% der Patienten.(LYCZAK et al., 2002)

Auch eine pulmonale Hypertonie findet sich je nach Studienlage bei bis zu 63,2 % der Patienten mit Cystischer Fibrose. (LI et al., 2018)

All diese Faktoren begünstigen das Entstehen von Bronchiektasien, einen destruktiven Umbau des Lungengewebes und die Entstehung obstruktiver Ventilationsstörungen bis hin zum respiratorischen Versagen. (RAFEEQ & MURAD, 2017)

Die Manifestation an der Lunge ist meist die schwerwiegendste und stellt die häufigste Todesursache bei Cystischer Fibrose dar. (SCHWARZ & STAAB, 2015). Obwohl die Diagnose oft bereits bei Geburt gestellt wird, chronifiziert die Cystische Fibrose häufig schon bei jungen Patienten, da keine kurative Therapie existiert. (KHOURY et al., 2018)

Die symptomatische Therapie ist multimodal. Die Lunge betreffend reicht sie von physikalischen Maßnahmen wie einem Atemtraining, über die Gabe von Mukolytika und einer konsequenten antibiotischen- und antiinflammatorischen Therapie bis hin zu neuen

Medikamenten, die am CFTR-Kanal ansetzen. Auch bei regelmäßiger Dauertherapie der Cystischen Fibrose kommt es zu einem Abfall der FEV₁ um ca. 2% pro Jahr. Dies bedingt das aktuelle mittlere Überlebensalter von ca. 40 Jahren. (MALL & SOMMERBURG, 2016). Bei fortgeschrittenem respiratorischem Versagen stellt die Lungentransplantation in Deutschland seit den 1980iger Jahren eine Therapieoption dar. (CASTELLANI & ASSAEL, 2017) (MURER et al., 2016).

1.2 Lungentransplantation bei Cystischer Fibrose

Durch die bisherige symptomatische Therapie konnte die Entstehung pulmonaler Veränderungen lediglich verzögert werden. Weiterhin sterben 80% an den Folgen der respiratorischen Insuffizienz. Die Lungentransplantation stellt bei Bestehen einer respiratorischen Insuffizienz die ultima ratio dar. (GOTTLIEB et al., 2009)

Im Jahr 2019 wurden in Deutschland 417 Patienten, davon 405 Neuanmeldungen, auf die aktive Warteliste zur Lungentransplantation angemeldet. Bei 63 handelte es sich um Patientin mit Cystischer Fibrose. Insgesamt 361 Patienten wurden 2019, in Deutschland, lungentransplantiert.

Zum 31.12.2019 waren 464 Patienten auf der Warteliste zur Lungentransplantation. Zu diesem Zeitpunkt waren 276 der gelisteten Patienten transplantabel. 44 der im Jahr 2019 gelisteten Patienten verstarben noch vor Transplantation. (DEUTSCHE STIFTUNG ORGANTRANSPLANTATION, 2020)

Die Cystische Fibrose stellt nach ICD J44 „sonstige chronische obstruktive Lungenkrankheit“ (33,08%) und ICD J84 „sonstige interstitielle Lungenkrankheiten“ (24,93%), mit 15,55% die dritthäufigste Indikation zur Lungentransplantation dar. (DEUTSCHE STIFTUNG ORGANTRANSPLANTATION, 2020)

Die 1-Jahres-Überlebensrate stieg in den letzten 10 Jahren von 80% auf ca. 90% an. (WOHLSCHLAEGER et al., 2019). Die Überlebensrate in den ersten 5 Jahren liegt bei 73,7%, nach 10 Jahren bei 62,4%. Die mediane Überlebenszeit beträgt 13,1 Jahre. (GILLJAM & NYSTRO, 2016)

Indikationen für eine Lungentransplantation

Deutschland 2019 | Anzahl der häufigsten ICD-10 Hauptdiagnosen bei Neuanmeldung
DSO 400

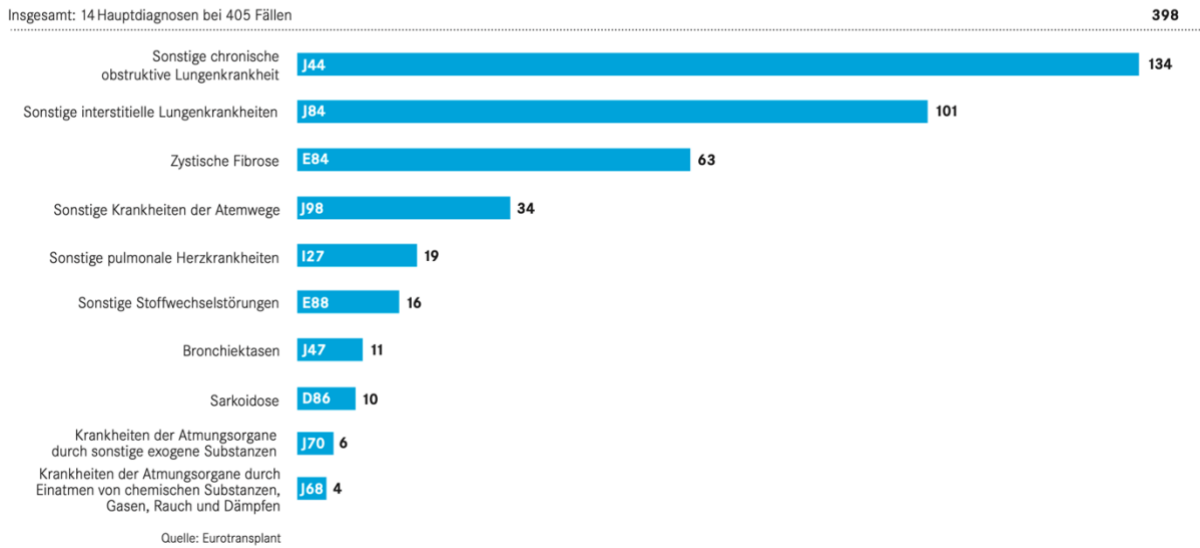


Abbildung 1: Indikationen für eine Lungentransplantation, Deutschland 2019, aus dem DSO Jahresbericht 2019

Warteliste Lungentransplantation inkl. Anmeldungen und Abgängen

Deutschland 2019 | Anzahl

DSO 410

417 Anmeldungen



464 Warteliste 31.12.2018



● TRANSPLANTABEL 276 ● NICHT TRANSPLANTABEL 188

457 Abgänge



● TRANSPLANTIERT 361 ● SONSTIGES 52 ● VERSTORBEN 44

Quelle: Eurotransplant

Abbildung 2: Warteliste Transplantation inkl. Anmeldungen und Abgängen, Deutschland 2018, aus dem DSO Jahresbericht 2019

1.3 Anatomie der Gefäßwand – Grundlagen

Im Allgemeinen setzt sich die Gefäßwand aus drei verschiedenen Schichten zusammen. Die Innerste, zum Lumen hingewandte Schicht, ist die tunica intima. Sie besteht aus drei Schichten, der Endothelzellschicht, einer subendothelialen Bindegewebsschicht und einer dazwischen liegenden Basalmembran. Die Endothelzellschicht kleidet das Lumen aus. Die Basalmembran besteht aus lockerem Bindegewebe. Die tunica intima ist in gesunden Gefäßen zwischen 7 und 140µm dick. (BOCKHOLDT, 2005) Die Funktion der tunica intima reicht von der Transportfunktion für gelöste Blutbestandteile über die Beteiligung an der Immunabwehr bis hin zur Induktion der Blutgerinnung.

An die tunica intima schließt sich bei Arterien die aus elastischen Fasern bestehende membrana elastica interna an, an welche sich die tunica media anschließt. Die tunica media besteht aus glatten Muskelzellen und ist meist zweifach geschichtet. Sie enthält Längs- und Querfaserzüge. Dadurch ist die tunica media in der Lage, auf hormonelle oder nervale Reize hin, das Gefäßlumen zu verändern indem sie es kontrahiert oder dilatiert. Sie trägt damit zur Blutdruckregulation bei. Ihre Ausprägung variiert stark. Sie ist in Arterien meist sehr stark ausgeprägt, in venösen Gefäßen hingegen meist viel schmaler.

Die äußerste Schicht stellt die tunica adventitia dar. Sie umgibt das Gefäß und grenzt es zum umliegenden Gewebe ab. Sie besteht aus Bindegewebe. In ihr liegen die Nervenplexus sowie in großen Arterien die Vasa vasorum. Sie dient der Versorgung und nervalen Innervation des Blutgefäßes. Zusätzlich dient sie als Verschiebeschicht gegenüber benachbarter Strukturen. (ENGELE et al. 2020)

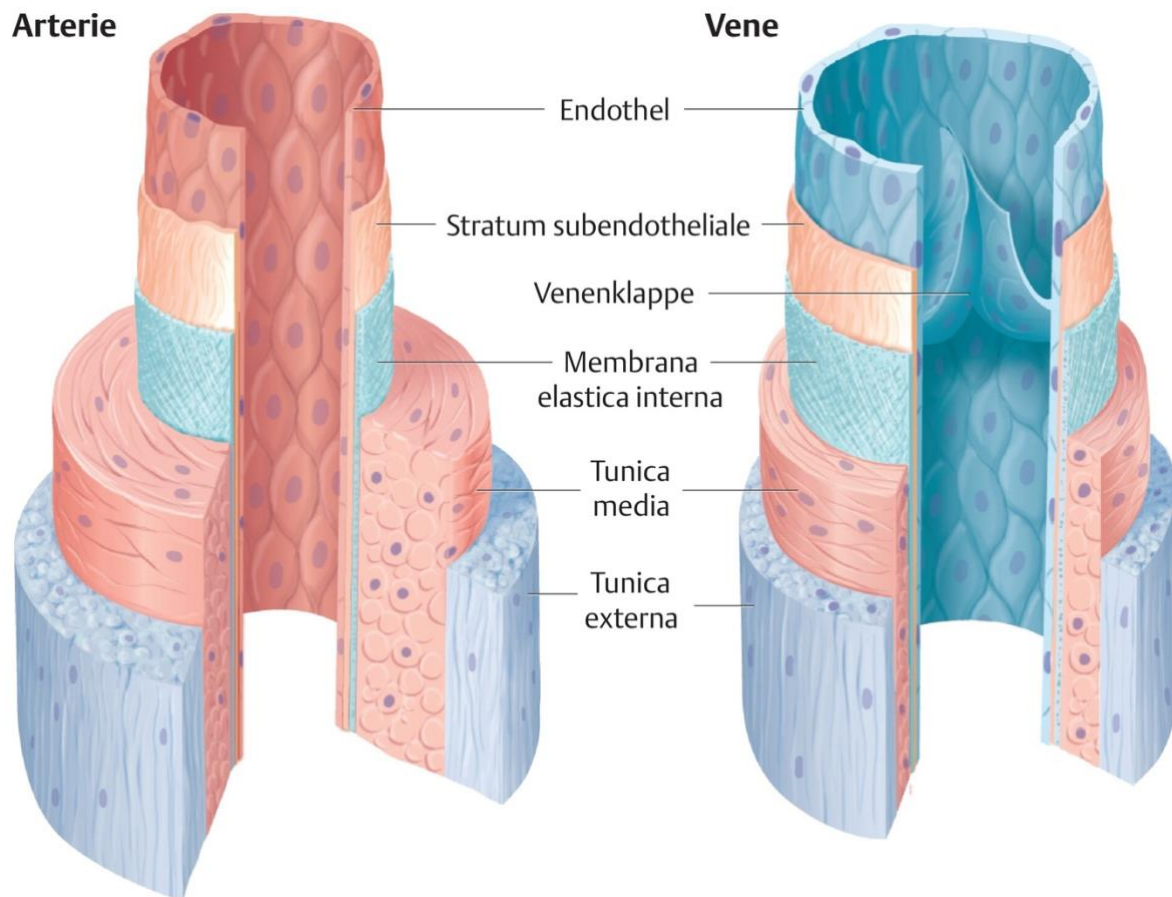


Abbildung 3: Gefäßanatomie im Vergleich

Gefäßanatomie im Vergleich (Quelle: Engele J. Feinbau und Funktion der Blutgefäße. In: Aumüller G, Aust G, Conrad A et al., Hrsg. Duale Reihe Anatomie. 5.Auflage. Stuttgart: Thieme; 2020. doi:10.1055/b-007-170976)

1.4 Vaskulitis – Grundlagen

Der Begriff Vaskulitis bezeichnet eine Entzündung von Blutgefäßen, welche durch infektiöse oder autoimmune Prozesse hervorgerufen wird und mit einer Alteration oder ggf. auch Destruktion der Gefäßwandstrukturen einhergeht. Hierbei unterscheidet man drei Gruppen von Vaskulitiden. Zum einen die idiopathischen, primär systemischen Vaskulitiden, die sekundären Vaskulitiden in Folge anderer Erkrankungen sowie die isolierten, organspezifischen Vaskulitiden.

Zahlreiche Formen der Vaskulitiden führen im Verlauf zu einer Fibrose der Intima mit Stenosierung des Gefäßlumens sowie zu einer Destruktion der elastischen Fasern.

Die Chapel-Hill-Klassifikation der primär systemischen Vaskulitiden aus dem Jahre 1994 unterscheidet fünf verschiedene Gefäßtypen. In ihr werden große Arterien, mittelgroße Arterien, kleine Arterien, „Kleingefäße“ und Venen voneinander differenziert. (HOLL-ULRICH, 2009) Die neue, revidierte Nomenklatur der Chapel Hill Consensus Conference von 2012 unterscheidet die Vaskulitiden in 7 Kategorien. Sie orientiert sich mehr an der Pathogenese der Vaskulitiden als an der reinen morphologischen Einteilung. In ihr werden Vaskulitiden der großen, mittelgroßen und kleinen Gefäße unterschieden, sowie Vaskulitiden variabler Gefäßgröße, Einzelorganvaskulitiden, Vaskulitiden bei Systemerkrankung und Vaskulitiden mit wahrscheinlicher Ätiologie. (FLECK et al., 2014)

Histologisch zeigen sich bei großen und mittelgroßen Gefäßen hauptsächlich neutrophilenreiche Entzündungszellinfiltrate innerhalb der Gefäßwand, welche oft mit einer Thrombosierung und fibrinoiden Gefäßwandnekrosen einhergehen.

Arteriolen, Venolen und Kapillaren haben einen dünneren Gefäßwandaufbau. Bei den Kleingefäßvaskulitiden treten hauptsächlich perivaskuläre Infiltrate, häufig mit Zerfall der Neutrophilen, intraluminale Thromben und auch perivaskuläre Blutungen auf. (HOLL-ULRICH, 2009)

Tab. 1 Nomenklatur primärer systemischer Vaskulitiden gemäß der Chapel Hill-Konsensus-Konferenz 2012					
Vaskulitis der großen Gefäße	Vaskulitis der mittelgroßen Gefäße	Vaskulitis der kleinen Gefäße		Vaskulitis variabler Gefäßgröße	Einzel-Organ-Vaskulitis
		antineutrophile zytoplasmatische Antikörper (ANCA) - assoziierte Vaskulitis	Immunkomplexvaskulitis		
<ul style="list-style-type: none"> > Takayasu-Arteriitis > Riesenzell-(Temporal-) Arteriitis 	<ul style="list-style-type: none"> > Panarteriitis nodosa > Kawasaki-Erkrankung 	<ul style="list-style-type: none"> > mikroskopische Polyangiitis > Granulomatose mit Polyangiitis (Wegener) > eosinophile Granulomatose mit Polyangiitis (Churg-Strauss) 	<ul style="list-style-type: none"> > anti-Glomeruläre-Basalmembran-Vaskulitis > kryoglobulinämische Vaskulitis > IgA-Vaskulitis (Henoch-Schönlein) > hypokomplementäre urtikarielle Vaskulitis (anti-C1q) 	<ul style="list-style-type: none"> > Behcet's Erkrankung > Cogan's Syndrom 	<ul style="list-style-type: none"> > kutane leukozytoklastische Angiitis > kutane Arteriitis > primäre zentrale Nervensystem-Vaskulitis > isolierte Aortitis

Abbildung 4: Neue Chapel-Hill-Klassifikation 2012, Lege artis – Das Magazin zur ärztlichen Weiterbildung 2014, 4(05): 310 - 317

Großgefäßvaskulitis	
<i>Riesenzellarteriitis (Arteriitis temporalis)</i>	Granulomatöse Arteriitis der Aorta und ihrer Hauptäste, mit einer Prädisposition für die extrakraniellen Äste der A. carotis. Oft mit Befall der A. temporalis. Tritt in der Regel bei Patienten über 50 Jahre auf und ist oft mit Poly-myalgia rheumatica verbunden
<i>Takayasu-Arteriitis</i>	Granulomatöse Entzündung der Aorta und ihrer Hauptäste. Tritt in der Regel bei Patienten unter 50 Jahren auf
Vaskulitis mittelgroßer Gefäße	
<i>Klassische Polyarteriitis nodosa (cPAN)</i>	Nekrotisierende Entzündung mittelgroßer oder kleiner Arterien ohne Glomerulonephritis oder Vaskulitis in Arterio-len, Kapillaren oder Venolen
<i>Kawasaki-Syndrom</i>	Arteriitis großer, mittelgroßer und kleiner Arterien, assoziiert mit mukokutanem Lymphknotensyndrom. Koronararterien sind oft beteiligt. Aorta und Venen können beteiligt sein. Tritt in der Regel bei Kindern auf
Kleingefäßvaskulitis	
<i>Wegener-Granulomatose</i>	Granulomatöse Entzündung mit Beteiligung des Respirationstraktes und nekrotisierende Vaskulitis kleiner bis mittelgroßer Gefäße, d. h. Kapillaren, Venolen, Arteriolen und Arterien. Häufig nekrotisierende Glomerulonephritis
<i>Churg-Strauss-Syndrom</i>	Eosinophilenreiche und granulomatöse Entzündung mit Beteiligung des Respirationstraktes und nekrotisierende Vaskulitis kleiner bis mittelgroßer Gefäße, assoziiert mit Asthma und Bluteosinophilie
<i>Mikroskopische Polyangiitis</i>	Nekrotisierende Vaskulitis kleiner Gefäße, d. h. Kapillaren, Venolen und Arteriolen mit wenigen oder keinen Immun-komplexen. Nekrotisierende Arteriitis kleiner und mittelgroßer Arterien kann auftreten. Nekrotisierende Glomeru-lonephritis sehr häufig. Pulmonale Kapillaritis kann auftreten
<i>Purpura Schönlein-Henoch</i>	Vaskulitis mit IgA-dominanten Immunkomplexen in kleinen Gefäßen, d. h. Kapillaren, Venolen oder Arteriolen. Typischerweise mit Befall von Haut, Darm und Glomeruli, assoziiert mit Arthralgien oder Arthritis
<i>Kryoglobulinämische Vaskulitis</i>	Vaskulitis mit Kryoglobulin-Immunkomplexen in kleinen Gefäßen, d. h. Kapillaren, Venolen oder Arteriolen. Assoziiert mit Kryoglobulinämie. Haut und Glomeruli oft betroffen. (Anmerkung: nach neueren Untersuchungen zumeist nicht essenziell, sondern in den meisten Fällen mit Hepatitis C assoziiert [9])
<i>Kutane leukozytoklastische Angiitis</i>	Isolierte kutane leukozytoklastische Angiitis ohne systemische Vaskulitis oder Glomerulonephritis

Abbildung 5: Alte Chapel-Hill-Klassifikation primär systemischer Vaskulitiden, Pathologe 2009, 31:67-76

1.5 Vaskulitiden der Pulmonalgefäße

Bei Vaskulitiden der Pulmonalgefäße handelt es sich hauptsächlich um Kleingefäßvaskulitiden. Sie präsentieren sich als pulmonale Kapillaritis. (HOLL-ULRICH, 2009). Ursächlich dafür sind vor allem Antineutrophilenzytosplasma-Antikörper (ANCA) assoziierte Erkrankungen. Zu den Kleingefäßvaskulitiden zählen die mikroskopische Polyangiitis, die Granulomatose mit Polyangiitis, sowie das Churg-Strauss-Syndrom. Die Kleingefäßvaskulitiden gehen meist mit entzündlichen Parenchym- und Atemwegsläsionen einher. Bei den seltener vorkommenden Vaskulitiden der großen Pulmonalgefäße stehen Perfusionsstörungen im Vordergrund. Diese werden hauptsächlich durch entzündlich bedingte Pulmonalarterienstenosen oder Lungenarterienembolien verursacht. Kollagenose-assoziierte pulmonale Läsionen präsentieren sich charakteristischerweise im Sinne von fibrosierenden und nicht-fibrosierenden Alveolitiden. Eine tragende Rolle in der Diagnostik der Vaskulitiden hat auch heute noch die histopathologische Untersuchung, welche durch serologische Befunde ergänzt wird. (SCHNABEL & GROSS, 2000).

Im Falle der Mukoviszidose-assoziierten Vaskulitis spricht man von einer sekundären Vaskulitis, da diese durch eine bereits bekannte Grunderkrankung ausgelöst wird.

Mit der Sarkoidose und der Tuberkulose existieren zwei weitere Erkrankungen, die sowohl die kleinen als auch mittelgroße und große Pulmonalgefäße beeinträchtigen können. Die Sarkoidose zeichnet sich histologisch meist dadurch aus, dass die pathognomonischen, nicht-verkäsenden Epitheloidzellgranulome in der Lunge, den bronchovaskulären Bündeln folgen. Im ungünstigsten Fall können diese, den Gefäßen anliegenden Granulome, zu einer Fibrosierung führen und zum Umbau des umliegenden Gewebes führen. (KIRSTEN & COSTABEL, 2005).

Bei der Tuberkulose kommt es im Verlauf zur Ausbildung von verkäsenden Granulomen. Im Falle der progressiven Primärtuberkulose sowie der postprimären Tuberkulose verflüssigt sich die zentralgelegene Nekrose und es bilden sich sogenannte Kavernen. Bei der Bildung solcher Kavernen kann es zur Infiltration und Destruktion des umliegenden Gewebes und umliegender Blutgefäße kommen. (RAVIGLIONE, 2016)

2. Problemstellung

Der Verlauf der Cystischen Fibrose ist trotz fortschreitender Behandlungsmöglichkeiten oft gravierend. Eine Pulmonal-Arterielle Hypertonie (PAH) wird bei bis zu 63,2 % der Patienten beobachtet und korreliert mit reduzierten Lungenfunktionsparametern und mit einem schweren Krankheitsverlauf. Eine PAH kann bedingt sein durch Vaskulopathien der arteriellen Lungengefäße. Solche Vaskulopathien können unter anderem durch inflammatorische Prozesse verursacht werden. Es gilt herauszufinden, ob und in welchem Ausmaß derartige Vaskulopathien bestehen und wenn ja in welchem Ausmaß und ob es sich dabei um reversible oder irreversible Läsionen handelt, um eventuelle neue Behandlungsansätze zu generieren.

Fragestellung/ Ziele:

1. Haben die bei Mukoviszidose häufig vorkommenden, rezidivierenden Infektionen und Inflammationen im Lungengewebe Auswirkungen auf die Pulmonalgefäße im Sinne von Intima- oder/und Medialäsionen?
2. Gibt es einen Zusammenhang zwischen der Größe der Gefäße und dem Ausmaß der Vaskulopathien?
3. Korrelieren die an arteriellen Pulmonalgefäßen festgestellten Vaskulopathien mit der Erkrankungsdauer?
4. Korrelieren das Ausmaß der Vaskulopathien mit sonstigen demographischen oder klinischen Daten?

3. Material und Methoden

3.1 Patientenkollektiv

3.1.1 Einschlusskriterien

Mittels des klinikinternen Dokumentationssystems SAP Digital Healthcare (SAP Deutschland SE & Co. KG, Walldorf Deutschland) wurde eine Liste aller Patienten erstellt, die wegen einer Zystischen Fibrose im Zeitraum von 01/1998 - 12/2016 am Universitätsklinikum des Saarlandes (UKS) in Behandlung waren. Hierzu erfolgte die Suche mittels ICD-10 Codes, welche in Tabelle 1 aufgeführt sind. Im Anschluss erfolgte der Abgleich der Tabelle mit den Daten im institutsinternen Dokumentationssystems DC-Pathos (dc-systeme Informatik GmbH, Heiligenhaus, Deutschland). Dadurch wurde das Patientenkollektiv weiter eingegrenzt. Es wurden nur die Fälle in die Studie eingeschlossen, deren Explantate im Institut für Allgemeine und Spezielle Pathologie der Universität des Saarlandes vorhanden und untersucht worden sind.

Tabelle 1: ICD-10-Kodierung der Zystischen Fibrose

Zystische Fibrose und zugehörige ICD-10-Codes	
E84.0	Zystische Fibrose mit Lungenmanifestation
E84.1	Zystische Fibrose mit Darmmanifestation Inklusive: Distales intestinales Obstruktionssyndrom, Mekoniumileus bei zystischer Fibrose Exklusive: Mekoniumileus bei ausgeschlossener zystischer Fibrose
E84.80	Zystische Fibrose mit Lungen- und Darmmanifestation
E 84.87	Zystische Fibrose mit sonstigen multiplen Manifestationen
E84.88	Zystische Fibrose mit sonstigen Manifestationen
E84.9	Zystische Fibrose, nicht näher bezeichnet

Quelle: *Bundesinstitut Für Arzneimittel Und Medizinprodukte, 2023*

3.1.2 Ausschlusskriterien

Für diese Studie betrachtete man ausschließlich Explantate von Patienten, bei denen eine Doppel-Lungentransplantation durchgeführt wurde. In dem resultierenden Patientenkollektiv fanden sich Patienten, bei denen nur eine Einzel-Lungentransplantation durchgeführt wurde. Zur Vergleichbarkeit der Ergebnisse wurden die Patienten von denen nur ein Einzel-Lungenexplantat vorhanden war aus der Studie ausgeschlossen.

In dieser Studie betrachtete man Vitalparameter, die im Vorfeld bis zum Zeitpunkt der Lungentransplantation gemessen wurden. Es fanden sich im Patientenkollektiv Patienten von welchen im SAP Digital Healthcare nicht ausreichend der benötigten Daten vorhanden waren. Dies lag daran, dass diese Patienten lediglich zur Durchführung der Transplantation ans UKS gekommen waren und deren gesamte vorherige Betreuung und Behandlung in einem anderen Zentrum erfolgte. Diese Patienten wurden aus der Studie ausgeschlossen.

Auf Grund der oft langen Krankheitsgeschichte der Patienten waren von vielen der Patienten Daten aus mehreren Aufenthalten vorhanden. Um den Zustand unmittelbar vor der Lungentransplantation zu beurteilen, hat man lediglich den aktuellen, zur Lungentransplantation im engsten Bezug stehenden, Wert in die Studie eingeschlossen, die übrigen Werte wurden aus der Studie ausgeschlossen. In dieser Studie wurden sowohl die kleinen als auch die mittelgroßen und großen Pulmonalgefäße betrachtet.

3.1.3 Kontrollgruppe

Um die in dieser Studie erhobenen Daten besser beurteilen zu können, wurde eine Kontrollgruppe in die Studie aufgenommen.

Auf Grund der geringen Verfügbarkeit von gesunden Lungenpräparaten setzt sich diese Kontrollgruppe aus sechs Fällen zusammen, von welchen dem Institut für allgemeine und spezielle Pathologie der Universität des Saarlandes, Präparate vorlagen.

Die Fälle stammen aus den Jahren 2011 bis 2021. Es handelt sich dabei um Teilpräparate.

3.2 Herstellung der Schnittpräparate

3.2.1 Zuschnitt

Die explantierten Lungen werden bei Entnahme in Formaldehyd 4% (Fischer Otto GmbH & Co.KG, Saarbrücken, Deutschland) eingelegt. In dafür vorgesehenen Kunststoffbehältnissen mit Schraubverschluss erreichen sie im Anschluss das Institut für allgemeine und spezielle Pathologie. Hier werden sie über das Eingangslabor dem Zuschnitt zugeführt. Beim Zuschnitt geht es in erster Linie darum, das zu untersuchende Gewebe zu beschreiben, makroskopisch sichtbare Gewebeveränderungen zu dokumentieren und repräsentative Gewebeproben für die spätere mikroskopische Untersuchung zu gewinnen. Das weitere Vorgehen bei der Verarbeitung des Gewebes folgt einem strukturierten Ablauf. Dabei wird das zu untersuchende Explantat, in diesem Fall die Lungen, nach einer ausreichenden Fixierung in Formaldehyd 4%, zunächst beschrieben. Hierbei spielen der allgemeine Zustand des Gewebes, die Größe, sowie die Oberflächenbeschaffenheit des Gewebes eine Rolle. Etwaige strukturelle Veränderungen oder durch chirurgische Maßnahmen zugefügte Beschädigungen werden genauestens beschrieben. Markierungen, die chirurgischer Seits zur Orientierung angebracht wurden, werden dokumentiert. Im Anschluss wird das Präparat durchgetastet, um eventuelle Rundherde oder andere strukturelle Veränderungen festzustellen. Vorhandene Klammernähte die beim Absetzen der Lungen angebracht wurden, werden abpräpariert. Im Anschluss wird das gesamte Präparat längs aufklammeliert. Dies geschieht mittels eines Skalpell in ca. 0,5 - 1 cm dicke Lamellen. Das Aufklammelieren dient der genaueren Betrachtung aller Schichten des Präparates. Es werden repräsentativ aus allen Lungenabschnitten Proben entnommen. Dazu werden aus den aufgeschnittenen Lamellen Proben von sowohl auffälligem als auch unauffälligem Gewebe entnommen. Die Kanten dieser Proben sollten im Wesentlichen eine Länge von 1cm nicht überschreiten, da sonst eine Verzögerung bei der Fixierung eintreten kann. Die gewonnenen Proben werden dann in die dafür vorgesehenen Einbettkassetten gelegt (Engelbrecht Medizin- und Labortechnik GmbH, Edermünde, Deutschland).

3.2.2 Fixierung

Die in den Einbettkassetten befindlichen Präparate werden im Anschluss an den Zuschnitt der Fixierung zugeführt. Die Fixierung dient der strukturellen Stabilisierung des Gewebes und der Abschaltung enzymatischer Prozesse. Sie ermöglicht somit, eine Weiterverarbeitung des Präparates. Diese Stabilisierung und Abschaltung enzymatischer Prozesse geschieht durch die Denaturierung von Proteinen. Zur Fixierung geeignete Fixiermittel sind Aldehyde wie Formaldehyd, organische Säuren wie beispielsweise Pikrinsäure und Alkohole wie Ethanol. Bei der Herstellung der Präparate verwendet man zur Fixierung ausschließlich Formaldehyd 4%. Diese Fixierung ist der erste Schritt des Entwässerungsprogrammes, welches im Labor über Nacht im Sakura „Tissue-tek VIP“ stattfindet (Sakura Finetek Europe B.V., Alphen aan den Rijn, Niederlande). Dabei werden die Gewebeproben eine Stunde in Formaldehyd 4% getaucht. Durch die Fixierung erreicht das Gewebe einen Härtegrad, welcher Substanzverluste bei der Weiterverarbeitung verringert. Dieser Härtegrad reicht allerdings noch nicht aus, um aus dem Präparat die erforderlichen dünnen Schnitte anzufertigen, die man zur genauen mikroskopischen Untersuchung benötigen. Zum Erreichen eines schneidbaren Zustandes des Gewebes, werden die nun fixierten Präparate den weiteren Schritten der Entwässerung und Paraffineinbettung zugeführt.

3.2.3 Entwässerung und Paraffineinbettung

Um das Gewebe mikroskopisch beurteilen zu können ist es notwendig, es in möglichst dünne Scheiben zu schneiden zu. In diesem Fall strebt man eine Dicke der Scheiben von ca. 1,5-2,5 µm an. Um diese dünnen Scheiben schneiden zu können, werden die Gewebeproben im Anschluss an die Fixierung weiter entwässert und in Paraffin eingebettet.

Bei der Entwässerung und Einbettung wird das im Gewebe noch vorhandene Wasser durch das Einbettmedium ersetzt. Im Labor des Instituts für Allgemeine und Spezielle Pathologie der Universität des Saarlandes, wird Paraffin als Einbettmedium genutzt. Der Austausch von Wasser gegen Paraffin erfolgt über Zwischenmedien. Diese Zwischenmedien sind notwendig, da sich das Wasser nicht mit dem geschmolzenen Paraffin mischt. Dieser Prozess des Austausches dauert in der Regel ca.8-12 Stunden und findet ebenfalls im Tissue-Tek VIP, unmittelbar im Anschluss an die Fixierung statt. Dabei wird die Gewebeprobe normalerweise mit Alkohol in steigender Konzentration durchtränkt, im Labor des Instituts für Allgemeine und Spezielle Pathologie der Universität des Saarlandes wird ausschließlich 100% Ethanol (Ethanol 100% SAV LP GmbH, Flintsbach am Inn, Deutschland) genutzt. Dies führt dazu, dass das gesamte Wasser aus dem Präparat ausgetauscht wird. Im Anschluss wird die Gewebeprobe mit einem Reagenz durchtränkt, welches sich gleichermaßen mit Alkohol und Paraffin mischt. Hierzu wird Xylol (Fischar Otto GmbH & Co.KG, Saarbrücken, Deutschland) verwendet.

Das Xylol vermittelt die Immersion des Paraffins in das Gewebe. Das Gewebe, welches mit Xylol durchtränkt ist, wird nun mehrere Stunden in Paraffin getränkt. Am nächsten Morgen wird das Paraffin aus dem Tissue-Tek VIP abgelassen. Die mit Paraffin getränkten Gewebeproben werden zur Ausblockstation überführt. Dieser Vorgang des Ausblockens findet im Sakura „Tissue-Tek TEC“ statt (Sakura Finetek Europe B.V., Alphen aan den Rijn, Niederlande). Beim Ausblocken werden die Gewebeproben aus den Einbettkassetten herausgenommen und in kleine wannenförmige Gießformen gesetzt. Diese Formen werden dann, mit erwärmtem, flüssigen Paraffin aufgefüllt. Das nun noch warme und dadurch flüssige Paraffin muss nun abkühlen und aushärten. Dazu werden die mit Paraffin gefüllten Förmchen auf eine Kühlplatte gestellt. Nach einer Aushärtungszeit von 5-15 Minuten, je nach Größe der Form, entstehen so kleine Paraffinblöcke, die nun die notwendige Festigkeit besitzen um mittels Spezialgeräten in ausreichend dünne Schnitte geschnitten werden zu können.

3.2.4 Paraffinschnitt

Die bei der Einbettung entstandenen Paraffinblöcke haben nun die erforderliche Festigkeit, um zugeschnitten zu werden. Die Blöcke werden mit Hilfe eines Mikrotoms in 1,5-2,5 µm dicke Scheiben geschnitten (Rotary 3003, pfm medical ag, Köln, Deutschland). Ein Mikrotom ist ein Schneidgerät, in welches eine Skalpellklinge eingelegt wird. Das Mikrotom besitzt außerdem einen Vorschubmechanismus und eine Präparatehalterung, in welche der Paraffinblock eingelegt wird. Beim Schneiden wird das Präparat über die Skalpellklinge gedrückt und durch die Keilwirkung wird ein Schnitt abgetragen. Nach jedem Schnitt wird das Präparat durch den Vorschubmechanismus an die Skalpellklinge anjustiert. So entsteht beim nächsten Schneidevorgang wieder ein Schnitt, mit exakt gleicher Dicke. Mit Hilfe eines Mikrotoms können sehr dünne Schnittpräparate hergestellt werden. Die Dicke der Schnitte lässt sich mit Hilfe eines Einstellmechanismus exakt regulieren. Die anzustrebende Schnittdicke ist abhängig vom zu untersuchenden Material, vom Untersuchungsziel und der Qualität der Vorbehandlung. Da sich der Paraffinblock bei Raumtemperatur und während des Schneidvorganges aufwärmt und das Gewebe sich ausdehnt, ist es von Nöten, ihn vor dem Schnitt mit dem Mikrotom und gelegentlich während des Schnittes auf einer Kühlplatte wieder abzukühlen (Blue Cooler, Ralf W. Weinkauff Medizin & Umwelttechnik, Forchheim, Deutschland). Durch das intermittierende Abkühlen wird eine für den Schnitt optimale Festigkeit des Paraffinblocks wiederhergestellt. Ein optimal gekühlter Paraffinblock ermöglicht zudem dünnere Schnitte, da sich sowohl der Paraffinblock als auch das Gewebe mit zunehmender Temperatur ausdehnen, wodurch es zu einer Vergrößerung der Schnittdicke kommen würde und somit zu einer ungenaueren Beurteilbarkeit bei der späteren mikroskopischen Untersuchung.

Die beim Zuschnitt mit dem Mikrotom entstandenen Schnitte legen sich in Falten auf die Skalpellklinge. Sie werden im Anschluss mittels einer Pinzette von der Klinge des Mikrotoms genommen und auf ein ca. 50°C warmes Wasserbad gelegt (HI1210 Paraffinstreckbad, Leica Camera AG, Wetzlar, Deutschland). Wäre der Paraffinblock zu warm, würde er beginnen zu schmelzen und dadurch klebrig werden, dadurch würden die Schnitte an der Skalpellklinge kleben bleiben und könnten nicht auf das Wasserbad gelegt werden.

Der entstandene Paraffinschnitt, der nun in Falten auf der Skalpellklinge liegt, breitet sich auf der Wasseroberfläche des Wasserbades wieder faltenfrei aus. Dadurch, dass sich der Paraffinschnitt auf dem Wasser ausbreitet, kann er auf einen Glasobjektträger aufgezogen werden (76mm x 26 mm R.Langensbrinck GmbH Labor- und Medizintechnik, Emmendingen, Deutschland). Hierzu wird der Objektträger unter den auf dem Wasserbad schwimmenden Schnitt gehalten und langsam in einem ca. 45° Winkel nach oben rausgezogen. Dies bewirkt,

dass sich der Schnitt glatt auf den Objektträger auflegt. Die Schnitte werden im Anschluss für ca. 20 Minuten in einen Wärmeschrank gestellt. In diesem Wärmeschrank herrscht eine Temperatur von ca. 100°C. Dies dient dem Abschmelzen. Beim Abschmelzen wird überschüssiges, im Schnitt enthaltenes, Paraffin durch Erwärmen verflüssigt und kann so vom Gewebe und dem Objektträger abfließen. Durch das Abschmelzen verbessert sich die Haftung des Gewebes auf dem Objektträger. Es verbleibt nach dem Abschmelzen lediglich das Gewebe auf dem Objektträger. Der Objektträger mit dem darauf befindlichen Gewebe kann nun der Färbung zugeführt werden.

3.2.5 Histologische Färbung allgemein

Die histologische Färbung ermöglicht eine Übersicht über wesentliche Strukturen eines Gewebes. Hierbei unterscheidet man zwischen Standard-Übersichtsfärbungen und Sonderfärbungen. Zu den Standardfärbungen gehört zum Beispiel die Hämatoxylin-Eosin Färbung. Für diese Studie benötigt man eine Sonderfärbung der Schnitte. Im Falle dieser Studie wurden die Schnitte mittels Elastika-Hämatoxylin-Eosin-Färbung (EH) angefärbt. Diese Färbung ist eine Abwandlung der Standard-Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE). Bei der Elastika Färbung werden insbesondere elastische Fasern hervorgehoben. Für die Studie wurde diese Art der Spezialfärbung gewählt, da hauptsächlich Blutgefäße beurteilt werden sollen. Blutgefäße enthalten sehr viele elastische Fasern und somit macht es diese Spezialfärbung einfacher, diese Fasern von anderen Fasern zu differenzieren.

3.2.6 Standardfärbung Hämatoxylin-Eosin

Die Standardfärbung Hämatoxylin-Eosin besteht aus zwei Einzelfärbungen und findet in 21 Teilschritten in einem Färbeautomat statt (Tissue Stainer COT20, MEDITE Medical GmbH, Burgdorf, Deutschland). Sie beinhaltet zum einen die Färbung mit Hämatoxylin. Dies ist ein natürlicher Farbstoff, welcher zum Entwickeln seiner färbenden Eigenschaften oxidiert werden muss. Dabei entsteht der Farbstoff Hämatein. Dieser Farbstoff färbt alle sauren bzw. basophilen Strukturen, nach dem so genannten „Bläuen“, blauviolett. Anfänglich erscheinen die durch Hämatein gefärbten Strukturen, auf Grund des niedrigen pH-Wertes der Färbelösung, eher rötlich-braun. Das so genannte „Bläuen“ geschieht durch eine Erhöhung des pH-Wertes, zum Beispiel durch ein Wasserbad. Dabei erfolgt ein Farbumschlag von eher rötlich-braun zu einem charakteristischen blauviolett. Das Eosin ist ein synthetischer saurer Farbstoff. Dieser färbt alle basischen bzw. acidophilen Strukturen rot. Diese Standard-Färbung geschieht im Labor des Instituts für Allgemeine und Spezielle Pathologie der Universität des Saarlandes in 21 Einzelschritten, wobei jeder einzelne davon 1,5 Minuten dauert. Als erster Schritt findet die Entparaffinierung statt. Dazu werden die Objektträger insgesamt drei Mal für jeweils 1,5 Minuten in Xylol getränkt. Dadurch wird das im Gewebe befindliche Paraffin durch Xylol ausgetauscht. Im Anschluss erfolgen drei Bäder, á 1,5 Minuten, in 100%igem Alkohol gefolgt von einem Wasserbad. Dieses Wasserbad ist notwendig, da das im Anschluss verwendete Hämatoxylin wässrig angesetzt ist und eine adäquate Färbung nur in einem wässrigen Milieu stattfindet. Es schließen sich drei Bäder á 1,5 Minuten in Hämatoxylin an. Darauf folgen zwei Wasserbäder á 1,5 Minuten, um den Farbumschlag von rötlich-braun zu blauviolett

hervorzubringen. Daran schließen sich zwei Bäder von jeweils 1,5 Minuten Dauer in Eosin an. Dieses Eosin wird mit ca. 10 Tropfen 3%iger Essigsäure angesäuert. Diese Ansäuerung ist notwendig, da sonst in so kurzer Zeit kein ausreichendes Färbeergebnis erzielt werden würde. Es folgt ein 90-sekündiges Bad in Aqua Dest. sowie drei Bäder á 1,5 Minuten in 100%igem Alkohol, um möglichst das gesamte Wasser aus dem Schnitt herauszulösen. Diese Schritte sind nötig, da nun drei Bädern, von jeweils 1,5 Minuten Dauer, in Xylol folgen. Dieses Xylol würde in Wasser ausfällen, was den Schnitt unbrauchbar machen würde. Im Anschluss erfolgt das Eindecken im Eindeckautomaten (Leica CV5030, Leica Camera AG, Wetzlar, Deutschland).

Tabelle 2: Verwendete Reagenzien bei der Hämatoxylin-Eosin Färbung

Reagenzien	Hersteller
Alkohol 100% (Ethanol 100%)	SAV LP GmbH, Flintsbach am Inn, Deutschland
Aqua Dest.	
Eosin Y-Solutions 0,5% wässrig	Merk Chemicals GmbH, Darmstadt, Deutschland
Essigsäure 99%	Caesar & Lorentz GmbH, Hilden, Deutschland
Hämatoxylin sauer	Waldeck GmbH & Co.KG, Münster, Deutschland
Wasser (Leitungswasser)	
Xylol	Fischar Otto GmbH & Co.KG, Saarbrücken, Deutschland

Tabelle 3: Färbeprotokoll Hämatoxylin-Eosin

Schritt-Nr.	Bad	Zeit (min)
1	Xylol	01:30
2	Xylol	01:30
3	Xylol	01:30
4	Alkohol 100%	01:30
5	Alkohol 100%	01:30
6	Alkohol 100%	01:30
7	Wasserbad	01:30
8	Hämatoxylin	01:30
9	Hämatoxylin	01:30
10	Hämatoxylin	01:30
11	Wasserbad	01:30
12	Wasserbad	01:30
13	Eosin (+3% Essigsäure)	01:30
14	Eosin (+3% Essigsäure)	01:30
15	Aqua Dest.	01:30
16	Alkohol 100%	01:30
17	Alkohol 100%	01:30
18	Alkohol 100%	01:30
19	Xylol	01:30
20	Xylol	01:30
21	Xylol	01:30

3.2.7 Sonderfärbung

Die in dieser Studie verwendeten Schnitte wurden alle mit der Sonderfärbung Elastika-Hämatoxylin-Eosin gefärbt. Diese Färbung findet in einem Sonderfärbeautomaten mit Eindeckautomat statt (Tissue Stainer TST44 Multifärber und Eindeckautomat, MEDITE Medical GmbH, Burgdorf, Deutschland). Diese Sonderfärbung läuft in 17 Einzelschritten ab. Zuerst wird der Objektträger mit darauf befindlichem Gewebeschnitt zwei Mal für jeweils zwei Minuten in Xylol getränkt. Dies dient der Entparaffinierung. Dabei wird das im Gewebe befindliche Paraffin gegen Xylol ausgetauscht. Im Anschluss wird der Objektträger drei Mal für jeweils eine Minute in 100%igem Alkohol getränkt. Dies dient dem Herausziehen des im Schnitt befindlichen Wassers. Dieser Schritt ist wichtig, da die im Anschluss verwendete Färbelösung alkoholisch angesetzt ist. Wäre im Schnitt noch zu viel Wasser enthalten, würde die Färbung nicht optimal ablaufen können. Darauf folgt ein 30-minütiges Bad in Elastin Weigert (Resorcin-Fuchsin, alkoholisch nach Weigert, Morphisto GmbH, Frankfurt am Main, Deutschland). Im Anschluss werden die Schnitte in HCL-Alkohol getränkt. Bei diesem Schritt wird eine überschüssige Anfärbung herausdifferenziert, sodass der Schnitt im Anschluss in angemessener Stärke angefärbt ist. Daran schließen sich ein Bad in 70%igem Alkohol und ein Wasserbad an. Diese Schritte sind notwendig, da das im Anschluss verwendete Hämatoxylin wässrig angesetzt ist und bei zu viel Alkoholgehalt im Präparat, die Färbung nicht wie erfordert stattfinden würde. Die Schnitte werden nun 10 Minuten in Hämatoxylin getränkt. Der darauffolgende Schritt ist ein 10-minütiges Wasserbad, in welchem das „fließend Bläuen“ stattfindet. Dabei findet durch Erhöhung des pH-Wertes ein Farbumschlag von einer rötlich-braunen zur charakteristischen blauvioletten Farbe statt. Im Anschluss daran erfolgt ein dreiminütiges Bad in Eosin, welches von einem einminütigen Wasserbad gefolgt wird. Die darauffolgenden drei Schritte sind ein jeweils einminütiges Durchtränken der Schnitte mit 100%igem Alkohol. Dieses Durchtränken ist notwendig, da die vorangegangenen Lösungen wässrig angesetzt waren und man zum Eindecken des Schnittes ein Eindeckmedium verwendet, welches einen geringen Anteil Xylol enthält. Das Xylol würde bei Kontakt mit Wasser ausfallen und den Schnitt somit unbrauchbar machen. Deshalb muss vor dem Eindecken das Wasser, durch das Tränken in 100%igem Alkohol, herausgelöst werden und der Schnitt im Anschluss in ein einminütiges Bad mit Xylol getaucht werden. Im Anschluss an diese Schritte erfolgt das Eindecken im integrierten Eindeckautomaten.

Tabelle 4: Färbeprotokoll Elastika-HE

Schritt-Nr.	Bad	Zeit (min)
1	Xylol	02:00
2	Xylol	02:00
3	Alkohol 100%	01:00
4	Alkohol 100%	01:00
5	Alkohol 100%	01:00
6	Elastin nach Weigert	30:00
7	HCL-Alkohol	01:00
8	Alkohol 70%	01:00
9	Wasserbad	01:00
10	Hämatoxylin	10:00
11	Wasserbad	10:00
12	Eosin	03:00
13	Wasserbad	01:00
14	Alkohol 100%	01:00
15	Alkohol 100%	01:00
16	Alkohol 100%	01:00
17	Xylol	01:00

Tabelle 5: Verwendete Reagenzien bei der Elastika-HE Färbung

Reagenzien	Hersteller
Alkohol 100% (Ethanol 100%)	SAV LP GmbH, Flintsbach am Inn, Deutschland
Aqua Dest.	
Elastin Weigert / Resorcin-Fuchsin, alkoholisch nach Weigert	Morphisto GmbH, Frankfurt am Main, Deutschland
Entellan Neu	Merk Chemicals GmbH, Darmstadt, Deutschland
Eosin Y-Solution 0,5% wässrig	Merk Chemicals GmbH, Darmstadt, Deutschland
Essigsäure 99%	Caesar & Lorentz GmbH, Hilden, Deutschland
Hämatoxylin sauer	Waldeck GmbH & Co.KG, Münster, Deutschland
HCL-Alkohol	Morphisto GmbH, Frankfurt am Main, Deutschland
Xylol	Fischar Otto GmbH & Co.KG, Saarbrücken, Deutschland

3.2.8 Eindecken

Im unmittelbaren Anschluss an die Färbungen müssen die nun angefärbten Schnitte eingedeckt werden. Dies erfolgt entweder direkt im Färbeautomaten, welcher einen integrierten Eindeckautomaten besitzt oder in einem externen Eindeckautomaten. Im Labor des Instituts für Allgemeine und Spezielle Pathologie der Universität des Saarlandes enthält der Sonderfärbeautomat einen Eindeckautomaten, der Färbeautomat für diese Standardfärbungen enthält keinen Eindeckautomaten, weshalb das Eindecken der standardgefärbten Schnitte in einem gesonderten Eindeckautomaten geschieht (Leica CV5030, Leica Camera AG, Wetzlar, Deutschland). Beim Eindecken wird auf den angefärbten Schnitt ein Deckglas aufgelegt, um den Schnitt vor Umwelteinflüssen zu schützen und so länger haltbar zu machen. Zum Eindecken wird sowohl ein Deckglas als auch ein Eindeckmedium benötigt. Dieses Eindeckmedium dient der Haftung des Deckglases auf dem Schnitt. In diesem Fall wurde als Eindeckmedium das Entellan Neu genutzt. Das Entellan Neu beinhaltet Anteile Xylol, weshalb die Schnitte als letzten Schritt bei der Färbung ein Xylolbad durchlaufen. Da so dann sowohl der Schnitt als auch das Eindeckmedium Xylol enthalten, kann sich das Entellan nach dem Auftropfen auf den Objektträger, mit dem im Gewebe und auf dem Objektträger befindlichen Xylol vermischen. Das begünstigt nun die gleichmäßige Verteilung des Entellans zwischen Objektträger und dem im Anschluss aufgelegten Deckglas. Im Idealfall sind nach Auflegen des Deckglases keinerlei Luftblasen eingeschlossen. Diese Luftblasen würden eine mikroskopische Beurteilung des Gewebes erschweren. Das Xylol verfliegt nach einer gewissen Trocknungszeit und hinterlässt eine starke Haftung zwischen Objektträger und Deckglas. Die Trocknungszeit ist von mehreren Faktoren abhängig. Zum einen, wie feucht der Objektträger war, als das Deckglas aufgesetzt wurde und zum anderen ob die Trocknung unter einem Abzug stattfindet. In der Regel dauert es ca. 15 – 30 Minuten, bis die Schnitte so trocken sind, dass sie nicht mehr kleben und unter das Mikroskop gelegt werden können. Bis die Schnitte stapelbar sind, kann es allerdings bis zu mehreren Stunden dauern, da sie dazu komplett durchgetrocknet sein müssen, da sie sonst aufeinander kleben und somit unbrauchbar werden würden.

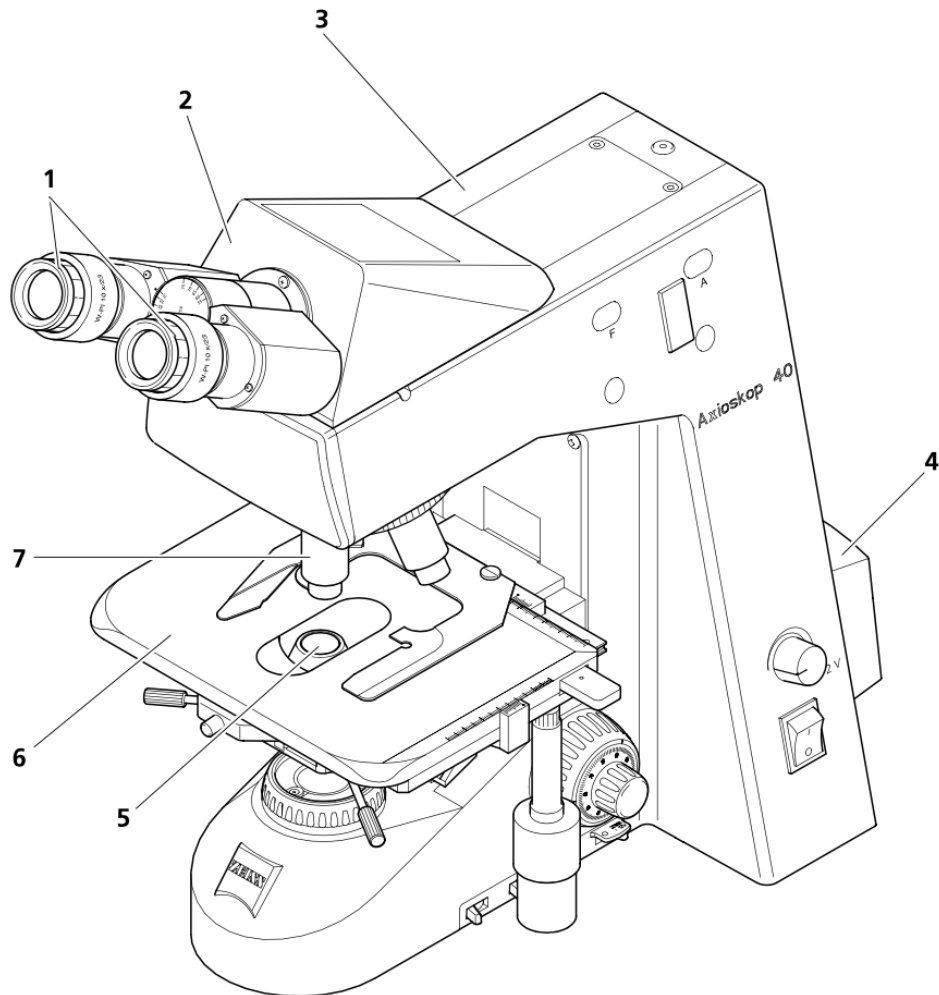
3.2.9 Begutachtung der Schnittpräparate

Da man sich in dieser Studie Schnittpräparate der Jahre 1998-2006 anschauen wollte, mussten diese Schnittpräparate aus dem Archiv des Institutes für Pathologie herausgesucht werden. Dies geschah mit Hilfe der institutsinternen Nummerierung der im Eingangslabor ankommenden Präparate und der daraus folgenden Nummerierung der Schnittpräparate. Die aus dem Archiv herausgesuchten Schnittpräparate wurden sortiert. Die Schnittpräparate, die bereits mittels Sonderfärbung Elastika-HE angefärbt waren, wurden von denen, die nur nach Standardfärbung gefärbt waren, differenziert. Da die meisten der vorhandenen Schnittpräparate nach Standardfärbung gefärbt waren, mussten neue Schnittpräparate angefertigt werden. Dazu mussten die zu den Schnittpräparaten dazugehörigen Paraffinblöcke aus dem Archiv herausgesucht werden. Auch dies geschah anhand der institutsintern vergebenen Nummerierung. Die so herausgesuchten Paraffinblöcke wurden dann wie oben beschrieben im Labor erneut zugeschnitten und mussten dann im Anschluss mittels Sonderfärbung Elastika-HE angefärbt werden. Nachdem die neuen Schnittpräparate fertig gefärbt, eingedeckt und getrocknet waren, konnten diese mikroskopisch untersucht werden.

3.3 Mikroskopieren

Im Anschluss an das Einfärben folgt die mikroskopische Untersuchung der Präparate. Dies erfolgte am Axioskop40 (Carl Zeiss AG, Oberkochen, Deutschland).

Gesamtansicht Axioskop 40



- 1 Okulare
- 2 Binokularer Tubus
- 3 Stativ
- 4 Leuchte Durchlicht
- 5 Kondensor 0,9/1,25 H
- 6 Kreuztisch
- 7 Objektiv

Abbildung 6: Zeiss Axioskop40

Quelle: Bedienungsanleitung Axioskop 40 / 40FL. Routinemikroskop, Carl Zeiss Lichtmikroskopie, Göttingen, Deutschland, B 40-810 d, 31.10.2003

3.3.1 Einstellung der Beleuchtung nach Köhler

Nach Einschalten der Lichtquelle erfolgt zunächst die Einstellung der Beleuchtung nach Köhler. Dies ist nötig, um eine optimale Beleuchtung und einen gute Kontrastierung zu erhalten. Dazu wird das zu untersuchende Präparat auf den Objektisch gelegt. Dann wird zunächst der Kondensator direkt unter den Objektisch gebracht. Das Präparat ist nun im Blickfeld sichtbar. Im Anschluss schließt man die Leuchtfeldblende komplett. Im Gesichtsfeld erscheint ein unscharfes Bild der Leuchtfeldblende (A). Wenn dies geschehen ist, wird das Bild scharf gestellt (B). Dies erfolgt durch das Verstellen der Höhe des Kondensators. Das Bild muss im Anschluss, durch Betätigen der Zentrierschrauben des Kondensorträgers, in die Mitte des Gesichtsfeldes gebracht werden (C). Im Anschluss wird die Leuchtfeldblende so weit geöffnet, bis sie aus dem Gesichtsfeld verschwunden ist (D). Mit der Aperturblende wird dann der Kontrast eingestellt (E). (LINKENHELD, 2001)

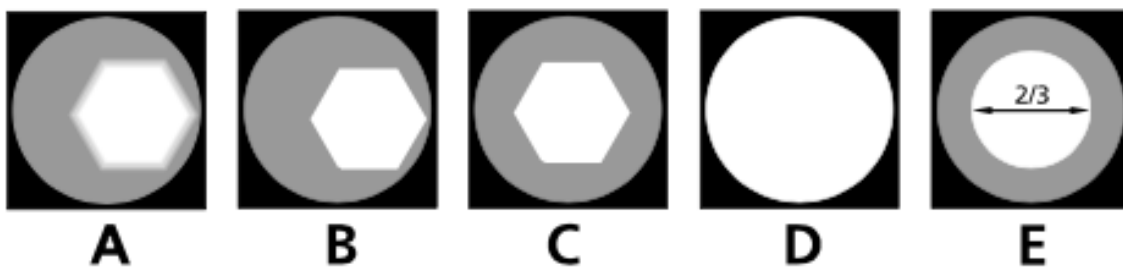


Abbildung 7: Durchlicht-Hellfeldeinstellung nach Köhler

Quelle: Bedienungsanleitung Axioskop 40 / 40FL. Routinemikroskop, Carl Zeiss Lichtmikroskopie, Göttingen, Deutschland, B 40-810 d, 31.10.2003

3.3.2 Mikroskopische Untersuchung der Präparate

Im Anschluss an das „Köhlern“ wurden die Schnittpräparate zunächst in 4-facher Vergrößerung betrachtet. Hierbei wurde zunächst die Qualität der Färbung sowie des Zuschnittes beurteilt. Unterschiedliche Mängel wie zum Beispiel Luft zwischen Objektträger und Deckglas, beeinträchtigen die Untersuchung der Präparate. Deshalb mussten einige Präparate nochmals die oben beschriebenen Schritte teilweise durchlaufen. Präparate, die zu stark angefärbt waren, mussten neu angefärbt werden. Präparate, die sich beim Aufziehen auf den Objektträger gefaltet hatten, mussten neu aufgezogen werden. Präparate, bei denen sich Luft zwischen Objektträger und Deckglas befand, mussten neu eingedeckt werden. Nachdem diese Mängel behoben wurden, konnten diese Präparate weiter untersucht werden.

In 4-facher Vergrößerung erfolgte im Anschluss eine erste Betrachtung des Gewebes. Hierbei wurde insbesondere auf bereits in kleiner Vergrößerung auffallende Veränderungen im Gewebe, wie zum Beispiel entzündliche Veränderungen und insbesondere Auffälligkeiten der Gefäße geachtet.

Im Anschluss wurde auf das Objektiv mit 10-facher Vergrößerung gewechselt. Hiermit wurde ebenfalls eine mäanderförmige Betrachtung durchgeführt und bereits in 4-facher Vergrößerung aufgefallene Veränderungen des Gewebes und der Gefäße betrachtet.

Zur abschließenden Untersuchung erfolgte eine mäanderförmige Betrachtung des Gewebes in 20-facher Vergrößerung. Hierbei konzentrierte man sich ausschließlich auf Gefäße die mit ihrer gesamten Größe in das „Bildfeld“ des Mikroskops passten, ohne, dass ein Rand angeschnitten wurde.

3.3.3 Fotodokumentation

Die in der mikroskopischen Untersuchung in 20-facher Vergrößerung gefundenen Gefäße wurden alle fotodokumentiert. Dies geschah mit Hilfe der AxioCam MRc5 (Carl Zeiss AG, Oberkochen, Deutschland) und dem Computerprogramm Zeiss Zen 3.0 (blue edition) Dokumentation (Carl Zeiss AG, Oberkochen, Deutschland). Dazu wurde das Bild der Gefäße zunächst unterm Mikroskop scharf gestellt. Im Anschluss wechselte man auf die am Mikroskop angebrachte Kamera, welche das Mikroskopbild auf den Computer überträgt. Am Computer erfolgte nun eine erneute Einstellung der Schärfe, sowie ein Weißabgleich. Wenn das Bild am Computer scharf eingestellt war und die Farben korrekt dargestellt wurden, wurde ein Foto erstellt.

Das dabei entstandene Foto, wurde mit Hilfe des Dokumentationsprogrammes Zeiss Zen 3.0 bearbeitet. Es wurde zunächst ein Maßstab in das Bild eingefügt. Im Anschluss erfolgte eine Vermessung des Gefäßes. Dabei wurde die durchschnittliche Gefäßwanddicke, die durchschnittliche Dicke der Intimaveränderungen, sowie der Umfang des Gefäßes gemessen. Der Umfang wurde bestimmt und in das Bild eingebrannt. Zur Bestimmung der durchschnittlichen Gefäßwanddicke wurde die Wand an vier Stellen vermessen. Dies geschah auf 3, 6, 9 und 12 Uhr. Diese vier Werte wurden in das Bild gebrannt. Aus den gemessenen Werten wurde der Mittelwert berechnet. Auf die gleiche Weise wurde die durchschnittliche Intimaveränderung bestimmt. Dazu wurden die Veränderungen der Intima an vier Stellen gemessen. Die auf 3, 6, 9 und 12 Uhr erfolgten Messungen wurden ebenfalls in das Bild eingebrannt. Auch hier erfolgte eine Bestimmung des Mittelwertes. Das Ergebnis ist das Bild eines Pulmonalgefäßes mit neun eingebrannten Messwerten sowie dem Maßstab (Siehe Anhang Bild A und B).

3.3.4 Klinische Daten

Die in dieser Studie ausgewerteten demographischen Daten, sowie Daten zu prä-operativen Therapie, Genotypen, Keimbeseidung, klinischem präoperativen Zustand, Lungenfunktionsuntersuchungen und Laboruntersuchungen wurden mit freundlicher Genehmigung und wesentlicher Unterstützung durch Frau Prof. Wilkens, Innere Medizin V des Universitätsklinikum des Saarlandes, ermittelt und anonymisiert verarbeitet.

3.4 Statistische Methoden

Der Datensatz wurden mit Hilfe des Programms „IBM SPSS Statistics Version 21“ der Firma IBM (IBM Deutschland, Ehningen) statistisch ausgewertet.

Dabei wurde für qualitative Variablen jeweils die Häufigkeit errechnet.

Für quantitative Variablen wurden zur genaueren Beschreibung der Mittelwert und die Standardabweichung berechnet. In einzelnen Fällen wurde zusätzlich ein Minimum und ein Maximum bestimmt.

Zusätzlich wurde für die Quantitativen die Irrtumswahrscheinlichkeit, mittels t-Test für unabhängige Variablen, berechnet. Ein Unterschied galt als signifikant, ab einer Irrtumswahrscheinlichkeit kleiner 0,05.

Die statistische Auswertung erfolgte mit freundlicher Hilfestellung durch Frau Dipl.-Stat. Gudrun Wagenpfeil des Instituts für Institut für Medizinische Biometrie, Epidemiologie und Medizinische Informatik der Universität des Saarlandes.

4. Ergebnisse

4.1 Gesamtkollektiv

In die Studie wurden gemäß Ein-und Ausschlusskriterien insgesamt 35 Patienten aufgenommen. Das Kollektiv teilt sich in 19 männliche (54,3%) und 16 weibliche (45,7%) Patienten auf. Zu 25 der 35 Patienten (71,4%) sind in der Datenbank der Klinik für Pneumologie des Universitätsklinikums des Saarlandes, Daten hinterlegt. Unter diesen 25 Patienten liegt das Durchschnittsalter bei erster klinischer Manifestation bei $5,7 \pm 10,4$ Jahren. Das durchschnittliche Alter bei Transplantation liegt bei $28,5 \pm 8,5$ Jahren. Es liegt eine durchschnittliche Erkrankungsdauer von $23,2 \pm 8,4$ Jahren vor. Bei 19 von 25 Patienten (76%) liegt die Erkrankungsdauer zwischen 18 und 30 Jahren.

Tabelle 6: Alter bei Erstmanifestation

Alter bei Erstmanifestation	Häufigkeit	Prozent	Gültige Prozente	Kumulierte Prozente
0	14	40,0	56,0	56,0
1	1	2,9	4,0	60,0
2	2	5,7	8,0	68,0
4	1	2,9	4,0	72,0
7	1	2,9	4,0	76,0
12	2	5,7	8,0	84,0
18	1	2,9	4,0	88,0
19	1	2,9	4,0	92,0
21	1	2,9	4,0	96,0
44	1	2,9	4,0	100,0
Gesamt	25	71,4	100,0	
Fehlend	System	10	28,6	
Gesamt		35	100,0	

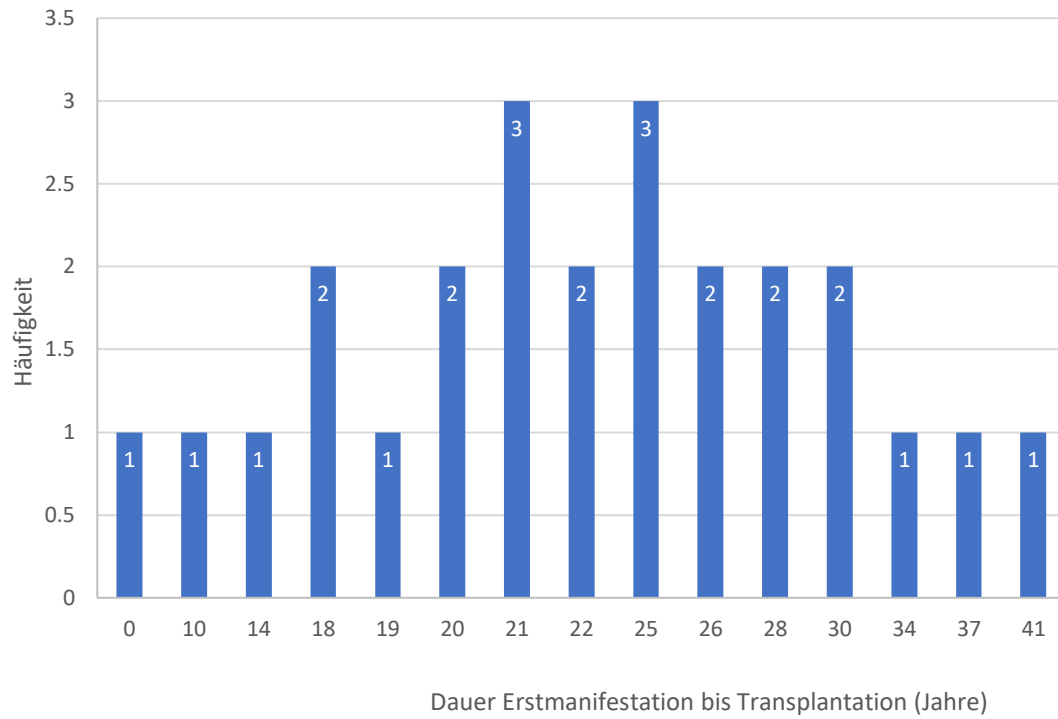


Abbildung 8: Verteilung der Erkrankungsdauer von Erstmanifestation bis Transplantation in Jahren

4.1.1 Genotypisierung

Unter den 35 Patienten des Gesamtkollektivs erfolgte bei 21 (60%) Patienten im Vorfeld eine Genotypisierung. Bei 11 dieser 21 Patienten (52,4%) lag der Genotyp dF508, nicht näher spezifiziert, vor. Bei 7 (33,3%) lag der Genotyp dF508 homozygot vor. Bei den restlichen 3 (14,3%) lag der Genotyp dF508 heterozygot vor.

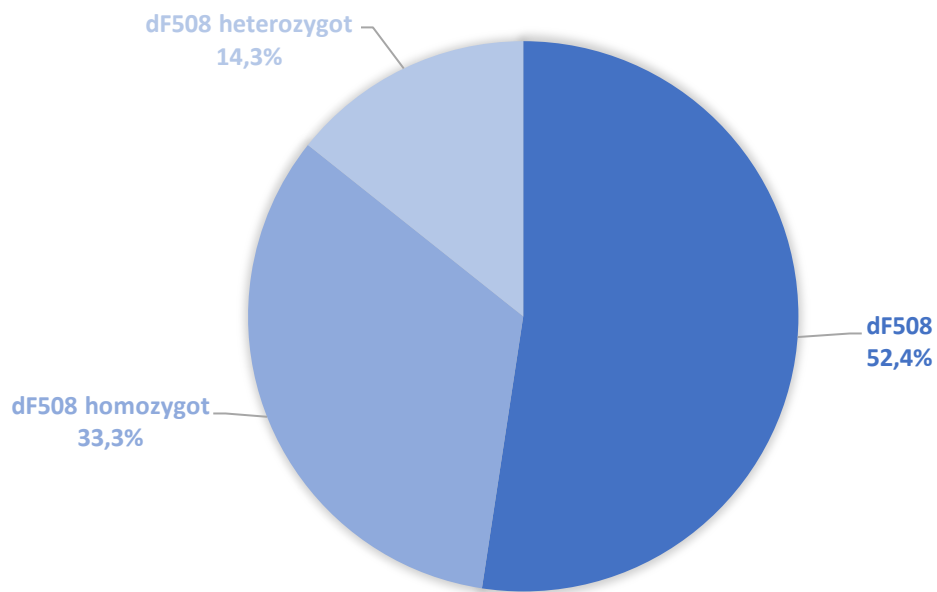


Abbildung 9: Häufigkeitsverteilung des Genotyps im Kollektiv

4.1.2 Keimbesiedelung

Die Keimbesiedelung wurde in dieser Studie ebenfalls betrachtet. Von 31 der 35 Patienten (88,6%) lagen zum Zeitpunkt der Studie Daten zur Keimbesiedelung vor. Bei 21 der 31 Patienten (67,7%) findet sich eine Besiedelung mit *Pseudomonas aeruginosa*. Bei 3 Patienten (9,7%) liegt eine Mischbesiedelung mit *Pseudomonas aeruginosa* und *Staphylokokkus aureus* vor. Bei weiteren 3 Patienten (9,7%) findet sich eine Mischbesiedelung von *Pseudomonas aeruginosa* mit *Burkholderia multiformans*. Zwei Patienten (6,5%) weisen eine Besiedelung mit *Pseudomonas aeruginosa* und *Burkholderia cepacia* auf. Ein Patient (3,2%) hat eine Besiedelung mit nicht näher bezeichneten Staphylokokken und ein weiterer Patient (3,2%) weist eine Besiedelung mit *Burkholderia cepacia* auf.

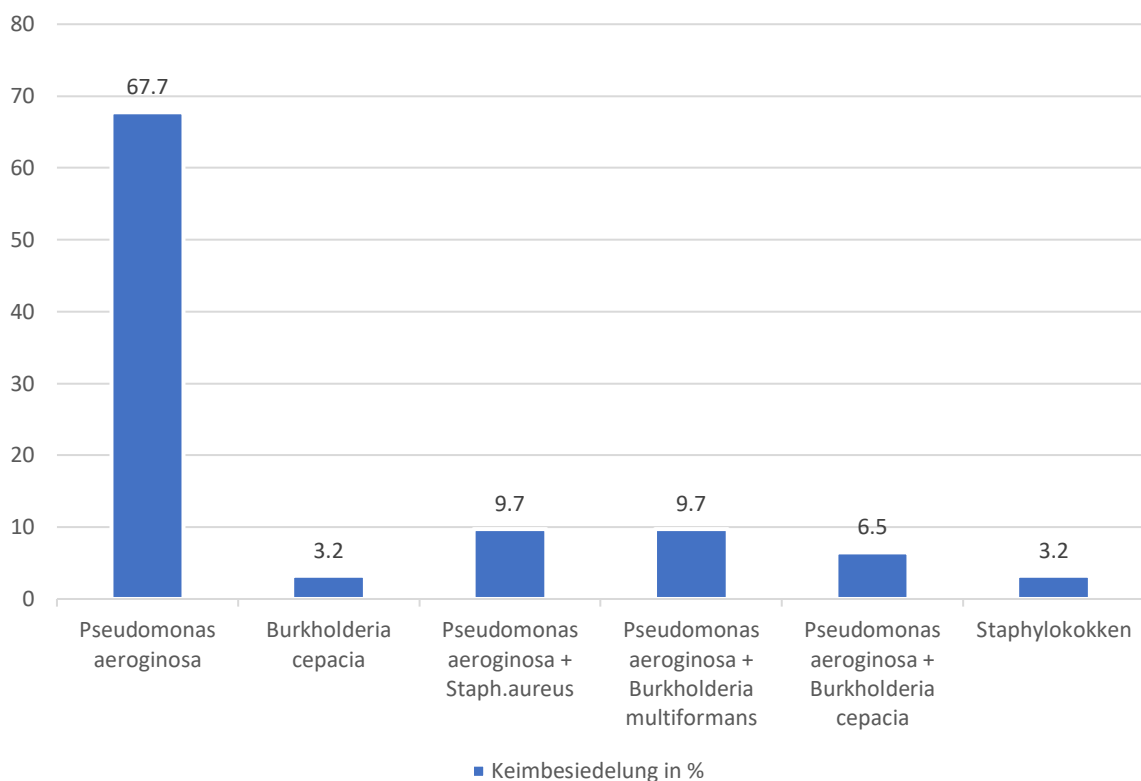


Abbildung 10: Keimbesiedelung im Kollektiv

4.2 Klinischer Zustand Prä-OP

Der klinische Zustand der Patienten vor Lungentransplantation wurde anhand verschiedener klinischer Parameter erfasst. In dieser Studie wurden die während des letzten Klinikaufenthaltes, vor Transplantation, erhobenen Laborwerte sowie Lungenfunktionsanalysen ausgewertet. Diese sind in Tabelle 6 zusammengefasst. Von 27 der 35 Patienten (77,1%) wurden Daten zum Body-Mass-Index (BMI) erhoben. Mit einem durchschnittlichen BMI von $17,6 \pm 2,4$ lag bei den meisten Patienten ein kachektischer Ernährungszustand vor. Zeichen eines entzündlichen Prozesses ließen sich bei 31 der 35 Patienten (88,6%) des Patientenkollektivs herausarbeiten. Das CRP mit durchschnittlich $88 \pm 80,4$ und die Leukozyten mit durchschnittlich $14,7 \pm 5,6$ stellten sich im gesamten Kollektiv deutlich über der Norm dar.

4.2.1 Lungenfunktionsparameter Prä-OP

Zur Objektivierbarkeit der respiratorischen Einschränkung der Patienten betrachtete man die lungenfunktionell erhobenen Parameter. Diese weisen eine deutliche Abweichung der Sollwerte auf. Zur Forcierten Vitalkapazität (FVC) wurden ebenfalls bei 27 von 35 Patienten (77,1%) Daten erhoben. Die Forcierte Vitalkapazität liegt im Kollektiv bei $1,1 \pm 0,5$ und ist damit stark eingeschränkt. Bei 26 der 35 Patienten (74,3%) wurden Daten zum Residualvolumen (RV) erfasst. Das Residualvolumen ist im gesamten Kollektiv deutlich erhöht bei $4,6 \pm 1,4$. Der Atemwegswiderstand (SR_{tot}) wurde ebenfalls bei 26 der 35 Patienten (74,3%) erhoben. Dieser liegt bei $8,7 \pm 4,6$ und ist damit im Kollektiv ebenfalls stark erhöht.

Tabelle 7: Parameter zur Beurteilung des klinischen Zustandes der Patienten

Klinische Parameter

	N	Minimum	Maximum	Mittelwert	Std.- Abweichung
BMI	27	13,9	23,0	17,637	2,4162
Hb(g/dl)	31	5,9	13,4	9,755	2,0987
CRP(mg/l)	31	9,2	266,0	87,952	80,4085
Leukozyten	31	7,4	29,3	14,671	5,5542
FVC	27	0,55	2,19	1,1348	0,45036
FEV1	27	0,35	1,27	0,6700	0,21858
RV	26	2,19	8,59	4,5504	1,34989
TLC	26	3,43	9,36	5,8838	1,40027
RV%TLC	26	61,71	7047,00	344,9073	1366,98204
MEF25	24	0,10	2,09	0,4971	0,62043
SRtot	26	3,44	24,86	8,6700	4,55516
Sreff	26	3,28	11,29	7,0838	2,31001

Abkürzungen: BMI Body-Mass-Index in Kilogramm pro Körpergröße im Quadrat; Hb(g/dl) Hämoglobin in Gramm pro Deziliter; CRP(mg/l) C-reaktives Protein in Milligramm pro Liter; FVC(l) Forcierte Vitalkapazität in Liter; FEV₁(%) Forciertes Expiratorisches Volumen in 1 Sekunde in Prozent auch Einsekundenkapazität; RV(l) Residualvolumen in Liter; TLC(l) Totale Lungkapazität in Liter; RV%TLC Anteil Residualvolumen an der Totalen Lungkapazität in Prozent; MEF25 Expiratorischer Fluss bei 25% der forcierten Vitalkapazität; SR_{tot} Totaler spezifischer Atemwegswiderstand; SReff Effektiver spezifischer Widerstand;

4.2.2 Blutgasanalyse Prä-OP

Im Gesamtkollektiv wurde bei 24 Patienten (68,6%) eine Blutgasanalyse dokumentiert. Tabelle 7 stellt die Blutgasanalysen dieses Kollektivs, während des letzten klinischen Aufenthaltes in der Pneumologie des UKS, vor Transplantation, dar. In der Analyse der Blutgase zeigt sich eine Abweichung der Norm. Der PaO₂ stellt sich mit 69,8 ± 26,6 deutlich erniedrigt dar. Der PaCO₂ hingegen zeigt sich mit 48,2 ± 9,8 deutlich erhöht. Der pH-Wert stellt sich, bei erhöhtem HCO₃⁻ noch normwertig dar. Dies weist auf eine metabolische Kompensation hin.

Tabelle 7: Blutgasanalyse prä-OP

	N	Minimum	Maximum	Mittelwert	Std.-Abweichung
PaO ₂ (mm/Hg)	25	46,00	326,00	80,0468	57,48375
PaCO ₂	25	34,50	76,10	48,2040	9,84037
HCO ₃ ⁻ (mmol/l)	11	27,2	37,1	31,791	2,9764
pH	24	7,339	7,560	7,42867	0,055018

Abkürzungen: **PaO₂(mmHg)** Arterieller Sauerstoffpartialdruck in Millimeter-Quecksilbersäule; **PaCO₂(mmHg)** Arterieller Kohlendioxidpartialdruck in Millimeter-Quecksilbersäule; **HCO₃⁻** Bikarbonat in Millimol pro Liter

4.2.3 Therapieansätze vor Transplantation

Man betrachtete in der Studie die unterschiedlichen etablierten Therapien vor Transplantation. Dabei fokussierten man sich auf die Therapien mit Azithromycin, Lumacaftor/Ivacaftor und Immunsuppressiva. Im Gesamtkollektiv war bei 3 Patienten (8,6%) eine Therapie mit Azithromycin dokumentiert. Bei 2 von 34 Patienten (5,9%) erfolgte vor Transplantation eine Therapie mit Lumacaftor/Ivacaftor. Eine immunsuppressive Therapie ist bei 20 der 35 Patienten (57,1%) dokumentiert.

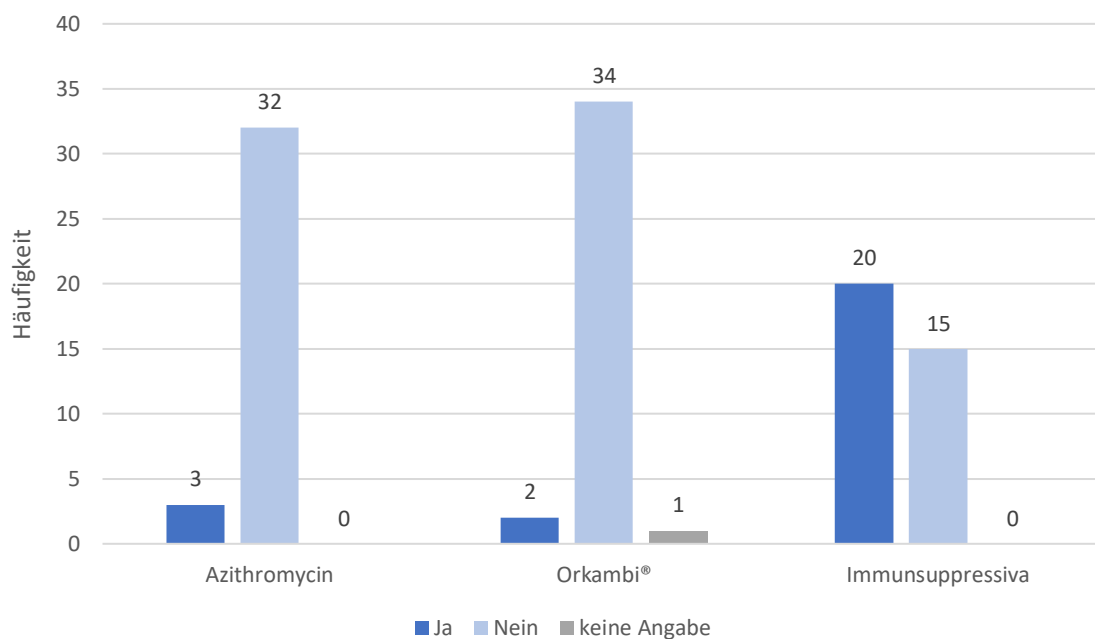


Abbildung 11: Therapie vor Transplantation

4.3 Gefäßanalyse

4.3.1 Kategorisierung

In der Studie untersuchte man sämtliche im Präparat vorhandenen pulmonalen Gefäße mit einer Querschnittsfläche von $0\mu\text{m}^2$ – $185.629,8\mu\text{m}^2$. Pro Fall wurden durchschnittlich 16 Gefäße untersucht. Insgesamt kam man auf 911 untersuchte Gefäße. Die durchschnittliche Gefäßgröße lag bei einer Querschnittsfläche von $37230,4\mu\text{m}^2$. Zur genaueren Betrachtung und Analyse unterteilte man die Gefäße, anhand ihrer Querschnittsfläche (in μm^2), in die Gruppen Klein, Mittelgroß und Groß. Dabei ordnete man die Gefäße mit einer Querschnittsfläche zwischen $0\mu\text{m}^2$ und $10.000\mu\text{m}^2$ der Gruppe „Klein“ zu. Gefäße, die eine Querschnittsgröße größer $10.000\mu\text{m}^2$ und kleiner $50.000\mu\text{m}^2$ aufwiesen, wurden der Gruppe „Mittelgroß“ zugeordnet. Alle Gefäße mit einer Querschnittsfläche größer $50.000\mu\text{m}^2$ ordnete man der Gruppe „Groß“ zu. 96 Gefäße (10,5%) wurden der Gruppe „Klein“, 583 Gefäße (63,9%) der Gruppe „Mittelgroß“ und 232 Gefäße (25,4%) der Gruppe „Groß“ zugeordnet.

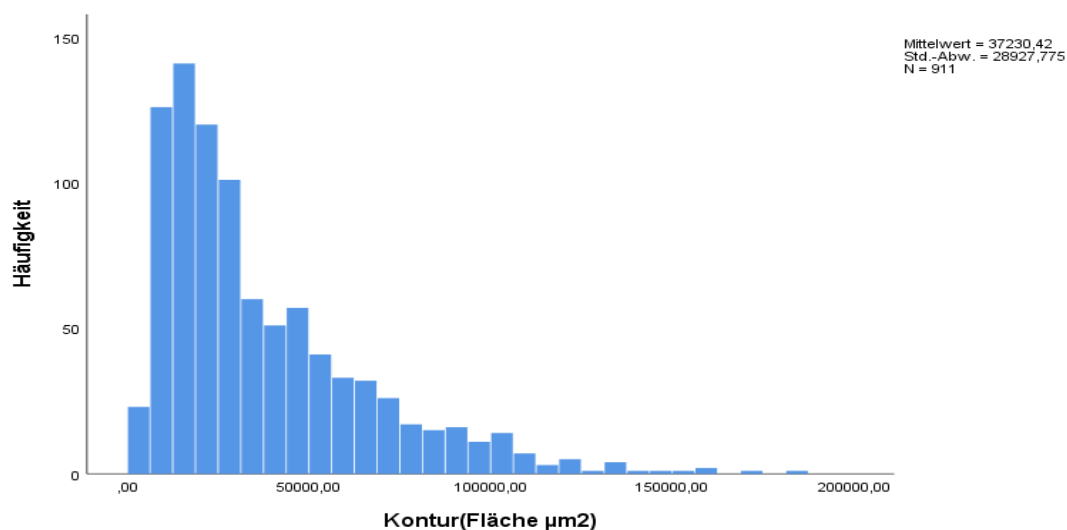


Abbildung 12: Durchschnittliche Gefäßgröße (μm^2)

Tabelle 8: Gruppierung nach Querschnittsfläche in μm^2

		Häufigkeit	Prozent	Gültige Prozente
Gültig	lowest-10.000	96	10,5	10,5
	10.000,01-50.000	583	63,9	64,0
	50.000,01-highest	232	25,4	25,5
	Gesamt	911	99,9	100,0
Fehlend	System	1	0,1	
Gesamt		912	100,0	

4.3.2 Gefäßwandvermessung

In dieser Studie wurden insgesamt 911 Gefäße katalogisiert und untersucht. Zunächst wurde die durchschnittliche Gesamtwanddicke in μm ausgemessen. In der Gruppe der kleinen Gefäße lag die durchschnittliche Gesamtwanddicke bei $20,24\mu\text{m} \pm 5,29$. In der Gruppe der mittelgroßen Gefäße lag die durchschnittliche Gesamtwanddicke bei $32,7\mu\text{m} \pm 11,09$. In der Gruppe der großen Gefäße betrug die durchschnittliche Gesamtwanddicke $53,1\mu\text{m} \pm 17,61$.

Tabelle 9: Gefäßwanddicke

Querschnittsfläche		N	Minimum	Maximum	Mittelwert	Std.- Abweichung
lowest-10000 (klein)	Durchschnitt Wanddicke (μm)	96	9,09	35,04	20,2423	5,28710
10000,01-50000 (mittelgroß)	Durchschnitt Wanddicke (μm)	583	9,57	91,72	32,7036	11,09054
50000,01-highest (groß)	Durchschnitt Wanddicke (μm)	232	24,29	128,97	53,0960	17,60901

4.3.3 Intimamorphometrie

In den insgesamt 911 untersuchten Gefäßen fand sich bei allen Gefäßen eine Veränderung der Intima. Diese präsentierte sich im Sinne einer Intimahyperplasie. Die durchschnittliche Dicke der Intima lag in der Gruppe der kleinen Gefäße bei $10,47\mu\text{m} \pm 3,77$. Dies entspricht einem Anteil an der Gesamtwanddicke von 51,7%. In der Gruppe der mittelgroßen Gefäße lag die durchschnittliche Intimadicke bei $15,37\mu\text{m} \pm 7,27$. Dies entspricht einem Anteil von 47,9% an der Gesamtwanddicke. In der Gruppe der großen Gefäße betrug die durchschnittliche Intimadicke $23,43\mu\text{m} \pm 12,12$. Dies entspricht einem Anteil an der Gesamtwanddicke von 44,1%.

Tabelle 10: Intimaveränderungen

Querschnittsfläche		N	Minimum	Maximum	Mittelwert	Std.- Abweichung
lowest-10000 (klein)	Durchschnitt Wanddicke (μm)	96	9,09	35,04	20,2423	5,28710
	Durchschnitt Intimadicke (μm)	96	3,76	24,00	10,4659	3,77376
10000,01-50000 (mittelgroß)	Durchschnitt Wanddicke (μm)	583	9,57	91,72	32,7036	11,09054
	Durchschnitt Intimadicke (μm)	583	3,85	53,76	15,3726	7,27218
50000,01-highest (groß)	Durchschnitt Wanddicke (μm)	232	24,29	128,97	53,0960	17,60901
	Durchschnitt Intimadicke (μm)	232	6,77	81,76	23,4292	12,11803

4.3.4 Einfluss der demographischen Daten auf die Vaskulopathien

4.3.4.1 Einfluss des Geschlechtes

Die insgesamt 911 untersuchten Gefäße verteilen sich zu 42,8% (n = 390) auf die Gruppe der weiblichen Patienten und zu 57,2% (n = 521) auf die Gruppe der männlichen Patienten. In der Gruppe der weiblichen Patienten lag die durchschnittliche Intimadicke bei $16,98\mu\text{m} \pm 9,43$. In der Gruppe der männlichen Patienten lag die Intimadicke im Mittel $16,85\mu\text{m} \pm 9,47$. Damit zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen. ($p = 0,840$). (Abb.12)

Tabelle 11: Geschlechtsspezifische durchschnittliche Intimadicke

		N	Mittelwert	Std.-Abweichung
Durchschnitt_Intimadicke	weiblich	390	16,9806	9,43297
	männlich	521	16,8524	9,47269

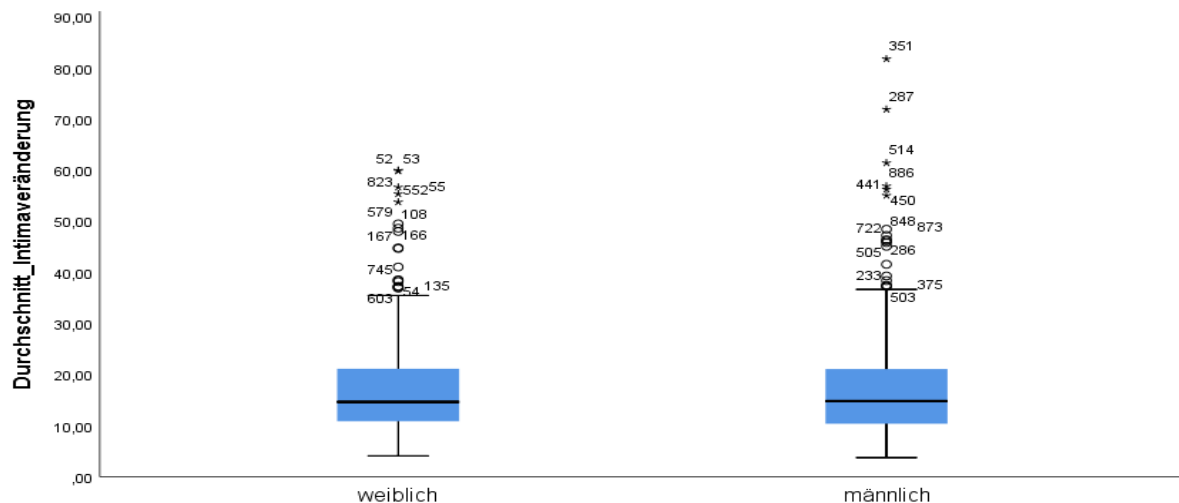


Abbildung 13: Verteilung der durchschnittlichen Intimadicke in µm nach Geschlecht sortiert

4.3.4.2 Einfluss des Alters bei Erstdiagnose

In dieser Studie betrachtete man den Zusammenhang zwischen dem Alter bei Erstdiagnose bzw. erster klinischer Manifestation und der Ausprägung der Intimaveränderung. Man unterteilte das Gesamtkollektiv in 2 Gruppen. Die erste Gruppe umfasst die Patienten, deren Erstdiagnose innerhalb des ersten Lebensjahres gestellt wurde. Die andere Gruppe umfasst alle anderen Patienten. Tabelle 12 stellt diese beiden Gruppen dar.

Tabelle 12: Erstdiagnosealter im Vergleich ≤ 1 Jahr vs. >1 Jahr

		Häufigkeit	Prozent	Gültige Prozente	Kumulierte Prozente
Gültig	≤ 1 Jahr	15	42,9	60,0	60,0
	>1 Jahr	10	28,6	40,0	100,0
	Gesamt	25	71,4	100,0	
Fehlend	System	10	28,6		
Gesamt		35	100,0		

Insgesamt liegen zum Alter bei Erstdiagnose bzw. Erstmanifestation, bei 611 (67,1%) der 911 Gefäße, Daten vor. 345 Gefäße (57,9%) fallen in die Gruppe der Patienten deren Erstdiagnose bis zum ersten Lebensjahr gestellt wurde. 257 Gefäße (42,1%) fallen in die Gruppe der Patienten, deren Erstdiagnose nach dem ersten Lebensjahr gestellt wurde. (Tab.13)

Tabelle 13: Anzahl der untersuchten Gefäße (nach Erstdiagnosealter gruppiert)

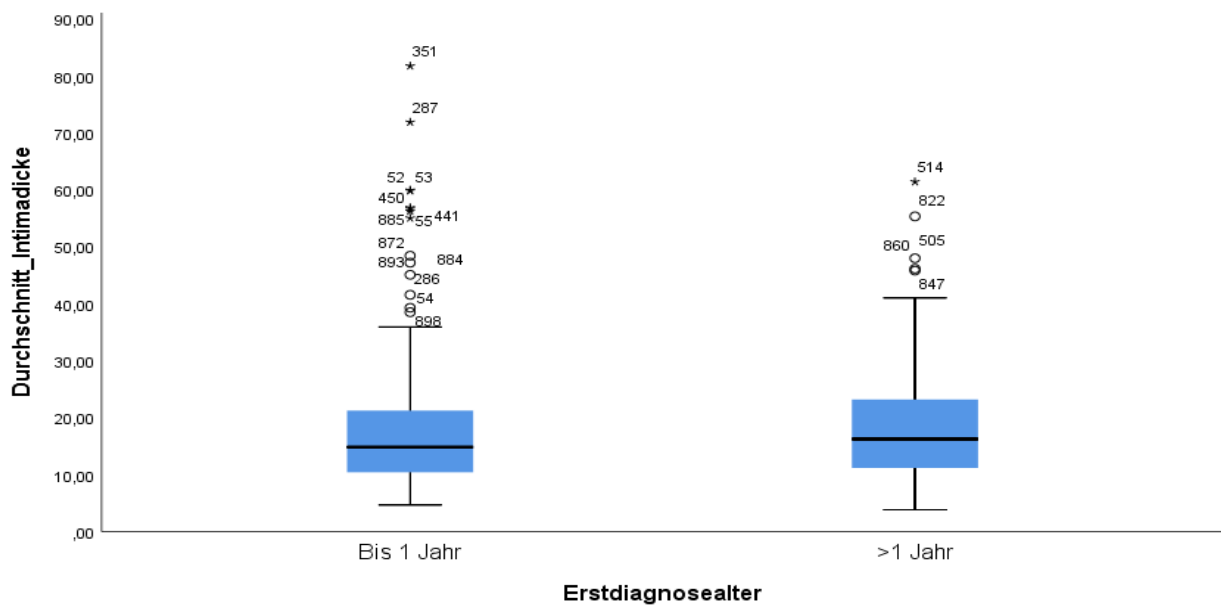
		Häufigkeit	Prozent	Gültige Prozente	Kumulierte Prozente
Gültig	Bis 1 Jahr	354	38,9	57,9	57,9
	>1 Jahr	257	28,2	42,1	100,0
	Gesamt	611	67,1	100,0	
Fehlend	System	300	32,9		
Gesamt		911	100,0		

In der Gruppe der Gruppe der Patienten deren Erstdiagnose bis zum ersten Lebensjahr gestellt wurde, lag die durchschnittliche Intimadicke bei $17,28\mu\text{m} \pm 10,39$. In der Gruppe deren Erstdiagnose nach dem ersten Lebensjahr gestellt wurde lag die Intimadicke im Mittel bei $18,28\mu\text{m} \pm 9,34$. Es stellt sich somit kein signifikanter Unterschied zwischen diesen beiden Gruppen dar. ($p = 0,212$), (Tab.14.)

Tabelle 14: Mittlere Intimadicke in μm (nach Erstdiagnosealter gruppiert)

		N	Mittelwert	Std.-Abweichung
Durchschnitt_Intimadicke	Bis 1 Jahr	354	17,2787	10,38810
	>1 Jahr	257	18,2821	9,34313

Abbildung 14: Mittlere Intimadicke in μm (nach Erstdiagnosealter gruppiert)



4.3.4.3 Einfluss der Erkrankungsdauer

In der Studie untersuchte man den Einfluss der Erkrankungsdauer, zwischen Erstmanifestation bis zur Transplantation, auf die gemessenen Intimaveränderungen. Im Gesamtkollektiv waren von 25 der 35 Patienten (71,4%) Daten zur Erkrankungsdauer herauszuarbeiten, von 10 Patienten (28,6%) lagen keine Daten diesbezüglich vor. Man unterteilte das Kollektiv, in zwei Gruppen. Die erste Gruppe umfasst alle Patienten, deren Transplantation vor Vollendung des 18. Lebensjahres stattfand und somit eine maximale Erkrankungsdauer von 18 Jahren vorliegt. Die zweite Gruppe beinhaltet alle Patienten, deren Transplantation nach Vollendung des 18. Lebensjahres stattfand und somit eine Erkrankungsdauer von mehr als 18 Jahren vorliegt. Die erste Gruppe umfasst 3 Patienten (8,6%). In der zweiten Gruppe sind 22 Patienten (62,9%). Insgesamt wurden 611 der insgesamt 911 Gefäße (67,1%) auf einen Zusammenhang zwischen Erkrankungsdauer und Intimaveränderungen untersucht. Diese 611 Gefäße verteilen sich zu 8,3% (51 Gefäße) auf die erste und zu 91,7% (560 Gefäße) auf die zweite Gruppe. In der ersten Gruppe lag die durchschnittliche Intimadicke bei $21,59\mu\text{m} \pm 7,84$. In der zweiten Gruppe lag die Intimadicke im Mittel bei $17,35\mu\text{m} \pm 10,07$. Es stellt sich ein signifikanter Unterschied zwischen diesen beiden Gruppen dar. ($p = 0,001$).

Tabelle 15: Durchschnittliche Intimadicke in μm nach Erkrankungsdauer gruppiert

		N	Mittelwert	Std.-Abweichung
Durchschnitt_Intimaveränderung	< 18.Lebensjahr	51	21,5849	7,84101
	\geq 18.Lebensjahr	560	17,3470	10,06924

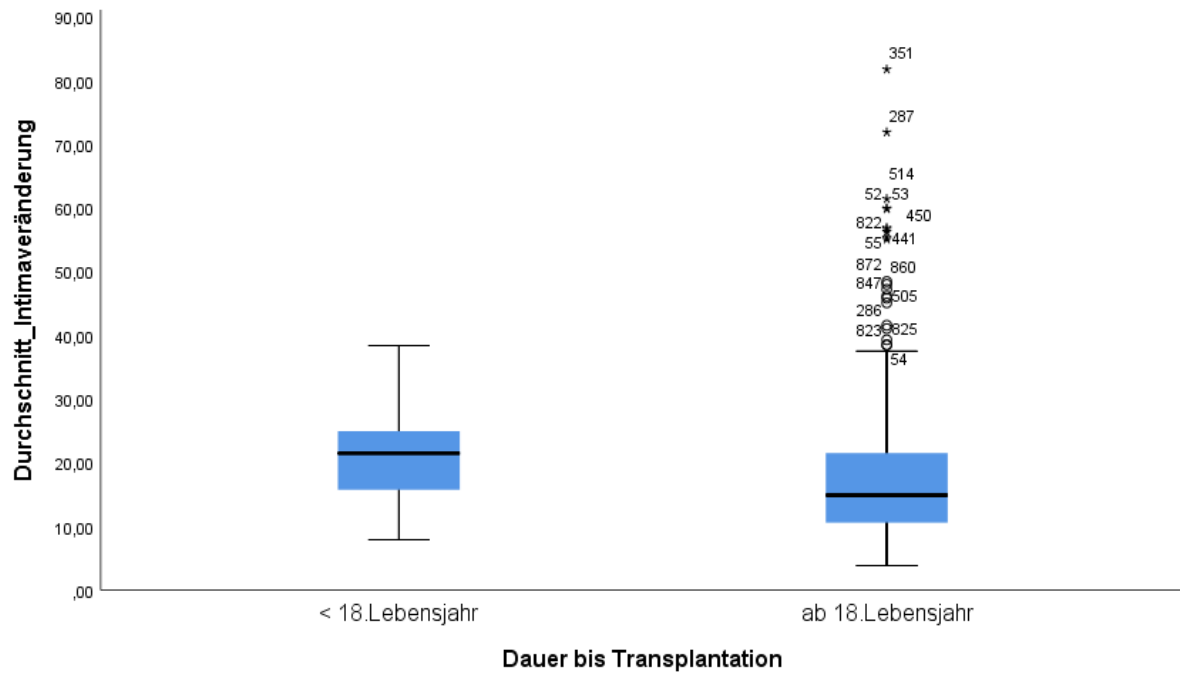


Abbildung 15: Durchschnittliche Intimadicke in μm nach Erkrankungsdauer gruppiert

4.3.4.4 Einfluss des Genotypes

Die 21 (60%) der 35 Patienten, bei denen Daten zum Genotyp vorlagen, teilen sich in 7 dF508 homozygot (33,3%), 3 dF508 heterozygot (14,3%) und 11 (52,4%) nicht näher differenziert auf. Insgesamt wurden im Kollektiv 441 (48,4%) Gefäße untersucht, bei denen eine Genotypisierung vorlag. In der Gruppe der dF508 homozygot wurden 151 Gefäße untersucht. Die Gruppe dF508 heterozygot umfasst 66 untersuchte Gefäße. Die Gruppe der dF508 nicht näher differenziert umfasst 224 untersuchte Gefäße. Die Gruppe dF508 homozygot weist eine durchschnittliche Intimadicke von $16,58\mu\text{m} \pm 7,66$ auf. In der Gruppe der dF508 heterozygot liegt die durchschnittliche Intimadicke bei $17,67\mu\text{m} \pm 10,46$. In der Gruppe dF508 nicht näher differenziert liegt die Intimadicke im Mittel bei $17,74\mu\text{m} \pm 10,72$. Im Vergleich der Gruppe homozygot dF508 und der Gruppe heterozygot dF508 findet sich kein Signifikanter Unterschied der Intimadicken. ($p = 0,449$). Ebenso zeigt sich kein Signifikanter Unterschied im Vergleich der Gruppen df 508 nicht näher differenziert mit der Gruppe dF508 mit der Gruppe dF508 heterozygot. ($p = 0,962$). Im Vergleich der Gruppe dF508 nicht näher differenziert mit der Gruppe dF508 homozygot zeigt sich ebenfalls kein signifikanter Unterschied. ($p = 0,253$).

Tabelle 16: Durchschnittliche Intimadicke in μm sortiert nach Genotyp

Genotyp		N	Mittelwert	Std.-Abweichung
Durchschnitt_Veränderung	dF508	224	17,7422	10,72404
	dF508 homozygot	151	16,5830	7,66134
	dF508 heterozygot	66	17,6712	10,4561

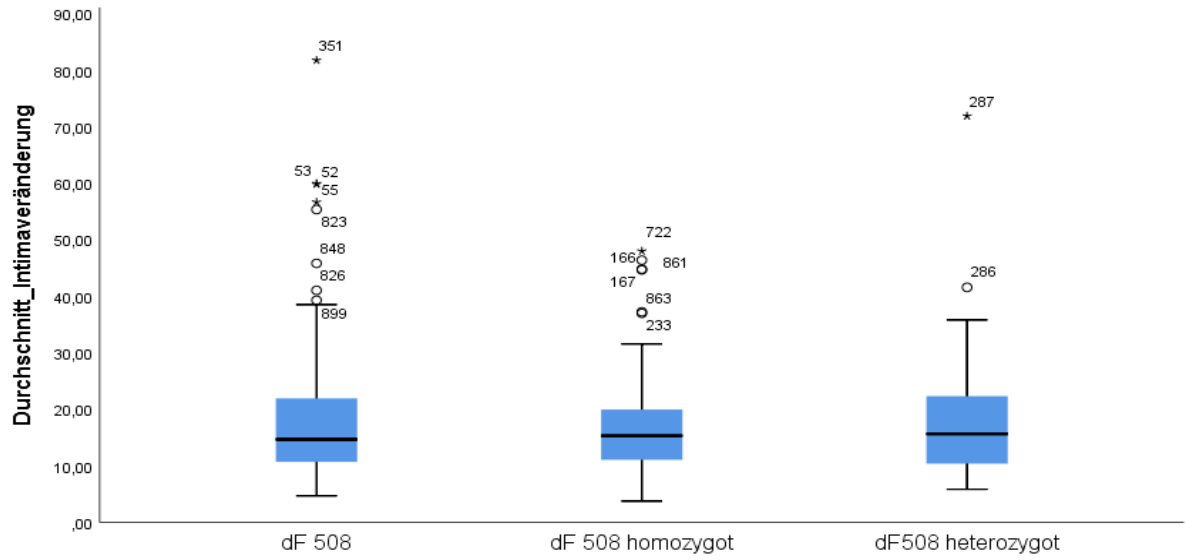


Abbildung 16: Verteilung der durchschnittlichen Intimadicke in µm nach Genotyp sortiert

4.3.5 Einfluss der klinisch erhobenen Parameter auf die Vaskulopathien

4.3.5.1 Einfluss des Erregerspektrums

In dieser Studie lagen von 31 Patienten (88,6%) des Gesamtkollektivs Daten zur Keimbesiedlung vor. Dieses neue Kollektiv wurde in zwei Gruppen unterteilt. In die erste Gruppe wurden alle Patienten eingeschlossen, bei denen eine Besiedlung mit nur einem Erreger vorlag (23/31 (74,2%)). Die zweite Gruppe umfasst alle Patienten (8/31 (25,8%)), bei denen eine Mischbesiedlung mit mindestens 2 Erregern vorlag. Insgesamt wurden 772 Gefäße untersucht. In der ersten Gruppe wurden 618 (80,1%) Gefäße untersucht. Bei ihnen lag die durchschnittliche Intimadicke bei $16,87\mu\text{m} \pm 9,36$. In der zweiten Gruppe wurden 154 (19,9%) Gefäße untersucht. Hier lag die mittlere Intimadicke bei $18,61\mu\text{m} \pm 10,58$. Es liegt somit kein signifikanter Unterschied zwischen diesen beiden Gruppen vor. ($p = 0,45$).

Tabelle 17: Durchschnittliche Intimadicke in μm in Zusammenhang mit dem Erregerspektrum

		N	Mittelwert	Std.-Abweichung
Durchschnitt_Intimaveränderung	Einzelerreger	618	16,8708	9,36254
	Mischbesiedelung	154	18,6122	10,57841

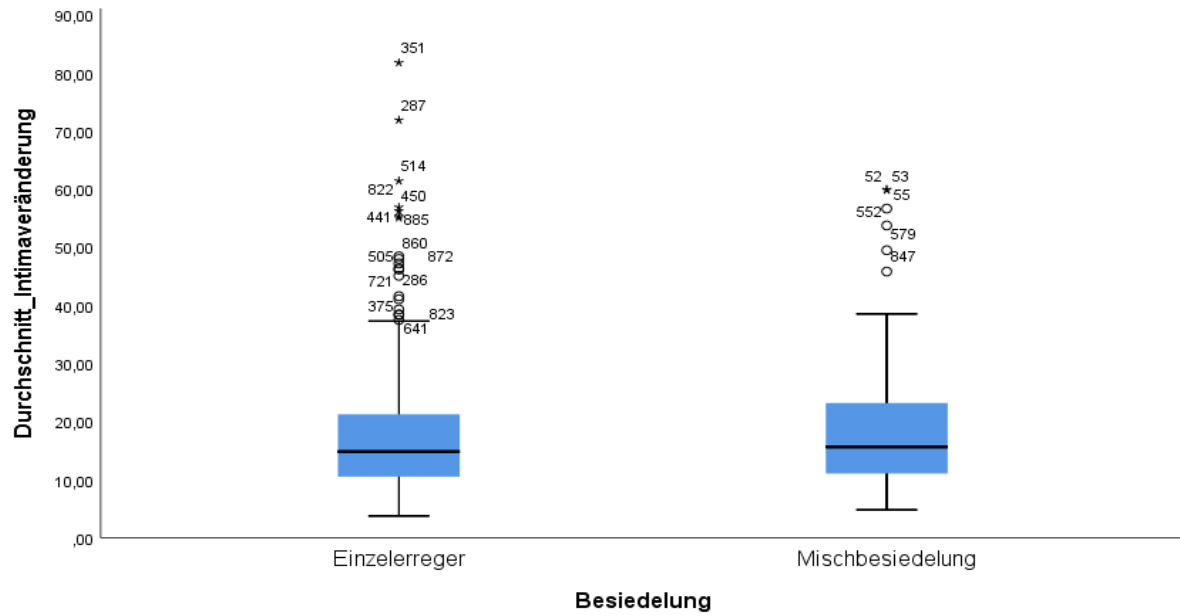


Abbildung 17: Durchschnittliche Intimadicke in Zusammenhang mit dem Erregerspektrum

4.3.5.2 Einfluss der präoperativen immunsuppressiven Therapie

Unter den 911 untersuchten Gefäßen lagen bei 881 (96,7%) Daten zur präoperativen immunsuppressiven Therapie vor. Bei 453 der 881 (51,4%) wurde eine präoperative Immunsuppression durchgeführt. Bei 428 der 881 (48,6%) wurde präoperativ keine immunsuppressive Therapie durchgeführt. In der Gruppe der präoperativ immunsuppressiv therapierten lag die Dicke der Intimaveränderung im Mittel bei $17,61\mu\text{m} \pm 9,79$. In der Gruppe der Gefäße die präoperativ keinen immunsuppressiven Einfluss durch die Therapie erhalten haben lag die durchschnittliche Dicke der Intimaveränderung bei $16,38\mu\text{m} \pm 9,26$. Es zeigte sich somit kein signifikanter Unterschied in diesen beiden Gruppen. ($p = 0,057$).

4.3.5.3 Einfluss der präoperativen Azithromycin Therapie

Unter allen untersuchten Gefäßen waren in 881 Fällen (96,7%) Daten zur präoperativen Azithromycin Therapie erhoben worden. In 94 Fällen (10,7%) fand präoperativ eine Azithromycin Therapie statt. In 787 Fällen (89,3%) wurde präoperativ keine Azithromycin Therapie durchgeführt. In der Gruppe der Gefäße bei denen präoperativ eine Azithromycin Therapie durchgeführt wurde lag eine durchschnittliche Intimadicke von $20,74\mu\text{m} \pm 11,39$ vor. In der Gruppe der präoperativ nicht mit Azithromycin Therapierten lag die Intimadicke im Mittel signifikant niedriger bei $16,57\mu\text{m} \pm 9,22$. ($p = 0,001$).

Tabelle 18: Durchschnittliche Intimadicke in Zusammenhang mit einer Azithromycin Therapie

		N	Mittelwert	Std.-Abweichung
Durchschnitt_Veränderung	ja	94	20,7387	11,39344
	nein	787	16,5697	9,21626

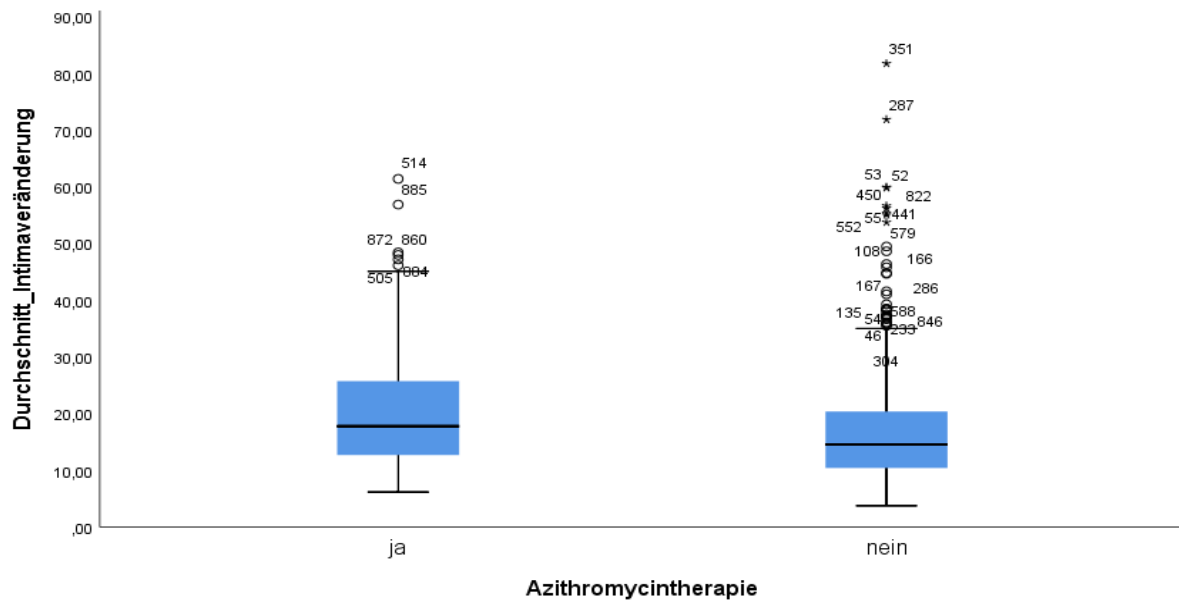


Abbildung 18: Durchschnittliche Intimadicke in Zusammenhang mit einer Azithromycin Therapie

4.3.5.4 Einfluss der Therapie mit Lumacaftor/ Ivacaftor

Unter allen untersuchten Gefäßen wurden bei 861 (94,5%) Daten zur präoperativen Therapie mit Lumacaftor/Ivacaftor erhoben. In 54 Fällen (6,3%) wurde präoperativ eine Therapie mit Lumacaftor/Ivacaftor durchgeführt. In 807 Fällen (93,7%) fand präoperativ keine Therapie mit Lumacaftor/Ivacaftor statt. In der Gruppe der präoperativ Therapierten fand sich eine durchschnittliche Intimadicke von $18,89\mu\text{m} \pm 11,99$. In der Gruppe der präoperativ nicht mit Lumacaftor/Ivacaftor therapierten Gefäße lag die durchschnittliche Intimadicke bei $16,91\mu\text{m} \pm 9,4$. ($p = 0,240$).

4.4 Kontrollgruppe

Es lagen 6 Fälle gesunder Spenderlungen zur Untersuchung vor. In den vorhandenen Präparaten konnten insgesamt 35 Gefäße detektiert werden. Die durchschnittliche Gefäßgröße lag bei $83367,53\mu\text{m}^2$.

Die durchschnittliche Intimadicke in diesen Gefäßen lag bei $5,78\mu\text{m} \pm 2,26$.

	N	Minimum	Maximum	Mittelwert	Std.- Abweichung
Fläche μm^2	35	7483,15	1222821,36	83367,5289	202445,1337
Gültige Werte (Listenweise)	35				

Abbildung 19: Durchschnittliche Gefäßgröße in der Kontrollgruppe in μm^2

	N	Minimum	Maximum	Mittelwert	Std.- Abweichung
DurchschnittDicke	35	2,96	12,20	5,7816	2,26115
Gültige Werte (Listenweise)	35				

Abbildung 20: Durchschnittliche Intimadicke in der Kontrollgruppe in μm

5. Diskussion

Ziel dieser Studie war herauszufinden, ob sich in den pulmonalen Gefäßen explantierter Lungen von Mukoviszidose Patienten strukturelle Veränderungen der Tunica Intima finden lassen.

Hierzu konnten 35 Patienten aus dem UKS, aus dem Zeitraum 06/1998 - 12/2016 in die Studie eingeschlossen werden.

Die wesentlichen Ergebnisse dieser Studie zeigen, dass sich in allen in dieser Studie untersuchten Gefäßen, Veränderungen der Intima finden lassen.

Die Hauptergebnisse dieser Studie waren:

- In allen untersuchten Gefäßen lassen sich strukturelle Veränderungen der Intima, im Sinne einer Hyperplasie, feststellen.
- Bei den untersuchten Gefäßen zeigt sich kein signifikanter geschlechtsspezifischer Unterschied.
- Das Alter bei Erstdiagnose hat keine signifikante Auswirkung auf die Intimaveränderungen.
- Die Intimaveränderungen der Patienten, deren Transplantation vor dem 18 Lebensjahr stattfand waren signifikant größer als die, deren Transplantation nach Vollendung des 18. Lebensjahres stattfand und somit eine Erkrankungsdauer von über 18 Jahren vorlag.
- Die unterschiedlichen Genotypen der CFTR $\Delta F508$ Mutation haben keinen signifikanten Einfluss auf die Intimaveränderungen.
- Die Keimbesiedelung hat keine signifikante Auswirkungen auf die in dieser Studie untersuchten Intimaveränderungen.
- Eine vor Transplantation durchgeführte immunsuppressive Therapie hat keinen signifikanten Einfluss auf die Gefäßveränderungen.
- Die bis zur Operation durchgeführte Therapie mit Azithromycin zeigt sich in dieser Studie im Zusammenhang mit einer signifikant größeren Intimaveränderung.
- Zwischen den Patienten die mit Lumacaftor/Ivacaftor therapiert wurden und denen, die keine Lumacaftor/Ivacaftor -Therapie erhalten haben, lässt sich kein signifikanter Unterschied in der Größe der Intimaveränderungen herausarbeiten.

Die vorliegende Studie hat gezeigt, dass sich in explantierten Lungen, von Mukoviszidosepatienten, Veränderungen der Intimadicke finden lassen. In allen vermessenen Gefäße fand sich eine deutliche Intimahyperplasie. In der Literatur findet die Intimadicke und vor allem die pulmonale Intimadicke bislang kaum Betrachtung. Daher wurden in einer Kontrollgruppe, bestehend aus sechs Fällen, gesunde Spenderorgane untersucht. Die Untersuchung dieser zeigte eine durchschnittliche Intimadicke in gesunden Lungen von $5,78\mu\text{m}$. In der Studie lag die durchschnittliche Intimadicke in den Mukoviszidoselungen zwischen $10,47\mu\text{m}$ - $23,43\mu\text{m}$. Da sich in der Literatur keine vergleichbaren Angaben zur physiologischen Intimadicke der pulmonalen Gefäße finden ließen, kann man die Ergebnisse dieser Studie nicht anderen Ergebnissen gegenüberstellen. Um diese Ergebnisse zu validieren wäre eine Untersuchung und Vermessung von einem größeren Kollektiv gesunder pulmonal Gefäße und eine anschließende Gegenüberstellung der Ergebnisse, zielführend.

Im Kollektiv dieser Studie war die Geschlechterverteilung bei 42,8% weiblich zu 57,2% männlich und damit nahezu ausgeglichen. In der Literatur findet sich häufig der Begriff der „gender gap“. Diese „gender gap“ beschreibt ein verringertes Überleben von weiblichen Mukoviszidosepatienten gegenüber männlichen Patienten. In dieser Studie lässt sich eine solche „Gap“ in Bezug auf die Veränderungen der pulmonalen Gefäße nicht darstellen. Die Intimaveränderungen in der Gruppe der weiblichen Patienten zeigte keinen signifikanten Unterschied gegenüber den Veränderungen in den pulmonalen Gefäßen der männlichen Patienten. Somit scheint zumindest die pulmonale Komponente der Erkrankung, in diesem Kollektiv, geschlechtsunabhängig zu sein. Bei Rosenfeld et. al aus dem Jahr 1997 fand sich diese „gender gap“ lediglich bei Patienten vor dem 20. Lebensjahr und relativierte sich mit zunehmendem Alter. Sie konnten herausstellen, dass weibliche Patienten in jungen Jahren eine reduzierte Lungenfunktion haben aber mit zunehmendem Alter eine bessere Lungenfunktion erzielen als männliche Patienten. Das Durchschnittsalter bei Transplantation, der in diese Studie eingeschlossenen Patienten und somit der untersuchten Gefäße, liegt bei $28,5 \pm 8,5$ Jahren. Somit deckt sich das Ergebnis dieser Studie, dass sich keine geschlechtsspezifischen Unterschiede im Alter über 20 Jahren zeigen, mit diesen Ergebnissen (ROSENFELD et al., 1997).

Nick et al. zeigten ebenfalls, dass sich bei Patienten, deren Erstdiagnose im Kindesalter gestellt wurde und die ein Alter von 40 Jahren erreichen, kein Unterschied in der Geschlechterverteilung aufweisen (NICK et al., 2010). Diese Studie betrachtete die

Geschlechterverteilung nur in Bezug auf die Intimaveränderungen und somit auf die respiratorische Situation vor Transplantation. Eine Betrachtung der geschlechtsspezifischen Unterschiede in Bezug auf Faktoren wie Ernährungszustand und Gesamtüberleben wurde nicht durchgeführt. Sie würde einen noch differenzierteren Blick auf den klinischen Zustand des Kollektivs auch postoperativ erlauben.

Das Alter bei Erstdiagnose zeigte in der Studie keinen signifikanten Einfluss auf das Ausmaß der Intimaveränderungen. Nick et al. haben in ihrer Studie beschrieben, dass Patienten, deren Erstdiagnose im Erwachsenenalter gestellt wurde, eine bessere Lungenfunktion haben als die, deren Erstdiagnose bereits in Kindesalter gestellt wurde. Die Studie zeigte aber auch, dass die Häufigkeit des Todes durch respiratorisches Versagen oder transplantationsassoziierte Komplikationen, zwischen diesen beiden Gruppen, nahezu identisch ist. (NICK et al., 2010).

In einer Studie von Orenstein aus 1977 wurden Geschwisterpärchen untersucht, wobei beim Älteren die Erstdiagnose erst nach dem ersten Lebensjahr und somit nach Auftreten von Symptomen gestellt wurde und beim Jüngeren eine Diagnose bereits vor dem ersten Lebensjahr und vor den ersten Symptomen gestellt wurde. Trotz gleicher Therapie hatte das jüngere Geschwisterkind einen signifikant besseren Outcome und weniger Krankenhausaufenthalte. Daraus lässt sich schließen, dass eine frühe Diagnose und ein früher Therapiestart von Vorteil sind. (ORENSTEIN, 1977). Diese Studie betrachtet nur die histologischen Veränderungen in Zusammenschau mit dem Alter bei Erstdiagnosestellung. Somit lässt sich durch die Studie eine Aussage über den Einfluss auf die strukturellen Veränderungen der pulmonalen Gefäße treffen und keine Aussage über den Einfluss auf die klinische Symptomatik zu.

Diese Studie hat sich mit dem Einfluss der Erkrankungsdauer auf die strukturellen Veränderungen der pulmonalen Gefäße befasst. In der Gruppe der Patienten, deren Transplantation vor dem 18. Lebensjahr stattfand, fand sich eine signifikant dickere Intimaveränderung als in der Gruppe, deren Transplantation nach mehr als 18 Jahren durchgeführt wurde. Somit lag bei den Patienten, mit der signifikant veränderten Intima, eine Erkrankungsdauer von maximal 18 Jahre vor. Dies könnte mit einer deutlich schwereren Erkrankung dieser Patienten zusammenhängen. Nick et al. beschreiben in ihrer Studie von 2010 einen Zusammenhang der Diagnosestellung in der Kindheit mit dem Vorhandensein eines high-risk Genotypes. Wohingegen bei Patienten, deren Diagnose erst

im Erwachsenenalter, also nach dem 18. Lebensjahr, gestellt wurden, häufig ein low-risk Genotyp vorliegt (NICK et al., 2010). Die Frage ob ein high-risk Genotyp mit einer deutlich schwereren Erkrankung und somit mit einer früheren Transplantation einhergeht, lässt sich durch diese Studie nicht beantworten. Man konnte zeigen, dass im Kollektiv dieser Studie ein signifikanter Unterschied, in der Intimadicke der pulmonalen Gefäße, zwischen diesen beiden Gruppen besteht. Um die oben genannte Frage zu beantworten wäre ein größeres Patientenkollektiv sowie mehr Daten über das Vorhandensein von high- und low-risk Genotyp nötig. Mit diesen zusätzlichen Informationen wäre dann auch eine Aussage über die high- und low-risk Genotypen als möglicher Prognosefaktor denkbar.

Diese Studie hat den Einfluss des Genotypes auf die Intimaveränderungen untersucht. Hierbei zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen homo- und heterozygoten Genotypen. In einer weiteren Studie wurde der Einfluss unterschiedlicher Genotypen auf die pulmonalen Affektionen untersucht. Man kam zu dem Schluss, dass sich die Schwere und der Verlauf der pulmonalen Beteiligung nicht anhand des Genotypes vorhersagen lässt. (CYSTIC FIBROSIS GENOTYPE-PHENOTYPE CONSORTIUM, 1993).

In dieser Studie betrachtete man nur die $\Delta F508$ Mutation. Die Ergebnisse decken sich mit einer Studie von 1998. In dieser kamen Maróstica et al. bereits zu dem Ergebnis, dass sich, bei reiner Betrachtung der $\Delta F508$ Mutation, keine Unterschiede in der pulmonalen Beteiligung darstellen. (MARÓSTICA et al., 1998). Auch die Studie von Borgo G. et al. zeigte, dass sich in Bezug auf den pulmonalen Status und den Ernährungszustand zwischen den unterschiedlichen Genotypen, kein Unterschied darstellt. Die pulmonale Manifestation variierte in dieser Studie unter allen Genotypen sehr stark. (BORGIO et al., 1993). Es gibt allerdings auch Studien, in denen sich signifikante Unterschiede darstellen ließen. In einer Studie von 1991 zeigte sich in der Gruppe der homozygoten Genotypen eine signifikant höhere Anzahl an Patienten, deren Erstsymptome vor dem sechsten Lebensmonat eintraten. Die Patienten in der Gruppe der Homozygoten waren signifikant jünger bei Diagnosestellung und hatten eine signifikant schlechtere Lungenfunktion. Außerdem war die jährliche Inzidenz von chronischen *Pseudomonas aeruginosa* Infektionen in der Gruppe der homozygoten Patienten und die jährliche Mortalitätsrate höher als in der Gruppe der heterozygoten. (JOHANSEN et al., 1991). Auch Malik et al. konnte in seiner Studie signifikante Unterschiede zwischen den hetero- und homozygoten Patienten herausarbeiten. Es zeigte sich ein signifikant häufigeres Auftreten einer Kolonisation mit *Pseudomonas aeruginosa* und ein früherer Beginn pulmonaler Symptome. Zusätzlich dazu, stellte sich der

Progress der pulmonalen Beteiligung nach *Pseudomonas aeruginosa* Infektion, stärker dar als in der Gruppe der heterozygoten Patienten. (MALIK et al., 1992). Die Unterschiede in den Ergebnissen können durch die Unterschiede im Patientenkollektiv bedingt sein. Mailk et al. sowie Johansen et al. haben kumuliert 305 Patienten aus jeweils einem Land untersucht, in der Studie des CYSTIC FIBROSIS CONSORTIUM, 1993 wurden 399 Patienten aus 14 Ländern untersucht. Das Kollektiv dieser Studie ist mit 35 Patienten relativ klein. Die Studie untersucht nur Fälle aus dem Universitätsklinikum des Saarlandes. Eine Möglichkeit die Ergebnisse zu untermauern, wäre ein Vergleich mit Daten aus anderen Kliniken Deutschlands. So würde man zum einen ein größeres Patientenkollektiv erhalten und zum anderen eine größere Variabilität der demographischen Daten erzielen.

Coburn et al. beschrieben 2015, dass die mit Mukoviszidose assoziierten Erreger, wie *Pseudomonas aeruginosa*, insgesamt seltener vorkommen, bei seinem Vorhandensein aber das dominante Pathogen darstellen. Coburn beschreibt außerdem, dass das Vorhandensein einer weniger diversen Bakterienbesiedlung mit einer schlechteren Lungenfunktion korreliert. (COBURN et al., 2015). McColley et al. stellte 2012 unter anderem eine *Pseudomonas aeruginosa* Besiedelung als potentiellen Risikofaktor, für das frühe Auftreten von respiratorischen Symptomen, dar. (MCCOLLEY et al., 2012). Diese Studie betrachtete die Unterschiede zwischen Patienten, deren pulmonale Keimbesiedelung von *Pseudomonas aeruginosa* dominiert wird und derer, deren Keimbesiedelung aus mehreren Erregern besteht. In die Gruppe derer, deren Keimbesiedelung von P.a. vorhanden war und dominiert wird, fielen 74,2% der Patienten des Kollektivs. Dieses Ergebnis deckt sich mit der Beobachtung von Coburn et al. In dieser Studie zeigte sich allerdings kein signifikanter Unterschied in der Ausprägung der pulmonalen Gefäßveränderungen in Zusammenhang mit der Keimbesiedelung. Somit lässt dieses Ergebnis die Annahme zu, dass die von Coburn und McColley beschriebene signifikante, Erreger assoziierte Auswirkung auf den pulmonalen Status, nicht mit pulmonalen Gefäßveränderungen assoziiert ist. Diese Annahme deckt sich mit dem Ergebnis einer Studie von Zermanick et al. Diese konnten in ihrer Studie keinen Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein einer P.a. Besiedelung und der Ausprägung einer Inflammation finden. (Zermanick et al., 2017)

Man betrachteten die Auswirkung einer präoperativ durchgeführten immunsuppressiven Therapie auf die Intimaveränderungen. Im Kollektiv erhielten 51,4% präoperativ eine Immunsuppression. Es konnte kein signifikanter Unterschied, im Vergleich zu den 48,6%

ohne Immunsuppression, festgestellt werden. In der Literatur lassen sich hierzu keine wegweisenden Studien finden. Das Kollektiv dieser Studie ist vergleichsweise klein und betrachtet hauptsächlich inflammatorische Intimaveränderungen im Allgemeinen. Eine Ausweitung des Kollektivs und die erneute Betrachtung dahingehend, könnte Aufschluss bringen, inwiefern eine präoperative Immunsuppression Auswirkung auf die inflammatorisch bedingten Intimaveränderungen hat. Sollte sich darin die Beobachtung bestätigen, könnte, zumindest in Bezug auf pulmonale Affektion, eine präoperative Immunsuppression kritisch hinterfragt werden.

Einige der Patienten im Kollektiv wurden präoperativ mit Azithromycin behandelt. In dieser Studie zeigte sich bei diesen Patienten eine signifikant größere Intimahyperplasie als in der Gruppe der Patienten, die nicht mit Azithromycin therapiert wurden. Ein ähnlicher Zusammenhang wird in der Literatur nicht beschrieben. Ein Grund für diese Beobachtung kann zum einen die geringe Größe des Kollektivs dieser Studie sein, zum anderen auch die ungleiche Verteilung auf die beiden Gruppen. 89,3% der Patienten und damit 787 der 881 untersuchten Gefäße, verteilen sich auf die Gruppe derer, die keine präoperative Azithromycin Therapie erhalten haben. Somit bezieht sich diese Beobachtung lediglich auf 10,7% und damit nur auf 94 Gefäße, aller untersuchten Patienten. Zur genaueren Untersuchung wäre eine größere Anzahl an Patienten, die eine präoperative Azithromycin Therapie erhalten haben, notwendig.

In dieser Studie ebenfalls Betracht fand eine präoperativ durchgeführte Therapie mit Lumacaftor/Ivacaftor. Lediglich 6,3% des Patientenkollektivs erhielten präoperativ eine solche Therapie. Es stellte sich in dieser Studie kein signifikanter Unterschied der Intimahyperplasie dieser Patienten gegenüber derer, die keine solche Therapie erhalten haben, heraus. Entgegen dazu, zeigt eine Studie aus 2020, dass eine Therapie mit Lumacaftor/Ivacaftor eine Verbesserung der FEV₁ beeinflussen kann. Die Therapie mit Lumacaftor/Ivacaftor hat bei einem Drittel der Probanden eine Verbesserung der FEV₁ um mindestens 5% bewirkt. Bei 13% der Probanden zeigte sich eine Verbesserung der FEV₁ um mindestens 10%. Veränderungen der FEV₁ zeigten sich in der Literatur mit der Mortalität korrelierend. Daraus schlossen Favia et al. einen sich positiv auswirkenden Effekt der Lumacaftor/Ivacaftor -Therapie auf die Lungenfunktion und daraus folgend auf die Mortalität. (FAVIA et al., 2020). Diese Studie konnte eine solche positive Affektion nicht darstellen. Auf Grund der in dieser Studie sehr geringen Anzahl an Patienten, welche

mit Lumacaftor/Ivacaftor therapiert wurden, ist die Aussagekraft diesbezüglich sehr schwach. Auch hier wären eine größere Fallzahl und ein Vergleich mit ähnlichen Studien anzustreben.

Da sich diese Arbeit hauptsächlich auf die inflammatorischen Prozesse konzentriert, hat der pulmonalarterielle Druck und eine mögliche Korrelation der Intimaveränderungen mit diesem, kaum Betrachtung gefunden. Es ist bekannt, dass eine pulmonalarterielle Druckerhöhung zur Proliferation von glatter Muskulatur und Endothelzellen der pulmonalen Gefäße führen kann. (KLEIDEITER et al., 2019). Es wäre denkbar, dass die untersuchten Intimaveränderungen durch einen erhöhten pulmonalen Druck, zumindest teilweise, mitverursacht wurden.

Auch denkbar wäre allerdings, dass der pulmonalarterielle Druck durch die Intimahyperplasie beeinflusst wird. (PFEIFFER, 2020)

6. Schlussfolgerung

Die initiale Fragestellung, ob sich Intimaveränderungen in den Pulmonalgefäßen bei Mukoviszidosepatienten finden lassen, lässt sich durch diese Studie bestätigen. In allen, in dieser Studie untersuchten Gefäßen, fanden sich Intimaveränderungen unterschiedlichen Ausmaßes. Eine genaue Benennung eines oder mehrerer Auslöser für das Ausbilden solcher Veränderungen, kann durch diese Studie nicht abschließend erfolgen. Es zeigte sich ein multifaktorielles Bild an möglichen Ursachen und möglichen Einflüssen, die eine solche Veränderung bewirken können. Als signifikant zeigte sich in dieser Studie lediglich die Erkrankungsdauer als mögliche wichtige Ursache. Dies stellt die besondere Wichtigkeit der Testung auf Mukoviszidose bereits im Neugeborenen Screening hervor. Eine frühe Diagnosestellung und eine kürzere Erkrankungsdauer hingen in dieser Studie mit einer signifikanten Verdickung der Intima zusammen. In der Studie zeigte keine der untersuchten präoperativen Therapieansätze einen signifikanten Einfluss auf die pulmonalen Veränderungen, sodass diese Therapieansätze kritisch zu hinterfragen sind. Eine erneute gezielte Untersuchung mit einem größeren Patientenkollektiv und dem Fokus auf der Ursache der perivaskulären Inflammationen könnte zu einem spezifischeren Therapieansatz führen und die Zeit bis zur Transplantation ausweiten. Auf Grund der Seltenheit der Erkrankung und der dadurch bedingten geringen Fallzahl ist es schwer, ein repräsentativ großes Patientenkollektiv zu generieren. Zusätzlich dazu befasste sich diese Studie mit explantierten Lungen. Eine immer gezieltere Therapie führt zu einer längeren Zeitspanne bis zur Transplantation, was es zusätzlich erschwert eine große Fallzahl zu untersuchen. Zukünftige Studien könnten beispielsweise mit Hilfe von radiologischen Messverfahren die Gefäßwanddicke in situ betrachten und wäre nicht auf explantierte Organe angewiesen.

7. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die mich bei der Fertigstellung dieser Arbeit unterstützt haben.

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. Bohle, Direktor des Instituts für Allgemeine und Spezielle Pathologie der Universitätskliniken des Saarlandes, für die hervorragende Betreuung und Unterstützung bei der Umsetzung der gesamten Arbeit.

Ein weiterer Dank geht an Frau Prof. Dr. Wilkens, geschäftsführende Oberärztin der Klinik für Innere Medizin V der Universitätskliniken des Saarlandes, für die Bereitstellung der klinischen Daten.

Ich bedanke mich beim Institut für Medizinische Biometrie, Epidemiologie und Medizinische Informatik, insbesondere bei Frau Dipl. Stat. Wagenpfeil, für die Expertise rund um das Thema Statistik und Auswertung.

Darüber hinaus danke ich dem gesamten Team des Instituts für Allgemeine und Spezielle Pathologie des Universitätsklinikum des Saarlandes, für die Einarbeitung und Hilfestellung in allen labortechnischen Fragen. Insbesondere bedanke ich mich hier bei Frau Saskia Griesinger-Elzer.

Meinen Eltern, Geschwistern und Freunden danke ich für die unermüdlichen Zusprüche und motivierenden Worte. Ganz besonders danke ich Christoph, Max, Verena, Sarah, Sebastian, Lisa, Emil, Gustel und Rosi.

8. Literaturverzeichnis

- Bockholdt, B. (2005). *Morphologische und histomorphometrische Untersuchungen der Aortenwand in einem Vergleichskollektiv und in Todesfällen durch spontane (nicht traumatische und nicht arteriosklerotische) Aortenruptur unter Berücksichtigung forensisch relevanter Fragestellung*. <https://refubium.fu-berlin.de/handle/fub188/9037>
- Borgo G, Gasparini P, Bonizzato A, Cabrini G, Mastella G, Pignatti PF (1993). Cystic fibrosis: The $\Delta F508$ mutation does not lead to an exceptionally severe phenotype. A cohort study. *European Journal of Pediatrics*, 152: 1006-11. <https://doi.org/10.1007/BF01957227>
- Bowen SJ & Hull J (2015). The basic science of cystic fibrosis. *Paediatrics and Child Health*, 25: 159–164. <https://doi.org/10.1016/j.paed.2014.12.008>
- Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte. (2023). Kapitel IV Endokrine, Ernährungs- und Stoffwechselkrankheiten, E00-E90. <https://www.dimdi.de/static/de/klassifikationen/icd/icd-10-gm/kode-suche/htmlgm2023/block-e70-e90.htm>
- Castellani C & Assael BM (2017). Cystic fibrosis: a clinical view. *Cellular and Molecular Life Sciences* 74: 129–140. <https://doi.org/10.1007/s00018-016-2393-9>
- Coburn B, Wang PW, Diaz Caballero J, Clark ST, Brahma V, Donaldson S, Zhang Y, Surendra A, Gong Y, Elizabeth Tullis D, Yau YC, Waters VJ, Hwang DM, Guttman DS (2015). Lung microbiota across age and disease stage in cystic fibrosis. *Scientific Reports* 5: 10241. <https://doi.org/10.1038/srep10241>
- Cystic Fibrosis Genotype-Phenotype Consortium (1993). Correlation between genotype and phenotype in patients with cystic fibrosis. *New England Journal of Medicine* 329: 1308-1313. <https://doi.org/10.1056/NEJM199310283291804>
- Deutsche Stiftung Organtransplantation (2020). *Jahresbericht 2019: Organspende und Transplantation in Deutschland*. ISBN 978-3-943384-23-9. https://dso.de/SiteCollectionDocuments/JB_2019_Web_3.pdf
- Engle J (2020). Herz-Kreislauf-System - Grundlagen, 1.1 Einführung: 145-160. In: *Aumüller G, Aust G, Engle J, Kirsch J, Maio G, Duale Reihe – Anatomie* (ISBN 9783132435025) Georg Thieme Verlag KG Stuttgart New York
- Eschenhagen P & Schwarz C (2019). Patienten mit zystischer Fibrose werden erwachsen. *Der Internist* 60: 98–108. <https://doi.org/10.1007/s00108-018-0536-9>

- Favia M, Gallo C, Guerra L, De Venuto D, Diana A, Polizzi AM, Montemurro P, Marigliò MA, Leonetti G, Manca A, Casavola V, Conese M (2020). Treatment of cystic fibrosis patients homozygous for F508del with lumacaftor-ivacaftor (Orkambi®) restores defective CFTR channel function in circulating mononuclear cells. *International Journal of Molecular Sciences* 21: 2398. <https://doi.org/10.3390/ijms21072398>
- Fleck M, Aries P, Iking-Konert C (2014). Vaskulitis. *DMW - Deutsche Medizinische Wochenschrift* 139: 1234–1236. <https://doi.org/10.1055/s-0034-1370063>
- Gilljam M, Nystro U, Dellgren G, Skog I, Hansson L (2017). Survival after lung transplantation for cystic fibrosis in Sweden. *European Journal of Cardiothoracic Surgery* 51: 571–576. <https://doi.org/10.1093/ejcts/ezw328>
- Gottlieb J, Ballmann M, Von Mallinckrodt C, Staab D, Smaczny C, Simon A, Welte T, Wagner TOF (2009). Lungentransplantation bei Mukoviszidose - ein Positionspapier. *Pneumologie* 63: 451–460. <https://doi.org/10.1055/s-0029-1214821>
- Johansen HK, Nir M, Høiby N, Koch C, Schwartz M (1991). Severity of cystic fibrosis in patients homozygous and heterozygous for $\Delta F508$ mutation. *The Lancet* 337: 631–634. [https://doi.org/10.1016/0140-6736\(91\)92449-c](https://doi.org/10.1016/0140-6736(91)92449-c)
- Holl-Ulrich K (2010). Histopathologie systemischer Vaskulitiden. *Der Pathologe* 31: 67–76. <https://doi.org/10.1007/s00292-009-1156-x>
- Kazemi-Shirazi L, Zacharasiewicz A, Smaczny C, Ellemunter H (2013). Cystische Fibrose. *Wiener Klinische Wochenschrift Education*, 8: 15–42. <https://doi.org/10.1007/s11812-013-0058-2>
- Khoury O, Barrios C, Ortega V, Atala A, Murphy SV (2018). Immunomodulatory cell therapy to target cystic fibrosis inflammation. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology* 58: 12–20. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2017-0160TR>
- Kirsten D, Costabel U (2005). Pulmonale Sarkoidose. *Pneumologie* 59: 378–390. <https://doi.org/10.1055/s-2005-870910>
- Kleideiter U, Dalla Pozza R, Haas NA (2019). Pulmonalarterielle Hypertonie 322-324. In: *Kleideiter U, Dalla Pozza R, Haas NA. Pädiatrische Echokardiografie* Georg Thieme Verlag. <https://doi.org/10.1055/b-006-149618>
- Li D, Wang B, Wang H, Liu Q (2018). Prognostic significance of pulmonary hypertension in patients with cystic fibrosis. A systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore)* 97: e9708. doi: 10.1097/MD.00000000000009708
- Linkenheld C (2001). *Die Koehlersche Beleuchtung einstellen*. <http://www.mikroskopie.de/kurse/koehlerpraxis.htm>

- Lyczak JB, Cannon CL, Pier GB (2002). Lung infections associated cystic fibrosis. *Clinical Microbiology Reviews* 15: 194–222. <https://doi.org/10.1128/CMR.15.2.194-222.2002>
- Malik N, Schne Ider V, Kraemer LG, Ruedeberg A, Moser H, Kraemer R (1992). Genotype/Phenotype Association in Cystic Fibrosis: Analyses of the deltaF508, R553X, and 3905insT Mutations. *Pediatric Research* 32: 175-178. <https://10.1203/00006450-1992080000-00010>
- Mall M, Sommerburg O (2016). Mukoviszidose 303-311. In: Kreuter M, Costabel U, Herth F, Kirsten D (Eds.), *Seltene Lungenerkrankungen*, Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-662-48419-7_28
- Maróstica PJ, Raskin S, Abreu-e-Silva FA (1998). Analysis of the deltaF508 mutation in a Brazilian cystic fibrosis population: comparison of the pulmonary status of homozygotes with other patients. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 31: 529-532. <https://doi:10.1590/s0100-879x1998000400009>.
- McColley SA, Ren CL, Schechter MS, Regelmann WE, Pasta DJ, Konstan M (2012). Risk factors for onset of persistent respiratory symptoms in children with cystic fibrosis. *Pediatric Pulmonology* 47: 966-972. <https://doi.org/10.1002/ppul.22519>
- Murer C, Benden C, Huber LC (2016). Lungentransplantation bei zystischer Fibrose. *Leading Opinions* 2: 54-56. <https://doi.org/10.5167/uzh-131298>
- Nick JA, Chacon CS, Brayshaw SJ, Jones MC, Barboa CM, St. Clair CG, Young RL, Nichols DP, Janssen JS, Huitt GA, Iseman MD, Daley CL, Taylor-Cousar JL, Accurso FJ, Saavedra MT, Sontag MK (2010). Effects of gender and age at diagnosis on disease progression in long-term survivors of cystic fibrosis. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 182: 614–626. <https://doi.org/10.1164/rccm.201001-0092OC>
- Orenstein DM, Boat TF, Stern RC, Tucker AS, Charnock EL, Matthews LW, Doershuk CF (1977). The effect of early diagnosis and treatment in cystic fibrosis: a seven-year study. *American Journal of Diseases of Children* 131: 973-975. <https://doi.org/10.1001/archpedi.1977.02120220039005>
- Pfeiffer C (2020). Pulmonalarterielle Hypertonie (PAH) 2406-2412. In: Suttorp N, Möckel M, Siegmund B, Dietel M (Eds.) *Harrisons Innere Medizin* (20. Auflage), Berlin. <https://doi.org/10.1055/b000000107>
- Rafeeq MM, Murad HAS (2017). Cystic fibrosis: current therapeutic targets and future approaches. *Journal of Translational Medicine* 15: 84. <https://doi.org/10.1186/s12967-017-1193-9>
- Raviglione MC (2016). Mykobakterielle Erkrankungen 1347-1370. In: Suttorp N, Möckel M,

Siegmund B, Dietel M (Eds.) *Harrisons Innere Medizin* (19 Auflage), Berlin.

https://eref.thieme.de/ebooks/1667502#/ebook_1667502_SL66847106 BT - Harrisons Innere Medizin

Rosenfeld M, Davis R, Fitzsimmons S, Pepe M, Ramsey B (1997). Gender gap in cystic fibrosis mortality. *American Journal of Epidemiology* 145: 794-803.

doi:10.1093/oxfordjournals.aje.a009172

Schnabel A, Gross WL (2000). Pulmonale Vaskulitis. *Pneumologie* 54: 232–242.

<https://doi.org/10.1055/s-2000-8993>

Schwarz C, Staab D (2015). Zystische Fibrose und ihre Komplikationen. *Internist* 56, 263-274. <https://doi.org/10.1007/s00108-014-3646-z>

Wohlschlaeger J, Laenger F, Gottlieb J, Hager T, Seidel A, Jonigk D (2019).

Lungentransplantation: Histomorphologische Diagnostik und klinische Aspekte.

Pathologe 40: 281–291. <https://doi.org/10.1007/s00292-019-0598-z>

Zemanick ET, Wagner BD, Robertson CE, Ahrens RC, Chmiel JF, Clancy JP, Gibson RL, Harris WT, Kurland G, Laguna TA, McColley SA, McCoy K, Retsch-Bogart G, Sobush KT, Zeitlin PL, Stevens MJ, Accurso FJ, Sagel SD, Harris JK (2017). Airway microbiota across age and disease spectrum in cystic fibrosis. *The European Respiratory Journal* 50: 1700832. <https://doi.org/10.1183/13993003.00832-2017>

9. Lebenslauf

Aus datenschutzrechtlichen Gründen wird der Lebenslauf in der elektronischen Fassung der Dissertation nicht veröffentlicht.

Tag der Promotion: 26.02.2024

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Michael D. Menger

Berichterstatter: Prof. R. M. Bohle

Prof. D. Flieser

10. Anhang

Bild A: Querschnitt eines Pulmonalgefäßes einer Mukoviszidoseleungein Elastika-HE-Färbung

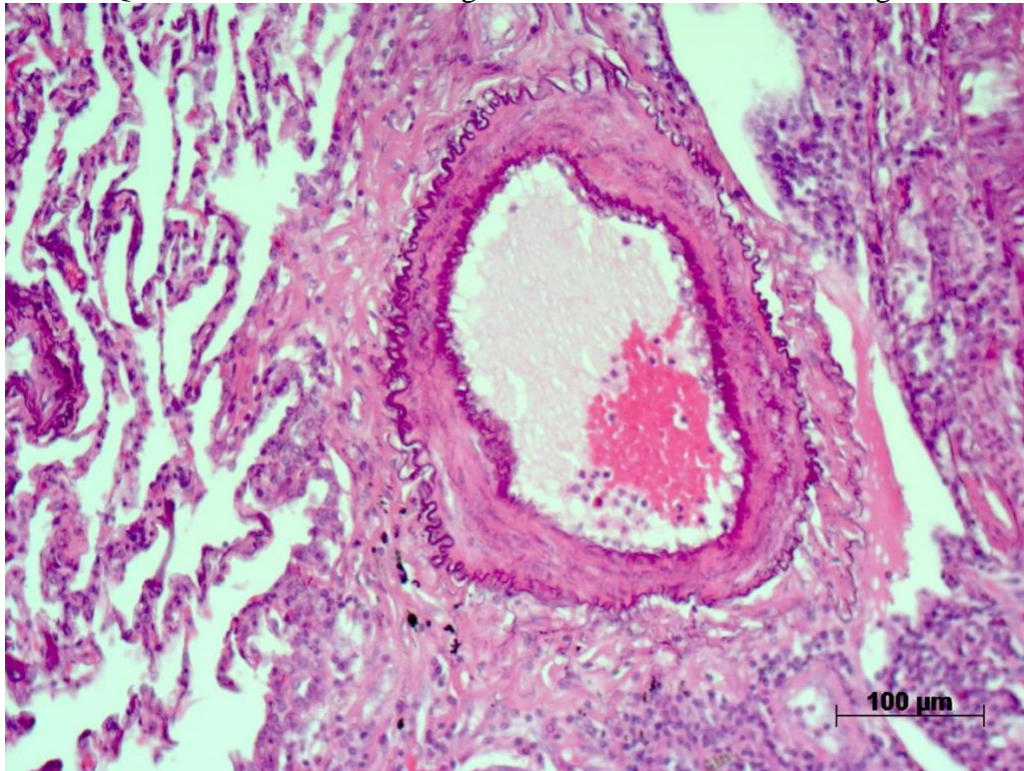


Bild B: Querschnitt eines Pulmonalgefäßes in Elastika-HE-Färbung mit Messwerten für Fläche, Gesamtwanddicke und Intimadicke

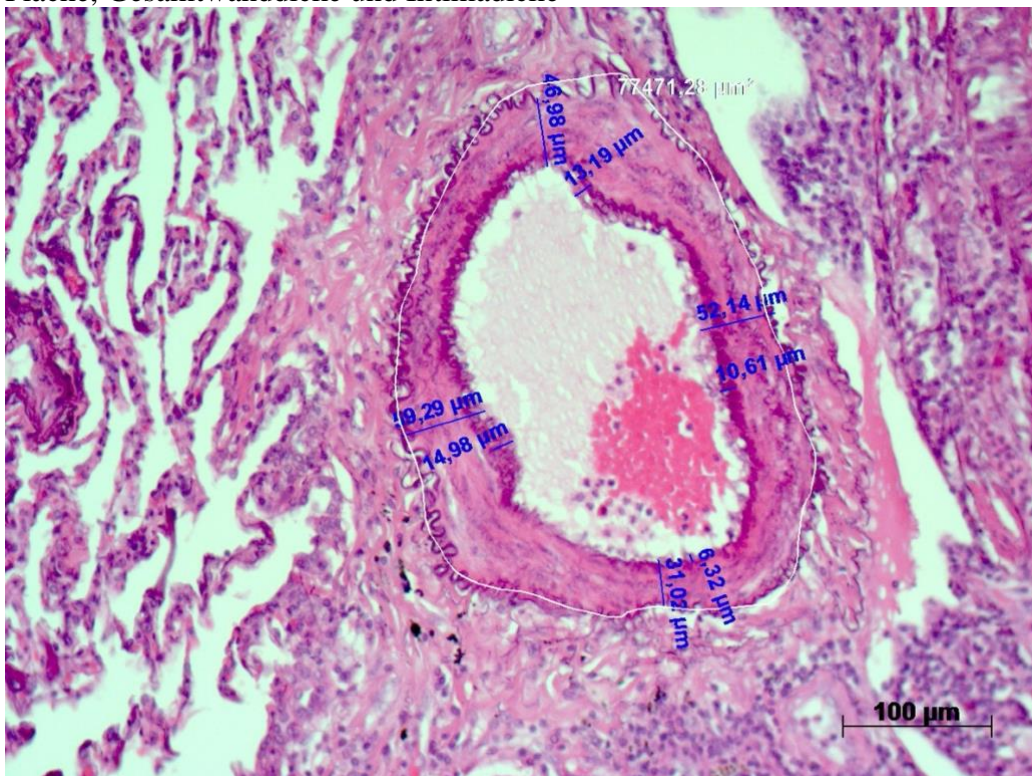


Bild C: Querschnitt eines Pulmonalgefäßes aus der Kontrollgruppe in Elastika-HE-Färbung mit Messwerten für Fläche und Intimadicke

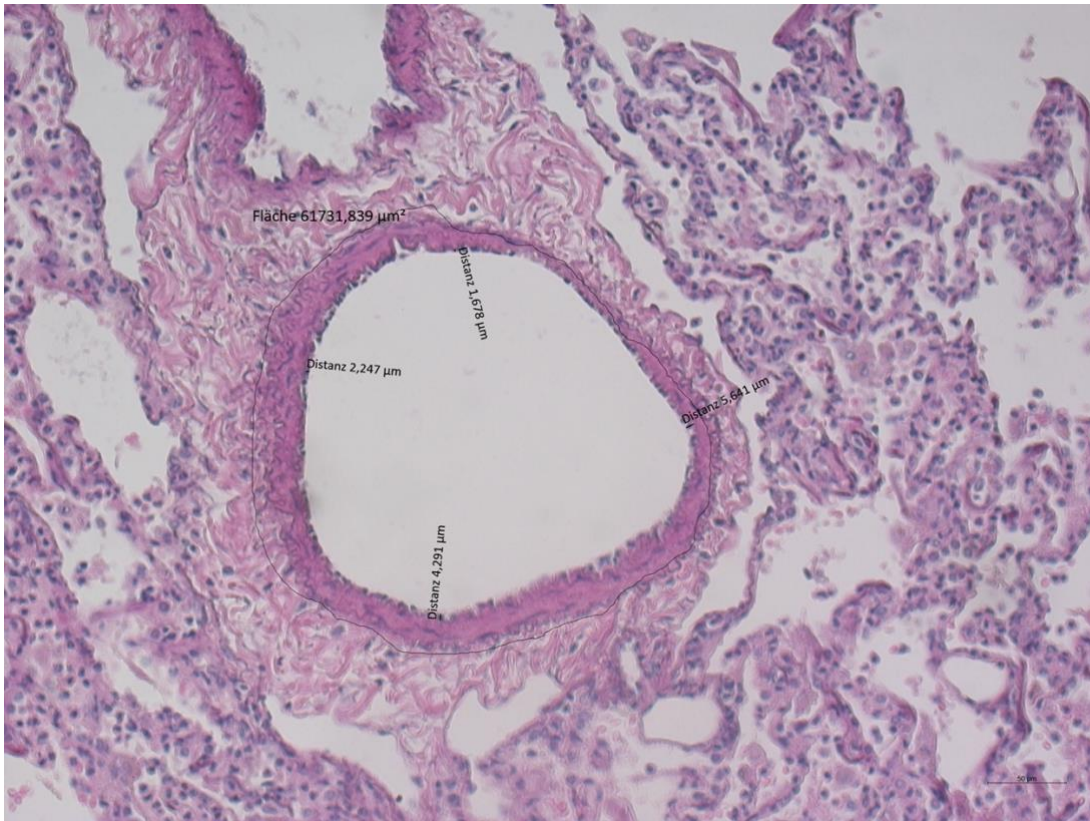


Bild D: Querschnitt eines Pulmonalgefäßes aus der Kontrollgruppe in Elastika-HE-Färbung mit Messwerten für Fläche und Intimadicke

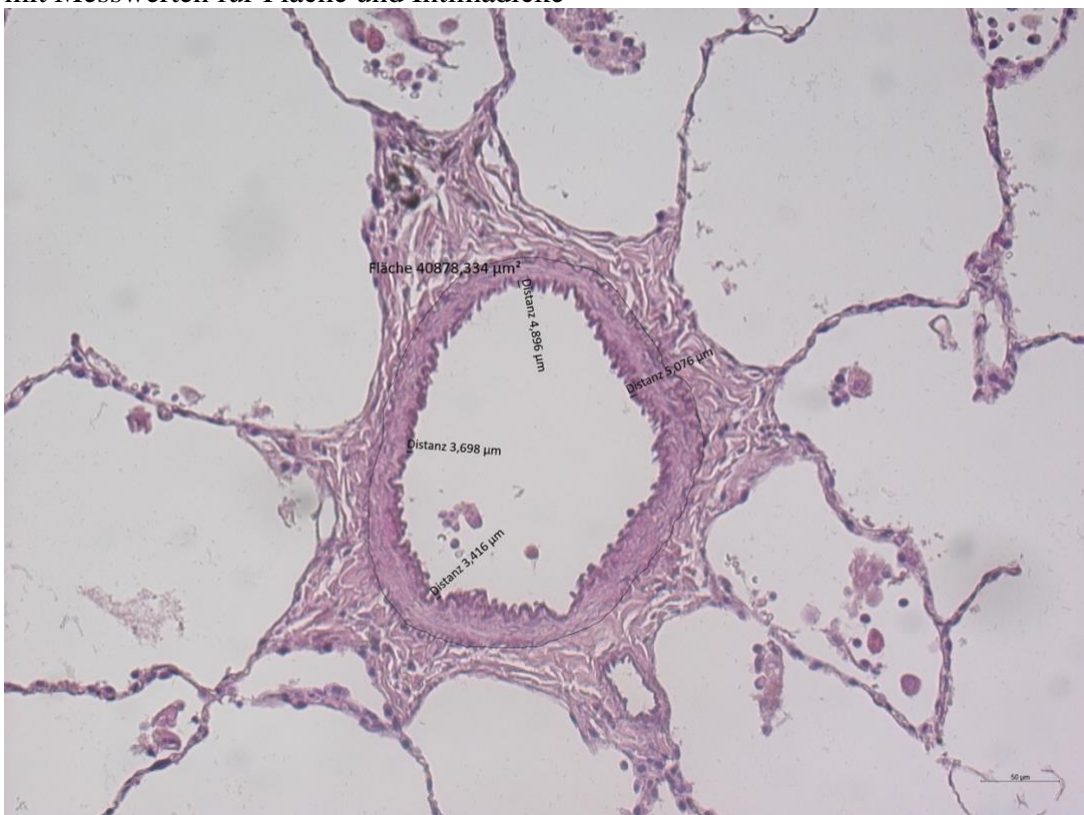


Bild E: Querschnitt eines Pulmonalgefäßes aus der Kontrollgruppe in Elastika-HE-Färbung mit Messwerten für Fläche und Intimadicke

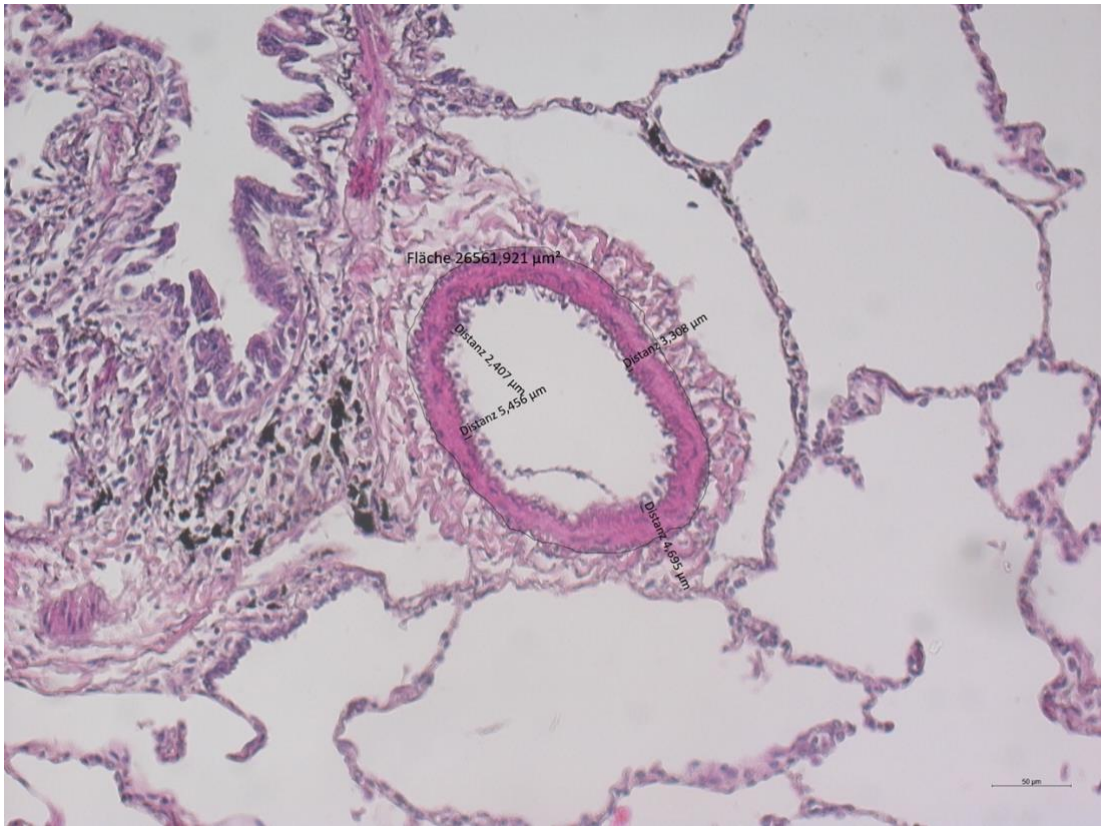


Bild F: Querschnitt eines Pulmonalgefäßes aus der Kontrollgruppe in Elastika-HE-Färbung mit Messwerten für Fläche und Intimadicke

