

**Medizinische Fakultät der  
Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg**

**Die diagnostische Wertigkeit des durchflusszytometrischen Markers  
CD103 bei Sarkoidose**

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

von Bruno Friedrich Mühlhölzer  
geboren am 01.05.1992 in München

Betreuerin:  
Frau PD Dr. med. Dagmar Riemann

Gutachter\*innen:  
Herr Prof. Dr. med. Wolfgang Schütte  
Frau PD Dr. rer. nat. Annegret Reinhold, Magdeburg

12.07.2021

13.12.2021

Aus Gründen der besseren Lesbarkeit wird in der vorliegenden Dissertation die gewohnte männliche Sprachform bei personenbezogenen Substantiven und Pronomen verwendet. Dies impliziert jedoch keine Benachteiligung des weiblichen Geschlechts, sondern soll im Sinne der sprachlichen Vereinfachung als geschlechtsneutral zu verstehen sein.

# Referat

*Hintergrund:* Die pulmonale Sarkoidose, eine granulomatöse interstitielle Lungenerkrankung (ILD) und Ausprägungsform der Systemerkrankung Sarkoidose, erfordert zur Diagnosesicherung eine zu meist transbronchial durchgeführte Biopsie. Bei klinischem Sarkoidoseverdacht wird typischerweise die CD4/CD8-Ratio in der BALF bestimmt, bevor solch eine invasive Sicherung erfolgt. Die klassischerweise auf  $>3,5$  erhöhte CD4/CD8-Ratio findet sich jedoch nur bei 50-60% aller Sarkoidosen und ist somit in der Diagnosesicherheit stark eingeschränkt. In neueren Studien wurde das Oberflächenantigen CD103 als zusätzlicher oder sogar alternativer Marker untersucht. CD103, ein Integrinmolekül, wird zu einem hohen Anteil auf pulmonalen Lymphozyten exprimiert, während der Anteil CD103-positiver Zellen an peripheren Lymphozyten deutlich niedriger ist. In mehreren Arbeiten konnte bei Sarkoidose ein verringerter Anteil an CD103-positiven Lymphozyten in der BALF nachgewiesen werden, welcher aktuellen Vermutungen zufolge aus einem Verdünnungseffekt durch die Immigration peripherer Lymphozyten in das Lungengewebe resultiert. Die Aussagekraft des Anteils an CD103-positiven Lymphozyten im Rahmen der Sarkoidosediagnostik wurde daraufhin von mehreren Arbeitsgruppen untersucht, führte aber zu unterschiedlichen Ergebnissen bezüglich der klinischen Anwendbarkeit. In der vorliegenden Arbeit soll die diagnostische Wertigkeit des Oberflächenmarkers CD103 in der BAL für die Diagnostik der Sarkoidose in einer eigenen Studienpopulation untersucht und die entsprechenden Ergebnisse mit denen der anderen Arbeiten verglichen werden, um ein klareres Bild bezüglich der klinischen Relevanz dieses Markers zu erlangen.

*Methodik:* Insgesamt wurden 799 Patienten in der Studie berücksichtigt. Die Einteilung erfolgte in die Hauptgruppen: Sarkoidosen, andere ILDs und keine ILDs. Die Gruppe der Sarkoidosen wurde weiterhin in Patienten unter Sarkoidoseverdacht, nicht-histologisch gesicherte und histologisch gesicherte Sarkoidosen unterteilt. Die Gruppe der anderen ILDs wurde je nach vorliegendem Krankheitsbild weiter aufgespalten. Die Analysen bezüglich der diagnostischen Wertigkeit erfolgten vornehmlich zwischen den Gruppen der histologisch gesicherten Sarkoidosen und anderen ILDs bzw. allen Nicht-Sarkoidosen. Die diagnostische Wertigkeit von CD103, vor allem der CD103CD4/CD4-Ratio, wurde mithilfe der area under curve (AUC) von ROC-Kurven abgeschätzt.

*Ergebnisse:* Raucher wiesen im Vergleich zu Nichtrauchern höhere CD103-Werte auf und wurden aufgrund der geringen Aussagekraft der Werte von weiteren Analysen ausgeschlossen. Patienten mit histologisch gesicherter Sarkoidose wiesen deutlich niedrigere CD103CD4/CD4-Ratios auf als Patienten aus anderen Gruppen. Die AUC lag bei 0,78 im Vergleich der Sarkoidose mit allen anderen Patienten und bei 0,79 im Vergleich mit anderen ILDs. Die CD103CD4/CD4-Ratio wies bei einem Cut-Off von 0,345 eine Sensitivität von 91,7% und eine Spezifität von 60-62% je nach Vergleich auf. Bei Kombination der CD103CD4/CD4-Ratio mit der CD4/CD8-Ratio (Cut-Off: 3,0) ließ sich die Spezifität auf 89,3-91,8% steigern, während die Sensitivität auf 62,5% abfiel. Für die hier untersuchte Population stellt die CD103CD4/CD4-Ratio einen guten Marker zur Abgrenzung der Sarkoidose von anderen Erkrankungen dar, jedoch lässt sich in Zusammenschau mit den anderen Arbeiten weiterhin keine klare allgemeingültige Anwendungsempfehlung geben.

Mühlhölzer, Bruno: Die diagnostische Wertigkeit des durchflusszytometrischen Markers CD103 bei Sarkoidose, Halle (Saale), MLU Halle-Wittenberg, Med. Fak., Dissertation, 79 Seiten, 2021

# Inhaltsverzeichnis

<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>1</b>
<b>1 Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1 Interstitielle Lungenerkrankungen . . . . .	2
1.2 Sarkoidose . . . . .	3
1.2.1 Grundlagen . . . . .	3
1.2.2 Symptome der Sarkoidose . . . . .	4
1.2.3 Diagnostik der Sarkoidose . . . . .	4
1.2.4 Therapie und Verlauf . . . . .	5
1.3 Die CD4/CD8-Ratio . . . . .	6
1.4 Der Oberflächenmarker CD103 . . . . .	6
1.5 Die Bedeutung der genutzten CD103-assoziierten Werte . . . . .	7
1.6 Bisherige Ergebnisse bezüglich CD103 bei Sarkoidose . . . . .	8
<b>2 Zielstellung</b>	<b>10</b>
<b>3 Material und Methodik</b>	<b>11</b>
3.1 Studienpopulation . . . . .	11
3.2 Diagnostische bronchoalveoläre Lavage . . . . .	12
3.2.1 Definition und Indikation . . . . .	12
3.2.2 Risiken und Kontraindikationen . . . . .	12
3.2.3 Durchführung . . . . .	12
3.2.4 Aufbereitung im Labor . . . . .	13
3.2.5 Normwerte . . . . .	13
3.3 Durchflusszytometrie . . . . .	14
3.3.1 Definition und Indikation . . . . .	14
3.3.2 Funktionsweise . . . . .	14
3.3.3 Verwendete Antikörper und Fluoreszenzfarbstoffe . . . . .	15
3.4 Datenanalyse mittels SPSS . . . . .	15
3.5 Gütekriterien diagnostischer Verfahren . . . . .	15
3.6 Mann-Whitney U-Test . . . . .	16
3.7 ROC-Kurven . . . . .	17
3.7.1 Definition und Anwendung . . . . .	17
3.7.2 Berechnung, Darstellung und Interpretation . . . . .	17
3.7.3 Bestimmung von Cut-Off-Werten . . . . .	18
<b>4 Ergebnisse</b>	<b>19</b>
4.1 Einteilung in Erkrankungsgruppen . . . . .	19
4.2 Einschätzung der Sarkoidoseaktivität . . . . .	21
4.3 Verteilungsmuster der verwendeten CD103-Werte . . . . .	22
4.4 Ausschluss von Störfaktoren . . . . .	24
4.4.1 Einfluss des Rauchverhaltens auf CD103-T-Zellanteile . . . . .	24
4.4.2 Einfluss der Immunsuppression auf CD103-Zellanteile . . . . .	25

4.5	Vergleich der T-Zell-Anteile in Abhängigkeit von der Erkrankung . . . . .	29
4.5.1	CD4/CD8-Ratio in Abhängigkeit von der Erkrankung . . . . .	29
4.5.2	Anteil der CD103-positiven T-Zellen in der Gesamtheit aller T-Zellen in Abhängigkeit von der Erkrankung . . . . .	30
4.5.3	Anteil der CD103-positiven T-Helferzellen in der Gesamtheit aller T-Helferzellen in Abhängigkeit von der Erkrankung . . . . .	31
4.5.4	CD103CD4/CD4-Ratio in Abhängigkeit von der Erkrankung . . . . .	32
4.6	CD103 als diagnostischer Marker . . . . .	33
4.6.1	Relevanz der Raucheranamnese für die Anwendung der CD103-Marker	33
4.6.2	Darstellung von ROC-Kurven . . . . .	35
4.6.3	Bestimmung von Cut-Off-Werten . . . . .	39
4.6.4	Cut-Off-Werte und deren Testgüte in Abhängigkeit von der CD4/CD8-Ratio . . . . .	40
4.6.5	Betrachtung der CD103CD4/CD4-Ratio zusammen mit weiteren Werten . . . . .	41
4.6.6	Vergleich der Testgütekriterien nach Fall und verwendeten Markern	44
4.6.7	Vergleich der eigenen Ergebnisse mit anderen Studien . . . . .	44
4.6.8	CD103 in Abhängigkeit vom radiologischen Stadium . . . . .	45
4.7	Zusammenfassung der wesentlichen Ergebnisse . . . . .	47
<b>5</b>	<b>Diskussion</b>	<b>48</b>
5.1	Analyse des Patientenkollektivs . . . . .	48
5.2	Bedeutung der Störfaktoren für die Anwendung der CD103CD4/CD4-Ratio	50
5.2.1	Einfluss des Rauchens . . . . .	50
5.2.2	Immunsuppression . . . . .	51
5.3	Interpretation der Werteverteilung der CD103-Werte . . . . .	52
5.3.1	Die Werteverteilung der CD103-positiven Anteile der T-Zellen (in %) . . . . .	52
5.3.2	Die Werteverteilung der CD103-positiven CD4-Zellen (in %) . . . . .	53
5.3.3	Die Werteverteilung des CD103CD4/CD4-Quotienten . . . . .	54
5.4	Fähigkeit der CD103-assoziierten Werte, zwischen Sarkoidose und anderen Erkrankungen zu unterscheiden . . . . .	54
5.5	Beurteilung der ermittelten Cut-Off-Werte . . . . .	55
5.6	Veränderung der Testqualität bei Hinzunahme weiterer Marker . . . . .	57
5.7	Interpretation der entsprechenden Testgütekriterien . . . . .	58
5.8	Auswirkungen des radiologischen Stadiums auf CD103 . . . . .	60
5.9	Unterschiede zu anderen Publikationen . . . . .	61
5.10	Klinische Anwendbarkeit der CD103CD4/CD4-Ratio im Rahmen der Sarkoidosediagnostik . . . . .	65
5.11	Mögliche Fehlerquellen und Limitationen der Studie . . . . .	68
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung und Ausblick</b>	<b>70</b>
<b>7</b>	<b>Literatur</b>	<b>73</b>
<b>8</b>	<b>Thesen</b>	<b>79</b>

# Abbildungsverzeichnis

1.1	Klassifikation der interstitiellen Lungenerkrankungen (mod. nach [3, 4]) . . .	3
1.2	Stadien der Sarkoidose [16] . . . . .	5
1.3	Aufbau der Integrine [40] . . . . .	7
3.1	Prinzip der Durchflusszytometrie [55] . . . . .	14
3.2	Gütekriterien [59] . . . . .	16
3.3	ROC-Kurve (eigene Darstellung) . . . . .	17
4.1	Verteilung der CD4/CD8-Ratio . . . . .	22
4.2	Verteilungen der CD103-Zellanteile aller Patienten . . . . .	23
4.3	(c) Verteilung der CD103CD4/CD4-Ratio bei Patienten ohne Sarkoidose . .	23
4.4	Wertverteilungen in Abhängigkeit vom Rauchverhalten bei Patienten <i>ohne</i> Sarkoidose . . . . .	25
4.5	Wertverteilungen in Abhängigkeit von der immunsuppressiven Therapie . .	27
4.6	CD103-Anteile in Abhängigkeit von der immunsuppressiven Therapie bei Sarkoidosepatienten . . . . .	28
4.7	CD103CD4/CD4-Ratio in Abhängigkeit von der immunsuppressiven The- rapie bei Sarkoidosepatienten . . . . .	28
4.8	CD4/CD8-Quotient in Abhängigkeit von der Erkrankung . . . . .	30
4.9	Anteil an CD103-positiven T-Zellen in Abhängigkeit von der Erkrankung .	31
4.10	Anteil an CD103-positiven CD4-Zellen in Abhängigkeit von der Erkrankung	32
4.11	CD103CD4/CD4-Ratio in Abhängigkeit von der Erkrankung . . . . .	32
4.12	ROC-Kurven für CD103-Werte in Abhängigkeit vom Rauchverhalten . . . .	34
4.13	ROC-Kurven für CD4/CD8 in Abhängigkeit vom Rauchverhalten . . . . .	35
4.14	Fall 1: ROC-Kurven mit Bezug auf histologisch gesicherte Sarkoidosen . . .	36
4.15	Fall 2: ROC-Kurven mit Bezug auf klinisch diagnostizierte Sarkoidosen . . .	37
4.16	Fall 3: ROC-Kurven mit Bezug auf histologisch gesicherte Sarkoidosen im Vergleich zu anderen ILDs . . . . .	38
4.17	ROC-Kurve für CD103CD4/CD4 abhängig von der CD4/CD8-Ratio . . . .	41
4.18	CD103CD4/CD4-Quotient in Abhängigkeit vom radiologischen Stadium . .	46

# Tabellenverzeichnis

3.1	Studienpopulation . . . . .	11
3.2	Referenzwerte der BAL . . . . .	13
3.3	Antikörper und Antikörperkombinationen . . . . .	15
4.1	Diagnosen . . . . .	20
4.2	Radiologische Befunde bei Patienten mit Sarkoidose / Sarkoidoseverdacht . . . . .	21
4.3	Median der CD4/CD8-Ratio . . . . .	22
4.4	Verteilung der CD103-Werte . . . . .	23
4.5	Anzahl an Sarkoidosepatienten im Abhängigkeit vom Rauchverhalten . . . . .	24
4.6	Lageparameter der CD103-Werte in Abhängigkeit vom Rauchverhalten . . . . .	26
4.7	Immunsuppression in Abhängigkeit von der Erkrankung . . . . .	26
4.8	Lageparameter je nach immunsuppressiver Therapie . . . . .	27
4.9	Anzahl der Fälle . . . . .	34
4.10	AUC in Abhängigkeit vom Rauchverhalten . . . . .	35
4.11	Fall 1: AUC . . . . .	37
4.12	Fall 2: AUC . . . . .	37
4.13	Fall 3: AUC . . . . .	38
4.14	Fall 1: Cut-Off-Werte der einzelnen Zellgruppen . . . . .	39
4.15	Anzahl der Patienten je nach Erkrankung und CD4/CD8-Ratio . . . . .	40
4.16	Fall 1: Tests auf Sarkoidose mit multiplen Werten . . . . .	42
4.17	Fall 3: Tests auf Sarkoidose mit multiplen Werten . . . . .	43
4.18	Vergleich der Gütekriterien (Werte in %) . . . . .	44
4.19	Vergleich der eigenen Ergebnisse mit anderen Publikationen . . . . .	45
4.20	CD103CD4/CD4-Ratio in Abhängigkeit vom radiologischen Stadium . . . . .	46

# Abkürzungsverzeichnis

<b>AAD</b>	Aminoactinomycin
<b>ACE</b>	Angiotensin converting enzyme
<b>ANOVA</b>	Einfaktorielle Varianzanalyse (analysis of variance)
<b>APC</b>	Allophycocyanin
<b>AUC</b>	Area under curve
<b>BAL</b>	Bronchoalveoläre Lavage
<b>BALF</b>	Bronchoalveoläre Lavage-Flüssigkeit
<b>BMI</b>	Body-Mass-Index
<b>CD</b>	Cluster of differentiation
<b>COP</b>	Kryptogen organisierende Pneumonie
<b>CPFE</b>	Combined pulmonary fibrosis and emphysema
<b>EAA</b>	Exogen allergische Alveolitis
<b>FACS</b>	Fluorescence activated cell sorting
<b>FEV</b>	Forced expiratory volume
<b>FITC</b>	Fluorescein isothiocyanate
<b>HES</b>	Hypereosinophiles Syndrom
<b>HRCT</b>	high-resolution computed tomography
<b>IIP</b>	Idiopathische interstitielle Pneumonie
<b>IL</b>	Interleukin
<b>ILD</b>	Interstitial lung disease
<b>IQR</b>	Interquartilabstand
<b>ITGAE</b>	Integrin $\alpha$ -E
<b>KI</b>	Konfidenzintervall
<b>LAM</b>	Lymphangioliomyomatose
<b>LKS</b>	Lymphknotenschwellung
<b>MFIS</b>	Modified fatigue impact scale
<b>MTX</b>	Methotrexat
<b>MSQLI</b>	Multiple sclerosis quality of life inventory
<b>NPV</b>	Negativer Prädiktiver Wert
<b>NR</b>	Nichtraucher
<b>NSIP</b>	Non specific interstitial pneumonia
<b>OP</b>	Organisierende Pneumonie
<b>PE</b>	Phycoerythin
<b>PerCP</b>	Peridinin Chlorophyll Protein Complex
<b>PPV</b>	Positiver Prädiktiver Wert
<b>ROC</b>	Receiver operating characteristics
<b>TNF</b>	Tumornekrosefaktor
<b>UIP</b>	Usual interstitial pneumonia



# 1 Einleitung

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der klinischen Diagnosestellung der Sarkoidose (vgl. 1.2), eine der häufigsten Erkrankungen aus der Gruppe der interstitiellen Lungenerkrankungen (siehe 1.1). Obwohl in den vergangenen Jahren viele verschiedene diagnostische Marker in Bezug auf die Fähigkeit, Sarkoidose von anderen Erkrankungen abzugrenzen, untersucht wurden, zeigte keiner der Marker ausreichend gute diagnostische Qualitäten. Typischerweise wird die CD4/CD8-Ratio in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit bestimmt, aber die Aussagekraft dieses Wertes ist ebenfalls begrenzt (vgl. Abschnitt 1.3). Vor einigen Jahren wurde jedoch CD103 (vgl. 1.4) als potenzieller neuer, diagnostischer Marker entdeckt und in mehreren Arbeiten untersucht. Aufgrund unterschiedlicher Ergebnisse der bisherigen Studien (siehe 1.6) sind weitere Untersuchungen notwendig, um perspektivisch eine frühzeitigere Diagnosestellung der Sarkoidose, welche teils mit schweren, lebenslimitierenden Verläufen einhergeht, zu ermöglichen. Im Folgenden werden die notwendigen Grundlagen und bisherigen Forschungsergebnisse kurz umrissen, um dem Leser einen Einstieg in die weiteren statistischen Untersuchungen und Diskussionen zu ermöglichen.

## 1.1 Interstitielle Lungenerkrankungen

Interstitielle Lungenerkrankungen (ILDs) bilden eine heterogene Krankheitsgruppe unterschiedlicher Ätiologien, welche durch einen Umbau des Lungenzwischengewebes und der Alveolen entstehen. Durch progrediente Vernarbung führt dies in fortgeschrittenen Fällen zu einer irreversiblen Fibrosierung des Lungengewebes [1].

Über 150 verschiedene Krankheitsbilder lassen sich zur Gruppe der ILDs zusammenfassen, wobei erhebliche Unterschiede in der Entzündungsaktivität, Granulombildung und im Fibrosierungsmuster Einteilungen nach unterschiedlichen Merkmalen erlauben. Auch das therapeutische Ansprechen variiert innerhalb der Gruppe stark [2]. Eine Klassifikation der American Thoracic Society und European Respiratory Society (2002) unterteilt die ILDs in 4 Gruppen (siehe Abb. 1.1)[3], wobei zwischen ILDs mit bekannter Ätiologie, idiopathischen interstitiellen Pneumonien (IIP), Granulomatösen ILDs und anderen Formen unterschieden wird. Die IIPs werden wiederum in die Gruppen Idiopathische Lungenfibrose (IPF mit UIP-Muster) und andere IIP (ohne UIP-Muster) eingeteilt.

Bei betroffenen Patienten sind häufig nur unspezifische Symptome wie Husten oder Dyspnoe nachweisbar. Eine wichtige Rolle spielt die Raucher-, Berufs-, Freizeit- und Medikamentenanamnese im Hinblick auf eine Exposition gegenüber inhalativen und nicht-inhalativen Noxen, Allergenen oder toxischen Medikamenten.

Diagnostisch werden vor allem bildgebende Verfahren wie ein Röntgen-Thorax oder ein High-resolution CT (HRCT), Lungenfunktionsuntersuchungen und Laboruntersuchungen zum möglichen Nachweis von spezifischen Markern bei Kollagenosen oder Vaskulitiden durchgeführt. Bei unspezifischen Ergebnissen der vorangegangenen Untersuchungen stellt eine Bronchoskopie mit Analyse der BAL-Flüssigkeit und eventueller transbronchialer Biopsie ein wichtiges weiterführendes diagnostisches Mittel dar.

Dennoch ist die genaue Diagnosestellung bei Verdacht auf eine ILD teilweise sehr schwierig.

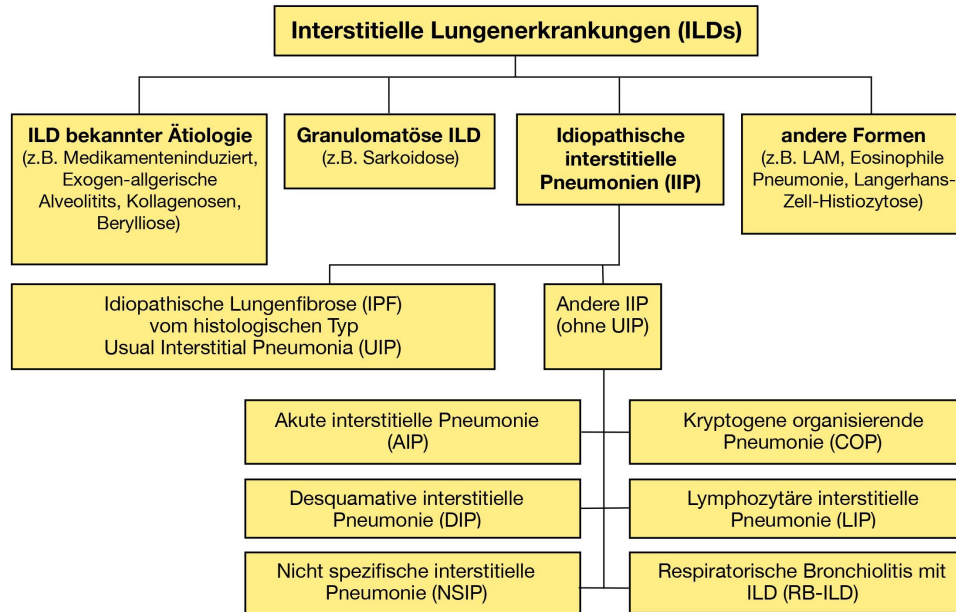


Abb. 1.1: Klassifikation der interstitiellen Lungenerkrankungen (mod. nach [3, 4])

Eine ähnliche Symptomatik, meist unspezifische Laborbefunde, eine extrem hohe Anzahl an Differenzialdiagnosen und schwer zu beurteilende radiologische Veränderungen machen häufig eine Zusammenschau klinischer, radiologischer und histologischer Befunde notwendig [2]. Aufgrund des sehr unterschiedlichen Therapieansprechens und der Prognose je nach Erkrankung ist eine genaue Diagnosestellung in vielen Fällen wichtig [5].

Im untersuchten Patientekollektiv finden sich neben der Sarkoidose einige andere diagnostizierte interstitielle Lungenerkrankungen. Aufgrund der hohen Komplexität werden die neben der Sarkoidose genannten ILDs nicht weiter beschrieben, da sie den Rahmen dieser Arbeit weit überschreiten würden. Detailliertere Informationen zu den jeweiligen Erkrankungen finden sich in den angegebenen Literaturquellen sowie in entsprechenden Fachbüchern der Pulmologie, Radiologie und Pathologie.

## 1.2 Sarkoidose

### 1.2.1 Grundlagen

Der häufigste Auslöser einer ILD ist die Sarkoidose, eine Systemerkrankung unbekannter Ätiologie, welche zumeist junge Menschen, Männer und Frauen in gleicher Zahl, betrifft [6]. Aktuell wird eine Fehlfunktion der T-Helferzellen mit überschießender Immunreaktion auf nicht klar eingrenzbare Antigene vermutet [6]. Die genannte Fehlfunktion führt zu einer vermehrte Ausschüttung von  $\text{TNF}\alpha$ , Interferon  $\gamma$  und IL-2 mit Bildung epitheloidzellhaltiger nicht-verkäsender Granulome, zentral organisierten Makrophagenkollektionen und Epitheloidzellen, umringt von Lymphozyten [7]. Die häufigsten Manifestationsorte der Sarkoidose sind Lunge und lymphatische Organe, jedoch kann jedes Organ betroffen sein [6, 8].

## 1.2.2 Symptome der Sarkoidose

Je nach Organbefall präsentiert sich die Sarkoidose klinisch sehr unterschiedlich. Während der pulmonale Befall (ca. 90% d.F.) mit Dyspnoe, Husten und thorakalen Schmerzen einhergehen kann, können bei Hautbefall (ca. 35% d.F.) Erythema nodosa, Lupus Pernio (violette, knotige Läsionen, meist im Gesichtsbereich) oder unspezifische kutane Läsionen auftreten [7]. Die nicht selten vorkommenden Lymphknotenschwellungen (ca. 30% d.F.) werden meist erst im Röntgenbild auffällig [9]. Im Rahmen einer systemischen Inflammation zeigen sich Allgemeinsymptome wie subfebrile Temperaturen, Gewichtsverlust, Nachtschweiß, Müdigkeit und Abgeschlagenheit (Fatigue). Die Manifestation im ZNS (ca. 10%) kann insbesondere aufgrund aseptischer Meningoenzephalitiden problematisch werden. Kardiale Beteiligung (ca. 5%) zeigt sich zumeist durch Herzrhythmusstörungen und ventrikuläre Dysfunktionen [8]. Grundsätzlich lassen sich jedoch nur bei etwa 30% aller Sarkoidosepatienten klinische Symptome nachweisen, die Erstdiagnose erfolgt zumeist radiologisch als Zufallsbefund [9] (siehe 1.2.3).

Bei der pulmonalen Sarkoidose, dem Hauptthema dieser Arbeit, wird grob zwischen zwei verschiedenen Verlaufsformen unterschieden, der akuten (ca. 5%) und der chronischen (ca. 95%) Sarkoidose [1]. Während sich die chronische Sarkoidose meist klinisch unauffällig zeigt, geht die akute Verlaufsform häufig mit akutem Krankheitsbeginn, Allgemeinsymptomen und extrapulmonalen Manifestationen einher. Speziell zu erwähnen ist hierbei das Löfgren-Syndrom, eine Sonderform der akuten Sarkoidose, welches durch die Kombination von mediastinaler Lymphadenopathie, Erythema nodosum und Polyarthritits (meist Sprunggelenksarthritits) gekennzeichnet ist (charakteristische Trias)[6].

## 1.2.3 Diagnostik der Sarkoidose

Aufgrund der stark heterogenen Krankheitsausprägung spielen bei der Sarkoidose multiple diagnostische Methoden eine große Rolle. Labordiagnostisch wird routinemäßig die Bestimmung des CD4/CD8-Quotienten durchgeführt (vgl. 1.3). Weiterhin werden in selteneren Fällen die Serum-ACE-Konzentration (die Bildung erfolgt in den Epitheloidzellen der nicht-verkäsenden Granulome [10, 11]) und die Konzentration des löslichen IL-2-Rezeptors ermittelt, die beide jedoch vorwiegend als Verlaufs- oder Aktivitätsparameter genutzt werden [6].

Als bildgebende Verfahren eignen sich Röntgen-Thoraxaufnahmen bzw. eine hochauflösende Computertomographie (HRCT) zum Nachweis/Ausschluss interstitieller Lungenveränderungen oder (insbes. bililärer) Lymphadenopathien. Obwohl die spätere Stadieneinteilung der Sarkoidose durch röntgenologische Kriterien erfolgt (siehe Abb. 1.2), ist für die initiale Diagnostik die Unterscheidung (vor allem im Stadium 3 und 4) von anderen Erkrankungen des Lungenparenchyms damit nicht ausreichend möglich [12]. Die HRCT hat dabei eine größere Relevanz. Spezifische Verteilungsmuster von retikulären und nodulären Veränderungen, ground-glass-Opazitäten und fibrotischen Veränderungen lassen die Sarkoidose damit besser von anderen interstitiellen Lungenerkrankungen abgrenzen [13]. Da jedoch die ausreichend sichere radiologische Diagnosestellung sehr erfahrene Radiologen zur Differenzierung von anderen ILDs bedarf [14], sowie eine erhöhte CD4/CD8-Ratio nicht alle Differentialdiagnosen ausschließt [15], wird aktuell für eine gesicherte Diagno-

se der histologische Nachweis nicht-verkäsender epitheloidzelliger Granulome im biopsisch gewonnen Präparat benötigt. Deren Entnahme erfolgt meist transbronchial [8].

	<b>Merkmale</b>	<b>Heilungsraten</b>
Stadium 0	Unauffälliges Röntgenbild ohne Befall der Lunge aber mit Sarkoidose-typischen Veränderungen außerhalb des Brustkorbs.	
Stadium 1	Schwellung der Lymphknoten (bihiläre Lymphknotenadenopathie) zwischen den beiden Lungenflügeln, entlang der Luftröhre und der Hauptbronchien. Kein Befall des Lungengewebes.	70 bis 90 Prozent
Stadium 2	Schwellung der Lymphknoten, wie in Stadium 1. Zusätzlicher Befall der Lunge mit knötchenartigen Veränderungen im Gewebe.	40 bis 70 Prozent
Stadium 3	Befall der Lunge mit knötchenartigen Veränderungen im Gewebe, ohne Schwellung der Lymphknoten.	10 bis 20 Prozent
Stadium 4	Irreversible Lungenfibrose: Das Gewebe der Lunge wurde zu Bindegewebe umgebaut („vernarbt“). Diese Veränderungen sind nicht mehr rückgängig zu machen.	Chronische Erkrankung

Abb. 1.2: Stadien der Sarkoidose [16]

Eine Ausnahme stellt hierbei das Löfgren-Syndrom dar, dessen Diagnose mit dem Auftreten der oben genannten klassischen Trias auch ohne Biopsie als gesichert gewertet werden kann [7, 8].

### 1.2.4 Therapie und Verlauf

Nicht jede diagnostizierte Sarkoidose bedarf einer Therapie. Die Notwendigkeit und Art der Behandlung richtet sich dabei nach dem Organbefall und der Symptomatik. Entsprechend der Empfehlungen des deutschen Ärzteblattes vom 22.08.2016 gelten folgende Therapieindikationen:

- höhergradige Herzrhythmusstörungen und/oder Herzmuskelbeteiligung,
- ZNS-Befall,
- symptomatische Organbeteiligungen, die potenziell in einer chronischen Schädigung des Organs münden [17].

Die Standardtherapie besteht aus einer oralen Kortikosteroidtherapie mit initial 20–40 mg Prednisonäquivalent/Tag. Bei nicht ausreichendem Ansprechen nach Dosiserhöhung kann der Einsatz von alternativen Immunsuppressiva wie Methotrexat und Azathioprin erforderlich werden [9, 17]. TNF- $\alpha$  Antikörper sind erst ab einem Krankheitsprogress mit vermehrter Entzündungsaktivität unter kombinierter immunsuppressiver Therapie zu erwägen [17]. Das spezifische detaillierte therapeutische Vorgehen ist hierbei von vielen Faktoren abhängig und würde den Rahmen dieser Arbeit sprengen, deshalb hier der Verweis auf entsprechende Literatur: [17, 18].

Der Krankheitsverlauf der Sarkoidose unterscheidet sich je nach akuter oder chronischer Form, der Symptomausprägung sowie dem radiologischen Stadium. In der Hälfte der Fälle lässt sich eine Spontanheilung innerhalb von 12 - 36 Monaten nachweisen, bei einem großen Teil der übrigen Patienten erfolgt diese nach maximal 5 Jahren. Während das Löfgren-Syndrom typischerweise selbstlimitierend verläuft, sind insbesondere bei Röntgenstadien

III und IV und ZNS-Befall chronische Veränderungen häufiger zu befürchten [8]. Im Falle eines progredienten Verlaufes ist eine Lungenfibrose die klassische irreversible Komplikation, welche mit Dyspnoe und verminderter Lungenfunktion einhergeht und für den Großteil der Sarkoidose-assoziierten Tode in der westlichen Welt verantwortlich ist [8]. Sowohl der kardiale Befall mit daraus resultierenden Herzrhythmusstörungen als auch der Befall des zentralen Nervensystems sind weitere, seltenere Ursachen der erhöhten Mortalität [17].

### 1.3 Die CD4/CD8-Ratio

Im Rahmen der bei Sarkoidoseverdacht zumeist durchgeführten diagnostischen BAL ist die Bestimmung der CD4/CD8-Ratio ein wichtiger Bestandteil der Sarkoidosediagnostik, wobei der Normwert 2 beträgt. Die für Sarkoidose nicht seltene CD4-Lymphozytose spiegelt sich in einer erhöhten CD4/CD8-Ratio wider [7, 9, 19]. Die erhöhte Anzahl an CD4-positiven Lymphozyten wird deren Rolle bei der Bildung und Erhaltung der Sarkoidosetypischen nicht-verkäsenden epitheloidzellhaltigen Granulome durch Interaktion mit antigen-präsentierenden Zellen zugeschrieben. Die aktivierten CD4-Zellen differenzieren zu T<sub>H1</sub>-Zellen, sezernieren IL-2 und IF- $\gamma$ , regen die Makrophagen zur TNF- $\alpha$  Produktion an und verstärken die lokale zelluläre Immunantwort [7, 20, 21].

Da die genaue Pathogenese der Sarkoidose sehr komplex und weiterhin Bestandteil aktueller Forschungen ist, wird hier auf weiterführende Literatur zu diesem Thema verwiesen: z.B. "New pathogenetic insights into the sarcoid granuloma" von Agostini et al. [20] und "Sarcoidosis - Immunopathogenetic Concepts" von Zissel et al. [21].

Obwohl die Berechnung der CD4/CD8-Ratio ein beliebtes diagnostisches Mittel darstellt, ist die Aussagekraft dieses Markers dennoch limitiert. Nur ca. 50-60% der Sarkoidosen gehen mit einer erhöhten Ratio einher, teilweise ist sie sogar vermindert (bei ca. 15%) [19]. Die Aussagekraft dieses Markers alleine ist somit gering und erfordert die Kombination mit anderen diagnostischen Tests [15].

Die Normwerte der CD4/CD8-Ratio in der BALF liegen zwischen 1,1 und 3,5 bei Nichtrauchern und mit 0,5 - 1,5 deutlich niedriger bei Rauchern [22]. Jedoch werden die Cut-Off-Werte zur Diagnostik von Sarkoidose nicht einheitlich verwendet ( $\geq 2,5$  bei Kolopp-Sarda et al. [23],  $> 3$  bei Heron et al. [24] und  $> 3,5$  bei Mota et al. [25]). Eine niedrige CD4/CD8-Ratio hingegen legt das Vorliegen einer EAA nahe [26, 27].

### 1.4 Der Oberflächenmarker CD103

Das Oberflächenantigen CD103, auch als Integrin  $\alpha E$  (ITGAE) bezeichnet, wurde 1991 als erstes auf T-Zellen in der intestinalen Mucosa von Mäusen nachgewiesen [28–31]. Über 90% der CD8- und etwa 40-50% der CD4-Zellen exprimierten dort diesen Marker [32, 33]. Nach neuesten Erkenntnissen findet sich der Oberflächenmarker CD103 insbesondere auf intraepithelialen T-Lymphozyten, sowie auf peripheren T-Regulatorzellen und dendritischen Zellen der meisten lymphatischen und nicht-lymphatischen Organe [34–36]. Auf peripheren Blutzellen wird CD103 nur zu etwa 3% exprimiert [33]. Besonders hohe Dichten sind in Lunge, Gastrointestinaltrakt und Knochenmark nachweisbar [34, 37–39].

CD103 entspricht der  $\alpha$ -E-Untereinheit des  $\alpha E\beta 7$  Integrinmoleküls. Integrine sind heterodimere Transmembranproteine, jeweils bestehend aus einer  $\alpha$ - sowie  $\beta$ -Untereinheit in nicht-kovalenter Bindung (siehe Abb. 1.3). Die extrazellulären Anteile dienen vornehmlich als Bindungsstellen für Adhäsionsproteine mit spezifischer Aminosäuresequenz, die als RGD-Sequenz bezeichnet wird. Im Vordergrund steht hierbei die Signalübertragung von der

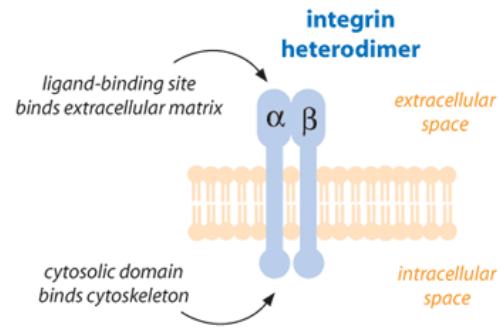


Abb. 1.3: Aufbau der Integrine [40]

extrazellulären Matrix auf das Zytoskelett, meist im Rahmen der Zelldifferenzierung oder -proliferation [41]. Wichtigster Ligand des  $\alpha E\beta 7$ -Integrins ist das E-Cadherin, ein epitheliales Transmembranprotein mit Hauptfunktion der Vermittlung von Zell-Zell-Adhäsionen, wie beispielsweise in adherens-junctions [36, 42]. Das auf der Oberfläche von intraepithelialen T-Zellen befindliche CD103 dient nach aktuellem Kenntnisstand vor allem der Verankerung der Immunzellen im umgebenden Gewebe, jedoch wird auch eine kostimulatorische Funktion im Rahmen der T-Zell-Proliferation vermutet [33, 43]. Ebenso wurden bei einem bestimmten vorliegenden Genotypen des ITGAE-Gens, dem 1088 AA, erhöhte CD103+CD4+Zellzahlen mit vermehrter Lungenfibrosierung nachgewiesen [43]. Eine zusätzliche Rolle von CD103 in der Pathophysiologie der Sarkoidose ist somit wahrscheinlich.

## 1.5 Die Bedeutung der genutzten CD103-assoziierten Werte

Der Nachweis einer verminderten Konzentration von CD103-positiven Zellen in der BAL-Flüssigkeit bei Sarkoidosepatienten legte die Anwendung dieses Oberflächenmarkers als mögliches Mittel zur Diagnosestellung nahe. Aktuelle Studien führen diese Abnahme des CD103-Anteils bei Sarkoidose auf einen Verdünnungseffekt im Rahmen der systemischen Entzündungsreaktion mit konsekutiver Einwanderung peripherer CD103-negativer Lymphozyten in das Lungengewebe zurück [23, 24]. In Kombination mit der gehäuft auftretenden CD4-Lymphozytose, die zum klassisch erhöhten CD4/CD8-Quotienten führt (vgl. 1.3), bieten sich unterschiedliche CD103-assoziierte Werte zur Anwendung in der Sarkoidosediagnostik an. Im Rahmen dieser Arbeit wurden jeweils drei Werte ermittelt und miteinander verglichen (siehe Abschnitt 2).

Wert 1: Der Anteil von CD103-positiven T-Zellen an der Gesamtheit aller T-Zellen (kurz: CD103+ der T-Zellen) in %:

Eine Beeinflussung dieses Wertes ist vor allem durch Zu- oder Abnahme der Anzahl CD103-negativer Zellen zu erwarten. Da bei einer Sarkoidose von einer Immigration peripherer CD103-negativer T-Zellen in das Lungengewebe ausgegangen wird, wären somit verminderte CD103-positive Zellanteile wahrscheinlich. Inwieweit Veränderungen der Anzahl CD103-positiver Zellen eine Rolle spielen ist unklar.

Wert 2: Der Anteil von CD103-positiven T-Zellen an CD4-positiven T-Zellen (kurz: CD103+ der CD4+ Zellen) in %:

Im klassischen Fall steigt bei der Sarkoidose der Anteil an CD4-positiven T-Zellen im Vergleich zu den CD8-positiven T-Zellen, im Sinne einer CD4-Lymphozytose, stärker an und führt zu einem erhöhten CD4/CD8-Quotienten. Diese Veränderungen lassen eine vermehrte Beeinflussung der CD103-positiven Anteile an CD4-Zellen vermuten, als dies bei den CD8-Zellen zu erwarten wäre. Somit sind bei Sarkoidosepatienten höhere Abweichungen bei Wert 2 im Vergleich zu Nicht-Sarkoidosepatienten zu erhoffen, als bei Wert 1.

Wert 3: Das Verhältnis zwischen dem Anteil CD103-positiver CD4-Zellen und dem Anteil an CD4-Zellen an der Gesamtheit aller T-Zellen (kurz: CD103CD4/CD4-Ratio):

Eingeführt von Heron et al. [24] vereint dieser Quotient zwei Veränderungen in der Zellzusammensetzung, die bei Sarkoidose zu erwarten sind, in einem einzigen Wert. Die CD4-Lymphozytose führt zu höheren CD4-Anteilen, der Verdünnungseffekt durch periphere Lymphozyten hingegen zu einer Abnahme der CD103-positiven CD4-Zellanteile (wie bei Wert 2 erläutert). Somit ist für den Wert 3 eine Zunahme der Differenzierungsfähigkeit für Sarkoidose zu erwarten, da mehrere sarkoidosetypische, pathophysiologische Vorgänge einbezogen werden.

### 1.6 Bisherige Ergebnisse bezüglich CD103 bei Sarkoidose

Bereits im Jahr 2000 zeigten Kolopp-Sarda et al. in ihrem Artikel "Discriminative Immunophenotype of Bronchoalveolar Lavage CD4 Lymphocytes in Sarcoidosis" [23] einen negativen Einfluss von Sarkoidose auf den Anteil von CD103-positiven T-Zellen in der bronchioalveolären Lavageflüssigkeit erkrankter Patienten. Nachfolgende Studien, unter anderem von Heron et al. [24], Mota et al. [25], Hyldgaard et al. [44] und Bretagne et al. [45], bestätigten den Zusammenhang zwischen verminderten CD103-Zellanteilen und Sarkoidose, ergaben jedoch unterschiedliche Ergebnisse zur möglichen diagnostischen Anwendung dieses Markers.

Der von Kolopp-Sarda et al. beschriebene, im Vergleich zu anderen Pathologien und der Kontrollgruppe signifikant verminderte Anteil an CD103-positiven Zellen bei Sarkoidosepatienten entsprach dem ersten Schritt zur Verwendung von CD103-Zellpopulationen in der Sarkoidosediagnostik. Es erfolgte die Berechnung eines CD103/CD4-Quotienten, welcher, zusammen mit dem standardmäßigen CD4/CD8-Quotienten (Cut-Offs von  $\leq 0,31$  und  $\geq 2,5$ ), eine Sensitivität von 96% aufwies [23].

2007 wurden diese Ergebnisse von Heron et al. [24] aufgegriffen und innerhalb einer eigenen Patientengruppe überprüft. Der zuvor verwendete CD103/CD4-Quotient ergab dort jedoch mit einer Sensitivität von 57% (Spezifität 91%) deutlich schlechtere Ergebnisse. Neu wurde zusätzlich die CD103CD4/CD4-Ratio, das Verhältnis aus dem Anteil der CD103-positiven-CD4-Zellen und dem CD4-Zellanteil, eingeführt und mit dem CD4/CD8-Quotienten als Test kombiniert (Cut-Offs von  $\leq 0,2$  und  $\geq 3$ ). Dabei ergab sich eine hohe Spezifität mit 90% bei einer leicht verbesserten Sensitivität von 66%, womit sich der kombinierte Test als Methode mit guter Spezifität zur Abgrenzung der Sarkoidosen von anderen interstitiellen Lungenerkrankungen erwies.

Mota et al. [25] wiesen in ihrem Artikel aus dem Jahre 2012 bei einem CD103CD4/CD4-Quotienten mit einem Cut-Off von  $< 0,45$  neben der allgemeinen Anwendbarkeit als diagnostisches Mittel sogar die Differenzierbarkeit der Sarkoidosefälle mit einem CD4/CD8-Quotienten  $< 3,5$  von anderen interstitiellen Lungenerkrankungen nach (Sensitivität 75%, Spezifität 78%).

Im Gegensatz zu diesen vielversprechenden Ergebnissen standen jedoch die Resultate von Hyldgaard et al. und Bretagne et al. [44, 45]. Hyldgaard et al. erhielten für die CD103CD4/CD4-Ratio allein und in Zusammenschau mit anderen Werten deutlich schlechtere Sensitivitäten und Spezifitäten und wiesen das Serum-ACE (siehe 1.2.3) als potenteren Marker aus. Bretagne et al. analysierten durchflusszytometrische Werte von 207 Patienten mit einem BALF-Lymphozytenanteil von über 20%. Für die CD103CD4/CD4-Ratio ergaben sich dort ebenfalls weder allein, noch in Kombination mit dem CD4/CD8-Quotienten ausreichende Testqualitäten, um zwischen Sarkoidose und anderen Auslösern einer lymphozytären Alveolitis zu unterscheiden.

Aufgrund dieser einander widersprechenden Ergebnisse sind weitere Untersuchungen bezüglich der diagnostischen Aussagekraft von CD103 notwendig, die nun in der vorliegenden Arbeit durchgeführt werden.



## 2 Zielstellung

Die Diagnosestellung der Sarkoidose ist, wie bereits zuvor beschrieben, noch immer schwierig. Den diagnostischen Goldstandard stellt bis heute der histologische Nachweis nicht-verkäsender Granulome dar (s. 1.2.3) [7, 8, 17]. Um die Indikation einer zumeist trans-bronchial durchgeführten Biopsie, die eine relativ invasive Untersuchung darstellt [8], mit größerer Sicherheit stellen zu können, sind weitere Marker notwendig, die das tatsächliche Vorliegen einer Sarkoidose für diese Fälle sehr wahrscheinlich werden lassen. Die Diagnosestellung bei Patienten unter Sarkoidoseverdacht ist trotz der häufig milden Verläufe aufgrund teils schwerwiegender Komplikationen wie Lungenfibrosen, Herzinsuffizienzen und Meningoencephalitiden wichtig (s. 1.2.2). Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, angesichts dieser Situation, die diagnostische Wertigkeit des durchflusszytometrischen Markers CD103 (s. 1.4) zur Diagnosestellung der Sarkoidose einschätzen und daraus folgend dessen klinische Anwendbarkeit ableiten zu können. Um dieses Ziel zu erreichen, erfolgte bei Patienten, bei denen eine bronchoalveoläre Lavage durchgeführt wurde, die Bestimmung der klassischen durchflusszytometrischen Marker zusammen mit CD103. Daraus wurden die folgenden drei, aus den vorangegangenen Studien bereits bekannten, CD103-assoziierten Werte ermittelt (s. 4.4) und jeweils bezüglich ihrer diagnostischen Aussagekraft untersucht:

1. Die CD103-pos. Anteile an der Gesamtheit aller T-Zellen (CD103+ der T-Zellen)
2. Die CD103-pos. Anteile aller CD4-pos. T-Zellen (CD103+ der CD4+ Zellen)
3. Das Verhältnis aus CD103CD4-pos. Zellen zu allen CD4-Zellen (CD103CD4/CD4-Ratio)

Die Untersuchung der Werteverteilungen in Abhängigkeit der diagnostizierten Erkrankungen war dabei ein erstes Ziel (s. 4.5). Eine mögliche Beeinflussung durch Störfaktoren spielt für die klinische Anwendbarkeit eine große Rolle und wurde deshalb zusätzlich in Abschn. 4.4 untersucht. Anschließend erfolgte mittels ROC-Kurven die Quantifizierung der Fähigkeit, Sarkoidose mithilfe der drei CD103-assoziierten Werte von anderen Erkrankungen abzugrenzen. Dafür wurden entsprechende Testgütekriterien und Cut-Off-Werte bestimmt (Abschn. 4.6.2 und 4.6.3), auch für Tests mit gleichzeitiger Betrachtung mehrerer unterschiedlicher Werte, um die Testqualität zu steigern (Abschnitt 4.6.5). Die negative Beeinflussung der CD103-assoziierten Marker durch Sarkoidose wurde bereits von mehreren Arbeitsgruppen nachgewiesen, jedoch mit unterschiedlichen Ergebnissen, insbesondere in Bezug auf die klinische Anwendbarkeit (vgl. 1.6). Zum Vergleich mit den anderen Arbeiten soll hier die Aussagekraft dieser Marker mithilfe einer eigenen Patientenpopulation nachgewiesen und in die aktuelle Studienlage eingeordnet werden. Zusätzliches Ziel ist die mögliche Kombination mit anderen, bisher unabhängig genutzten Markern zur Verbesserung der Diagnosesicherheit. In der Diskussion kommt es zu einer Beurteilung der ermittelten Ergebnisse und am Ende zur Einschätzung bezüglich der klinischen Anwendbarkeit des durchflusszytometrischen Markers CD103 in Abhängigkeit verschiedener klinischer Situationen und Patienteneigenschaften, um schließlich auf die Hauptfragestellung dieser Arbeit einzugehen. Der Fokus liegt auf der Formulierung der Empfehlung einer klinischen Anwendung dieser Werte in Abhängigkeit von unterschiedlichen Situationen und Patientengruppen. Dies soll dazu beitragen, die Diagnosesicherheit bei Sarkoidoseverdacht, auch im Hinblick auf die Vermeidung von Biopsien, zu erhöhen.

# 3 Material und Methodik

## 3.1 Studienpopulation

Im Zeitraum vom 16.07.2015 bis 14.12.2016 erfolgte bei den Patienten der meiner Untersuchung zugrundeliegenden Studienpopulation aus dem Universitätsklinikum Halle (Saale) und dem Klinikum Martha-Maria Halle-Dörlau, die im Rahmen ihrer erkrankungsspezifischen Diagnostik eine durchflusszytometrische Analyse der bronchioalveolären Lavageflüssigkeit erhielten, eine zusätzliche Bestimmung der CD103-Expression bei T-Lymphozyten mittels Durchflusszytometrie (siehe Seite 14) im Labor des Instituts für medizinische Immunologie der Martin-Luther-Universität Halle. Die untersuchten Patientenproben entstammen. Hierbei ergaben sich insgesamt 1084 durchgeführte Patientenzytologien. Abzüglich der Fälle ohne ausreichende Akteninformationen ( $n = 152$ ) erfolgte die Tabellarisierung von 932 Patienten. Da bei zu geringer Zellzahl keine ausreichende Interpretation möglich ist, wurden alle Proben mit weniger als 500 nachgewiesenen Lymphozyten aus der Auswertung ausgeschlossen ( $n = 115$ ). Patienten, die bei starkem klinischen Verdacht histologisch keine sarkoidsetypischen epitheloidzellhaltigen Granulome vorwiesen, wurden aufgrund der nicht zu vernachlässigenden Rate an falsch-negativen Befunden ebenfalls nicht berücksichtigt ( $n = 18$ ). Letztendlich blieben 799 Patienten in der Studie eingeschlossen.

Tab. 3.1: Studienpopulation

		Anzahl	Anteil in %
Geschlecht	w	445	55,7%
	m	354	44,3%
	Gesamt	799	100,0%
Altersgruppe	0-19	6	0,8%
	20-39	110	13,8%
	40-59	287	35,9%
	60-79	338	42,3%
	$\geq 80$	58	7,3%
	Gesamt	799	100,0%
Gewichtsklasse	Untergewicht	18	2,6%
	Normalgewicht	225	32,3%
	Präadipositas	245	35,2%
	Adipositas Grad I	146	21,0%
	Adipositas Grad II	40	5,7%
	Adipositas Grad III	22	3,2%
	Gesamt	696	100,0%
Rauchen	Nichtraucher	574	74,5%
	Ex-Raucher	61	7,9%
	Raucher	135	17,5%
	Gesamt	770	100,0%

Die Ermittlung der zur weiterführenden statistischen Analyse erforderlichen Patientendaten erfolgte per retrospektiver Aktenanamnese. Hierbei waren vor allem die (Verdachts-) Diagnose, Vorerkrankungen, eine mögliche vorangegangene Immunsuppression sowie Alter,

Geschlecht und der Body-Mass-Index (BMI) von Belang. Weiterhin erfolgte die Durchsicht von radiologischen (insbesondere Thoraxröntgen- und CT-Bildern) und histologischen Befunden, sofern durchgeführt. Tabelle 3.1 zeigt die genaue Zusammensetzung des Patientengruppe nach Geschlecht, Altersgruppe, Gewicht und Nikotinkonsum. Insbesondere die Raucheranamnese spielt im Zusammenhang mit zytologischen Untersuchungen der Bronchialflüssigkeit eine wichtige Rolle, da bei Rauchern im Vergleich zu Nichtrauchern eine veränderte Zellzusammensetzung, vor allem mit erhöhtem Makrophagenanteil, zu erwarten ist [46]. Beeinflussungen von anderen Zellpopulationen, wie den Lymphozyten, werden aufgrund dieser nachgewiesenen Effekte vom Nikotinkonsum auf pulmonale Zellen durchaus wahrscheinlich.

## 3.2 Diagnostische bronchoalveoläre Lavage

### 3.2.1 Definition und Indikation

Die diagnostische bronchoalveoläre Lavage (BAL) ist ein im heutigen klinischen Alltag etabliertes bronchoskopisches Verfahren zur genaueren Beurteilung der Flüssigkeits- und Zellzusammensetzung der terminalen Bronchien und Alveolen. Die Indikationen sind breit gefächert und reichen von einer spezifischen Erregerbestimmung bei Verdacht auf Pneumonie bis hin zur Zellgewinnung bei malignen Veränderungen [47]. Die häufigsten Ziele sind die Diagnostik, Differentialdiagnostik oder Aktivitätsbeurteilung interstitieller Lungenerkrankungen [48]. Da auch bei unauffälligem Röntgenbild interstitielle Lungenveränderungen nicht auszuschließen sind, ist bei bestehendem klinischem Verdacht (siehe 1.2.2) die Durchführung einer BAL ebenfalls indiziert [47].

### 3.2.2 Risiken und Kontraindikationen

Die Komplikationsrate ist mit bis zu etwa 2,3% als gering einzuschätzen [49]. Fieber, meist unklarer Genese in den ersten 24 Stunden, passagere segmentale Infiltrate, Bronchospasmen sowie eine vorübergehende Reduktion der Lungenfunktionsparameter entsprechen hierbei den häufigsten Veränderungen. Seltener kommt es zu Hämorrhagien, insbesondere bei Patienten mit Thrombozytopenien oder Verbrauchskoagulopathien [47, 50]. Risikofaktoren bzw. relative Kontraindikationen sind eine fortgeschrittene respiratorische Insuffizienz, eine FEV1 unter 30%, kardiopulmonale Instabilität, eine Prothrombinzeit unter 50%, eine Thrombozytenzahl unter 20.000/ml, und eine bronchiale Hyperreaktivität [47, 51].

### 3.2.3 Durchführung

Die Durchführung der diagnostischen bronchoalveolären Lavage erfolgt mithilfe eines flexiblen Fiberbronchoskops in Lokalanästhesie standardmäßig im Mittellappen oder der Lingula, da dann aus technischen und anatomischen Gründen die Positionierung der Bronchoskopspitze am einfachsten und der Rückgewinn an Flüssigkeit am größten ist [47, 48]. Bei lokalisierten Befunden erfolgt die BAL in den betroffenen Segmenten.

Die Spitze des Bronchoskops wird nach peripher eingeführt, bis sie das Bronchiallumen gänzlich abdichtet. Diese Position wird als "Wedge-Position" bezeichnet [51]. Anschließend

wird mehrfach eine körperwarme, isotope Kochsalzlösung instilliert und sofort reaspiert. Zur Vermeidung eines Bronchialkollapses ist eine vorsichtige Durchführung unter optischer Kontrolle notwendig. Die Aspiration kann hierbei per Hand oder mittels einer maschinellen Saugvorrichtung erfolgen. Die maximale Gesamtmenge an Instillationsvolumen sollte etwa zwischen 100 und 300 ml betragen. Die Anzahl und das Volumen der Einzelfraktionen variieren hierbei je nach Labor zwischen 3 bis 5 Fraktionen von meist 20 bis 50 ml Größe [48, 51]. Zu beachten ist, dass die erste zurückgewonnene Fraktion im Normalfall eine geringere Zellzahl beinhaltet, da sie durch die Tatsache, dass die erste Instillation meist die Alveolen nicht erreicht, einen verhältnismäßig erhöhten Anteil an bronchialen Epithelzellen enthält. Insbesondere bei der Diagnostik von Asthma oder einer Bronchitis spielt dies eine Rolle [47].

Etwa 40-70% des instillierten Volumens können im Regelfall reaspiert werden, wobei die Zahlen je nach Rauchgewohnheiten und Art der Erkrankung variieren. Werte unter 30% sind gehäuft bei Patienten mit obstruktiver Lungenerkrankung oder Lungenemphysem zu finden [47].

### 3.2.4 Aufbereitung im Labor

Die Aufbereitung im durchflusszytometrischen Labor beginnt mit der Filtration der BAL-Flüssigkeit (BALF) durch Mullgewebe zur Säuberung von groben Schleimbestandteilen mit anschließender Zentrifugation bei 4°C zur Trennung der Zellen von flüssigen Bestandteilen. Die nachfolgende Zellzahlbestimmung erfolgt mittels einer Neubauer-Zählkammer. Die Angabe erfolgt in Konzentration von Zellen pro Milliliter Lavageflüssigkeit. Weiterführend können nun gefärbte Zellausstriche zur mikroskopischen Zelldifferenzierung (z.B. May-Grünwald-Giemsa-Färbung, Pappenheim-Färbung) angefertigt werden sowie durchflusszytometrische Bestimmungen von Lymphozytensubpopulationen erfolgen [22].

### 3.2.5 Normwerte

Die in dieser Arbeit verwendeten Normwerte entstammen dem Institut für medizinische Immunologie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg [22] (vgl. Tabelle 3.2).

Tab. 3.2: Referenzwerte der BAL

Differentialzytogramm	Nichtraucher	
Alveolarmakrophagen	> 84%	
Lymphozyten	< 15%	
Segmentkernige GZ	< 3%	
Basophile GZ	< 0,5%	
Eosinophile GZ	< 0,5%	
Mastzellen	< 0,5%	
Zellzahl	1 – 10 * 10 <sup>6</sup> / 100 ml	
Immunzytologie	Nichtraucher	Raucher
B-Lymphozyten	< 4%	< 4%
T-Lymphozyten	63 – 83%	63 – 83%
CD4+ T-Zellen	40 – 70%	20 – 50%
CD8+ T-Zellen	20 – 40%	30 – 70%
CD4/CD8-Ratio	1,1 – 3,5%	0,5 – 1,5%
NK-Zellen	2 – 14%	1 – 11%

### 3.3 Durchflusszytometrie

#### 3.3.1 Definition und Indikation

Die spezifischere Untersuchung der Zellzusammensetzung der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit erfolgt mittels einer durchflusszytometrischen Analyse.

Die Durchflusszytometrie ist eine Methode zur Bestimmung von Oberflächenantigenen, intrazellulären Proteinen und DNA bei Zellen in Suspension aufgrund deren Streulicht- und Fluoreszenzeigenschaften. Die Indikationen werden aus vielen verschiedenen Fachrichtungen gestellt und sind auch klinisch vielfältig. Insbesondere hämatologische und immunologische Erkrankungen wie beispielsweise Leukämien, Lymphome, HIV, Sarkoidose und die Exogen-allergische Alveolitis (EAA) bedürfen einer genaueren Zelldifferenzierung [52].

#### 3.3.2 Funktionsweise

Die Funktionsweise des Durchflusszytometers beruht auf dem Nachweis von Lichtemissionen einzelner bewegter Partikel [53]. Die zu untersuchende Zellsuspension wird so fokussiert, dass die Zellen einen oder mehrere orthogonal positionierte Laserstrahlen einzeln passieren [54]. Umliegende Detektoren erfassen das dabei entstehende Streu- oder Fluoreszenzlicht. Seitwärtsstreulicht korreliert dabei mit der Zellgranularität, Vorwärtsstreulicht mit dem Zellvolumen (zum Aufbau siehe Abb. 3.1).

Zur Zelldifferenzierung nach Oberflächenantigenen werden spezifische Antikörper fluoreszenzmarkiert zur Zellsuspension hinzugegeben. Bei Passage eines Laserstrahls mit der passenden Wellenlänge wird der entsprechende Fluoreszenzfarbstoff angeregt und führt zur messbaren Emission von Licht. Durch den simultanen Einsatz von verschiedenfarbigen Lasern oder unterschiedlichen Farbstoffen lassen sich so multiple Marker in einer Messung nachweisen [53, 54].

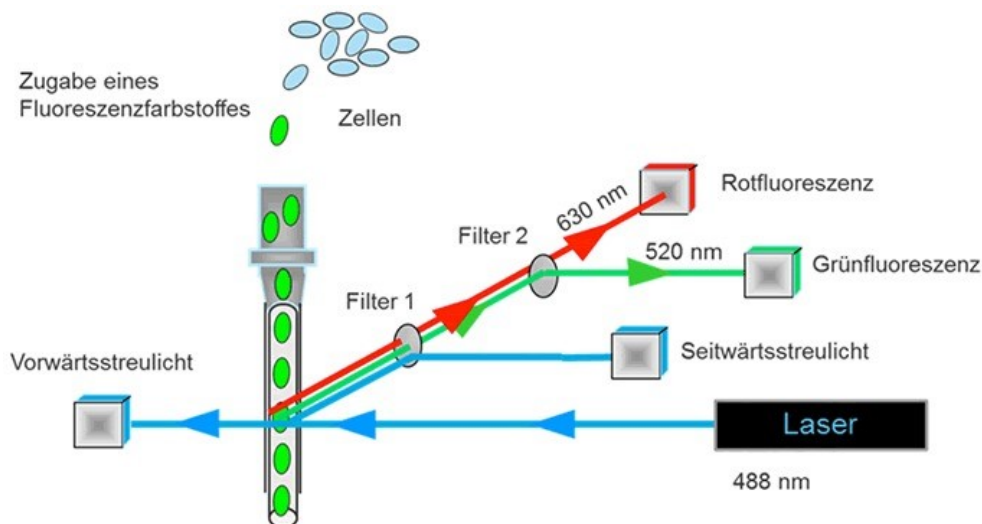


Abb. 3.1: Prinzip der Durchflusszytometrie [55]

### 3.3.3 Verwendete Antikörper und Fluoreszenzfarbstoffe

Tab. 3.3: Antikörper und Antikörperkombinationen

AK-Klon	Zielantigen(e)	Fluoreszenzfarbstoff	Hersteller
SK7	CD3	PE	BD *
MT466	CD4	APC	Miltenyi
Ber-ATC8	CD103	FITC	Dako
SK3/SK7/SK1/2D1	CD3/CD8/CD45/CD4	FITC/PE/PerCP/APC	Exbio
UCHT1/3G8/LT56/ MEM-28/LT19	CD3/CD16+56/CD45/CD19	FITC/PE/PerCP/APC	Exbio
-	DNA	7-AAD	BD *

\* BD = Becton-Dickinson

### 3.4 Datenanalyse mittels SPSS

Die Tabellarisierung und weitere Analyse der gesammelten Patientendaten erfolgte mithilfe des Statistikprogramms IBM SPSS Statistics (Statistical Package for the Social Sciences). Es erlaubt die Datengruppierung nach eigens definierbaren Variablen und die Durchführung deskriptiver Statistiken, explorativer Datenanalyse sowie mathematischer Statistiken [56]. Die Tabellen und Grafiken des Ergebnisteils entstammen ausnahmslos aus SPSS-Analysen. Eine begleitende statistische Beratung zur Qualitätssicherung erfolgte durch das Institut für medizinische Epidemiologie, Biometrie und Informatik der Universität Halle.

### 3.5 Gütekriterien diagnostischer Verfahren

Aufgrund der weitreichenden therapeutischen Konsequenzen, die aus medizinischen diagnostischen Verfahren resultieren, sind Kriterien zur Abschätzung der Testgüte und der daraus folgenden Vorhersagekraft zwingend notwendig. Typischerweise ermisst sich die Güte bei Tests mit dichotomen Ergebnissen an Sensitivität, Spezifität sowie positivem und negativem prädiktiven Wert [57].

Sensitivität und Spezifität gehen vom Vorhandensein der untersuchten Erkrankung aus und quantifizieren die Fähigkeit des Tests, diese zu erkennen bzw. auszuschließen [58].

Die Sensitivität beschreibt dabei den Anteil an kranken Patienten, ( $A + C$ ), der vom Test richtig als positiv, ( $A$ ), erkannt wurde. Rechnerisch:  $A/(A + C)$  (siehe Abbildung 3.2).

Die Spezifität hingegen gibt den Anteil an nicht-erkrankten Patienten, ( $B + D$ ), an, welche richtig als negativ, ( $D$ ), identifiziert wurden. Rechnerisch:  $D/(B + D)$  (siehe Abbildung 3.2) [57, 58].

Die positiv und negativ prädiktiven Werte (PPV und NPV, siehe Abb. 3.2) gehen hingegen von einem klinisch häufigeren Szenario aus: dem Vorliegen des Testergebnisses ohne genaue Kenntnis des Krankheitszustandes, und beschreiben die Wahrscheinlichkeit des tatsächlichen Vorliegens bzw. Nicht-Vorliegens der jeweiligen Erkrankung in Abhängigkeit vom Testergebnis. Hierbei wird der Anteil an positiv getesteten, ( $A + B$ ), bzw. negativ getesteten, ( $C + D$ ), Patienten durch die Zahl der richtig positiven, ( $A$ ), bzw. richtig negativen, ( $D$ ), geteilt (siehe 3.2:  $A/(A + B)$  und  $D/(C + D)$ ) [57].

	krank	nicht-krank	
Test positiv	A richtig positiv	B falsch positiv	Positiv prädiktiver Wert: $A / (A + B)$
Test negativ	C falsch negativ	D richtig negativ	Negativ prädiktiver Wert $D / (C + D)$
	Sensitivität $A / (A + C)$	Spezifität $D / (B + D)$	

Abb. 3.2: Gütekriterien [59]

Ein weiterer wichtiger Wert ist die sogenannte Vortestwahrscheinlichkeit. Diese ist eine Art an die Testpopulation angepasste Prävalenz. Im Normalfall ist vor der Durchführung eines Tests die Wahrscheinlichkeit des Vorliegens der zu prüfenden Erkrankung aufgrund einer vorliegenden Symptomatik, der Zugehörigkeit zu einer Hochrisikogruppe oder vielen anderen Faktoren viel höher, als in der Gesamtbevölkerung. Diese Wahrscheinlichkeit die gesuchte Erkrankung innerhalb der getesteten Gruppe zu haben, wird als Vortestwahrscheinlichkeit bezeichnet und liegt meist deutlich über der Prävalenz und hängt stark vom Anwendungsbereich des Tests ab. Während die Sensitivität und Spezifität von der Vortestwahrscheinlichkeit unbeeinflusst bleiben, sind die prädiktiven Werte stark von ihr abhängig [60].

Suchtests, also Screeningtests, weisen bei einer sehr niedrigen Vortestwahrscheinlichkeit einen sehr niedrigen positiv prädiktiven Wert auf. Der Großteil der positiv getesteten Fälle ist falsch-positiv. Aus diesem Grund folgt auf einen positiven Screeningtest meist ein Bestätigungstest. Dieser kann bei einer deutlich höheren Vortestwahrscheinlichkeit deutlich bessere positiv prädiktive Werte erreichen. Deshalb wird bei Suchtests eine hohe Sensitivität (Einschluss möglichst vieler Kranker) und bei Bestätigungstests eine hohe Spezifität (Ausschluss möglichst vieler Gesunder) gefordert [57].

### 3.6 Mann-Whitney U-Test

Um zu überprüfen, ob sich die zentralen Tendenzen zweier unabhängiger Stichproben untereinander unterscheiden, bieten sich abhängig von den zu untersuchenden Populationen verschiedene statistische Tests an. Für die Verwendung des klassischen t-Tests für unabhängige Stichproben müssen einige Voraussetzungen erfüllt sein: mindestens intervallskalierte Variablen, annähernde Normalverteilungen und eine Varianzgleichheit [61]. Bei nicht-Erfüllung der Bedingungen zur Anwendung des T-Tests, wird die Durchführung von sogenannten nicht-parametrischen Tests zur Bestimmung von signifikanten Wertunterschieden zwischen einzelnen Gruppen notwendig. Für zwei voneinander unabhängige Gruppen empfiehlt sich dabei der sogenannte Mann-Whitney U-Test [62].

Die Nullhypothese des U-Tests geht dabei von der Abstammung der Gruppen aus der gleichen Population, oder anders gesagt der Homogenität der Gruppen mit gleicher Verteilung, aus [63]. Das Prinzip beruht dabei auf der Ordnung der Werte in aufsteigender

Reihenfolge und anschließender Zuordnung von Rangnummern. Aus der für jede Gruppe errechneten Rangsumme erfolgt schließlich die Bestimmung des sogenannten U-Wertes [64]. Die Ausgabe bei SPSS zeigt dabei die abzulehnende Nullhypothese mit dazugehöriger Signifikanz sowie der daraus resultierenden Entscheidung diese abzulehnen oder anzunehmen [65]. Zum genauen Verständnis des mathematischen Vorgehens empfehlen sich die angegebenen Literaturquellen.

## 3.7 ROC-Kurven

### 3.7.1 Definition und Anwendung

Receiver Operating Characteristics (ROC) Kurven dienen in der medizinischen Statistik zur graphischen Darstellung der Genauigkeit diagnostischer Tests und Untersuchungen [66]. Die Bestimmung der bestmöglichen Cut-Off-Werte von Laborparametern ist dabei eine klinisch höchst relevante Methode [67]. Zu beachten ist, dass hierbei nur zwischen zwei Klassen (meist Positiv/Negativ, krank/nicht-krank) differenziert werden kann [68].

### 3.7.2 Berechnung, Darstellung und Interpretation

Die graphische Darstellung der ROC-Kurve erfolgt mithilfe der Berechnung von Sensitivität (richtig-positiv-Rate) und der falsch-positiv-Rate als 1 minus der Spezifität (siehe 3.5) für jeden angenommenen Grenzwert des zu betrachtenden (Labor-)Parameters [68]. In einem Diagramm wird die jeweils errechnete Sensitivität auf der Y-Achse und die falsch-positiv-Rate auf der X-Achse von 0 bis 1 (bzw. 0 bis 100%) aufgetragen (siehe Abbildung 3.3) [68].

Die linke untere Ecke entspricht dem höchstmöglichen Cut-Off-Wert, da hierbei alle Tests als negativ interpretiert und folglich keine falsch-positiven Ergebnisse zu erwarten sind. Bei sinkendem cut-off steigen die Sensitivität sowie die falsch-positiv-Rate an. Die rechte obere Ecke bildet abschließend den niedrigstmöglichen Wert ab [67]. Ein unfehlbarer Test würde durch die linke obere Ecke, entsprechend einer Sensitivität und Spezifität von 100%, verlaufen. Ein gerader Verlauf von der linken unteren in die rechte obere Ecke wiederum entspräche einem Test ohne diagnostische Relevanz, wie bei einem Münzwurf.

Daraus folgt, dass die Aussagekraft ansteigt, je kleiner der Abstand des nächstliegenden Punktes zur linken oberen Ecke wird. Die Fläche unterhalb der Kurve, AUC (= area under curve), stellt dabei ein Maß für die grundlegende Qualität des Tests dar und kann Werte zwischen 0 und 1 annehmen. Eine AUC von 0,5 entspricht infolgedessen einem Zufallsergebnis. Je mehr sie sich der 1 annähert, desto sicherer wird die diskriminative Fähigkeit des Tests [67, 68].

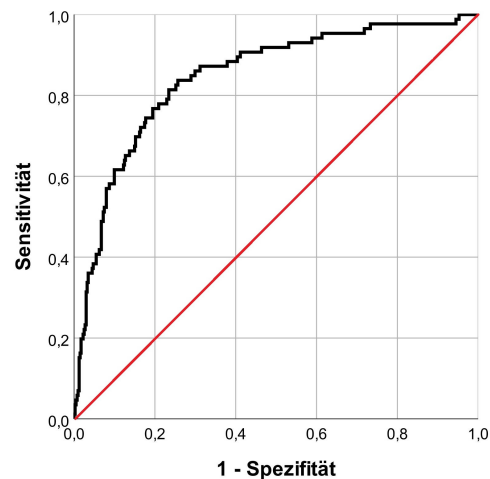


Abb. 3.3: ROC-Kurve (eigene Darstellung)



### 3.7.3 Bestimmung von Cut-Off-Werten

Die Bestimmung der sinnvollsten Cut-Off-Werte erfolgt je nach gewünschter Funktion des Tests. Eine beliebte Methode ist die Bestimmung des Youden-Index [69], welcher sich aus Sensitivität + Spezifität - 1 berechnet und Werte zwischen 1 und -1 annehmen kann. Der Punkt der Kurve mit dem höchsten Youden-Index entspricht im Regelfall dem besten Cut-Off-Wert, wenn von vornherein kein bestimmtes Gütekriterium bevorzugt wird [68]. In den Arbeiten von Heron et al., Mota et al. und Hyldgaard et al. entsprach der Cut-Off-Wert dem Punkt an dem die Sensitivität und Spezifität sich in etwa gleichen. Damit wird vermieden, dass der entsprechende Test in einem der Bereiche zu schlecht abschneidet [24, 25, 44].

## 4 Ergebnisse

Die Ergebnisdaten entstammen durchweg aus den Berechnungen des Statistikprogramms SPSS.

Alle im weiteren Verlauf abgebildeten Boxplots folgen dem gleichen Schema. Der schwarze Strich entspricht dem Median und die Box dem Bereich, in dem 50% der Daten liegen. Die Distanz zwischen dem oberen und unteren Quartil (die Länge der Box) wird dabei als Interquartilabstand (Interquartile Range = IQR) bezeichnet. Die maximale Länge der Whiskers ist auf den 1,5-fachen IQR in jeder Richtung beschränkt. Ausreißer zwischen dem 1,5- und 3-fachen IQR werden mit Kreisen, extreme Ausreißer über 3-fachem IQR mit Sternchen gekennzeichnet [70, 71].

Da nicht bei jedem Patienten alle Werte und Informationen vorlagen, resultierten daraus bei einigen Analysen geringfügig niedrigere Fallzahlen. Diese Abweichungen werden wegen ihres geringen Einflusses nicht explizit genannt und zeigen sich in den entsprechenden Tabellen in den betroffenen Gruppen.

Wichtig zu beachten ist die geringe Zahl an Patienten in einigen Gruppen, die teils unter 10 Patienten liegt. Obwohl sich aus solchen Zahlen keine allgemeingültigen Ergebnisse formulieren lassen, können entstehende Vermutungen durch festgestellte Tendenzen dennoch relevant sein. Zur besseren Einschätzung der Aussagekraft der Ergebnisse werden deshalb immer die entsprechenden Fallzahlen genannt.

Ebenso muss erwähnt werden, dass die Bezeichnungen der Gruppen sich auf die gestellten Diagnosen beziehen und nicht zwingend der Realität entsprechen. Da die Diagnose-sicherheit nie 100% beträgt, können, wenn von Nicht-Sarkoidosen die Rede ist, durchaus Patienten mit nicht-diagnostizierter Sarkoidose in der Gruppe vorliegen. Der Einfachheit halber wird in der vorliegenden Arbeit aber die gestellte Diagnose mit der vorliegenden Erkrankung gleichgesetzt.

### 4.1 Einteilung in Erkrankungsgruppen

Der erste Schritt der Datenanalyse erforderte die Erfassung der verschiedenen Erkrankungen und deren Häufigkeit innerhalb einer Studienpopulation von 799 Patienten (siehe 3.1). Die Unterteilung nach Diagnosen erfolgte zunächst grob in:

- Keine interstitielle Lungenerkrankung (keine ILD) ( $n = 351$ )
- Sarkoidose ( $n = 214$ )
- Lungenfibrose ( $n = 67$ )
- Andere interstitielle Lungenerkrankungen als Sarkoidose/Lungenfibrose (andere ILD) ( $n = 167$ )

(siehe Tabelle 4.1).

Bei den insgesamt 799 Patienten, mit einem Durchschnittsalter von  $58 \pm 16$  Jahren (siehe Tabelle 3.1), ließen sich 343 Fälle mit einer interstitiellen Lungenerkrankung (ILD) ( $60,4 \pm 14,7$  Jahre) nachweisen. Mit einem Anteil von 16,7% (101 Fälle) aller Patienten bildet die Gruppe an klinisch diagnostizierten Sarkoidosen den Großteil der ILDs. Hinzu kommen

80 Fälle mit aktuell nicht bestätigtem Verdacht einer vorliegenden Sarkoidose, weiteren 10% entsprechend. Ein Großteil der Sarkoidosediagnosen wurde wegen der Invasivität einer histologischen Untersuchung rein klinisch und labormedizinisch gestellt, jedoch lässt sich ohne Nachweis nicht-verkäsender Granulome im Gewebepräparat keine gänzlich gesicherte Diagnose stellen, diese Gruppe wird im folgenden als klinisch gesicherte Sarkoidose bezeichnet. Aufgrund dieser Problematik erfolgte die weitere Unterscheidung in:

- Sarkoidose, Verdacht ( $n = 80$ )
- Sarkoidose, klinische Diagnose ( $n = 101$ )
- Sarkoidose, histologisch gesichert ( $n = 33$ )

(vgl. Tabelle 4.1). Diese Differenzierung entspricht der jeweiligen Arbeitsdiagnose der einweisenden Klinik. Eine Einteilung in akute bzw. chronische Sarkoidose wurde wegen der aktenanamnestisch meist nicht dokumentierten Trennung nicht durchgeführt.

Eine genaue Differenzierung der Lungenfibrosen war aufgrund der zumeist nicht genau erkennbaren Genese häufig nicht möglich. Diese Tatsache erschwerte die Analyse der Fälle mit unklarer Genese außerordentlich, da zu vermuten ist, dass die gemeinsame Endstrecke in Form der fortschreitenden Fibrosierung je nach Ursache eine unterschiedliche, eventuell auch sehr krankheitsspezifische, Zellzusammensetzung besitzt. Die in der vorliegenden Arbeit vorgenommene Unterteilung entspricht den aktenanamnestisch beschriebenen Klassen UIP (Usual Interstitial Pneumonia), NSIP (Non Specific Interstitial Pneumonia) und CPFE (Combined Pulmonary Fibrosis and Emphysema; siehe Abschnitt 1.1. Die meisten Fibrosepatienten blieben jedoch unklassifiziert (Tabelle 4.1).

Tab. 4.1: Diagnosen

Diagnosen		Anzahl	Anteil	
Keine ILD	Gesamt	351	43,9%	
	Lungenfibrose	nicht näher klassifiziert	45	5,6%
		UIP	14	1,8%
		NSIP	7	0,9%
		CPFE	1	0,1%
		Gesamt	67	8,4%
	Sarkoidose	Histologisch gesichert	33	4,1%
		Klinische Diagnose	101	12,6%
		Klinischer Verdacht	80	10,0%
		Gesamt	214	26,7%
Andere ILD	ILD, nicht klassifiziert	11	1,4%	
	Alveolitis, nicht näher definiert	13	1,6%	
	Lymphozyt. Alveolitis unkl. Ursache	118	14,8%	
	COP	8	1,0%	
	Eosinophilie	5	0,7%	
	EAA	10	1,3%	
	Asbestose	2	0,3%	
	Gesamt	167	21%	
	Gesamt		799	100%

Die genaue Zusammensetzung der anderen ILDs wird in Tabelle 4.1 gezeigt, wobei aus der starken Heterogenität der Krankheitsgruppen mit vielen unterschiedlichen Krankheitsbildern sehr niedrige einzelne Fallzahlen resultieren.

Aufgrund der häufig nicht klar zu bestimmenden Ursache oder zum Zeitpunkt der Anamnese nicht ausreichend fortgeschrittenen Diagnostik wurden Patienten ohne feste Arbeitsdiagnose und mit einer Lymphozytose  $> 20\%$  der unspezifischen Gruppe der lymphozytären Alveolitis zugeordnet.

## 4.2 Einschätzung der Sarkoidoseaktivität

Aufgrund der stark heterogenen Symptomatik mit unterschiedlichen labor- und radiologisch-diagnostischen Ausprägungen der Sarkoidose erfolgte die genauere Betrachtung der Verteilung der Sarkoidosepatienten in Abhängigkeit von den Ergebnissen der durchgeführten Diagnostik.

Die Analyse der CT- und Röntgenbefunde, wichtigen Bestandteilen der Sarkoidosedagnostik (siehe 4.1), zielte insbesondere auf die Einordnung in die verschiedenen radiologischen Erkrankungsstadien ab (siehe Graphik 1.2). Zu beachten ist hierbei, dass Patienten mit dem Befund der Lungenfibrose, wenn keine eindeutige Diagnose als Sarkoidose des Stadiums IV vorliegt, als Fibrose unklarer Genese behandelt wurden. Weiterhin lagen bei einigen Patienten unspezifisch als "sarkoidosetypisch" bezeichnete Veränderungen vor, welche keine genaue Stadienzuordnung zuließen (unklares Stadium). Weitere Befunde, wie unspezifische Lymphknotenschwellungen und unklare interstitielle Zeichnungsvermehrungen ohne sicheren Zusammenhang mit Sarkoidose, wurden zusätzlich abgegrenzt.

Von insgesamt bei 126 Patienten durchgeführten radiologischen Untersuchungen unter Sarkoidoseverdacht, ließen sich nur bei 39 Patienten sarkoidosetypische Befunde nachweisen während 52 keinerlei Pathologien zeigten. In 25 Fällen ergaben sich nicht klar einer Erkrankung zuzuordnende Veränderungen. Zur genauen Einteilung und Verteilung der Befunde siehe Tabelle 4.2.

Tab. 4.2: Radiologische Befunde bei Patienten mit Sarkoidose / Sarkoidoseverdacht

Radiologie	Sarkoidose gesamt	Histologisch gesichert	Klinische Diagnose	Klinischer Verdacht
nicht Vorhanden	88	5	39	44
Unauffällig	52	2	30	20
Unklares Stadium	9	3	5	1
Stadium 0	3	1	1	1
Stadium I	17	12	4	1
Stadium II	7	3	3	1
Stadium III	3	1	1	1
interstit. ZVM *	4	0	2	2
LKS **	14	6	2	6
geringgrad. Fibrose	7	0	7	0
Sonstiges	10	0	7	3
Gesamt	214	33	101	80

\* ZVM = Zeichnungsvermehrung

\*\* LKS = Lymphknotenschwellung

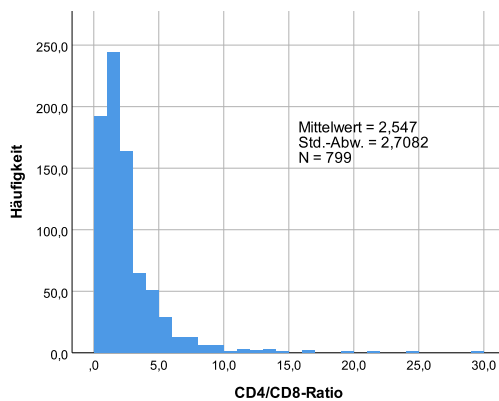
Als nächster Schritt erfolgte die Betrachtung der CD4/CD8-Quotienten in Abhängigkeit vom Vorliegen einer Sarkoidose sowie die Verteilung der einzelnen Werte innerhalb der Sarkoidosegruppen.

Hierbei zeigte sich, dass die CD4/CD8-Werte bei Patienten ohne ILD mit einem Median von 1,4 (IQR 1,4) und Patienten mit anderen ILDs mit einem Median von 1,5 (IQR 1,7) deutlich unterhalb der CD4/CD8-Werte von Sarkoidosepatienten liegen. Der höchste Median wurde mit 4,1 (IQR 3,0) in der Gruppe der klinisch diagnostizierten Sarkoidosen erreicht. Die histologisch gesicherten Diagnosen zeigten sich im Median von 3,6 etwas weniger erhöht, jedoch mit einem großen IQR von 5,2, entsprechend einer großen Wertestreuung insbesondere in positiver Richtung (vgl. Tab. 4.3). Die Verteilungen der Werte aller Patienten (siehe Abb. 4.1 links) sowie nur solcher mit histologisch oder klinisch gesicherter Sarkoidose (siehe Abb. 4.1 rechts) zeigte sich erwartungsgemäß rechtsschief, wobei insbesondere bei den Sarkoidosepatienten teilweise massiv erhöhte Werte, bis zu einem Quotienten von 30 auftraten.

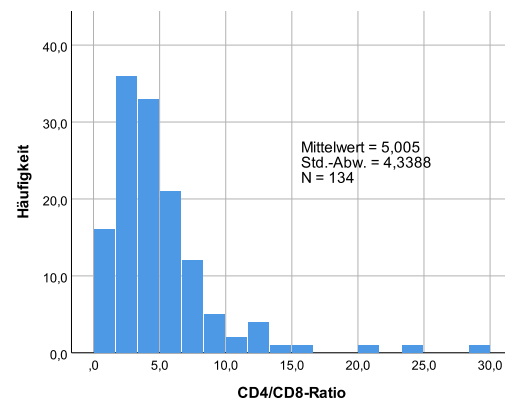
Tab. 4.3: Median der CD4/CD8-Ratio

Sarkoidose	n	Median	IQR*
Keine ILD	351	1,4	1,3
Histol. Gesichert	33	3,6	5,2
Klin. Diagnose	101	4,1	3,0
Klin. Verdacht	80	3,0	2,3
Andere ILD	234	1,6	1,6

\* IQR = Interquartilabstand



(a) Alle Patienten

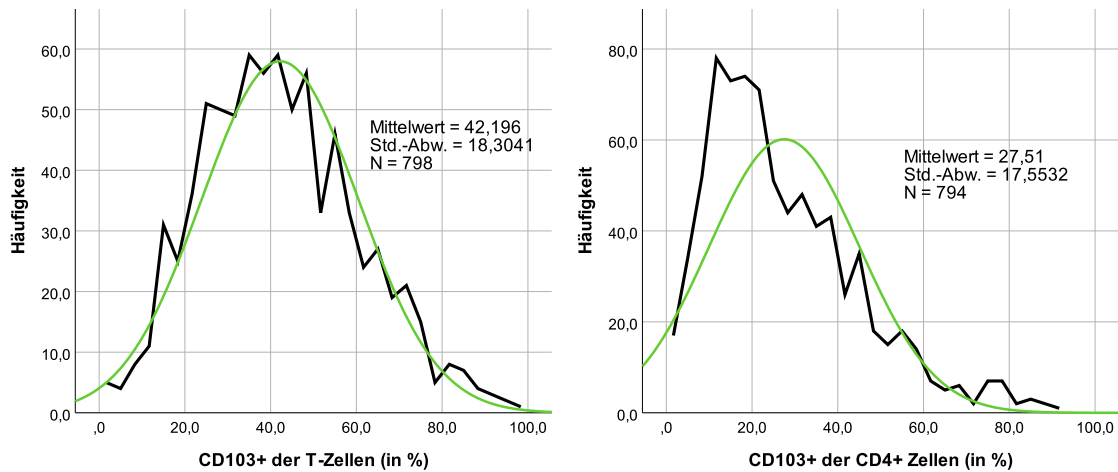


(b) Histologisch und klinisch diagnostizierte Sarkoidose

Abb. 4.1: Verteilung der CD4/CD8-Ratio

### 4.3 Verteilungsmuster der verwendeten CD103-Werte

Die Art der Verteilung der untersuchten CD103-Anteile bestimmt die Anwendbarkeit von Mittelwert oder Median in den folgenden Analysen. Der Mittelwert stellt bei normalverteilten Werten mit wenigen Ausreißern einen guten Lageparameter dar. Bei stark schiefen Verteilungen oder Daten mit einer hohen Zahl stark abweichender Werte empfiehlt sich hingegen die Betrachtung des Medians, welcher robust gegenüber diesen Störungen ist [64]. Die Abbildungen 4.2 und 4.3 bilden dabei (a) die Verteilungen der CD103-positiven Anteile aller T-Zellen, (b) die CD103-positiven Anteile der CD4-Zellen und (c) die CD103CD4/CD4-Ratio ab. Mit einer grünen Linie wurde zusätzlich eine angepasste Normalverteilungskurve dargestellt, um eine abweichende Verteilung festzustellen. Die Darstellung von Mittelwert, Standardabweichung und der Fallzahl erfolgte durch SPSS unabhängig von der sinnvollen Anwendbarkeit des Mittelwertes.



(a) CD103-positive T-Zellen

(b) CD103-positive CD4-Zellen

Abb. 4.2: Verteilungen der CD103-Zellanteile aller Patienten

Da sich die CD103-positiven T-Zellanteile annähernd normalverteilt ohne stark abweichende Werte zeigten, lässt sich der Mittelwert gut anwenden. Bei den CD103-positiven CD4-Zellen weicht die Werteverteilung aufgrund einer Rechtsschiefe von der Normalverteilung ab. Dies zeigt sich in extremerem Ausmaß auch bei der CD103CD4/CD4-Ratio, die in positiver Richtung viele Ausreißer aufweist (wegen der Skalierung lassen sich die Ausreißer zwischen einer Ratio von 2 und 6 schlecht graphisch darstellen). Zur Bestimmung der zentralen Tendenz der beiden Werte (b) und (c) empfiehlt sich somit der Median.

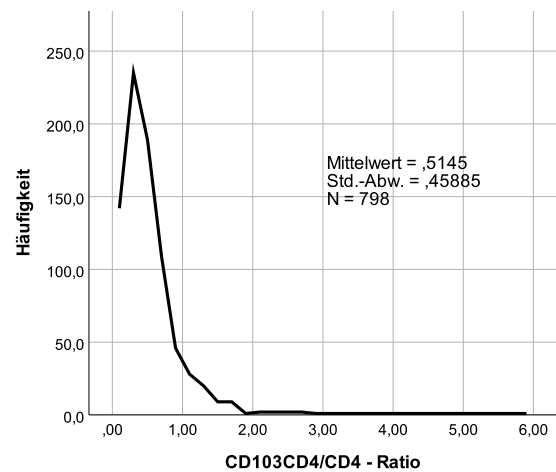


Abb. 4.3: (c) Verteilung der CD103CD4/CD4-Ratio bei Patienten ohne Sarkoidose

Die Beurteilung der Werteverteilung in einzelnen Gruppen ist durch Boxplots ebenfalls unkompliziert möglich. Die Verwendung des Mittelwertes eignet sich grundsätzlich am besten bei Gruppen mit symmetrischen Boxplots ohne Ausreißer, der Median bietet sich bei rechts- oder linksschiefen Boxplots an [64, 71].

In dieser Arbeit werden für alle untersuchten Verteilungen der Immunzellanteile sowohl der Median mit jeweiligem Interquartilabstand (IQR), als auch der Mittelwert mit zugehöriger Standardabweichung angegeben, um eine bessere Vergleichbarkeit zu schaffen.

Tab. 4.4: Verteilung der CD103-Werte

	Median	IQR	Mittelwert	Std.-Abw.
Anteil CD103-positiver T-Zellen (in %)	40,9	26,2	42,3	18,3
Anteil CD103-positiver CD4-Zellen(in %)	23,3	23,2	27,5	17,6
CD103CD4/CD4-Ratio	0,4	0,4	0,5	0,5

Tabelle 4.4 zeigt die entsprechenden Lageparameter für die CD103-Zellanteile, sowie die CD103CD4/CD4-Ratio. Während der Anteil CD103-positiver Zellen an allen T-Zellen im

Mittelwert  $42,3 \pm 18,3\%$  beträgt, liegt der Anteil an CD103-Zellen bei den CD4-Zellen mit einem Median von  $23,3\%$  (IQR: 23,2, Mittelwert:  $27,5 \pm 17,6\%$ ) deutlich niedriger.

## 4.4 Ausschluss von Störfaktoren

Die unerwünschte Beeinflussung der Zielvariablen durch andere Faktoren, sogenannte Störfaktoren oder Confounder, stellt in der Statistik eine nicht zu vernachlässigende Problematik dar. Um das Vorliegen solcher Störungen zu untersuchen, erfolgte der Vergleich der CD103-positiven Zellanteile zwischen den zu prüfenden Gruppen graphisch mittels Boxplots, um durch die geprüfte Variable möglicherweise ausgelöste Wertabweichungen festzustellen.

Besonderes Augenmerk lag hierbei auf dem Rauchverhalten und der medikamentösen Immunsuppression.

### 4.4.1 Einfluss des Rauchverhaltens auf CD103-T-Zellanteile

Die Beeinflussung der Zellzusammensetzung der Lungenflüssigkeit durch das Rauchverhalten ist vor allem in Bezug auf den Makrophagenanteil lange bekannt [72]. Die Untersuchung eines möglichen Einflusses auf die CD103-Zellanteile erscheint damit notwendig, um Verfälschungen der Studienergebnisse zu vermeiden.

Tab. 4.5: Anzahl an Sarkoidosepatienten im Abhängigkeit vom Rauchverhalten

Sarkoidose	Nichtraucher		Ex-Raucher		Raucher	
	Anzahl	Anteil (in%)	Anzahl	Anteil (in%)	Anzahl	Anteil (in%)
Histol. gesichert	24	4,2%	2	3,3%	5	3,7%
Klin. Diagnose	86	15,0%	6	9,8%	8	5,9%
Klin. Verdacht	63	11,0%	2	3,3%	14	10,4%
Sarkoidosen ges.	173	30,1%	10	16,4%	27	20,0%
Keine Sarkoidose	401	69,9%	51	83,6%	108	80,0%
Gesamt	574	100,0%	61	100,0%	135	100,0%

Wie Tabelle 4.5 zeigt, sind die Anteile an Sarkoidosepatienten bei Nichtrauchern, Ex-Rauchern und Rauchern unterschiedlich hoch. Demzufolge würde ein Einfluss des Rauchens auf CD103-Zellen sich nicht durch die gleichmäßige Verteilung auf die einzelnen Rauchergruppen ausgleichen, weil er die Werte jeder Gruppe gleich stark verändern würde und sich somit nicht nachweisen ließe.

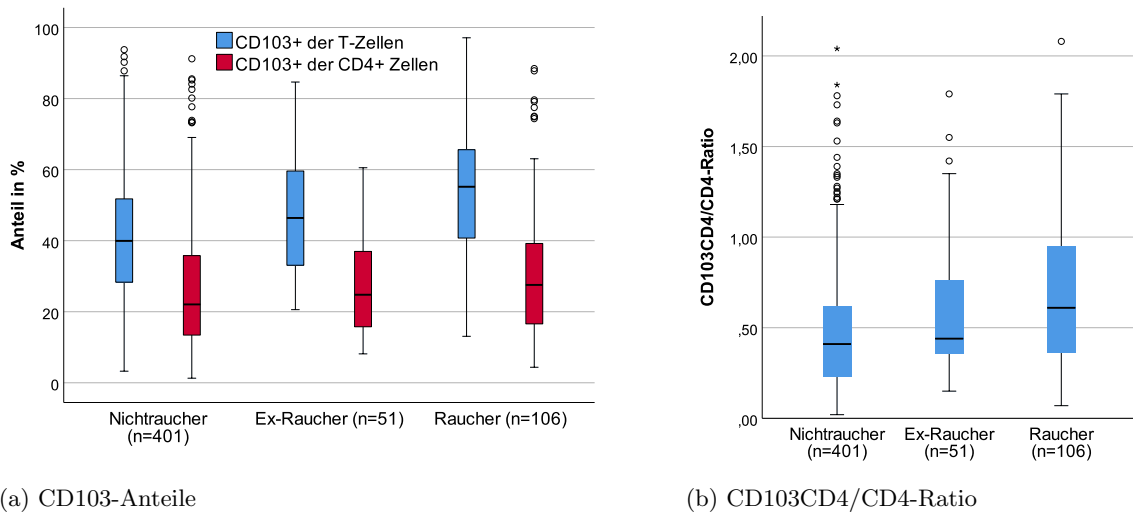


Abb. 4.4: Wertverteilungen in Abhängigkeit vom Rauchverhalten bei Patienten *ohne* Sarkoidose

Aus diesem Grund erfolgte die Darstellung der CD103-positiven Zellanteile unter Ausschluss der an Sarkoidose erkrankten Patienten, um das grundlegende Vorliegen eines derartigen Zusammenhanges beurteilen zu können, ohne durch sarkoidosetypische Veränderungen beeinflusst worden zu sein. Dabei zeigte sich graphisch ein geringfügiges Ansteigen vor allem der CD103-positiven T-Zellen sowie der CD103CD4/CD4-Ratio bei Rauchern (Abb. 4.4). Der Anteil von CD103-positiven Zellen an CD4-Zellen blieb auf den ersten Blick jedoch nahezu unbeeinflusst (siehe Abb. 4.4).

Bei Vergleich der Mediane und Mittelwerte der CD103-Zellanteile im Falle von Nichteinrauchern, Ex-Raucher und Rauchern bestätigt sich der Anstieg bei Nikotinkonsum für alle drei CD103-assoziierten Werte (siehe Tabelle 4.6). Am deutlichsten ist der Einfluss des Rauchens beim Anteil der CD103-positiven T-Zellen und der CD103CD4/CD4-Ratio. Es zeigt sich ein Anstieg von 40% auf 55,2% im Median (von 41,5% auf 53,9% im Mittelwert) bei CD103-positiven -T-Zellen im Vergleich von Nichteinrauchern zu Rauchern, sowie ein Anstieg von 0,39 auf 0,62 im Median (von 0,5 auf 0,78 im Mittelwert) bei der CD103CD4/CD4-Ratio im Vergleich von Nichteinrauchern zu Rauchern. Die CD103-positiven CD4-Zellen weisen bei Rauchern ebenfalls höhere Werte auf, jedoch in geringerem Ausmaß (22,0% zu 27,2% im Median und 26,3% zu 31,2% im Mittelwert).

Diese teils deutliche Erhöhung bei Nikotinkonsum kann bei der klinischen Anwendung der Werte eine wichtige Rolle spielen. Inwieweit die diagnostische Wertigkeit dieser Marker vom Rauchverhalten beeinflusst wird, soll in Abschnitt 4.6.1 untersucht werden.

#### 4.4.2 Einfluss der Immunsuppression auf CD103-Zellanteile

Die Immunsuppression spielt bei vielen der in der Studienpopulation vorliegenden Erkrankungen, vor allem der Sarkoidose, therapeutisch eine zentrale Rolle [1, 73]. Da bei solchen Therapien Veränderungen der Immunzellanteile zu erwarten sind, ist ein Einfluss der Immunsuppression auf die CD103-Zellanteile der BAL zu vermuten. Vor allem bei der Corticosteroidtherapie, die den ersten Behandlungsschritt der symptomatischen Sarkoidose darstellt [1], sind eine Neutrophilie mit Abnahme der eosinophilen und basophilen Granulozyten und eine Lymphozytopenie bekannte Wirkungen auf zelluläre Blutbestandteile [74]. Aufgrund der sehr patientenspezifischen Durchführung der immunsuppressi-



Tab. 4.6: Lageparameter der CD103-Werte in Abhängigkeit vom Rauchverhalten

	CD 103+ aller T-Zellen (in %)				
	Anzahl	Median	IQR	Mittelw.	Std.-abw.
Nichtraucher	401	40,0	23,6	41,5	17,4
Ex-Raucher	51	46,4	27,2	48,3	16,3
Raucher	108	55,2	24,9	53,9	18,4
Gesamt	560	43,3	25,5	44,5	18,2
	CD 103+ der CD4+ (in %)				
	Anzahl	Median	IQR	Mittelw.	Std.-abw.
Nichtraucher	401	22,0	22,8	26,3	17,0
Ex-Raucher	51	24,8	22,5	28,0	14,9
Raucher	108	27,6	23,3	31,2	19,5
Gesamt	560	23,3	22,7	27,4	17,4
	CD 103CD4/CD4				
	Anzahl	Median	IQR	Mittelw.	Std.-abw.
Nichtraucher	401	0,41	0,39	0,50	0,44
Ex-Raucher	51	0,44	0,43	0,60	0,38
Raucher	108	0,61	0,62	0,78	0,67
Gesamt	560	0,44	0,43	0,56	0,50

ven Therapie war eine Unterteilung in grundlegende Therapieschemata notwendig, um grundsätzlich einen Einfluss zu untersuchen. Es erfolgte die Einteilung in 4 Gruppen:

- Keine Immunsuppression ( $n = 575$ )
- Glucocorticoidtherapie ( $n = 112$ )
- Nicht-kortikosteroid-Immunsuppressiva (Ciclosporin A, Azathioprin, MTX) ( $n = 13$ )
- Kombination aus Glucocorticoiden und Nicht-kortikosteroid-Immunsuppressiva ( $n = 16$ )

Tabelle 4.7 zeigt dabei die Verteilung der Immunsuppressionstherapien auf Sarkoidose- und Nicht-Sarkoidosepatienten. Dabei zeigte sich, dass etwa 24% der Sarkoidosepatienten und sogar ca. 30% der Studienpatienten mit anderen interstitiellen Lungenerkrankungen eine Form der immunsuppressiven Therapie erhielten.

Tab. 4.7: Immunsuppression in Abhängigkeit von der Erkrankung

Immunsupp.	Keine ILD		Sarkoidose		Sarkoidose Vd.		Andere ILD	
	Anzahl	Anteil	Anzahl	Anteil	Anzahl	Anteil	Anzahl	Anteil
Keine	275	87,0%	88	75,9%	59	89,4%	153	70,2%
Glucocorticoide	32	10,1%	19	16,4%	7	10,6%	54	24,8%
Anderes	4	1,3%	4	3,4%	0	0,0%	5	2,3%
Kombination	5	1,6%	5	4,3%	0	0,0%	6	2,8%
Gesamt	316	100,0%	116	100,0%	66	100,0%	218	100,0%

Um die in Abschnitt 4.4.1 erwähnte Beeinflussung durch ungleiche Patientenverteilung zu verringern, wurden die Sarkoidosepatienten auch in diesem Fall von den im folgenden beschriebenen Analysen ausgeschlossen.

Nach graphischer Darstellung der Verteilungen der CD103-Zellanteile bzw. der CD103CD4/CD4-Ratio in Abhängigkeit von der immunsuppressiven Therapie lässt sich kein Einfluss auf die Zellzusammensetzung vermuten (Abb. 4.5).

## 4 Ergebnisse

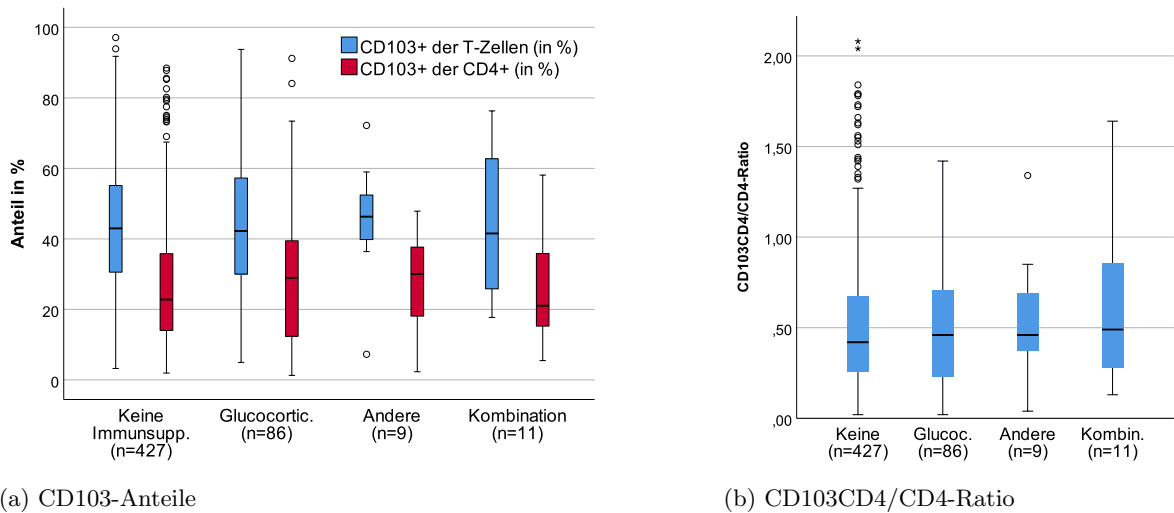


Abb. 4.5: Werteverteilungen in Abhängigkeit von der immunsuppressiven Therapie

Tab. 4.8: Lageparameter je nach immunsuppressiver Therapie

	Anzahl	CD103+ der T-Zellen (in %)			
		Median	IQR	Mittelw.	Std.-abw.
Keine Immunsupp.	428	43,0	24,7	44,1	18,3
Glukokortikoide	86	42,2	27,6	43,9	19,0
Anderes	9	46,3	17,6	44,5	17,8
Kombi	11	41,5	43,2	44,0	21,5
Gesamt	534	42,4	25,4	44,1	18,4
	Anzahl	CD103+ der CD4+ (in %)			
		Median	IQR	Mittelw.	Std.-abw.
Keine Immunsupp.	428	22,8	21,9	26,9	17,4
Glucocorticoide	86	28,9	27,5	28,8	18,8
Anderes	9	30,1	25,4	27,2	15,1
Kombi	11	21,0	24,9	25,5	16,3
Gesamt	534	23,2	22,8	27,2	17,5
	Anzahl	CD103CD4/CD4			
		Median	IQR	Mittelw.	Std.-abw.
Keine Immunsupp.	428	0,42	0,42	0,55	0,47
Glucocorticoide	86	0,46	0,48	0,60	0,69
Anderes	9	0,46	0,41	0,56	0,37
Kombi	11	0,49	0,63	0,65	0,49
Gesamt	534	0,43	0,43	0,56	0,51

Tabelle 4.8 stellt die Mediane bzw. Mittelwerte der CD103-Werte in Abhängigkeit von der immunsuppressiven Therapie dar. Bei keinem der Werte zeigen sich zwischen den Gruppen der Immunsuppression große Unterschiede, auch lässt sich keine Tendenz in eine bestimmte Richtung nachvollziehen.

Die Anteile der CD103-positiven T-Zellen sind im Median (46,3%) und im Mittelwert (44,5%) bei den nicht-kortikosteroid-Immunsuppressiva wie MTX, Azathioprin oder Ciclosporin A am höchsten und bei der Kombination dieser Immunsuppressiva mit Glucocorticoiden am niedrigsten (Median 41,5%, Mittelwert 44,0%). Die Gruppe ohne Immunsuppression liegt mit 43% bzw. 44,1% in der Mitte. Bei den CD103-positiven CD4-Zellanteilen wird der höchste Median ebenfalls durch die nicht-kortikosteroid-Immunsuppressiva (Median 30,1%, Mittelwert 27,2%) und der niedrigste durch die Kombination mit Glucocorticoiden (Median 21,0%, Mittelwert 25,5%) erreicht. Die CD103CD4/CD4-Ratio hingegen weist die niedrigsten Werte in der Gruppe ohne Immunsuppression auf (Median 0,42, Mit-

## 4 Ergebnisse

telwert 0,55). Die höchsten Werte finden sich bei der kombinierten Therapie (Median 0,63, Mittelwert 0,65).

Die Mittelwerte sind aufgrund der Schiefe und der hohen Zahl an Ausreißern insbesondere bei den CD103-positiven CD4-Zellen und der CD103CD4/CD4-Ratio nur begrenzt aussagekräftig. Aufgrund der großen Interquartilabstände (v.a. bei den CD103-positiven CD4-Zellen und der CD103CD4/CD4-Ratio) bzw. der hohen Standardabweichungen (vgl. Tabelle 4.8), zusammen mit relativ kleinen Abweichungen der Lagparameter zwischen den Gruppen, lässt sich für diese Studie kein nachweisbarer Einfluss einer immunsuppressiven Therapie auf die CD103-Zellanteile von Patienten ohne Sarkoidose nachweisen.

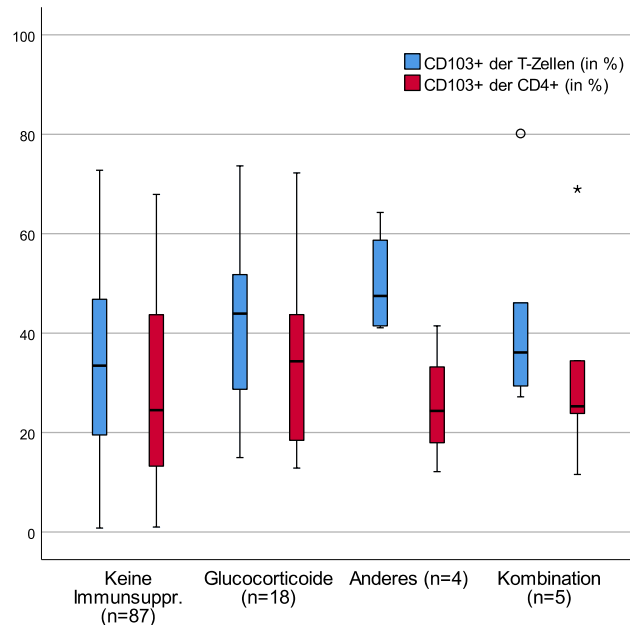


Abb. 4.6: CD103-Anteile in Abhängigkeit von der immunsuppressiven Therapie bei Sarkoidosepatienten

Bei der ausschließlichen Betrachtung der Sarkoidosepatienten deutet sich für die Gesamtzahl der T-Zellen in der Boxplotdarstellung (siehe Abb. 4.6 und 4.7) ein leicht ansteigender Anteil an CD103-Zellen bei Glucocorticoidgabe ( $n = 18$ ) bzw. Gabe anderer Immunsuppressiva ( $n = 4$ ) an. Die Kombination beider Therapien ( $n = 5$ ) scheint keine Veränderung zu verursachen. Eine Interpretation ist jedoch aufgrund der geringen Fallzahlen und der großen Spannweite der Werte der Patienten, bei denen keine immunsuppressive Therapie durchgeführt wurde, nicht ausreichend sicher möglich.

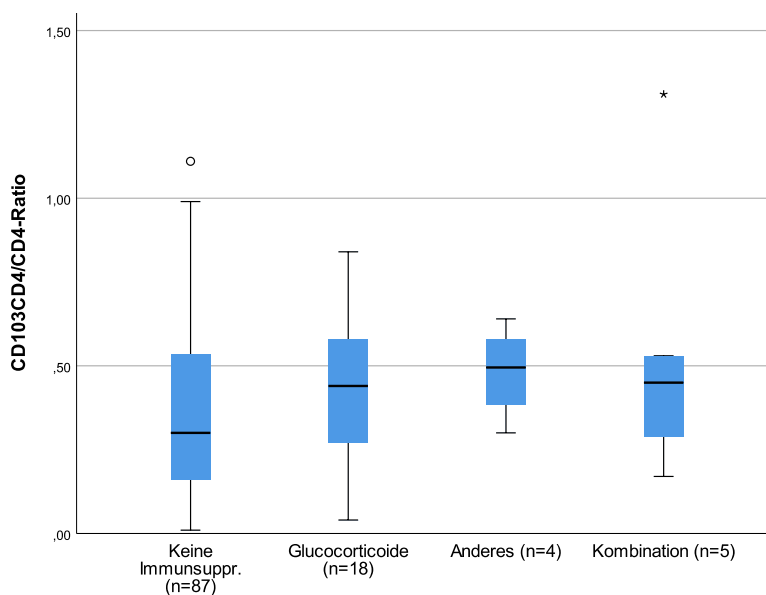


Abb. 4.7: CD103CD4/CD4-Ratio in Abhängigkeit von der immunsuppressiven Therapie bei Sarkoidosepatienten

## 4.5 Vergleich der T-Zell-Anteile in Abhängigkeit von der Erkrankung

In den folgenden Analysen bezüglich der diskriminativen Fähigkeit der CD103-assoziierten Werte werden nur bei starken Abweichungen statistische Signifikanzen bestimmt. Wegen der hohen Anzahl an zu vergleichenden Gruppen für jeweils 4 Werte (CD4/CD8-Ratio, CD103+ der T-Zellen, CD103+ der CD4+ Zellen, CD103CD4/CD4-Ratio), müsste bei konsequenter Testung auf statistische Signifikanz zwischen allen Gruppen eine extrem hohe Zahl an statistischen Tests durchgeführt werden. Der dabei kumulierende  $\alpha$ -Fehler hätte mit einer Korrektur nach Bonferroni ausgeglichen werden müssen, die zu keinem einzigen signifikanten Ergebnis geführt hätte (siehe dazu auch "Induktive Statistik" von Totenburg und Heumann [75]).

### 4.5.1 CD4/CD8-Ratio in Abhängigkeit von der Erkrankung

Der für die Sarkoidosedagnostik relevante Anstieg der CD4/CD8-Ratio wurde bereits in Kapitel 4.2 beim Vergleich zwischen an Sarkoidose erkrankten und nicht-erkrankten Patienten in der hier untersuchten Population nachgewiesen (vgl. Tabelle 4.3). Die genauere Verteilung zwischen allen Diagnosen bildet Abb. 4.8 ab. Dort zeigt sich die diagnostische Wertigkeit durch die Erhöhung der CD4/CD8-Ratio im Vergleich zu beinahe allen anderen vorliegenden ILDs. Einzig die Gruppe der NSIP-Patienten lässt sich schwer abgrenzen. Die Gruppe der klinisch diagnostizierten Sarkoidosen liefert in diesem Fall keine verwertbaren Informationen, da die klinische Diagnose vor allem mithilfe des CD4/CD8-Quotienten gestellt wurde. Aus diesem Grund sind bei dieser Gruppe besonders hohe Werte (auch der höchste Median mit 4,1) zu erwarten, die jedoch keine Aussagen über die Relevanz dieses Wertes in Bezug auf die Diagnosesicherheit bei Sarkoidose ableiten lassen.

Dasselbe Problem findet sich bei Patienten mit klinischem Verdacht auf Sarkoidose (Median = 3,0), da dieser häufig aufgrund einer erhöhten CD4/CD8-Ratio entsteht.

## 4 Ergebnisse

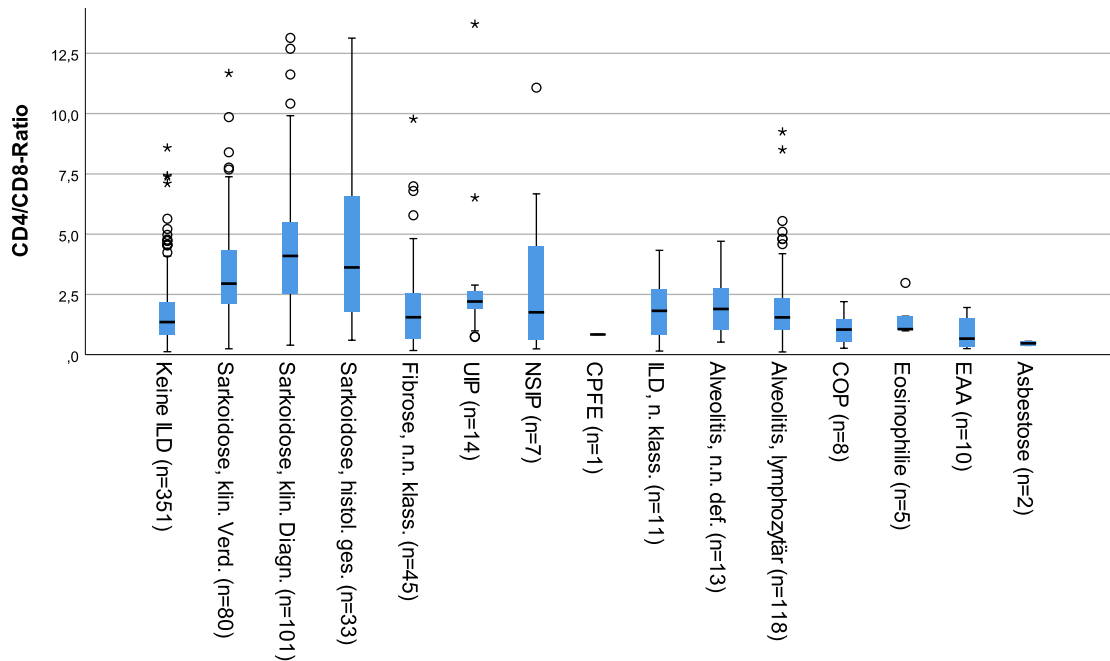


Abb. 4.8: CD4/CD8-Quotient in Abhängigkeit von der Erkrankung

Der zweithöchste Median (3,6) findet sich bei den Patienten mit histologisch gesicherter Sarkoidose. Alle anderen Gruppen liegen mit Medianen von 0,5 (bei Asbestose) bis maximal 2,2 (bei UIP) deutlich darunter. Die teilweise sehr hohen Interquartilabstände zeigen jedoch die große Schwankung der Werte innerhalb einer Gruppe und die daraus folgende Problematik der sicheren Diagnosestellung mithilfe der CD4/CD8-Ratio. Ein hoher Wert macht eine Sarkoidose wahrscheinlich, jedoch schließt ein niedriger Wert diese nicht aus. Ebenso können aufgrund der großen Streuung auch Nicht-Sarkoidosepatienten eine hohe CD4/CD8-Ratio aufweisen.

### 4.5.2 Anteil der CD103-positiven T-Zellen in der Gesamtheit aller T-Zellen in Abhängigkeit von der Erkrankung

Zur grundsätzlichen Einschätzung der Wertigkeit des Anteils der CD103-positiven T-Zellen als diagnostischer Sarkoidosemarker wurden die Werteverteilungen je nach Lungenerkrankung, mittels Boxplots graphisch dargestellt (Abb. 4.9). Dabei zeigte sich eine breite Streuung der Werte in nahezu allen Gruppen. Die graphisch im Vergleich zu allen anderen Gruppen geringfügig nach unten abweichenden Werte der Patienten mit histologisch gesicherter Sarkoidose wiesen auch den niedrigsten Mittelwert (29,0%) und Median (26,2%) auf. Eine extrem hohe Standardabweichung von 21,1% bzw. ein IQR von 29,5% weist jedoch eine besonders starke Werteschwankung in dieser Gruppe nach. Während die Werte von Patienten ohne ILD mit einem Mittelwert von 44,7% ( $\pm 18,5$ ) und einem Median von 43,3% (IQR von 26,2%) deutlich höher liegen, werden die höchsten CD103-Anteile von den EAA-Patienten (MW = 59,1%  $\pm 21,6$ %; Median = 65,2% IQR = 31,0%) erreicht. Die Werte der Patienten mit Asbestose sind aufgrund der geringen Anzahl von  $n = 2$  nicht ausreichend sicher zu beurteilen.

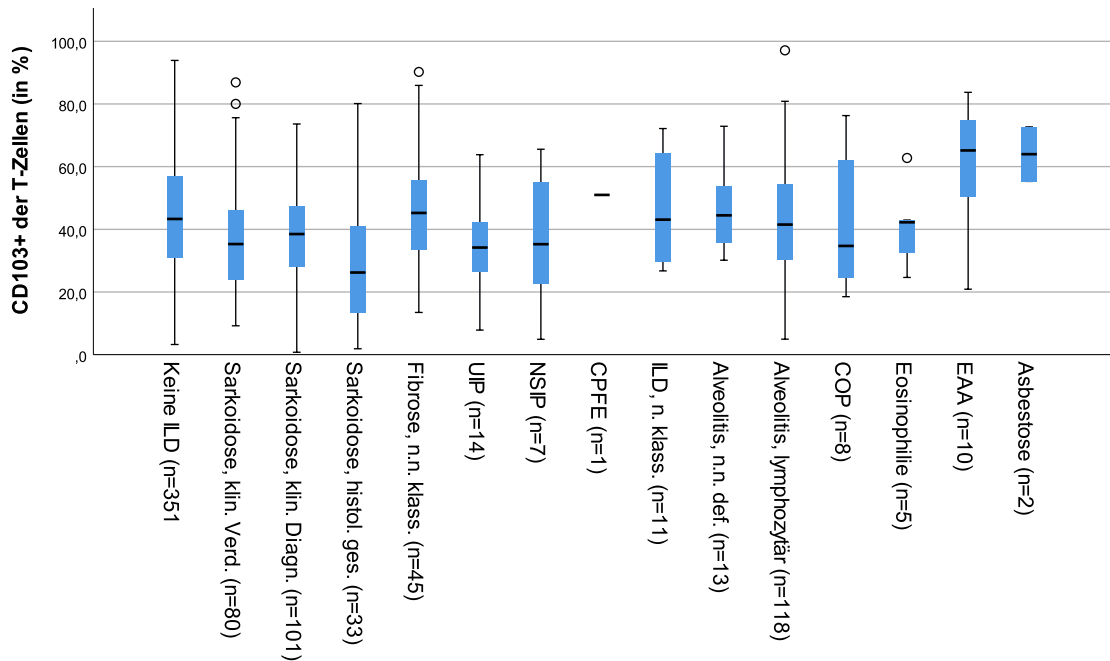


Abb. 4.9: Anteil an CD103-positiven T-Zellen in Abhängigkeit von der Erkrankung

Die Differenz zwischen dem größten und dem kleinsten Median betrug für die CD103-positiven Anteile aller T-Zellen 39,0%, die Differenz zwischen den Extremwerten des Mittelwertes 35%. Die Bestimmung dieser Differenz erfolgte, um die Spanne der Werte zwischen den einzelnen CD103-assoziierten Markern besser vergleichen zu können.

#### 4.5.3 Anteil der CD103-positiven T-Helferzellen in der Gesamtheit aller T-Helferzellen in Abhängigkeit von der Erkrankung

Für eine erste Einschätzung der Fähigkeit, mittels der Anteile von CD103-positiven Zellen an allen T-Helferzellen eine Sarkoidose von anderen Erkrankungen abzugrenzen, erfolgte eine Darstellung mittels Boxplots (siehe Abb. 4.10).

Mit einem Median von 13,6% (IQR = 15,9%) wiesen auch bei diesem Marker die Gruppe der Patienten mit histologisch gesicherter Sarkoidose die niedrigsten Werte auf. Die Werte der Patienten mit Eosinophilie (Median = 18,0%; IQR = 31,6%) und NSIP (Median = 20,1%; IQR = 20,9%) zeigten nur geringfügig höhere Werte, jedoch mit höherer Wertestreuung. Unerwartet hohe Werte wies die Gruppe der klinisch diagnostizierten Sarkoidosen mit einem Median von 30,1% (IQR = 27,3%) auf, welche nur von den Patienten mit EAA (Median = 31,5%; IQR = 28,2%) und den Asbestosefällen (Median = 30,4%) übertroffen wurden, die jedoch aufgrund der niedrigen Fallzahl nicht hinreichend aussagekräftig waren.

Die Differenz zwischen den Extremwerten der Lageparameter betrug für die CD103-positiven Anteile an CD4-Zellen beim Median 17,9% und beim Mittelwert 15%. Die Differenz zwischen den Lageparametern lag damit deutlich niedriger als bei den CD103-positiven Anteilen aller T-Zellen (39% im Median, 35% im Mittelwert).

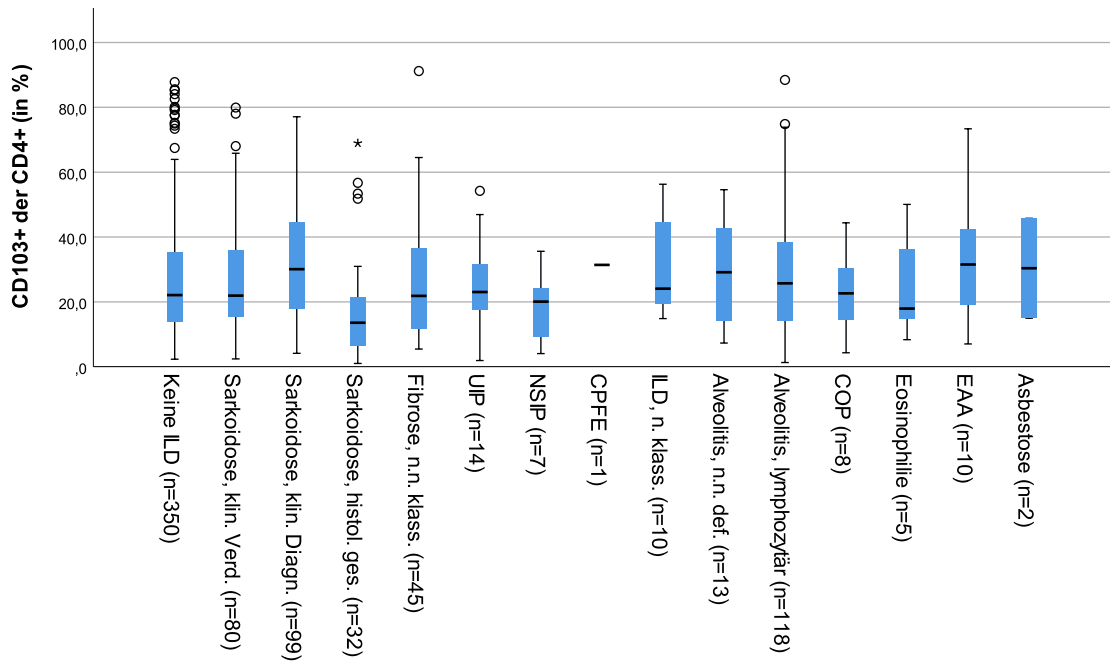


Abb. 4.10: Anteil an CD103-positiven CD4-Zellen in Abhängigkeit von der Erkrankung

#### 4.5.4 CD103CD4/CD4-Ratio in Abhängigkeit von der Erkrankung

Bei der Analyse der CD103CD4/CD4-Ratio wies, wie sich in Abbildung 4.11 zeigt, die Gruppe der histologisch gesicherten Sarkoidosen (wie auch bei den beiden in Abschnitt 4.5.2 und 4.5.3 untersuchten Markern) die niedrigsten Werte auf. Mit einem Median von 0,19 (IQR = 0,25) lagen die Werte der Gruppe unterhalb denen der anderen Gruppen, deren Patienten mit einer Fibrose des NSIP-Typs den zweitniedrigsten Median (0,31; IQR = 0,3) aufwiesen (siehe Tabelle 4.11).

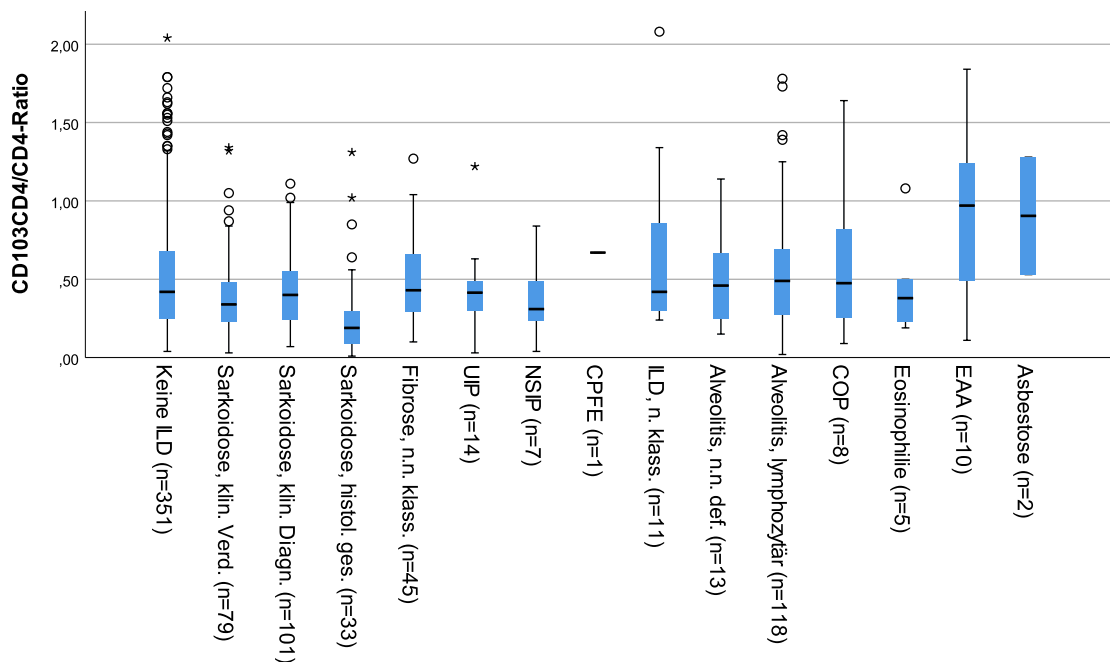


Abb. 4.11: CD103CD4/CD4-Ratio in Abhängigkeit von der Erkrankung

Auch in diesem Fall wurden die höchsten Werte von den Gruppen mit EAA (Median = 0,97; IQR = 0,86) und Asbestose (Median = 0,91 bei  $n = 2$ ) erreicht. Patienten ohne ILD lagen mit einem Median von 0,42 (IQR = 0,43) unterhalb der Mitte. Zu beachten sind bei der CD103CD4/CD4-Ratio eine erhöhte Zahl an Ausreißern und eine sehr hohe Streuung der Werte, insbesondere bei Patienten ohne ILD und solchen mit COP und EAA. Die Differenz zwischen den Extremwerten der Lageparameter betrug beim Median 0,78 und beim Mittelwert 0,63.

Nach Durchführung des Mann-Whitney-U-Tests für nicht-parametrische Daten (vgl. Abschnitt 3.6) ergab sich ein signifikanter Unterschied der zentralen Tendenz der CD103CD4/CD4-Ratio zwischen Patienten ohne ILD und mit histologisch gesicherter Sarkoidose ( $p = < 0,001$ ). Die CD103CD4 /CD4-Ratio von Patienten mit EAA im Vergleich mit Patienten ohne ILD wich mit einem  $p = 0,075$  hingegen nicht signifikant ab.

### 4.6 CD103 als diagnostischer Marker

Da sich zwischen einigen Erkrankungsgruppen große Wertunterschiede der CD103-Anteile nachweisen ließen, welche insbesondere niedrige Werte bei histologisch gesicherten Sarkoidosen gegenüber Patienten ohne interstitielle Lungenerkrankungen bestätigten, ergab sich die Frage nach der klinischen Anwendbarkeit der CD103-Anteile zur Sarkoidosediagnostik. Diese kann durch medizinische Tests mittels der Gütekriterien Sensitivität, Spezifität und positiver- bzw. negativer prädiktiver Werte eingeschätzt werden (vgl. 3.5). Zur Veranschaulichung und genaueren Betrachtung dieser Kriterien, bezogen auf die zu untersuchenden Werte, wurden die spezifischen ROC-Kurven (vgl. 3.3) mittels SPSS dargestellt. Dabei wurden die jeweiligen Sensitivitäten und 1-Spezifitäten im Hinblick auf die Differenzierungsfähigkeit der CD103-Zellanteile errechnet. Die Darstellungsweise der Kurve ist dabei den SPSS-Optionen geschuldet, welche die Testrichtung bestimmen. Dabei lässt sich im Vorhinein festlegen, dass ein positiverer Test mit kleineren Werten einhergeht. Folglich orientiert sich jede Kurve an der linken oberen Ecke. Diese Option wurde auch in den späteren Analysen beibehalten. Die entsprechenden CD4/CD8-Kurven hingegen stellen typischerweise einen positiveren Test durch größeren Werten dar. In den folgenden Abschnitten wird ermittelt, welche CD103-assoziierten Werte sich bei welchem Cut-Off-Wert und mit welchen Einschränkungen am ehesten zur Sarkoidosediagnostik eignen.

#### 4.6.1 Relevanz der Raucheranamnese für die Anwendung der CD103-Marker

In Abschnitt 4.4.1 wurden bereits erhöhte CD103-Anteile bzw. eine erhöhte CD103CD4/CD4-Ratio bei Nikotinkonsum in der Gesamtstudienpopulation nachgewiesen. Für die klinische Anwendung als diagnostische Marker ist die daraus folgende mögliche Beeinflussung der diskriminativen Fähigkeiten dieser Marker durch das Rauchverhalten der betroffenen Patienten ein wichtiger zu untersuchender Punkt.



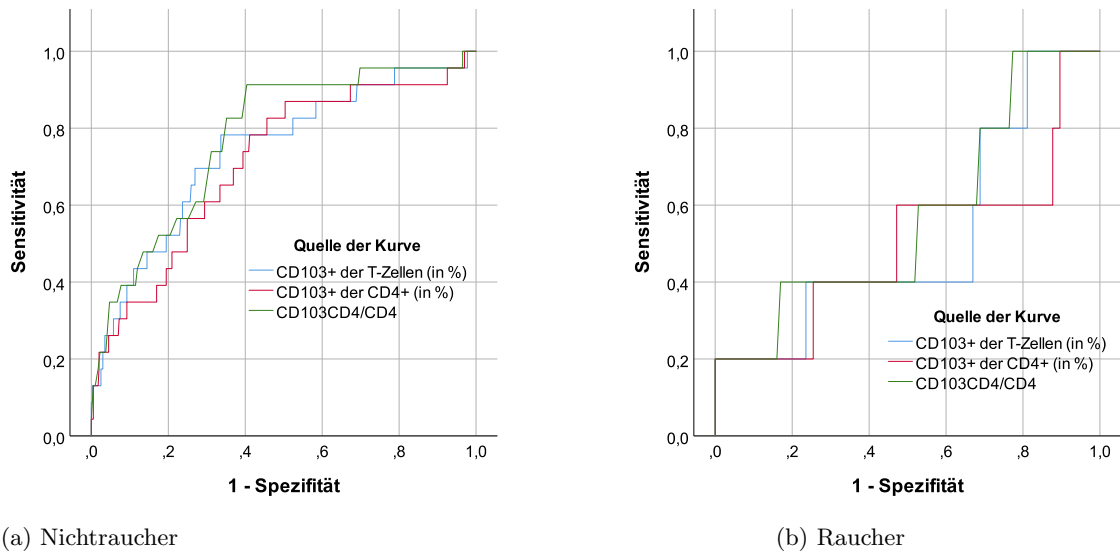


Abb. 4.12: ROC-Kurven für CD103-Werte in Abhängigkeit vom Rauchverhalten

Zur Analyse einer möglichen Beeinflussung wurden Raucher und Nichtraucher als getrennte Gruppen betrachtet. Die Fähigkeit, Patienten mit histologisch gesicherter Sarkoidose von Nicht-Sarkoidosepatienten abzugrenzen wurde mittels ROC-Kurven und dazugehörigen AUCs zwischen den beiden Gruppen verglichen. Die Ex-Raucher wurden aufgrund der sehr unterschiedlichen Dauer der Rauchfreiheit und teils unvollständigen Raucheranamnese nicht mit einbezogen. Patienten mit Verdacht auf Sarkoidose oder Sarkoidose ohne histologische Sicherung (klinisch diagnostiziert) wurden ebenfalls ausgeschlossen. Dabei fanden sich in der aus 111 Patienten bestehenden Gruppe der Raucher 5 mit histologisch gesicherter Sarkoidose und 106 Patienten ohne Sarkoidose, während in der Gruppe der Nichtraucher (insgesamt 425 Patienten) 24 Patienten mit histologisch gesicherter Sarkoidose 401 Patienten ohne Sarkoidose gegenüberstanden (siehe Tabelle 4.9).

Tab. 4.9: Anzahl der Fälle

		Anzahl
NR	Positiv	24
	Negativ	401
Rau	Positiv	5
	Negativ	106

Beim Vergleich der jeweiligen AUCs fanden sich große Unterschiede (Abb. 4.12). Die Gruppe der Nichtraucher zeigte bei der CD103CD4/CD4-Ratio mit einer AUC von 0,78 das beste Ergebnis, die CD103-positiven T-Zellanteile (AUC = 0,74) und CD103-positiven CD4-Zellanteile (AUC = 0,71) fielen in der Differenzierungsfähigkeit ab.

Bei den Rauchern hingegen ergaben sich AUCs von maximal 0,57 bei der CD103CD4/CD4-Ratio (AUC = 0,52 bei den CD103-positiven T-Zellanteilen und AUC = 0,5 bei den CD103-positiven CD4-Zellanteilen), welche aufgrund der enormen Konfidenzintervalle statistisch nicht signifikant sind (siehe Tabelle 4.10). Folglich ist bei den Rauchern keiner der CD103-Werte in der Lage zwischen histologisch gesicherten Sarkoidosepatienten und Nicht-Sarkoidosepatienten zu unterscheiden. Zu beachten ist in diesem Fall jedoch die extrem niedrige Anzahl von lediglich 5 Sarkoidosepatienten, wodurch das Ergebnis nur sehr begrenzt als repräsentativ einzuschätzen ist. Im Vergleich dieser Ergebnisse mit denen des Falles 1 aus dem späteren Abschnitt 4.6.2 ergibt sich eine geringe Vergrößerung der AUC von 0,75 bei unberücksichtigtem Rauchverhalten auf 0,78 der CD103CD4/CD4-Ratio bei Nichtrauchern, die sich auch bei den CD103-positiven T-Zell- (AUC von 0,69 auf 0,71)

und CD103-positiven CD4-Zellanteilen (AUC von 0,71 auf 0,74) zeigt.

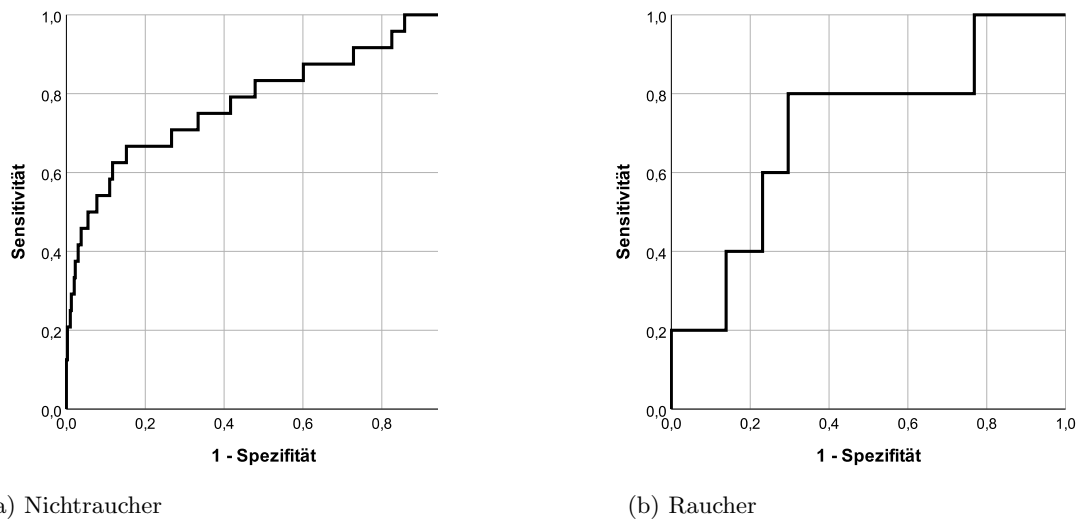


Abb. 4.13: ROC-Kurven für CD4/CD8 in Abhängigkeit vom Rauchverhalten

Eine negative Beeinflussung der CD4/CD8-Ratio durch Nikotinkonsum wurde bereits in anderen Arbeiten nachgewiesen [76, 77] und zur besseren Einschätzung des Nikotineinflusses auf die BAL-Zellen auch in dieser Studie überprüft (siehe Abb. 4.13). Es zeigte sich ein Abfall der AUC von 0,79 auf 0,71 im Vergleich von Nichtrauchern zu Rauchern (siehe Tabelle 4.10). Jedoch ergab sich für die Gruppe der Raucher, vermutlich aufgrund der lediglich 5 Sarkoidosepatienten, kein signifikantes Ergebnis ( $p = 0,11$ ). Eine negative Tendenz der Werte bei Nikotinkonsum ließ sich aber trotzdem vermuten. Der Einfluss des Rauchens betrifft die CD103-Werte jedoch grundsätzlich stärker als die CD4/CD8-Ratio.

Tab. 4.10: AUC in Abhängigkeit vom Rauchverhalten

		Fläche	Std.-Fehler	Signif.	95% KI	
					Unterggr.	Obergr.
NR	CD103+ der T-Zellen (in %)	0,75	0,06	0,000	0,64	0,86
	CD103+ der CD4+ (in %)	0,71	0,06	0,001	0,60	0,82
	CD103CD4/CD4	0,78	0,05	0,000	0,69	0,88
	CD4/CD8	0,79	0,06	0,000	0,67	0,90
Rau	CD103+ der T-Zellen (in %)	0,52	0,14	0,887	0,24	0,80
	CD103+ der CD4+ (in %)	0,50	0,16	1,000	0,19	0,81
	CD103CD4/CD4	0,57	0,14	0,589	0,30	0,84
	CD8/CD4	0,71	0,12	0,11	0,48	0,95

Da die CD103-Werte für Raucher im Rahmen der Sarkoidosediagnostik in dieser Arbeit nicht sinnvoll anwendbar sind, wird die Gruppe der Raucher von den folgenden Analysen ausgeschlossen. Somit bleiben insgesamt 425 Patienten, davon 24 mit histologisch gesicherter Sarkoidose, übrig.

#### 4.6.2 Darstellung von ROC-Kurven

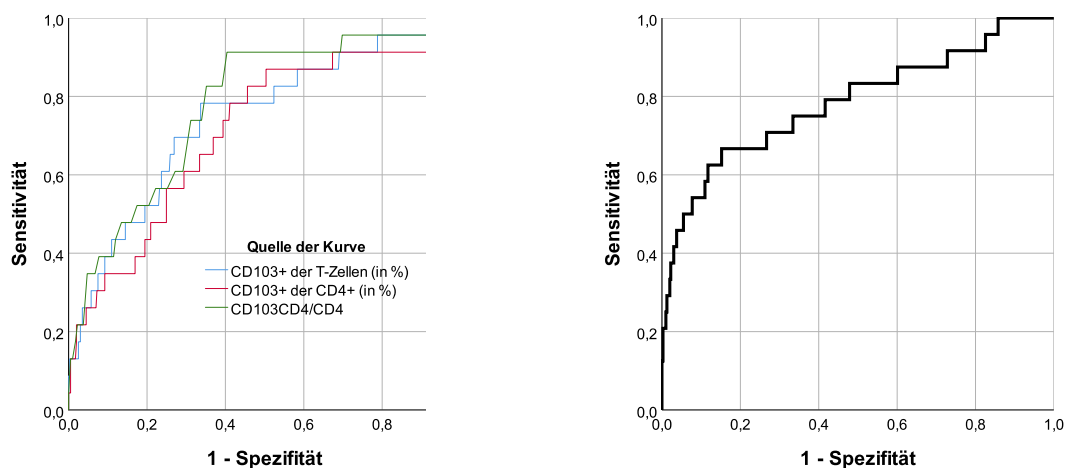
Um die grundsätzliche Fähigkeit der CD103-Werte, zwischen Sarkoidose und anderen Erkrankungen zu differenzieren, einzuschätzen, erfolgte die Ermittlung der entsprechenden AUCs für jeden der drei CD103-assoziierten Werte. Zusätzlich wurde die Qualität dieser Marker für drei verschiedene Fälle untersucht, um den klinischen Anwendungsbereich

genauer definieren zu können. Da im vorangegangenen Abschnitt 4.6.1 gezeigt werden konnte, dass die Aussagekraft der Marker bei Rauchern in dieser Arbeit sehr gering ist, werden die Raucher aus den folgenden Analysen ausgeschlossen und die Ergebnisse dieser Analysen später mit denen aller Patienten unabhängig vom Nikotinkonsum verglichen. Die Differenzierung mittels der CD103-Werte betraf die folgenden Fälle:

1. Histologisch gesicherte Sarkoidosen im Vergleich mit Nicht-Sarkoidosen (Abb. 4.14).
2. Klinisch diagnostizierte Sarkoidosen im Vergleich mit Nicht-Sarkoidosen (Abb. 4.15).
3. Histologisch gesicherte Sarkoidosen im Vergleich mit anderen interstitiellen Lungenerkrankungen (zusammengefasst, Abb. 4.16).

Zur zusätzlichen Einschätzung der Aussagekraft wurde für jeden Fall auch die ROC-Kurve der jeweiligen CD4/CD8-Ratio bestimmt. Da die Interpretation der CD4/CD8-Werte im klinischen Alltag bereits etabliert ist, lässt sich aus dem Vergleich der Testgütekriterien der verschiedenen diagnostischen Marker die Wertigkeit für die klinische Anwendung besser abschätzen.

Für den *Fall 1* stellt die Abbildung 4.14 die Fähigkeit der unterschiedlichen Marker, zwischen Sarkoidose und anderen Erkrankungen zu unterscheiden, in Abhängigkeit vom Wert graphisch dar. Die Flächen unter den jeweiligen Kurven (AUC) zeigt Tabelle 4.11 (zur Relevanz dieser Flächen siehe 3.3). Dabei ergab sich, dass die CD103CD4/CD4-Ratio mit einer  $AUC = 0,78$  (95% KI: 0,68-0,87; KI=Konfidenzintervall) eine relativ gute diskriminative Fähigkeit besitzt. Die CD103-positiven T-Zellen liegen mit einer  $AUC = 0,74$  (0,63-0,85) darunter, während sich die CD103-positiven Anteile der CD4-Zellen mit einer  $AUC = 0,71$  (0,60-0,82) am wenigsten zum Sarkoidosenachweis bzw. -ausschluss eignen. Die zur besseren Vergleichbarkeit errechnete AUC des CD4/CD8-Quotienten ergab mit einem Wert von  $0,79$  (0,67-0,90) die beste Testaussagekraft.



(a) CD103-Werte

(b) CD4/CD8-Quotient

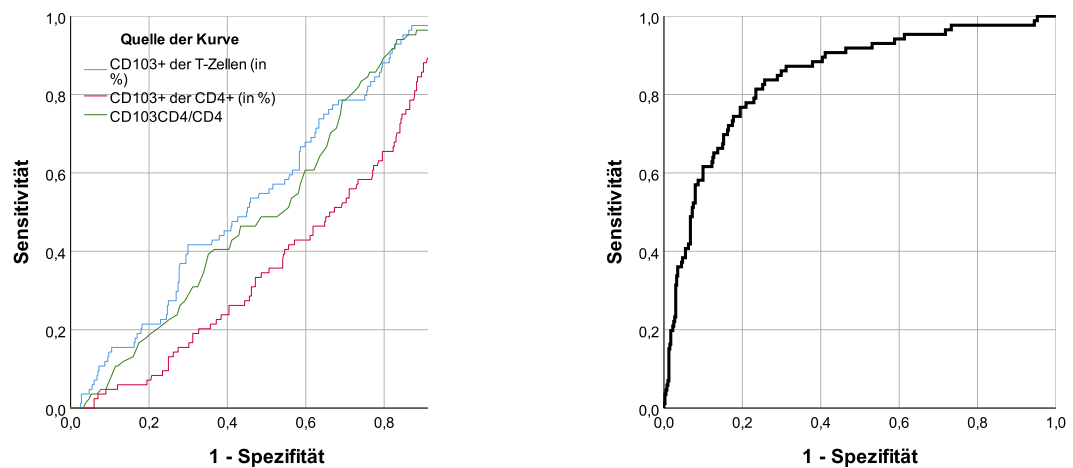
Abb. 4.14: Fall 1: ROC-Kurven mit Bezug auf histologisch gesicherte Sarkoidosen

Tab. 4.11: Fall 1: AUC

Variablen für Testergebnis	Fläche	Signif.	95% KI	
			Unterg.	Obergr.
CD 103+ der T-Zellen (in %)	0,74	<0,001	0,63	0,85
CD 103+ der CD4+ (in %)	0,71	0,001	0,60	0,82
CD 103CD4/CD4	0,78	<0,001	0,68	0,87
CD4/CD8	0,79	<0,001	0,67	0,90

Im *Fall 2*, dem Vergleich zwischen Patienten mit klinisch diagnostizierter Sarkoidose und Nicht-Sarkoidose-Patienten, fällt die Testqualität massiv ab. Während die AUC der CD103-positiven T-Zellanteile auf 0,55 (95% KI: 0,49-0,62) und der CD103CD4/CD4-Ratio auf 0,52 (0,45-0,58), mit nicht-signifikanten Ergebnissen ( $p = 0,14$  bzw.  $0,625$ ), absinkt, kehrt sich der Zusammenhang zwischen CD103-positiven CD4-Zellanteilen und Sarkoidose sogar in eine positive Korrelation mit einer AUC von 0,38 (0,32-0,45) um.

Im Gegensatz zu den Veränderungen der Testqualität der CD103-Werte steigt die AUC des CD4/CD8-Quotienten von 0,783 im Fall 1 beim Fall 2 auf 0,85 (0,80-0,89) an. Da das Vorliegen hoher CD4/CD8-Ratios häufig zur klinischen Diagnosestellung der Sarkoidose beitrug, war dieses Ergebnis jedoch zu erwarten und liefert keinerlei neue Erkenntnisse.



(a) CD103-Werte

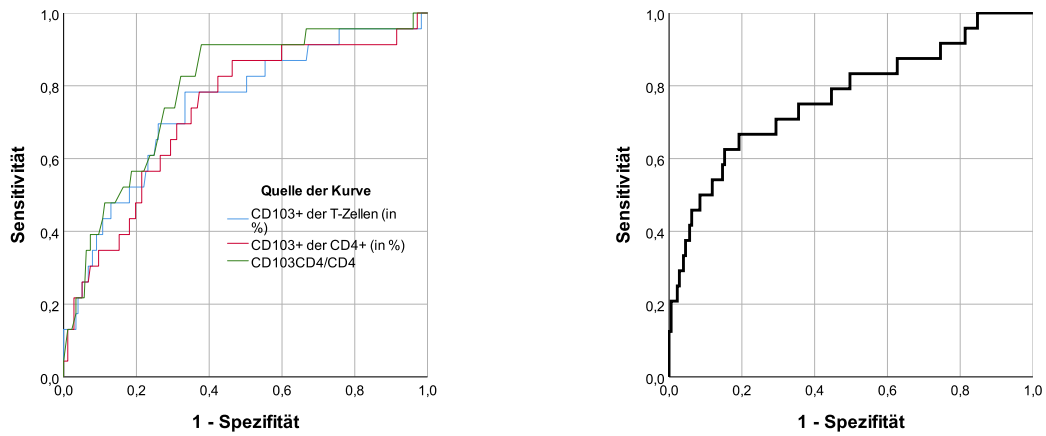
(b) CD4/CD8-Quotient

Abb. 4.15: Fall 2: ROC-Kurven mit Bezug auf klinisch diagnostizierte Sarkoidosen

Tab. 4.12: Fall 2: AUC

Variablen für Testergebnis	Fläche	Signif.	95% KI	
			Unterg.	Obergr.
CD 103+ der T-Zellen (in %)	0,55	0,14	0,49	0,62
CD 103+ der CD4+ (in %)	0,38	0,001	0,32	0,45
CD 103CD4/CD4	0,52	0,625	0,45	0,58
CD4/CD8	0,85	<0,001	0,80	0,89

Im *Fall 3*, der Abgrenzbarkeit der Sarkoidose von der sehr heterogenen Gruppe anderer interstitiellen Lungenerkrankungen mittels CD103, wurden Patienten, welche von keiner ILD und keiner Sarkoidose betroffen waren, nicht berücksichtigt. Die histologisch gesicherte Diagnose der Sarkoidose wurde vorausgesetzt.



(a) CD103-Werte

(b) CD4/CD8-Quotient

Abb. 4.16: Fall 3: ROC-Kurven mit Bezug auf histologisch gesicherte Sarkoidosen im Vergleich zu anderen ILDs

Die Flächen unter den Kurven unterschieden sich im Fall 3 nur äußerst geringfügig von den Ergebnissen des Falles 1. Jedoch eignete sich die CD103CD4/CD4-Ratio (AUC: 0,79; 0,69-0,89) diesmal am besten zur Differenzierung, gefolgt von der CD4/CD8-Ratio (AUC: 0,77; 0,65-0,88; vgl. Tabelle 4.13). Die Differenzierungsfähigkeit der CD103-Werte in Bezug auf die Abgrenzung von Patienten mit histologisch gesicherter Sarkoidose scheint somit in diesem Fall unabhängig davon zu sein, ob die Vergleichsgruppe an anderen ILDs erkrankt ist oder nicht.

Tab. 4.13: Fall 3: AUC

Variablen für Testergebnis	Fläche	Signif.	95% KI	
			Untergr.	Obergr.
CD 103+ der T-Zellen (in %)	0,74	<0,001	0,63	0,86
CD 103+ der CD4+ (in %)	0,73	<0,001	0,62	0,84
CD 103CD4/CD4	0,79	<0,001	0,69	0,89
CD4 / CD8	0,77	<0,001	0,65	0,88

In der Studienpopulation zeigte sich, dass die histologisch gesicherten Sarkoidosen sich von Nicht-Sarkoidosen (Fall 1, mit einer AUC = 0,78) und von anderen ILDs (Fall 3, mit einer AUC = 0,79) durch die CD103CD4/CD4-Ratio gleich gut abgrenzen lassen. Die Anteile an CD103-positiven T-Zellen und CD103-positiven T-Helferzellen besitzen im Gegensatz eine niedrigere diskriminative Fähigkeit. Anders als die histologisch gesicherten Sarkoidosen sind die klinisch diagnostizierten Sarkoidosen hingegen mit einer AUC von maximal 0,5 (durch die CD103-positiven T-Zellen) nicht ausreichend von den weiteren oben genannten Gruppen differenzierbar.

Da im Fall 2, der Differenzierung zwischen Patienten mit klinisch gesicherter Sarkoidose und Nicht-Sarkoidosepatienten, die CD103-assoziierten Werte keine ausreichende AUC vorweisen, werden in den folgenden Abschnitten nur noch Fall 1 und Fall 3 berücksichtigt.

### 4.6.3 Bestimmung von Cut-Off-Werten

Zur weiterführenden Analyse der diagnostischen Wertigkeit des Markers CD103 erfolgten Berechnungen von Cut-Off-Werten nach unterschiedlichen Methoden. Die ermittelten Werte wurden anschließend untereinander verglichen.

Eine der Methoden besteht in der Bestimmung des Youden-Index (siehe 3.7.3), welcher mit folgender Formel berechnet wird:

$$\text{Sensitivität} + \text{Spezifität} - 1.$$

Zusätzlich wurden Cut-Off-Werte entsprechend dem Vorgehen von Heron et. al. 2008 [24] bestimmt. Sie entsprechen dem Punkt, an dem die Sensitivität ungefähr gleich der Spezifität ist.

Die initiale Bestimmung der Werte erfolgte für den Fall 1, der Abgrenzungsfähigkeit von Sarkoidosepatienten von allen Nicht-Sarkoidosepatienten. Anschließend wurde untersucht, ob sich die Cut-Off-Werte und entsprechenden Testgütekriterien für den Fall 3 nennenswert davon unterscheiden, sodass ggf. berücksichtigt werden muss, für welchen Fall die CD103-assoziierten Werte angewandt werden.

Obwohl, wie in Abschnitt 1.3 beschrieben, erst eine CD4/CD8-Ratio über 3,5 erhöht gilt, wurde für die vorliegende Population ein Cut-Off von 3,0 gewählt, da dieser dem höchsten Youden-Index entspricht (hier nicht dargestellt) und auch von Heron et al. [24] verwendet wurde.

Für *Fall 1*:

Nach Youden ergab sich dabei für die CD103-positiven T-Zellanteile ein Cut-Off von  $\leq 33,6\%$  (Sensit.: 79,2%, Spezif.: 66,3%), für die CD103-positiven CD4-Zellanteile ein Cut-Off von  $\leq 19,1\%$  (Sensit.: 78,3%, Spezif.: 58,9%) und die CD103CD4/CD4-Ratio ein Cut-Off von  $\leq 0,345$  (Sensit.: 91,7%, Spezif.: 59,6%).

Die ungefähre Gleichheit von Sensitivität und Spezifität wurde bei den CD103+ Anteilen aller T-Zellen mit einem Cut-Off von  $\leq 28,8\%$  (Sensit.: 70,8%, Spezif.: 73,1%), den CD103+ CD4-Zellen von  $\leq 16,8\%$  (Sensit.: 65,2%, Spezif.: 65,1%) und der CD103CD4/CD4-Ratio von  $\leq 0,275$  (Sensit.: 75,0%, Spezif.: 68,8%) erreicht (siehe Tabelle 4.14).

Zur besseren Vergleichbarkeit erfolgte auch die Analyse der CD4/CD8-Ratio. Dabei zeigte sich bei einem Cut-Off nach Youden von 3,0 (Sensit.: 66,7%, Spezif.: 84,3%) und einem Cut-Off von 2,3 bei in etwa angenähert gleichen Sensitivitäten und Spezifitäten (Sensit.: 70,8%, Spezif.: 70,8%) eine vergleichbare Testgüte. Die CD103CD4/CD4-Ratio mit ei-

Tab. 4.14: Fall 1: Cut-Off-Werte der einzelnen Zellgruppen

	Cut-Off nach Youden			Sensit. entspr. etwa Spezif.		
	Wert	Sensit.	Spezif.	Wert	Sensit.	Spezif.
CD103+ der T-Zellen	33,6%	79,2%	66,3%	28,8%	70,8%	73,1%
CD103+ der CD4+ Zellen	19,1%	78,3%	58,9%	16,8%	65,2%	65,1%
CD103CD4/CD4-Ratio	0,345	91,7%	59,6%	0,275	75,0%	68,8%
CD4/CD8-Ratio	3,0	66,7%	84,3%	2,3	70,8%	70,8%

nem Cut-Off von 0,345 nach Youden zeigt dabei mit 91,7% die höchste Sensitivität aller CD103-assoziierten Werte. Die höchste Spezifität von 73,1% besitzt der Cut-Off von 30,7% bei gleicher Sensitivität und Spezifität bei den CD103-positiven T-Zellanteilen.

Die CD103-positiven Anteile der CD4-Zellen sind gemäß dieser Studie für den Fall 1 den

anderen untersuchten Werten im Hinblick auf den Nachweis/den Ausschluss von Sarkoidose unterlegen.

Für *Fall 3*:

Bei den Analysen für den Fall 3 blieben sowohl die Cut-Offs nach Youden aller Marker als auch deren Sensitivitäten unverändert, während die Spezifitäten ein wenig abwichen. Bei den CD103-positiven Anteilen der T-Zellen stiegen die Spezifitäten geringfügig auf 66,7% (zuvor 66,3%), bei den CD103-positiven Anteilen der CD4-Zellen auf 62,7% (zuvor 58,9%) und bei der CD103CD4/CD4-Ratio auf 62,1% (zuvor 59,6%). Bei der CD4/CD8-Ratio fiel die Spezifität von 84,3% auf 80,8% ab.

Die Punkte der Gleichheit von Sensitivität und Spezifität blieben ebenfalls nahezu unverändert bei gleichen Sensitivitäten und nur leicht veränderten Spezifitäten.

Somit ist die Anwendung der CD103-assoziierten Marker mit gleichen Cut-Off-Werten für die Differenzierungen sowohl zwischen Sarkoidose- und allen Nicht-Sarkoidosepatienten als auch zwischen Sarkoidosepatienten und Patienten mit anderen ILDs bei der betrachteten Studienpopulation möglich. Auch die Testgüte unterscheidet sich zwischen diesen beiden Fällen kaum.

#### 4.6.4 Cut-Off-Werte und deren Testgüte in Abhängigkeit von der CD4/CD8-Ratio

Eine weitere interessante Frage ist, ob die CD103-assoziierten Werte - allen voran die CD103CD4/CD4-Ratio, die mit 91,7% eine ausgesprochen hohe Sensitivität aufwies - auch bei Patienten mit normaler oder niedriger CD4/CD8-Ratio in der Lage sind, eine Sarkoidose von anderen Erkrankungen abzugrenzen. Dies wurde mittels der CD103CD4/CD4-Ratio für den Fall 1 überprüft. Sowohl für die Patienten mit erhöhter ( $\geq 3,0$ ) als auch für die mit normaler bzw. niedriger CD4/CD8-Ratio ( $< 3,0$ ) wurden dafür die Testgütekriterien bei einem Cut-Off von 0,345 (wie in Abschnitt 4.6.3 ermittelt) für CD103CD4/CD4 bestimmt (vgl. Abb. 4.17 und Tab. 4.15).

Tab. 4.15: Anzahl der Patienten je nach Erkrankung und CD4/CD8-Ratio

	Keine ILD	Sarkoidose	Andere ILD	AUC	Sensit.	Spezif.
CD4/CD8 $\geq 3,0$	$n = 28$	$n = 16$	$n = 35$	0,78	87,5%	50,8%
CD4/CD8 $< 3,0$	$n = 196$	$n = 8$	$n = 142$	0,70	87,5%	61,8%

In der Gruppe der Patienten mit einer CD4/CD8-Ratio  $\geq 3,0$  zeigte sich eine AUC von 0,78. Die Sensitivität lag bei 87,5%, während die Spezifität nur 50,8% betrug.

Bei Patienten mit einer CD4/CD8-Ratio  $< 3,0$  lag die AUC mit nur 0,70 zwar niedriger, jedoch ergab sich die gleiche Sensitivität von 87,5% bei einer sogar besseren Spezifität von 61,8%. Zu beachten ist die niedrige Anzahl an Sarkoidosepatienten von 16 bei einer Ratio größer-gleich 3 bzw. 8 bei einer Ratio unter 3, die die Aussagekraft dieser Analysen einschränken. Dennoch scheint die CD103CD4/CD4-Ratio auch bei Patienten mit niedriger CD4/CD8-Ratio Sarkoidosepatienten gut abgrenzen zu können und ist in der vorliegenden Arbeit somit von der CD4/CD8-Ratio unabhängig.

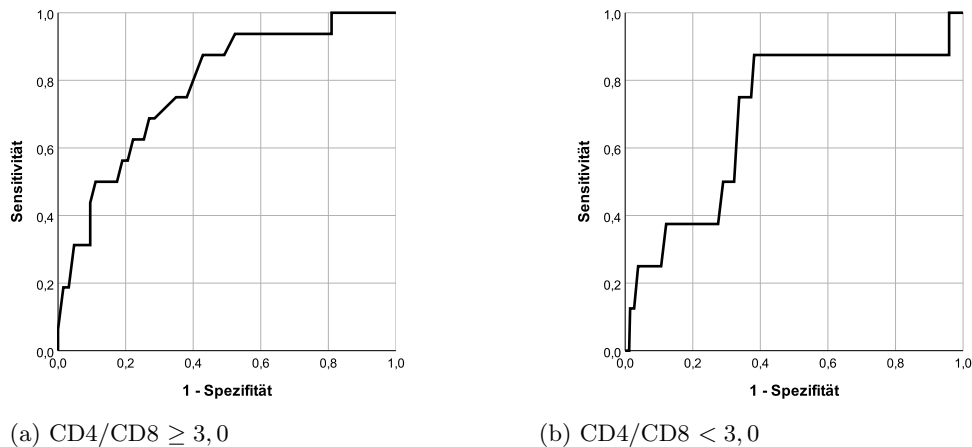


Abb. 4.17: ROC-Kurve für CD103CD4/CD4 abhängig von der CD4/CD8-Ratio

#### 4.6.5 Betrachtung der CD103CD4/CD4-Ratio zusammen mit weiteren Werten

Während die CD103CD4/CD4-Ratio mit einem Cut-Off von 0,345 für sich allein betrachtet zwar eine sehr gute Sensitivität (Fall 1 und 3 jeweils 91,7%) besitzt, liegt die Spezifität relativ niedrig (Fall 1: 59,6%, Fall 3: 62,1%). Eine Verbesserung der Spezifität ist bei der gleichzeitigen Betrachtung mehrerer durchflusszytometrischer Werte zu erhoffen. Dies lässt sich damit erklären, dass die Wahrscheinlichkeit, bei Nicht-Sarkoidosepatienten multiple sarkoidosetypische Veränderungen zu finden, sehr niedrig ist. Diese Wahrscheinlichkeit müsste bei zunehmender Zahl an betrachteten Markern weiter abfallen.

Marker, die bei Sarkoidose typischerweise verändert und mit der CD103CD4/CD4-Ratio zusammen einfach zu bestimmen sind, sind die CD4/CD8-Ratio und der Lymphozytenanteil in der BAL.

Die Auswirkungen dieser verbundenen Tests werden sowohl für *Fall 1*, dem Vergleich zwischen histologisch gesicherten Sarkoidose und allen nicht-Sarkoidosepatienten, sowie für den *Fall 3*, dem Vergleich zwischen histologisch gesicherten Sarkoidose und Patienten mit anderen ILDs (siehe 4.6.2), untersucht.

##### *Fall 1:*

Um die Möglichkeiten einer Anwendung der CD103CD4/CD4-Ratio zusammen mit anderen Markern auszuloten, wurden Tests mit gleichzeitiger Betrachtung von zwei und anschließend drei Markern durchgeführt. Diese werden nachfolgend als Zweifach- und Dreifachtest bezeichnet.

Beim Zweifachtest entspricht eine CD4/CD8-Ratio  $\geq 3,0$  zusammen mit einer CD103CD4/CD4-Ratio  $\leq 0,345$  einem positiven Testergebnis für Sarkoidose.

Tabelle 4.16a gibt die entsprechenden Fallzahlen nach Testdurchführung wieder. Die Berechnung der Gütekriterien bei Betrachtung der CD4/CD8- (Cut-Off  $\geq 3,0$ ) und CD103CD4/CD4-Ratio (Cut-Off  $\leq 0,345$ ) erfolgte somit folgendermaßen:

$$\text{Sensitivität} = \frac{\text{richtig-positiv}}{\text{Gesamt-Sarkoidose}} = \frac{15}{24} = 0,625 \quad (4.1)$$

$$\text{Spezifität} = \frac{\text{richtig-negativ}}{\text{Gesamt-keine-Sarkoidose}} = \frac{368}{401} = 0,918 \quad (4.2)$$



Tab. 4.16: Fall 1: Tests auf Sarkoidose mit multiplen Werten

Test	Sarkoidose			Test	Sarkoidose		
	Ja.	Nein	Gesamt		Ja	Nein	Gesamt
Positiv	15	33	48	Positiv	13	18	31
Negativ	9	368	377	Negativ	11	381	392
Gesamt	24	401	425	Gesamt	24	399	423

(a) CD4/CD8 und CD103CD4/CD4

(b) Lymphozytenanteil, CD4/CD8 und CD103CD4/CD4

Cut-Off-Werte für Sarkoidose:

Lymphozytenanteil > 20%, CD4/CD8  $\geq 3,0$ , CD103CD4/CD4  $\leq 0,234$

$$PPV = \frac{\text{richtig-positiv}}{\text{gesamt-positiv}} = \frac{15}{48} = 0,313 \quad (4.3)$$

$$NPV = \frac{\text{richtig-negativ}}{\text{gesamt-negativ}} = \frac{368}{377} = 0,976 \quad (4.4)$$

Dabei ergibt sich im Vergleich zu den einzeln getesteten Cut-Off-Werten bei diesem Zweifach-Test eine deutlich verbesserte Spezifität von 91,8%, während die Sensitivität auf 62,5% abfällt (siehe Formel 3.2 und 3.1).

Bei unbekannter vorliegender Erkrankung beträgt der positiv prädiktive Wert nur 31,3%, während der negativ prädiktive Wert bei 97,6% liegt (siehe Formel 3.3 und 3.4).

Zum Vergleich: der negativ prädiktive Wert bei einem Test, der keine einzige Sarkoidose erkennt, beträgt noch immer 93,3%!

Die Hinzunahme der bei Sarkoidose typischerweise erhöhten Lymphozytenanteile (vgl. 1.3) als dritten Marker bildet den Dreifachtest. In diesem Fall wurde der von Bretagne et al. [45] vorausgesetzte Cut-Off von > 20% Lymphozyten übernommen und mit der CD4/CD8- (Cut-Off  $\geq 3,0$ ) und CD103CD4/CD4-Ratio (Cut-Off  $\leq 0,345$ ) gekoppelt. Ein positiver Test entsprach dem Überschreiten der genannten Cut-Off-Werte der CD4/CD8-Ratio und der Lymphozyten sowie dem Unterschreiten der genannten Cut-Off-Werte der CD103CD4/CD4-Ratio.

Tabelle 4.16b gibt die entsprechenden Patientenzahlen wieder, die sich nach Durchführung des Dreifachtests ergaben. Bei einem Lymphozytenanteil > 20%, einer CD4/CD8-Ratio  $\geq 3,0$  und CD103CD4/CD4-Ratio  $\leq 0,345$  ergeben sich somit folgende Gütekriterien:

$$\text{Sensitivität} = \frac{13}{24} = 0,542 \quad \text{Spezifität} = \frac{381}{399} = 0,955 \quad (4.5)$$

$$PPV = \frac{13}{31} = 0,419 \quad NPV = \frac{381}{392} = 0,972 \quad (4.6)$$

Im Vergleich mit dem Zweifachtest ergibt sich hier eine weitere Zunahme der Spezifität auf 95,5% (zuvor 91,8%) mit einer relativ deutlichen Einbuße der Sensitivität die nun 54,2% beträgt (zuvor 62,5%). Auffällig ist eine Verbesserung des PPV auf 41,9% (zuvor 31,3%) bei einem annähernd gleichen NPV von 97,2% (zuvor 97,6%).

Der Dreifachtest erweist sich somit als spezifischster und die CD103CD4/CD4-Ratio allein als sensitivster Test auf Sarkoidose.

*Fall 3:*

Die Bestimmung der Gütekriterien für den Fall 3, der Abgrenzung der Sarkoidose von anderen ILDs, erfolgte, um abschätzen zu können, wie sich die diagnostische Aussagekraft der CD103CD4/CD4-Ratio verändert, wenn andere Diagnosen, die eine BAL erforderlich machen, aber nicht zur Gruppe der ILDs gehören, ausgeschlossen werden. Bei Patienten ohne diagnostizierte ILD stand die Verdachtsdiagnose einer Sarkoidose höchstwahrscheinlich deutlich seltener im Raum, weshalb der Vergleich nur mit ILDs für die klinische Anwendbarkeit wichtig ist.

Tabelle 4.17a und b zeigen die Ergebnisse der bereits oben vorgestellten Zweifach- und Dreifachtests für Fall 3. Die Cut-Off-Werte von 3,0 für die CD4/CD8-Ratio, 0,345 für die CD103CD4/CD4-Ratio und 20% für den Lymphozytenanteil wurden beibehalten.

Tab. 4.17: Fall 3: Tests auf Sarkoidose mit multiplen Werten

Test	Sarkoidose			Test	Sarkoidose		
	Ja	Nein	Gesamt		Ja	Nein	Gesamt
Positiv	15	19	34	Positiv	13	18	31
Negativ	9	158	167	Negativ	11	159	170
Gesamt	24	177	201	Gesamt	24	177	201

(a) CD4/CD8 und CD103CD4/CD4

(b) Lymphozytenanteil, CD4/CD8 und CD103CD4/CD4

Cut-Off-Werte für Sarkoidose:

Lymphozytenanteil > 20%, CD4/CD8  $\geq$  3,0, CD103CD4/CD4  $\leq$  0,234

Die Berechnung der daraus folgenden Testgütekriterien erfolgte wie gehabt aus den betreffenden Werten der Tabellen:

Zweifachtest:

$$\text{Sensitivität} = \frac{15}{24} = 0,625 \quad \text{Spezifität} = \frac{158}{177} = 0,893 \quad (4.7)$$

$$\text{PPV} = \frac{15}{34} = 0,441 \quad \text{NPV} = \frac{158}{167} = 0,946 \quad (4.8)$$

Dreifachtest:

$$\text{Sensitivität} = \frac{13}{24} = 0,542 \quad \text{Spezifität} = \frac{159}{177} = 0,898 \quad (4.9)$$

$$\text{PPV} = \frac{13}{31} = 0,419 \quad \text{NPV} = \frac{159}{170} = 0,935 \quad (4.10)$$

Auch im Fall 3 stieg die Spezifität bei Betrachtung mehrerer Marker stark an: von 62,1% bei der CD103CD4/CD4-Ratio allein auf 89,8% beim Dreifachtest (Zweifachtest: 89,3%). Die Sensitivität hingegen fiel, wie auch zuvor, von 91,7% auf nur 54,2% beim Dreifachtest (Zweifachtest: 62,5%).

Die besten prädiktiven Werte wurden diesmal jedoch bei der Anwendung des Zweifachtests erreicht. Sie hatten einen PPV von 44,1% und einen NPV von 94,6%, während beim Dreifachtest nur ein PPV von 41,9% und einen NPV von 93,5% zu verzeichnen war. Dieser Unterschied ist jedoch vernachlässigbar.

#### 4.6.6 Vergleich der Testgütekriterien nach Fall und verwendeten Markern

Die Testgütekriterien der CD103CD4/CD4-Ratio allein und im Zweifach- und Dreifachtest für Fall 1 und Fall 3 werden in Tabelle 4.18 für eine bessere Vergleichbarkeit dargestellt.

Dabei erfolgte der Vergleich zwischen Fall 1 und Fall 3 mit jeweils folgenden Tests:

*Test (a):* CD103CD4/CD4-Ratio allein mit Cut-Off von  $\leq 0,345$

*Test (b):* Zweifachtest mit CD103CD4/CD4-Ratio ( $\leq 0,345$ ) und CD4/CD8-Ratio ( $\geq 3,0$ )

*Test (c):* Dreifachtest mit Lymphozytenanteil ( $> 20\%$ ), CD4/CD8-Ratio ( $\geq 3,0$ ) und CD103CD4/CD4-Ratio ( $\leq 0,345$ ).

Grundsätzlich findet sich die beste Sensitivität jeweils bei Test (a) und die höchste Spezifität bei Test (c). Während die Sensitivität unabhängig vom Fall ist, weist Test (c) im Fall 3 eine niedrigere Spezifität auf als im Fall 1 (89,9% zu 95,5%). Für Test (a) gilt dies in geringerem Maße umgekehrt (62,1% im Fall 3 gegenüber 59,6% im Fall 1). Der höchste positiv prädiktive Wert findet sich mit 44,1% bei Fall 3, Test

Tab. 4.18: Vergleich der Gütekriterien (Werte in %)

	Test	Sensit.	Spezif.	PPV	NPV
Fall 1	(a)	91,7	59,6	11,9	99,2
	(b)	62,5	91,8	31,3	97,6
	(c)	54,2	95,5	41,9	97,2
Fall 3	(a)	91,7	62,1	24,7	98,2
	(b)	62,5	89,3	44,1	94,6
	(c)	54,2	89,8	41,9	93,5

Cut-Offs: Lymphoz.  $> 20\%$ , CD103CD4/CD4  $\leq 0,345$ , CD4/CD8  $\geq 3,0$

(b). Bei alleiniger Verwendung von CD103CD4/CD4 sind die PPV sehr niedrig. Fall 3 weist höhere Werte auf als Fall 1 (nur 11,9% bei Fall 1 (a) und 24,7% bei Fall 3 (a)). Die negativ prädiktiven Werte sind aufgrund der niedrigen Prävalenz und dementsprechend auch relativ niedrigen Vortestwahrscheinlichkeit (siehe 3.5) der Sarkoidose hingegen sehr hoch. Im Fall 1 werden im direkten Vergleich bessere NPVs erreicht als im Fall 3. Den höchsten Wert erreicht Test (a) im Fall 1 mit 99,2% (98,2% im Fall 3).

Die Testgütekriterien für Fall 1 und Fall 3 unterscheiden sich insgesamt nur geringfügig. Obwohl im Fall 1, insbesondere beim Dreifachtest, bessere Ergebnisse erzielt wurden, lässt sich die CD103CD4/CD4-Ratio für beide Fälle ähnlich gut anwenden.

#### 4.6.7 Vergleich der eigenen Ergebnisse mit anderen Studien

Aufgrund der sehr unterschiedlichen und teils widersprüchlichen Ergebnisse der älteren Publikationen (siehe 1.6) [23–25, 45], ist ein Vergleich mit den eigenen Ergebnissen ein wichtiger Schritt.

Tabelle 4.19 stellt die entsprechenden Werte der anderen Arbeiten in der Spalte „fremde Werte“ den „eigenen Werten“ gegenüber, die zur besseren Vergleichbarkeit mit den jeweiligen Cut-Offs der anderen Arbeiten bestimmt wurden. Je nach Studienpopulation der zu vergleichenden Arbeit werden entweder Werte vom Fall 1 (Sarkoidose vs. alle Nicht-Sarkoidosen) oder vom Fall 3 (Sarkoidose vs. andere ILDs) zum Vergleich verwendet.

Die vielversprechenden Ergebnisse von Mota et al. [25] bei Cut-Off-Werten der CD103CD4/CD4-Ratio von 0,45 konnten bei der eigenen Gruppe nicht reproduziert werden. Während beim Cut-Off von  $\leq 0,45$  die Sensitivität mit etwa 92% deutlich höher liegt, fällt die Spezifität mit 49% im Vergleich zu den 78% von Mota et al. deutlich ab. Von den Wer-

Tab. 4.19: Vergleich der eigenen Ergebnisse mit anderen Publikationen

Quelle	Zellen	Cut-Off	Fremde Werte		Eigene Werte	
			Sensit.	Spezif.	Sensit.	Spezif.
Heron [24]	CD4/CD8	$\geq 3$	68%	73%	66,7%	80,2%
(Sarkoidose: $n = 56$ )	CD103CD4/CD4	$< 0,2$	-	-	54,2%	83,6%
Ges. $n = 119$ )	Kombination	3 & 0,2	66%	89%	41,7%	94,9%
Mota [25]	CD103 der CD4	$\leq 17,85$	71%	80%	69,6%	68,4%
(Sarkoidose: $n = 41$ )	CD103CD4/CD4	$\leq 0,45$	81%	78%	91,7%	48,6%
Ges. $n = 86$ )	CD103CD4/CD4	$\leq 0,25$	63%	91%	62,5%	76,3%
Hyldgaard [44]	CD4/CD8	$\geq 3,8$	42%	91%	54,2%	90,5%
(Sarkoidose: $n = 19$ )	CD103CD4/CD4	$\geq 0,22$	63%	76%	54,2%	79,6%
Ges. $n = 107$ )	Kombination	3,8 & 0,22	42%	91%	41,7%	97,3%
Bretagne [45]	CD4/CD8	$\geq 3$	58%	80%	66,7%	84,0%
(Sarkoidose $n = 53$ )	CD103CD4/CD4	$\leq 0,2$	94%	18%	54,2%	82,5%
Ges. $n = 207$ )	CD103CD4/CD4	$\leq 0,22$	85%	28%	54,2%	79,6%
Eigene Arbeit	CD4/CD8	$\geq 3$	-	-	66,7%	84,0%
(Sarkoidose $n = 24$ )	CD103CD4/CD4	$\leq 0,345$	-	-	91,7%	59,6%
Ges. $n = 425$ )	Kombination	3 & 0,345	-	-	62,5%	91,8%

Die Ergebnisse von Heron et al. und Mota et al. werden mit den eigenen Ergebnissen des Falles 3, die Ergebnisse von Hyldgaard et al. und Bretagne et al. mit den eigenen Ergebnissen des Falles 1 verglichen. Die Werte bei den eigenen Cut-Offs entstammen ebenfalls dem Fall 1.

ten bei Heron et al. [24] weichen die in der vorliegenden Arbeit gewonnenen Werte weniger gravierend ab. Bei gleichzeitiger Betrachtung der CD4/CD8- und CD103CD4/CD8-Ratio zeigt sich bei der eigenen Untersuchung eine bessere Spezifität (94,9% zu 89%), aber eine deutlich schlechtere Sensitivität (41,7% zu 66%).

Die Ergebnisse von Bretagne et al. [45] stehen im Gegensatz sowohl zu dieser Arbeit, als auch den Ergebnissen von Mota et al. und Heron et al.. Die Werte von Bretagne et al. unterscheiden sich durch eine extrem hohe Sensitivität (94%) und extrem niedrige Spezifität (18%) bei einem Cut-Off von 0,2 des CD103CD4/CD4-Quotienten stark von den anderen Arbeiten, die in diesem Cut-Off-Bereich durch eine gute Spezifität bestachen. Die eigenen Ergebnisse beim Cut-Off von 0,2 lieferten eine Sensitivität von 54,2% und eine Spezifität von 82,5%.

Auffällig sind vor allem die Unterschiede in den ermittelten Cut-Off-Werten der einzelnen Arbeiten für die CD103CD4/CD4-Ratio, die von maximal 0,45 bis minimal 0,2 reichen. Der eigene Cut-Off von 0,345 liegt etwa in der Mitte. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen zwar erneut einen klaren Zusammenhang zwischen CD103 und Sarkoidose, passen vom Muster der Ergebnisse jedoch nicht klar zu einer der anderen Arbeiten. Die genaue Interpretation der Ergebnisse im Vergleich zu denen der anderen Arbeiten erfolgt in Abschnitt 5.9 mit zusätzlichem Augenmerk auf die Unterschiede im Studiendesign.

#### 4.6.8 CD103 in Abhängigkeit vom radiologischen Stadium

Bereits in anderen Arbeiten wurde eine erhöhte CD103CD4/CD4-Ratio in der BAL bei Patienten im fortgeschrittenen Röntgenstadium (vgl. Abb. 1.2) der Sarkoidose festgestellt [24, 25, 38].

Auch in dieser Arbeit zeigte sich die CD103CD4/CD4-Ratio im Stadium I mit einem Median von 0,12 als relativ niedrig, jedoch mit einer breiten Streuung, die sich im großen IQR von 0,25 widerspiegelt. Da die Fallzahlen in den Stadien II ( $n = 7$ ) und III ( $n = 3$ )

sehr niedrig sind, ist die Formulierung einer Aussage schwierig, obwohl die Mediane dieser beiden Gruppen im Vergleich zum Stadium I zunehmend ansteigen.

Die Gruppe der Patienten mit Lungenfibrose ( $n = 46$ ), deren Genese nicht berücksichtigt wird, liegt mit einem Median von 0,44 relativ deutlich oberhalb derer der Sarkoidosestadien. Das Stadium IV, die Lungenfibrose aufgrund von Sarkoidose (siehe Abb. 1.2), ließ sich retrospektiv nicht sicher diagnostizieren, da die Ursache der Fibrose retrospektiv schwierig zu ermitteln ist und fibrotische Veränderungen trotz einer vorliegenden Sarkoidose auch von anderen Erkrankungen verursacht sein können. Somit wurden alle Sarkoidosepatienten mit radiologischem Nachweis fibrotischer Veränderungen der unspezifischen Gruppe der Lungenfibrosen zugeordnet.

Alle genannten Werte finden sich in Tabelle 4.20 zusammengefasst und graphisch in Abb. 4.18 dargestellt.

Tab. 4.20: CD103CD4/CD4-Ratio in Abhängigkeit vom radiologischen Stadium

	Anzahl	Median	IQR	Mittelwert	Std.-Abw.
Unauffällig	55	0,35	0,38	0,40	0,26
unkl. Stadium	9	0,29	0,48	0,46	0,40
Stadium 0	3	0,34	-	0,31	0,08
Stadium I	17	0,12	0,25	0,35	0,67
Stadium II	7	0,19	0,11	0,20	0,07
Stadium III	3	0,27	-	0,30	0,05
Fibrose	46	0,44	0,26	0,47	0,24

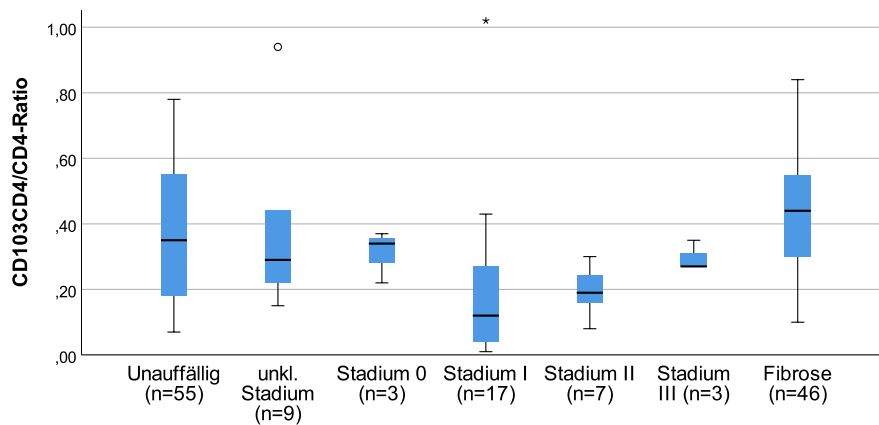


Abb. 4.18: CD103CD4/CD4-Quotient in Abhängigkeit vom radiologischen Stadium

## 4.7 Zusammenfassung der wesentlichen Ergebnisse

Der bisherige Ergebnisteil hat zu den verschiedenartigsten Erkenntnissen geführt. Zum Abschluss sollen sie hier zur einfacheren Übersicht kurz zusammengefasst werden:

Bei Rauchern konnte im Vergleich zu Nichtrauchern mittels ROC-Kurven für die CD103-assoziierten Werte eine deutlich schlechtere Fähigkeit, Sarkoidose von anderen Erkrankungen abzugrenzen, gezeigt werden. Als Konsequenz wurde die Gruppe der Raucher ab Abschnitt 4.6.1 von weiteren Analysen ausgeschlossen (vgl. Abschnitt 4.4.1).

Weiterhin konnte festgestellt werden, dass die Immunsuppression hingegen keinen nachweisbaren Effekt auf die CD103-assoziierten Marker hatte (vgl. 4.8).

Der CD103-assoziierte Marker mit der besten Differenzierungsfähigkeit in Bezug auf Sarkoidose ist die CD103CD4/CD4-Ratio mit einem Cut-Off von  $\leq 0,345$ . Ihre Testgüte entspricht in etwa der CD4/CD8-Ratio (Cut-Off von  $\geq 3,0$ ) mit einer im Vergleich besseren Sensitivität, allerdings schlechteren Spezifität (vgl. 4.6.3). In der Diskussion wird auf die Relevanz dieses Ergebnisses eingegangen.

Alle Patienten ohne diagnostizierte Sarkoidose (als Fall 1 bezeichnet) lassen sich ebenso gut wie Patienten mit ausschließlich interstitiellen Lungenerkrankungen (als Fall 3 bezeichnet) mittels der CD103CD4/CD4-Ratio von Patienten mit histologisch gesicherter Sarkoidose abgrenzen (vgl. 4.6.3).

Die CD4/CD8-Ratio muss bei Verwendung der CD103CD4/CD4-Ratio nicht speziell beachtet werden. Sowohl bei erhöhter ( $\geq 3$ ), als auch bei normaler bzw. niedriger ( $< 3$ ) CD4/CD8-Ratio weist die CD103CD4/CD4-Ratio bei dem Cut-Off von 0,345 eine hohe Sensitivität auf. Die Spezifität ist entsprechend den von der CD4/CD8-Ratio unabhängigen Ergebnissen auch hier deutlich niedriger (vgl. 4.6.4).

Bei gemeinsamer Betrachtung von Lymphozytenanteil, CD4/CD8-Ratio und CD103CD4/CD4-Ratio lässt sich die Spezifität des Tests auf Kosten der Sensitivität deutlich steigern. Dabei steigen auch die positiv prädiktiven Werte für die vorliegende Studienpopulation stark an, die bei alleiniger Betrachtung der CD103CD4/CD4-Ratio sehr niedrig waren. Bei Fall 1 ergeben sich bei Betrachtung aller drei Marker geringfügig bessere Ergebnisse als bei Fall 3 (vgl. 4.6.5).

Im Hinblick auf die radiologischen Sarkoidosestadien schien sich, trotz sehr geringer Patientenzahlen, der Anstieg der CD103-assoziierten Werte bei höheren radiologischen Stadien, wie in anderen Arbeiten nachgewiesen [24, 25, 38], auch in der vorliegenden Arbeit zu bestätigen (vgl. 4.6.8).

Der in anderen Arbeiten gezeigte Zusammenhang zwischen niedrigen CD103-Werten und Sarkoidose konnte eindeutig bestätigt werden. Die eigenen Ergebnisse passten jedoch nicht klar zu einer dieser anderen Arbeiten, zumal diese auch untereinander sehr unterschiedliche Beurteilungen bezüglich der Anwendbarkeit des Markers formulierten (vgl. 4.6.7).

# 5 Diskussion

## 5.1 Analyse des Patientenkollektivs

Die Sammlung der Patienteninformationen erfolgte im Rahmen dieser Studie per retrospektiver Datenanamnese (Daten im Zeitraum vom 16.07.2015 bis 14.12.2016).

Die in der Universitätsklinik Halle (Saale) und im Klinikum Martha-Maria Halle-Dörlau gestellten Arbeitsdiagnosen wurden bei ausreichender Diagnosesicherheit übernommen und je nach Vollständigkeit des diagnostischen Vorgehens eingeteilt. Dies spielte insbesondere bei den Sarkoidosen und Fibrosen eine große Rolle. Eine genauere Einteilung der anderen ILDs (außer Sarkoidose und Fibrose) erfolgte aufgrund der zumeist sehr niedrigen Fallzahlen nur teilweise.

Die Geschlechterverteilung der Patienten war mit 55,7% weiblich zu 44,3% männlich relativ ausgeglichen. Entsprechend der ansteigenden Inzidenz interstitieller Lungenerkrankungen generell im Alter von über 65 Jahren [78], sowie dem zusätzlichen Altersgipfel im jungen Erwachsenenalter zwischen 20 und 39 Jahren bei Sarkoidose [7, 17], lag die Altersverteilung der Studienpopulation mit 50% Patienten  $\geq$  60 Jahren und etwa 14% zwischen 20 und 39 Jahren im zu erwartenden Bereich.

Die Bestimmung des BMI erfolgte zur grundlegenden Einschätzung der Vergleichbarkeit des Patientenkollektivs in Bezug auf die Gesamtheit. Mit etwa 35% präadipösen und ca. 30% adipösen Patienten entsprach die Verteilung in etwa den Ergebnissen von Mensink et al. in der DEGS-Studie des Robert-Koch-Institutes aus dem Jahre 2013 [79].

Besonders relevant im Hinblick auf den möglichen Einfluss auf die individuelle Zellzusammensetzung der BAL-Flüssigkeiten war die Betrachtung des Rauchverhaltens. Von 770 Patienten mit erfragtem Rauchstatus ergaben sich 574 (74,5%) Nichtraucher und 135 (17,5%) Raucher. Die 61 (7,9%) Ex-Raucher wurden bei den Analysen aufgrund der unbekanntenen Zeitspanne der Rauchabstinenz und damit verbundenen Beeinflussung der Zellzusammensetzungen in jedwede Richtung nicht mit einbezogen. Da die Dokumentations des Raucherstatus sehr unterschiedlich erfolgte, erwies sich eine Quantifizierung mittels Pack-Years meist unmöglich.

Die Gruppe der “Sarkoidosen als Verdachtsdiagnose“ entspricht Patienten, die zum Zeitpunkt der Auswertung keine fortgeschrittene Sarkoidosediagnostik durchlaufen haben und somit noch nicht mit ausreichender Sicherheit einem spezifischen Krankheitsbild zugeordnet werden können. Aufgrund der hohen Wahrscheinlichkeit des tatsächlichen Vorliegens einer Sarkoidose, aber einem unklaren Anteil an anderen Diagnosen, sind Werte dieser Patientengruppe deshalb mit besonderer Vorsicht zu interpretieren und wurden in den meisten Fällen von den Analysen ausgeschlossen.

Als “klinisch diagnostizierte Sarkoidosen“ gelten Fälle, bei denen die Diagnosen aufgrund der entsprechenden klinischen Ausprägung, den Laborbefunden und/oder den radiologischen Bildern, jedoch ohne histologische Sicherung, gestellt wurden. Der Anteil der klinisch diagnostizierten Sarkoidosen variiert dabei sehr stark in Abhängigkeit vom Vorgehen der behandelnden Klinik. Da jedoch eine histologische Untersuchung zum aktuellen Zeitpunkt noch als wichtigste Methode zur diagnostischen Sicherung gilt [7, 9, 14, 17], und die Anzahl

an falsch positiven Diagnosen sich nicht gut abschätzen lässt, sind Ergebnisse, die in der Gruppe der klinisch diagnostizierten Sarkoidosen erzielt wurden, nicht ausreichend sicher. Als repräsentativste Gruppe sind die histologisch gesicherten Sarkoidosen zu betrachten, deren Diagnose durch den Nachweis nicht-verkäsender Granulome im bioptischen Präparat in Kombination mit dem klinischen Bild nahezu bewiesen werden konnte. Die Aussagekraft von Ergebnissen dieser Gruppe ist deshalb am höchsten einzuschätzen.

Die radiologischen Befunde der Sarkoidosepatienten nach Diagnoseart zeigt Tabelle 4.2 (S. 21), wobei bei 20 von 28 histologisch gesicherten und 14 von 62 klinischen diagnostizierten Fällen sarkoidosetypische Veränderungen (insgesamt 39 von 126) nachgewiesen werden konnten. Im besten Fall wurde dadurch eine radiologische Stadieneinteilung ermöglicht. Sich radiologisch unspezifisch zeigende Veränderungen wie eine interstitielle Zeichnungsvermehrung ( $n = 4$ ), Lymphknotenschwellungen (nicht klassisch bihilär,  $n = 14$ ) oder eine geringgradige Fibrose ( $n = 7$ ) können durchaus auf eine Sarkoidose hindeuten, finden sich aber ebenso bei einer Vielzahl anderer Erkrankungen, wie auch bei relevanten Differentialdiagnosen. Ein möglicher Einfluss eines radiologischen Sarkoidosestadiums auf die CD103-Zellen wurde in mehreren Arbeiten bereits gezeigt [24, 25, 38] und ist Gegenstand der vorliegenden Arbeit.

Die für Fibrosen getroffene Unterteilung entspricht den histopathologischen Mustern NSIP ( $n = 7$ ), UIP ( $n = 14$ ) und CPFE ( $n = 1$ ), welche in Kombination mit dem radiologischen (v.a. mittels HRCT) und klinischen Befundbild die Form der Fibrose spezifizieren können [80–82]. Da jedoch aufgrund stark eingeschränkter medikamentöser Optionen die genaue Einteilung aktuell noch keine gravierenden therapeutischen Konsequenzen mit sich gebracht hat und vorwiegend die Einschätzung der Prognose beeinflusst, werden Klassifizierungen verschieden diskutiert und nicht immer durchgeführt [83]. Daraus resultieren die hohen Zahlen an nicht genau klassifizierten Fibrosen ( $n = 45$ ) in dieser Studie, welche die genaue Analyse der Abhängigkeit der CD103-Zellanteile von der Lungenfibrose massiv erschweren. Wegen der unterschiedlichen Pathophysiologien der sehr heterogenen Krankheitsgruppe der Fibrosen, welche häufig eine gemeinsame Endstrecke verschiedener interstitieller Lungenerkrankungen darstellt [84], ist davon auszugehen, dass sich die jeweiligen CD103-Zellanteile unterscheiden.

Als Gruppe der “anderen“ interstitiellen Lungenerkrankungen wurden alle Erkrankungen des Lungenparenchyms (siehe Abschnitt 1.1) außer Sarkoidosen und Fibrosen definiert. Nachgewiesen wurden dabei Fälle von lymphozytärer Alveolitis ( $n = 13$ ), nicht näher definierter Alveolitis ( $n = 13$ ), eosinophiler Pneumonie ( $n = 3$ ), COP ( $n = 8$ ), eosinophilem Syndrom ( $n = 2$ ), EAA ( $n = 10$ ) und Asbestose ( $n = 2$ ). Der genaue Weg der Diagnosestellung konnte zumeist aktenanamnestisch nicht lückenlos nachvollzogen werden, so dass die in der jeweiligen Klinik gestellten Diagnosen nicht zwingend als gesichert betrachtet werden können. In 11 Fällen war zum Zeitpunkt der Aktendurchsicht noch keine genaue Zuordnung zu einer Krankheitsentität der ILDs erfolgt (genaue Verteilung in Tabelle 4.1). Die insgesamt 62 Fälle an “anderen ILDs“ eignen sich dagegen gut zur Untersuchung der Abgrenzbarkeit der Sarkoidose von anderen interstitiellen Lungenerkrankungen. Der Ver-



gleich mit einzelnen genauen Diagnosen ist jedoch nur eingeschränkt aussagekräftig.

Patienten ohne nachgewiesene ILD bilden die Gruppe "keine ILD", die keinesfalls mit einer gesunden Vergleichsgruppe gleichgesetzt werden darf. Jede durchgeführte BAL erfolgte im Rahmen des diagnostischen Vorgehens der vermuteten Grunderkrankung und setzte somit eine klinische Notwendigkeit voraus. Eine weit gefächerte Anzahl an Diagnosen ist in dieser Gruppe vorhanden, die von infektiösen Erkrankungen wie einer Pneumonie bis zu malignen Erkrankungen wie NSCLC reicht. Aufgrund der teils aufwendigen und schwierigen Diagnosestellung lässt sich das Vorhandensein von Patienten mit unerkannten ILDs in dieser Gruppe jedoch nicht sicher ausschließen.

## 5.2 Bedeutung der Störfaktoren für die Anwendung der CD103CD4/CD4-Ratio

### 5.2.1 Einfluss des Rauchens

In den Abschnitten 4.4.1 und 4.6.1 wurde gezeigt, dass die Fähigkeit der CD103-assoziierten Marker, Sarkoidose von anderen Erkrankungen abzugrenzen, bei Rauchern im Vergleich zu Nichtrauchern deutlich abnimmt (vgl. Abb. 4.12).

Patienten mit Sarkoidose (sowohl klinisch und histologisch gesichert als auch als Verdachtsdiagnose) wurden bei diesen Analysen ausgeschlossen, da der negative Einfluss der Sarkoidose auf die CD103-Werte die Auswirkungen des Nikotinkonsums verschleiern könnte. Dies liegt insbesondere daran, dass die Anteile an Sarkoidosepatienten in den einzelnen Rauchergruppen variieren (vgl. Tabelle 4.5). Der Anteil an Patienten mit Sarkoidose/Sarkoidoseverdacht beträgt bei den Nichtrauchern 30,1%, bei den Rauchern hingegen nur 20%, weswegen in der Gruppe der Nichtraucher allein aufgrund der Sarkoidosepatienten durchschnittlich geringere CD103-Werte zu erwarten wären als bei den Rauchern.

Den grundsätzlichen Einfluss vom Nikotinkonsum sieht man in Abb. 4.4 und Tab. 4.6, die erhöhte Anteile an CD103-positiven T-Zellen (40,0% zu 55,2% im Mittelwert) und CD103CD4/CD4-Ratios (0,41 zu 0,61 im Median) bei Rauchern zeigen. Die CD103-positiven Anteile der CD4-Zellen veränderten sich in geringerem Maße, stiegen jedoch ebenfalls an (22,0% zu 27,6% im Median).

Zwar wurden generell höhere CD103-Werte bei Rauchern nachgewiesen, jedoch ist die Relevanz in Bezug auf die klinische Anwendbarkeit weiterhin unklar. Wäre der Anstieg der CD103-Werte bei Rauchern jeder Erkrankungsgruppe gleich groß, würde die Fähigkeit, Sarkoidosepatienten von Nicht-Sarkoidosepatienten abzugrenzen, dadurch nicht beeinflusst werden. Einzig müssten unterschiedliche Cut-Off-Werte je nach Raucheranamnese verwendet werden.

Um den Einfluss des Rauchens auf die oben genannte klinische Anwendbarkeit zu untersuchen, erfolgte die Erstellung von ROC-Kurven für die Fähigkeit der drei CD103-assoziierten Marker, Sarkoidosepatienten von Nicht-Sarkoidosepatienten in Abhängigkeit vom Rauchverhalten (entsprechend dem Fall 1 von 4.6.2) zu unterscheiden (4.12). Insgesamt 425 Nichtraucher wurden, abzüglich der nicht histologisch gesicherten Sarkoidosepatienten, untersucht. Eine histologisch gesicherte Sarkoidose lag bei 24 Patienten vor.

Dem standen 111 Raucher mit 5 histologisch gesicherten Sarkoidosen gegenüber (siehe Tab. 4.9). Während sich die AUC der Nichtraucher im Vergleich zu denen aller Patienten unabhängig vom Rauchverhalten (Tabelle 4.11) für jeden der CD103-Werte geringfügig verbessert, lässt sich die Sarkoidose bei Rauchern nicht mehr von anderen Erkrankungen abgrenzen. Tabelle 4.10 zeigt dabei die großen Differenzen zwischen den entsprechenden AUCs. Ein Problem dieser Ergebnisse ist jedoch die geringe Anzahl an histologisch gesicherten Sarkoidosen unter den Rauchern, die zu enormen Konfidenzintervallen mit konsekutiv nicht-signifikanten AUC-Werten führt. Mit nur  $n = 5$  lässt sich keine ausreichend sichere Verallgemeinerung für die Grundgesamtheit treffen. Jedoch erlaubt das Ergebnis dennoch eine Vermutung, die in zukünftigen Arbeiten bestätigt oder widerlegt werden kann: Dass die CD103-assoziierten Werte bei Rauchern nicht zur Sarkoidosediagnostik geeignet sind. Interessanterweise schien die CD4/CD8-Ratio robuster gegenüber dem Nikotinkonsum der Patienten zu sein. Mit einer AUC von 0,79 bei Nichtrauchern und 0,71 bei Rauchern zeigte sich eine wesentlich geringere Veränderung (dennoch mit einem  $p = 0,11$  nicht signifikant). Woher diese unterschiedliche Beeinflussung kommt, lässt sich aber nicht sagen.

Wegen der verminderten Aussagekraft der CD103-assoziierten Marker von Rauchern in der Sarkoidosediagnostik, werden in den kommenden Abschnitten nur noch Nichtraucher berücksichtigt.

### 5.2.2 Immunsuppression

Bei der Sarkoidose wird aktuell eine BALF-Lymphozytose durch Immigration peripherer Lymphozyten in das Lungengewebe vermutet, die zur Verdünnung des Anteils der intraepithelialen CD103-positiven Lymphozyten führt [23–25]. Dass eine systemische Corticosteroidtherapie, die zu einer verminderten Anzahl peripherer Lymphozyten führt, folglich auch die Anteile der pulmonalen CD103-Zellen beeinflusst, ist somit eine naheliegende Vermutung. Trotz eines angenommenen Einflusses von immunsuppressiven Therapien auf die T-Zell-Subpopulationen ließen sich in den Ergebnissen erstaunlicherweise keine signifikanten Veränderungen der CD103-Anteile unter der Therapie mit Glucocorticoiden oder anderen Immunsuppressiva, wie Ciclosporin A, Azathioprin oder Methotrexat, nachweisen (siehe Abschnitt 4.4.2). Die Ursachen für diese fehlende Beeinflussung sind unklar.

Während der Einfluss von immunsuppressiven Medikamenten auf die Blutzellzusammensetzung gut erforscht ist, sind die Veränderungen in der BAL-Flüssigkeit hingegen oft unbekannt. Es ist fraglich, inwieweit die Veränderungen im Blut auf die BAL übertragbar sind, insbesondere im Hinblick auf die systemische Glucocorticoidtherapie. Eine Ursache für den fehlenden Einfluss könnte eine gleich starke Wirkung auf Lymphozyten in der Lunge und im Blut sein, die zwischen den Subpopulationen ebenfalls nicht variiert. Somit käme es zu gleichmäßigen Veränderungen in jeder Lymphozytengruppe, die durch die Betrachtung der Anteile und Verhältnisse zueinander nicht nachweisbar wären.

Auch die Heterogenität der immunsuppressiven Therapien ist eine Problemquelle. Viele verschiedene Medikamente mit unterschiedlichen Wirkprofilen und Dosierungen wurden über stark variierende Zeiträume mit zeitlich unterschiedlichem Beginn der Therapie verabreicht. Somit war eine starke Vereinfachung der Therapieschemata notwendig, um eine Vergleichbarkeit zu Patienten ohne Immunsuppression zu schaffen. Solche Vereinfachung

geht jedoch immer mit starker Ungenauigkeit einher. Weiterhin lässt sich in einer retrospektiven Studie die Patientecompliance im Sinne der regelmäßigen Medikationseinnahme nicht überprüfen. Besonders die Nutzung inhalativer Glucocorticoide ließ sich häufig nicht nachvollziehen oder quantifizieren. Ebenso kann eine durchgeführte Immunsuppression ursprünglich veränderte CD103-Werte an einen "normalen" Wert angleichen, so dass eine vor Therapie vorliegende Lymphozytose nach Therapie im Sinne eines gewissen Therapieerfolges nicht mehr vorliegt. Da jedoch keine Werte im zeitlichen Verlauf untersucht wurden, waren solche Effekte nicht nachweisbar.

Aus welchen Gründen auch immer in dieser Studie letztendlich keine Veränderungen der CD103-assoziierten Zellanteile in der BALF durch eine immunsuppressive Therapie nachzuweisen sind, eine besondere Beachtung dieser Therapie ist bei der Interpretation der CD103-Zellanteile in diesem Fall nicht notwendig.

### 5.3 Interpretation der Werteverteilung der CD103-Werte

In den folgenden Abschnitten erfolgt eine Einschätzung der diagnostischen Aussagekraft der einzelnen CD103-assoziierten Werte mithilfe der Betrachtung der Werteverteilungen in den einzelnen Erkrankungsgruppen und den Unterschieden zwischen den Gruppen (vgl. Abschnitte 4.5.2, 4.5.3 und 4.5.4). Ebenso werden mögliche Ursachen für die beschriebenen Verteilungsmuster diskutiert.

#### 5.3.1 Die Werteverteilung der CD103-positiven Anteile der T-Zellen (in %)

Wie in Abschnitt 4.5.2 nachgewiesen (siehe Abb. 4.9), liegen die CD103-positiven Anteile an der Gesamtheit aller T-Zellen bei Patienten mit histologisch gesicherter Sarkoidose mit einem Mittelwert von 29% (Median: 26,6%) niedriger als bei allen anderen Patientengruppen. Der Mittelwert im Fall aller Patienten liegt mit 42,2% (Median: 40,8%) deutlich höher.

Trotz der hohen Abweichung des Mittelwertes erschweren die großen Wertstreuungen innerhalb der Gruppen die sichere Abgrenzung der histologisch gesicherten Sarkoidosen von anderen Erkrankungen.

Ursachen für die hohen Standardabweichungen lassen sich nur vermuten, jedoch liegt es nahe, dass eine Vielzahl von weiteren Faktoren zu Veränderungen der CD103-Zellzahl führt. Jegliche Beeinflussung der pulmonalen Zellzusammensetzung, ob durch inhalative oder systemische Therapie, Umwelteinflüsse, Nikotinkonsum oder genetische Faktoren, kann die CD103-Zellzahl verändern. Auch die Einordnung verschiedener Krankheitsbilder in eine Gruppe und variierende Krankheitsaktivitäten können eine große Rolle spielen.

Mit einer Standardabweichung von 21,1% liegen die Werte der Sarkoidosepatienten in einem sehr großen Bereich und überschneiden sich dadurch zu großen Teilen mit denen anderer Patientengruppen. Dennoch zeigt sich die Tendenz der Werte in negative Richtung bei Sarkoidose relativ gut. Vor allem die EAA und die Asbestose liegen mit Mittelwerten von 59,1% (Median: 65,2%) und 64% (Median: 64%) deutlich höher.

Während die Patienten mit histologisch gesicherter Sarkoidose sehr niedrige Werte aufweisen, liegen die Gruppen mit klinisch diagnostizierter Sarkoidose (MW: 37,7%, Median: 38,5%) und Sarkoidoseverdacht (MW: 37,8%, Median: 35,3%) deutlich näher am Gesamt-

durchschnitt. Da bei einer rein klinisch gestellten Diagnose ohne histologischen Nachweis aufgrund der verringerten Diagnosesicherheit ein erhöhter Anteil an anderen Erkrankungen zu erwarten ist, welche mit erhöhten CD103-Werten einhergehen können, wäre diese Beeinflussung eine mögliche Erklärung für die festgestellte Wertabweichung. Im klinischen Alltag ist diese Unsicherheit jedoch unproblematisch, da häufig durch einen histologischen Nachweis keine Therapieänderung notwendig wäre. Der Anteil an CD103-positiven T-Zellen bei Sarkoidose zeigt sich in dieser Arbeit im Vergleich zu allen anderen vorliegenden ILDs niedriger und scheint somit eine Abgrenzung der Sarkoidose von anderen Lungenerkrankungen (vor allem von der EAA und der Asbestose) mittels dieses Wertes zu ermöglichen. In welchem Maße dies realistisch ist, wird in Abschnitt 5.4 diskutiert.

### 5.3.2 Die Werteverteilung der CD103-positiven CD4-Zellen (in %)

Im vorangegangenen Abschnitt 5.3.1 wurden die Veränderungen der CD103-positiven Anteile an der Gesamtheit aller T-Zellen diskutiert. Da bei der Sarkoidose gehäuft eine CD4-Lymphozytose mit konsekutiv erhöhter CD4/CD8-Ratio auftritt (vgl. 1.2 und 1.3), lässt sich zunächst ein grösserer Einfluss der peripheren Lymphozytose auf die CD103-positiven Anteile an CD4-Zellen vermuten als auf die der CD103-positiven Anteile aller T-Zellen. Abb. 4.10 stellt in Abschnitt 4.5.3 die Verteilung der CD103-positiven Anteile an den CD4-Zellen dar. Auch in diesem Fall fanden sich die niedrigsten Werte in der Gruppe der histologisch gesicherten Sarkoidosen (Median: 13,6%). Auffällig war dort die im Vergleich zu den Werten beim Anteil an allen T-Zellen geringere Streuung der Werte, jedoch mit einigen starken Ausreißern nach oben. Generell lag der Anteil an CD103-Zellen jedoch in allen Gruppen deutlich niedriger. Im Median waren nur 23,3% der CD4-Zellen aller Patienten CD103-positiv (40,8% bei allen T-Zellen). Auch weichen kaum Patientengruppen offensichtlich nach oben ab. Die EAA und die Asbestose, die sich zuvor relativ deutlich abgrenzen ließen, liegen hier mit Medianen von 31,5% bzw. 30,4% nicht sehr stark über dem der Gesamtheit. Vor allem lagen die Werte der Patienten ohne ILD, der Gruppe mit der höchsten Fallzahl, mit 22,1% sogar etwas unterhalb des Gesamtmedians und somit näher an den Werten der Sarkoidosepatienten.

Damit fallen die Unterschiede im Median zwischen den einzelnen Gruppen kleiner aus als bei Betrachtung aller T-Zellen, was die Abgrenzbarkeit der Sarkoidose von anderen Erkrankungen erschwert. Die kleinere Wertstreuung könnte dieser Problematik allerdings entgegenwirken. Auch in diesem Fall zeigten die Patienten mit klinisch diagnostizierter Sarkoidose und Sarkoidoseverdacht jedoch stark von den histologisch gesicherten Sarkoidosen abweichende Werte, wie in Abschnitt 5.3.1 bereits diskutiert.

Die zu Beginn gennante Vermutung bezüglich des stärkeren Einflusses auf die CD4-Zellanteile im Vergleich zu allen T-Zellen konnte nicht bestätigt werden. Die genaue Ursache diesen Sachverhalt ließ sich nicht feststellen.

Inwieweit der Anteil der CD103-positiven CD4-Zellen für die Sarkoidosediagnostik verwendet werden kann, lässt sich aus diesen Ergebnissen nicht ableiten. Es wird in Abschnitt 5.4 genauer untersucht.

### 5.3.3 Die Werteverteilung des CD103CD4/CD4-Quotienten

Als dritter Wert wurde der CD103CD4/CD4-Quotient in Bezug auf seine Fähigkeit, Sarkoidose von anderen Erkrankungen abzugrenzen, untersucht. Durch Einbeziehung des typisch erhöhten CD4-Anteils lassen sich stärkere Wertveränderungen bei Sarkoidosepatienten im Vergleich zu anderen Erkrankten erwarten (siehe 1.5).

Auch in diesem Fall lag der Median der Patienten mit histologisch gesicherter Sarkoidose mit nur 0,19 am niedrigsten, während der Median aller untersuchten Patienten 0,41 betrug. Insgesamt zeigten sich große Unterschiede in den Medianen der einzelnen Gruppen. Wie auch beim CD103-positiven Anteil an allen T-Zellen wiesen die Asbestose und die EAA die höchsten Werte auf (0,97 und 0,91). Trotz der teils sehr großen Interquartilabstände und starker Wertestreuungen einiger Gruppen, ließ sich die Gruppe der histologisch gesicherten Sarkoidosen insbesondere von anderen ILDs gut abgrenzen und zeigte dort eine statistisch signifikante Abweichung der zentralen Tendenz. Alle anderen ILDs außer der Fibrose mit NSIP-Muster (Median: 0,31) wiesen Mediane über dem der Grundgesamtheit (Median: 0,41) und dem der Patienten ohne ILD (Median: 0,42) auf. Patienten ohne diagnostizierte ILD zeigten eine großen Spanne ab etwa 0,05 bis über 1,75, wobei 50% der Werte im Bereich zwischen 0,25 und 0,68 (IQR: 0,43) lagen. Dennoch scheinen, wie Abb. 4.11 zeigt, niedrige Werte der CD103CD4/CD4-Ratio für eine Sarkoidose zu sprechen. Mögliche weitere Faktoren, die die CD103CD4/CD4-Ratio beeinflussen könnten, gelten ebenso für die CD103-positiven Anteile aller T-Zellen und wurden schon in Abschnitt 5.3.1 genannt. Wie gut die CD103CD4/CD4-Ratio tatsächlich als diagnostischer Marker anwendbar ist, wird in Abschnitt 5.4 analysiert.

## 5.4 Fähigkeit der CD103-assoziierten Werte, zwischen Sarkoidose und anderen Erkrankungen zu unterscheiden

Im Abschnitt 4.6.2 erfolgte die Darstellung der ROC-Kurven in Bezug auf die Fähigkeit der CD103-assoziierten Werte, Sarkoidose von anderen Erkrankungen zu unterscheiden. Dies betraf drei untersuchte Fälle:

1. die Unterscheidung zwischen histologisch gesicherten Sarkoidosen und Nicht-Sarkoidosen,
2. die Unterscheidung zwischen klinisch diagnostizierten Sarkoidosen und Nicht-Sarkoidosen
3. die Unterscheidung zwischen histologisch gesicherten Sarkoidosen und anderen ILDs

Die Qualität der Differenzierung durch die CD103-assoziierten Werte in den drei Fällen wurde mit Hilfe der AUC eingeschätzt.

Die Fälle 1 und 3 lieferten ähnliche Ergebnisse und wiesen für beide Fälle die CD103CD4/CD4-Ratio (Beide AUC = 0,75) als sichersten Wert zur Unterscheidung zwischen den Erkrankungsgruppen aus. Die Anteile der CD103-positiven Zellen an der Gesamtheit der T-Zellen und den CD4-Zellen waren in beiden Fällen weniger gut geeignet (siehe Tabellen 4.11 und 4.13). Im Fall 2 lieferte keiner der Werte ausreichende AUCs (0,59, 0,41 und 0,56, siehe Tab. 4.12), weshalb die klinisch diagnostizierten Sarkoidosen sich somit mittels der CD103-Werte nicht von den anderen Gruppen abgrenzen lassen.

Die besseren Ergebnisse für die CD103CD4/CD4-Ratio im Vergleich zu den CD103-Zellanteilen lassen sich möglicherweise durch die stärkere Beeinflussung dieses Wertes durch die

erhöhten CD4-Zellanteile erklären. Aufgrund des bei der CD103CD4/CD4-Ratio zusätzlich berücksichtigten Anteils an CD4-Zellen wird bei einer sarkoidosetypischen CD4-Lymphozytose der Quotient kleiner. Dies unterscheidet den CD103CD4/CD4-Quotienten von den Anteilen der CD103-positiven Gesamt-T-Zellen und der CD103-positiven CD4-Zellen, die nur eine Verminderung des CD103-Zellanteils anzeigen (vgl. Abschnitt 1.5).

Es ist unklar, weshalb die CD103-positiven Anteile der CD4-Zellen bei Sarkoidose nicht stärker nach unten abweichen als die CD103-positiven Anteile aller T-Zellen. Da meistens eine CD4-dominierte Lymphozytose in der Lunge vorliegt, wäre anteilig eine stärkere Veränderung des CD103-positiven Zellanteiles an CD4-Zellen als in der Gesamtheit der T-Zellen zu erwarten. Eventuell spielt der in der vorliegenden Arbeit niedrigere Anteil an CD103-positiven CD4-Zellen (23,3% im Median) im Vergleich mit dem CD103-Anteil bei allen T-Zellen (40,8% im Median) eine gewisse Rolle, da sich bei dem ohnehin niedrigeren Anteil eine Verdünnung in der Prozentzahl schwächer niederschlägt. Die unterschiedliche Maß an Verdünnung je nach Zellgruppe wirkt diesem Effekt jedoch wahrscheinlich entgegen. Was jedoch letztendlich die Ursache für diese Veränderungen ist, lässt sich nicht sicher sagen. Da die diagnostische Wertigkeit der CD4/CD8-Ratio seit vielen Jahren sowohl mit Ihren Vorteilen als auch den Nachteilen bekannt ist (vgl. 1.3), wurden die errechneten AUCs für die CD103-Werte mit denen der CD4/CD8-Ratio verglichen. Dies diente der besseren Einordnung der eigenen Ergebnisse in Bezug auf die klinische Aussagekraft. In Fall 1 (AUC: 0,78) ist die CD4/CD8-Ratio allen drei CD103-assoziierten Werten geringfügig überlegen, in Fall 3 weist die CD103CD4/CD4-Ratio den höchsten Wert auf (AUC: 0,79). Mit einer Flächendifferenz zwischen der AUC der CD103CD4/CD4- und der CD4/CD8-Ratio von nur 0,01 in Fall 1 und 0,02 in Fall 3 sind die AUCs jedoch außerordentlich ähnlich. Demzufolge scheint die CD103CD4/CD4-Ratio eine ähnliche Aussagekraft bezüglich des Sarkoidosenachweises zu haben wie die CD4/CD8-Ratio. Beim Fall 2 dagegen, ist der Vergleich der AUCs der CD103-Werte mit den AUCs der CD4/CD8-Ratio nicht sinnvoll, da die Diagnosestellung der klinisch diagnostizierten Sarkoidosen vor allem mithilfe der CD4/CD8-Ratio erfolgte und somit erhöhte Werte häufig eine Voraussetzung waren.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass in der vorliegenden Arbeit die CD103CD4/CD4-Ratio den CD103-positiven T-Zellanteilen und CD103-positiven CD4-Zellanteilen sowohl in der Differenzierung der Sarkoidose von allen anderen Erkrankungsgruppen (Fall 1), als auch nur von ILDs (Fall 3) überlegen ist und eine in etwa der CD4/CD8-Ratio entsprechende diagnostische Qualität besitzt.

Für den Fall 2 lässt sich keiner der CD103-assoziierten Werte sinnvoll anwenden, sodass im Folgenden dieser Fall nicht berücksichtigt wird.

## 5.5 Beurteilung der ermittelten Cut-Off-Werte

Je nach gewünschtem Anwendungsgebiet eines Tests eignen sich jeweils andere Methoden zur Auswahl geeigneter Cut-Off-Werte. Suchtests benötigen beispielsweise eine hohe Sensitivität, während Bestätigungstests eine hohe Spezifität voraussetzen (vgl. 3.5). Cut-off-Werte müssen somit je nach Test andere Anforderungen erfüllen. Ein weiterer wichtiger Punkt, der bei der Planung der Testanwendung berücksichtigt werden muss, ist die Vortestwahrscheinlichkeit (siehe 3.5). Diese variiert sehr stark in Abhängigkeit von der

Vorselektion der getesteten Patientengruppe. Vor der Auswahl eines Cut-Offs ist also die Evaluation des möglichen/gewünschten Anwendungsgebietes für den Test höchst relevant. In dem in dieser Arbeit betrachteten Fall, bei dem ein durchflusszytometrischer Marker aus der BAL-Flüssigkeit verwendet wurde, liegt eine deutlich erhöhte Vortestwahrscheinlichkeit für Sarkoidose vor. Die Prävalenz der Sarkoidose beträgt in Deutschland etwa 46/100.000 [9], was etwa 0,05% entspricht. Da die Durchführung einer BAL eine klare Indikation erfordert, welche häufig wegen des Verdachts auf eine ILD gestellt wird, liegt der Anteil an Sarkoidosepatienten in dieser Arbeit (siehe Tab. 4.16 und Tab. 4.17) aufgrund der starken Selektion im Fall 1 bei 24/425 (5,6%) und im Fall 3 bei 24/201 (11,9%) (Sarkoidose histologisch gesichert; Patienten mit Sarkoidoseverdacht oder nur klinisch gestellter Diagnose wurden in diesem Fall nicht berücksichtigt, Raucher wurden ebenfalls ausgeschlossen). Da sich die Diagnosestellung von ILDs häufig schwierig gestaltet und eine BAL bei vielen verschiedenen Erkrankungen indiziert ist, kann sowohl eine hohe Sensitivität zur Erhärtung der Verdachtsdiagnose einer Sarkoidose, als auch eine hohe Spezifität zum Sarkoidoseausschluss im Rahmen der Differentialdiagnostik hilfreich sein. Da CD103 als diagnostischer Marker für beide Optionen sinnvoll anwendbar wäre, bot sich die Errechnung des Cut-Off-Wertes mittels des Youden-Index an, welcher Sensitivität und Spezifität in gleichermaßen berücksichtigt (siehe 3.7.3). Um bei zu großer Differenz zwischen Sensitivität und Spezifität die Aussagekraft eines ausgeglichenen Tests im Vergleich zu den Ergebnissen des Youden-Indexes zu haben, wurden zusätzlich Cut-Off-Werte mit der geringsten Differenz zwischen Sensitivität und Spezifität entsprechend dem Vorgehen von Heron et al. [24] ermittelt. Im folgenden werden die Ergebnisse nur für den Fall 1, dem Vergleich zwischen Patienten mit histologisch gesicherter Sarkoidose und allen Patienten ohne Sarkoidose, diskutiert. Auf eine Diskussion des Falles 3 konnte verzichtet werden, da sich die Cut-Offs zwischen Fall 1 und Fall 3 nicht unterschieden und annähernd gleiche Testgütekriterien erreicht wurden. Einzig die höhere Anzahl an insgesamt berücksichtigten Patienten im Fall 1 ( $n = 425$ ) im Vergleich zu Fall 3 ( $n = 201$ ) ist relevant. Welcher Fall im klinischen Setting eine grössere Rolle spielt, wird Gegenstand von Abschnitt 5.10.

Nach Youden wurde im Fall 1 die höchste Sensitivität von der CD103CD4/CD4-Ratio mit 91,7% (Spezifität: 59,6%) bei einem Cut-Off von 0,345 errechnet; die höchste Spezifität nach Youden von 66,3% (Sensitivität: 79,2%) wies der Anteil der CD103-positiven T-Zellen mit einem Cut-Off von 33,6% auf.

Im Vergleich liegen die Cut-Off-Werte bei der Voraussetzung der annähernden Gleichheit von Sensitivität und Spezifität (wie bei Heron et al. [24]) generell eher niedriger. Die CD103CD4/CD4-Ratio wies beim Cut-Off von 0,275 eine Sensitivität von 75% und eine Spezifität von 68,8% auf. Die CD103-positiven Anteile der T-Zellen zeigten beim Cut-Off von 28,8% eine Sensitivität von 70,8% und eine Spezifität von 73,1%. Zwar liegt damit für beide Marker eine höhere Spezifität als mit dem Youden-Index vor, jedoch ist die Einbuße an Sensitivität höher als der entsprechende Spezifitätsgewinn. Somit eignen sich die Cut-Off-Werte der CD103-positiven T-Zellen (33,6% nach Youden), vor allem aber der CD103CD4/CD4-Ratio (0,345 nach Youden) am besten zur klinischen Anwendung. Die Nutzung der CD103-positiven Anteile der CD4-Zellen im Rahmen der Sarkoidosediagnostik scheint aufgrund der schlechteren Testgütekriterien nicht sinnvoll zu sein (s. Tab. 4.14).

Der häufig verwendete Cut-Off-Wert von 3,0 für die CD4/CD8-Ratio wurde in der vorliegenden Arbeit bestätigt. Mit einer Sensitivität von 66,7% und einer Spezifität von 84,3% ergab die CD4/CD8-Ratio beim Cut-Off von 3,0 zwar im Vergleich mit den CD103-assoziierten Werten eine relativ niedrige Sensitivität, aber die höchste Spezifität aller Werte, einschließlich der Ergebnisse mit einem Cut-Off bei gleich hoher Sensitivität und Spezifität.

Abschließend lässt sich die CD103CD4/CD4-Ratio mit einem Cut-Off von 0,345 als sensitivster Marker und die CD4/CD8-Ratio als spezifischster Marker feststellen. Dies gilt sowohl für den Fall 1, als auch für Fall 3.

## 5.6 Veränderung der Testqualität bei Hinzunahme weiterer Marker

In Abschnitt 5.5 konnte festgestellt werden, dass sich die CD103CD4/CD4-Ratio bei Nichtrauchern mit einem Cut-Off von 0,345 als bester CD103-assoziiertes Marker zum Test auf Sarkoidose eignet (Sensitivität 91,7%, Spezifität 59,6%). Die Raucher werden, wie zuvor beschrieben, durchgehend nicht berücksichtigt.

Um die Diagnosesicherheit weiter zu erhöhen, stellt die gleichzeitige Betrachtung mehrerer erkankungstypischer Werte/Veränderungen ein übliches Vorgehen dar. Der klassische Cut-Off für die CD4/CD8-Ratio von 3,0 wurde auch für die vorliegende Patientenpopulation als bester Trennwert ermittelt (siehe 4.6.3 und 5.5) und ergab eine Sensitivität von 66,7% bei einer Spezifität von 84,8%. Für den Lymphozytenanteil in der BALF wurden Werte über 20% als positives Testergebnis entsprechend einer bei Sarkoidose typischen lymphozytären Alveolitis behandelt.

Wie in Abschnitt 4.6.5 beschrieben, ergaben sich bei den verschiedenen Tests für Fall 1 und Fall 3 folgende Ergebnisse (Siehe auch Tabelle 4.18):

- Test (a): CD103CD4/CD4-Ratio mit Cut-Off von  $\leq 0,345$   
 Fall 1: Sensitivität von 91,7%; Spezifität von 59,6% (PPV: 11,9%, NPV: 99,2%).  
 Fall 3: Sensitivität von 91,7%; Spezifität von 62,1% (PPV: 24,7%, NPV: 98,2%).
- Test (b): CD103CD4/CD4-Ratio ( $\leq 0,345$ ) und CD4/CD8-Ratio ( $\geq 3,0$ )  
 Fall 1: Sensitivität von 62,5%; Spezifität von 91,8% (PPV: 31,3%, NPV: 97,6%).  
 Fall 3: Sensitivität von 62,5%; Spezifität von 89,3% (PPV: 44,1%, NPV: 94,6%).
- Test (c): Lymphozytenanteil ( $> 20\%$ ), CD4/CD8-Ratio ( $\geq 3,0$ ) und CD103CD4/CD4-Ratio ( $\leq 0,345$ )  
 Fall 1: Sensitivität von 54,2%; Spezifität von 95,5% (PPV: 41,9%, NPV: 97,2%).  
 Fall 3: Sensitivität von 54,2%; Spezifität von 89,8% (PPV: 41,9%, NPV: 93,5%).

Je mehr zusätzliche Marker in den Test vom Fall 1 mit einbezogen wurden, desto höher wurden die Spezifität und der PPV und desto niedriger wurden Sensitivität und NPV. Die höchste Sensitivität und der höchste NPV aller Tests wird bei alleiniger Betrachtung der CD103CD4/CD4-Ratio (Test (a)) erreicht, während Test (c) beim Fall 1 die höchste



Spezifität und den höchsten NPV aufweist.

Die ansteigende Spezifität bei Betrachtung mehrerer Marker erklärt sich dadurch, dass mehrere für Sarkoidose typische Veränderungen gleichzeitig auftreten müssen und somit weniger Fälle ohne Sarkoidose alle Kriterien für einen positiven Test erfüllen. Gleichzeitig sinkt aber die Sensitivität, da eben nicht jeder Sarkoidosefall alle typischen Veränderungen aufweist und somit viele Sarkoidosen nicht als positiv erkannt werden. Der ansteigende positiv-prädiktive Wert ist eine Konsequenz aus den deutlich selteneren positiven Testergebnissen, die insbesondere die Zahl an falsch-positiven Fällen reduziert. Der dennoch relativ niedrige PPV, selbst beim Dreifachtest (41,9% in beiden Fällen) lässt sich durch die niedrige Vortestwahrscheinlichkeit erklären (5,6% im Fall 1 und 11,9% im Fall 3). Aus dieser niedrigen Vortestwahrscheinlichkeit resultiert wiederum der hohe NPV bei allen Tests.

Die Unterschiede in den Testgüten zwischen Fall 1 und Fall 3 resultieren aus der unterschiedlichen Zahl an Patienten ohne diagnostizierte Sarkoidose. Im Fall 1 finden sich durch die Berücksichtigung der Patienten ohne ILD Anteilig viel weniger Patienten mit Sarkoidose, was zu einer niedrigeren Vortestwahrscheinlichkeit für diesen Fall im Vergleich zu Fall 3 führt. Die zusätzlich abfallende Testqualität von Test (c) im Vergleich zu Test (b) für den Fall 3 wird im Abschnitt 5.7 diskutiert.

Die Konsequenzen aus den unterschiedlichen jeweiligen Testgüten für die klinische Anwendbarkeit werden in Abschnitt 5.10 aufgeführt.

## 5.7 Interpretation der entsprechenden Testgütekriterien

Wie in Abschnitt 5.6 gezeigt, bietet sich sowohl im Fall 1 als auch im Fall 3 die alleinige Anwendung der CD103CD4/CD4-Ratio für eine hohe Testsensitivität an. Die höchste Testspezifität wird im Fall 1 mit gleichzeitiger Betrachtung der Lymphozytenanteile, der CD4/CD8-Ratio sowie der CD103CD4/CD4-Ratio und im Fall 3 mit Betrachtung der CD4/CD8-Ratio und CD103CD4/CD4-Ratio.

*Fall 1:* Die CD103CD4/CD4-Ratio allein (Test a) scheint sich auf den ersten Blick, wenn man von vornherein Patienten mit aktuellem Nikotinkonsum ausschließt, zum Nachweis von Sarkoidose gut zu eignen, da in diesem Fall 22 der 24 (91%) Sarkoidosefälle erkannt werden konnten. Jedoch liegt der Anteil an falsch-positiven Ergebnissen in der Studienpopulation bei 162 im Vergleich zu nur 22 richtig-positiven Ergebnissen, was einem positiv prädiktiven Wert von nur 12% entspricht. Trotz der Vorselektion durch die Indikationsstellung zur BAL, die zu einer erhöhten Vortestwahrscheinlichkeit führt, ist deren Wert mit 5% noch immer sehr niedrig und bedingt in Kombination mit der relativ niedrigen Testspezifität von knapp 60% eine hohe Anzahl falsch-positiver Ergebnisse (162 von insgesamt 184 positiven Testergebnissen). Somit eignet sich die CD103CD4/CD4-Ratio allein in einem der vorliegenden Arbeit entsprechenden Szenario nicht zum Sarkoidosenachweis. Aufgrund der hohen Sensitivität finden sich umgekehrt jedoch mit 2 von 24 wenig falsch-negative Testergebnisse (etwa 8%), was zusammen mit der geringen Auftrittswahrscheinlichkeit der Sarkoidose zu einem sehr hohen negativ prädiktiven Wert von 99,2% (239/241 Patienten) führt. Bei einer CD103CD4/CD4-Ratio  $> 0,345$  sinkt die Wahrscheinlichkeit einer Sarko-

idose im vorliegenden Fall von 5,3% auf 0,8% ab, was einer relativen Absenkung von 85% entspricht. Zum Vergleich: Die CD4/CD8-Ratio reduziert die Sarkoidosewahrscheinlichkeit in diesem Fall bei einem Cut-Off von 3,1 von 5,3% lediglich auf 2,3% (relative Absenkung um 57%).

Ein wichtiger Punkt, der bei diesem Vergleich beachtet werden muss, ist der diagnostische Weg zur Biopsie mit histologischem Nachweis. Da eine erhöhte CD4/CD8-Ratio an der Bildung bzw. Erhärtung der Verdachtsdiagnose Sarkoidose beteiligt ist, überwiegt die Anzahl an durchgeführten Biopsien bei hoher CD4/CD8-Ratio der Anzahl an durchgeführten Biopsien ohne relevante Erhöhung im Normalfall bei weitem. Folglich müsste auch ein höherer Anteil an diagnostizierten Sarkoidosen erhöhte CD4/CD8-Werte aufweisen, im Vergleich zu den bei der Sarkoidose generell zu erwartenden Werten. Wie stark sich dieser Effekt zeigt, hängt beträchtlich vom diagnostischen Vorgehen und der patientenspezifischen Symptomausprägung ab. Zugleich wurde die Diagnose der Sarkoidose aufgrund ähnlicher therapeutischer Konsequenzen (häufig keine Therapieindikation; wenn, dann meist Corticosteroidtherapie) und der Invasivität der transbronchialen Biopsie unabhängig vom biopsisch erwartbaren Ergebnis gehäuft klinisch gestellt, vor allem mithilfe der CD4/CD8-Ratio. Die betreffenden Patienten bildeten die Gruppe der klinisch diagnostizierten Sarkoidosen und stellten mit 101 Fällen einen nicht zu vernachlässigenden Teil an Studienpatienten dar. Obwohl in dieser Gruppe hohe CD4/CD8-Werte typisch waren, wurden aufgrund eines fehlenden histologischen Nachweises und konsekutiv nicht ausreichender Diagnosesicherheit all diese Patienten aus den Analysen bezüglich der diagnostischen Wertigkeit der CD103-assoziierten Werte ausgeschlossen. Nicht nur gingen dadurch wahrscheinlich einige Sarkoidosepatienten verloren, sondern wurde vor allem eine große Zahl an Patienten mit erhöhter CD4/CD8-Ratio nicht berücksichtigt, die möglicherweise *keine* Sarkoidose haben. Es stellt sich die Frage, ob aus diesen genannten Ursachen eine im klinischen Alltag niedrigere diagnostische Wertigkeit für die CD4/CD8-Ratio als die in dieser Arbeit nachgewiesene Wertigkeit zu erwarten ist. All diese Faktoren scheinen die Aussagekraft der CD4/CD8-Ratio zu beeinflussen und müssen bei der Interpretation dieser Arbeit im Hinterkopf behalten werden. Inwieweit diese Faktoren auf die CD103-assoziierten Werte einwirken, lässt sich nur vermuten. Vor allem bei der CD103CD4/CD4-Ratio, welche durch die CD4-Lymphozytose beeinflusst wird, sind zumindest ähnliche Effekte zu erwarten.

Bei Test (c) hingegen, der gleichzeitigen Betrachtung der Lymphozytenanteile, der CD4/CD8- und CD103CD4/CD4-Ratio, steht die hohe Spezifität im Vordergrund. 381 der 399 Patienten (95,5%) ohne Sarkoidose wurden richtig-negativ getestet. Die Sensitivität ist mit 54,2% (nur 13 von 24 Patienten richtig-positiv) aber ungenügend. Der positiv prädiktive Wert steigt von 11,9% bei Test (a) auf 41,9% an, ist aber weiterhin niedrig. Zwar steigt die Wahrscheinlichkeit, tatsächlich eine Sarkoidose zu haben, bei einem positiven Test (c) im Vergleich zu Test (a) deutlich an, jedoch war der PPV zuvor so niedrig, dass selbst die relative Verbesserung um fast das 3,5-fache noch immer zu keinem guten Wert führt. Auch die ansteigende Zahl an falsch-negativen Testergebnissen stellt in diesem Fall ein Problem dar, da mehrere Faktoren zugleich erfüllt sein müssen. Daraus folgt auch der Abfall des negativ prädiktiven Wertes.

*Fall 3:* Im Fall 3 eignet sich Test (a), die CD103CD4/CD4-Ratio allein, wie im Fall 1, aufgrund der hohen Sensitivität und dem hohen NPV am ehesten zum Sarkoidoseausschluss. Die Wahrscheinlichkeit des Vorliegens einer Sarkoidose in der vorliegenden Studienpopulation von Fall 3 (ohne Raucher und nur Patienten mit ILDs) sinkt bei einer CD103CD4/CD4-Ratio  $> 0,345$  von 12% auf 1,8% ab. Das entspricht einer relativen Absenkung der Sarkoidosewahrscheinlichkeit um etwa 85%.

Im Vergleich zu Fall 1 weist der Test (b) im Fall 3 einen geringfügig besseren PPV auf, als im Fall (c). Generell ist der Zweifachtest im Fall 3 dem Dreifachtest mit besserer Spezifität, besserem PPV und NPV überlegen. Dies lässt sich am ehesten mit der begrenzten Aussagekraft der Lymphozytenanteile in Bezug auf die Differenzierung zwischen einzelnen ILDs erklären. Da die meisten ILDs in der vorliegenden Arbeit eine Lymphozytose aufweisen und einige Gruppen im Median höhere Werte zeigen, als die Sarkoidosepatienten (wie die Gruppen der lymphozytären Alveolitis, EAA und Asbestose), hilft der Lymphozytenanteil nicht bei der Abgrenzung von Sarkoidosepatienten. Zusätzlich weisen einige Sarkoidosepatienten Lymphozytenanteile unter 20% auf, die damit ungünstigerweise nicht beachtet wurden. Der positive Effekt der Beachtung der Lymphozytenanteile auf die Testgütekriterien im Fall 1 beruht am ehesten auf der besseren Abgrenzung der Patientengruppe ohne ILDs. Test (c) ist für den Fall 3 folglich kein sinnvoller Test.

Test (b) zeigt im Vergleich zu Test (a) eine verbesserte Spezifität mit besserem PPV von 44,1%. Die Sensitivität und der NPV sinken hingegen ab. Zum Ausschluss einer Sarkoidose eignet sich der Zweifachtest somit nicht. Aber auch zu ihrem Nachweis ist die Aussagekraft, zumindest in dieser Studienpopulation, begrenzt. Nicht einmal die Hälfte der positiven Testergebnisse sind Sarkoidosepatienten. Jedoch liegt der PPV in diesem Fall (44,1%) deutlich über dem der CD103CD4/CD4-Ratio (PPV: 24,7%) oder der CD4/CD8-Ratio (PPV: 31,3%) allein.

Grundsätzlich scheint sich Test (a) in beiden Fällen eher zum Sarkoidoseausschluss und Test (c) im Fall 1 und Test (b) im Fall 3 am ehesten zur Erhärtung eines Sarkoidoseverdachts anwenden.

In welchen klinischen Situationen diese Tests somit sinnvoll anwendbar sind, wird in Abschnitt 5.10 diskutiert.

## 5.8 Auswirkungen des radiologischen Stadiums auf CD103

Die in Abschnitt 4.6.8 gezeigten Einflüsse des radiologischen Sarkoidosestadiums auf die CD103CD4/CD4-Werte sind aufgrund der geringen Fallzahlen schwierig zu deuten. Die in mehreren Arbeiten gezeigte, in Stadium I im Vergleich zu Stadium II, III und IV niedrigere CD103CD4/CD4-Ratio [24, 25, 38], lässt sich auch in dieser Arbeit vermuten, obwohl die Werte der Patienten im Stadium I relativ stark streuen. Mit 0,12 besitzt diese Gruppe jedoch den niedrigsten Median. Stadium III ( $n = 3$ ) liegt mit 0,27 deutlich höher. Aus den eigenen Ergebnissen allein lässt sich keine ausreichend sichere These formulieren, da jedoch die entstehende Vermutung grundsätzlich den Ergebnissen der anderen Arbeiten nicht zu widersprechen scheint, kann der Einfluss des radiologischen Stadiums auf die CD103CD4/CD4-Ratio als in der Diagnostik zu berücksichtigende Eigenschaft betrachtet werden.

Als Ursache der erhöhten Werte bei zunehmendem radiologischem Sarkoidosestadium werden Veränderungen von Genen, die für TGF- $\beta$ -kodieren, vermutet, welche mit einer Lungenfibrose bei Sarkoidosepatienten assoziiert sind. TGF- $\beta$ 1 und TGF- $\beta$ 2 gelten als profibrotische Faktoren, während TGF- $\beta$ 3 je nach Umstand zur Progression oder zur Hemmung der fortschreitenden Lungenfibrosierung beitragen kann [85, 86]. Interessanterweise stellt TGF- $\beta$  zusätzlich einen starken Stimulus zur Induktion der CD103-Expression dar [87]. Veränderungen der Verteilungen der TGF- $\beta$ -Isoformen könnten somit neben der Fibrosierung der Lunge zu der dabei beobachteten zunehmenden CD103-Expression führen. Da höhere radiologische Stadien einen zunehmenden Umbau des Lungengewebes nahelegen, wären konsekutiv auch erhöhte CD103-Anteile zu erwarten. Ob solche Veränderungen tatsächlich für die beobachteten Wertveränderungen verantwortlich sind und dadurch eine Abschätzung des Outcomes von Sarkoidosepatienten mittels CD103 möglich wäre, lässt sich bisher aber nur vermuten [24].

## 5.9 Unterschiede zu anderen Publikationen

Der Marker CD103 wurde bereits in einigen Studien in Bezug auf die Anwendbarkeit in der Sarkoidosediagnostik untersucht. Die jeweilige Studienpopulation und das Vorgehen, welches zu den entsprechenden Ergebnissen führte, unterschieden sich jedoch in einigen Aspekten bei den einzelnen Publikationen. In Abschnitt 4.6.7 zeigt Tabelle 4.19 die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit im Vergleich mit den Werten der anderen Publikationen. Die jeweiligen Gemeinsamkeiten und Unterschiede entsprechen wichtigen zu diskutierenden Punkten zur Einschätzung der generellen diagnostischen Güte der CD103-assoziierten Werte. Die eigenen Ergebnisse werden nachfolgend mit denen von (a) Heron et al. [24], (b) Mota et al. [25], (c) Hyldgaard et al. [44] und (d) Bretagne et al. [45] verglichen. Die eigene Studienpopulation beinhaltete nach Ausschluss von klinisch diagnostizierten Sarkoidosepatienten, Patienten mit Sarkoidoseverdacht und Rauchern 425 Patienten. Davon wiesen 24 Patienten eine histologisch gesicherte Sarkoidose, 177 Patienten eine andere ILD und 224 Patienten keine ILD auf. Je nach Population der zu vergleichenden Arbeit wurden die eigenen Ergebnisse entweder für alle Patienten (Fall 1) oder nur von Patienten mit Sarkoidose und anderen ILDs (Fall 3) zum Vergleich hinzugezogen.

(a) Heron et al. [24]:

Einschlusskriterien: Die Diagnose der Sarkoidose wurde mittels Biopsie gesichert, und keiner der Studienpatienten erhielt zum Zeitpunkt der Analysen eine Corticosteroidtherapie. Es wurden nur Patienten mit  $> 10\%$  Lymphozyten in der BAL berücksichtigt.

Patientenkollektiv: Es bestand aus insgesamt 119 Patienten, davon 56 mit gesicherter Sarkoidose, die übrigen 63 mit anderen ILDs.

Untersuchte Werte waren die CD4/CD8-Ratio (Cut-Off: 3), die CD103/CD4-Ratio (Cut-Off: 0,31) und die CD103CD4/CD4-Ratio (Cut-Off: 0,2). Zusätzlich wurde die relative CD4/CD8-Ratio eingeführt, die das Verhältnis zwischen der BAL-CD4/CD8-Ratio und der CD4/CD8-Ratio im peripheren Blut ausdrückt (BAL/PB). Eine alleinige Erhöhung der relativen CD4/CD8-Ratio galt dort als äquivalent zu einer Erhöhung nur in der BAL. Um die eigenen Ergebnisse besser mit denen von Heron et al. vergleichen zu können,

wurden von den eigenen Analysen nur die Werte für den Fall 3, dem Vergleich zwischen Patienten mit Sarkoidose und anderen ILDs, betrachtet, da dies am ehesten der Studienpopulation von Heron et al. entspricht (Patienten ohne ILDs werden nicht berücksichtigt). Während bei Heron et al. ein Mindestanteil  $> 10\%$  an Lymphozyten in der BAL gefordert war, wurde in der vorliegenden Arbeit keine entsprechende Mindestgrenze gesetzt. Um Daten aus zu geringen Zellzahlen zu vermeiden, wurden stattdessen Fälle unter 500 durchflusszytometrischer Einzelmessungen ausgeschlossen. Unter den Fällen mit  $< 10\%$  Lymphozyten befinden sich im vorliegenden Patientenkollektiv bereits 9 histologisch gesicherte Sarkoidosen, die ansonsten nicht berücksichtigt worden wären. Somit sind die CD103 betreffenden Ergebnisse dieser Arbeit im Vergleich zu Heron et al. unabhängig vom vorliegenden Lymphozytenanteil der untersuchten Patientengruppe.

Patienten unter immunsuppressiver Therapie wurden in der vorliegenden Arbeit ebenfalls nicht von den Analysen ausgeschlossen. Um auf die Beeinflussung der Werte durch eine stattgehabte Therapie zu eingehen, wurde die Rolle der Immunsuppression als Störfaktor in Abschnitt 4.4.2 beschrieben. Dabei zeigte sich kein nachweisbarer Einfluss auf die CD103-Werte, der eine Berücksichtigung einer solchen Therapie notwendig hätte erscheinen lassen.

Neu war der Ausschluss von Rauchern wegen der in dieser Gruppe generell erhöhten CD103-Werte. Die von Heron et al. genutzte relative CD4/CD8-Ratio (CD4/CD8 BAL/PB) konnte in dieser Arbeit aufgrund fehlender Blutwerte nicht bestimmt werden. Inwieweit diese relative Ratio allein, aber auch zusammen mit CD103 relevant ist, lässt sich somit in der vorliegenden Arbeit nicht beurteilen. Da der Informationsgewinn durch diese relative Ratio jedoch nur die Aussagekraft der CD4/CD8-Ratio beeinflusst und die Wertigkeit von CD103 in der Sarkoidosediagnostik nicht verändert, ist deren fehlende Berücksichtigung in der vorliegenden Arbeit unproblematisch.

Ein weiterer Unterschied war das Vorgehen bei der Bestimmung der Cut-Off-Werte: während Heron et al. die Werte bei ungefähr gleicher Sensitivität und Spezifität bestimmte, wurde im vorliegenden Fall der Youden-Index verwendet.

Heron et al. schlugen die Kombination der CD4/CD8-Ratio (nur aus BAL oder BAL/PB) mit der neu vorgestellten CD103CD4/CD4-Ratio als Test zur Abgrenzung der Sarkoidose von anderen ILDs vor. Während jede Arbeit mit den eigenen Cut-Offs zu ähnlichen Ergebnissen gelangte, ist insbesondere die Sensitivität der eigenen Werte beim CD103CD4/CD4-Cut-Off von 0,2 niedriger als bei Heron et al.. Die Ursachen für die Unterschiede lassen sich nur vermuten; möglicherweise spielt der Ausschluss aller Patienten mit einem Lymphozytenanteil  $< 10\%$  eine Rolle, ebenso könnten die in Abschnitt 5.11 genannten Fehlerquellen zu einer Abweichung beigetragen haben. Auch die sehr unterschiedliche Vortestwahrscheinlichkeit für Sarkoidose könnte eine Rolle spielen, die hier 12% (24/201) im Gegensatz zu 47% bei Heron et al. betrug (56/119). Woher dieser deutlich höhere Anteil an Sarkoidosepatienten kommt, ist unklar.

Insgesamt unterscheiden sich die Spezifitäten nur in geringem Maße. Die CD103CD4/CD4-Ratio in Kombination mit der CD4/CD8-Ratio wird damit grundsätzlich bei beiden Untersuchungen als spezifischer Sarkoidosemarker ausgewiesen. Der Wert der geeigneten Cut-Offs für CD103CD4/CD4 variiert jedoch (0,2 gegenüber 0,345).

(b) Mota et al. [25]:

Einschlusskriterien: Die Diagnose der Sarkoidose wurde nicht nur histologisch, sondern teilweise auch alleine mittels klinischer und radiologischer Kriterien gestellt.

Patientenkollektiv: 86 Patienten, davon 41 mit klinischer oder histologisch gesicherter Sarkoidose und 45 mit anderen ILDs.

Untersuchte Werte waren die CD4/CD8-Ratio (Cut-Off: 3,5) und die CD103CD4/CD4-Ratio (Cut-Off: 0,45).

Zum Vergleich wurden, wie auch bei (a), die Ergebnisse von Fall 3 hinzugezogen, da sie am ehesten der Population von Mota et al. entsprechen. Eine wichtige Erkenntnis aus den Ergebnissen von Mota et al. war die Unabhängigkeit der CD103CD4/CD4-Ratio von der CD4/CD8-Ratio. Die ermittelte Sensitivität (75%) und Spezifität (78%) der CD103CD4/CD4-Ratio für Sarkoidose im histologisch gesicherten Fall bei Patienten mit einer CD4/CD8-Ratio  $< 3,5$  unterschied sich nur sehr geringfügig von der Testqualität bei Betrachtung aller Patienten. Dieses Phänomen ließ sich in der vorliegenden Arbeit ebenfalls nachweisen, jedoch wurde ein Cut-Off von 3,0 gewählt (siehe Abschnitt 4.6.4). Dieser Nachweis erfolgte für den Fall 1. Somit scheint die CD103CD4/CD4-Ratio in der diagnostischen Wertigkeit unabhängig von der vorliegenden CD4/CD8-Ratio zu sein.

Zu beachten sind die bei Mota et al. teilweise klinisch diagnostizierten Sarkoidosen ohne histologischen Nachweis (wobei die genaue Anzahl nicht angegeben ist). Da dort eine erhöhte CD4/CD8-Ratio zur Diagnosestellung genutzt wurde, konnten somit die CD4/CD8-Ratio und die CD103CD4/CD4-Ratio nach eigener Angabe nicht vollkommen unabhängig voneinander untersucht werden.

(c) Hyldgaard et al. [44]:

Einschlusskriterien: Alle Sarkoidosen mussten histologisch gesichert sein.

Patientenkollektiv: Insgesamt 107 Patienten, davon 19 mit Sarkoidose, 67 mit anderen ILDs und 21 ohne ILDs.

Untersuchte Werte waren die CD4/CD8-Ratio (Cut-Off: 3,8), die CD103CD4/CD4-Ratio (Cut-Off: 0,22), der Lymphozytenanteil (Cut-Off: 13) und die Serum-ACE in U/L (Cut-Off: 84).

Da bei Hyldgaard et al. auch Patienten ohne ILD einbezogen wurden, erfolgt der Vergleich mit den eigenen Ergebnissen des Falles 1. Neu war bei den Analysen von Hyldgaard et al. die Hinzunahme der Serum-ACE (vgl. 1.2.3) als diagnostischen Marker, auch in Kombination mit der CD103CD4/CD4- und CD4/CD8-Ratio. Es ergaben sich für die CD103CD4/CD4-Ratio sowohl allein (Sens.: 63%, Spez.:76%), als auch zusammen mit anderen Werten niedrigere Sensitivitäten als in den Arbeiten (a) und (b). Die Serum-ACE alleine lieferte mit einer Sensitivität von 82% und Spezifität von 89% die besten Ergebnisse. Die Ursachen für die von den anderen Arbeiten abweichenden Ergebnisse sind unklar. Es wurde kein bestimmter Mindestanteil an Lymphozyten vorausgesetzt und die Sarkoidosediagnosen wurden histologisch gesichert. Eine Vorselektion, die die Wertveränderungen erklären könnte, wurde nicht genannt. Die geringe Anzahl an Sarkoidosepatienten ( $n = 19$ ), im Vergleich zu Mota et al. und Heron et al., schränkt die Aussagekraft der Ergebnisse ein. Dennoch stellt sich die Frage, inwieweit man diese Ergebnisse vernachlässigen kann. Weitere Untersuchungen dazu erscheinen angebracht.

(d) Bretagne et al. [45]:

Einschlusskriterien:  $\geq 20\%$  BAL-Lymphozyten oder  $< 20\%$  bei Immunsuppression. Sarkoidose erforderte histologische Sicherung.

Patientenkollektiv: Insgesamt 207 Patienten, davon 53 Sarkoidosen, 69 andere ILDs, 60 Infektionen und 25 andere Diagnosen.

Untersuchte Werte waren die CD4/CD8-Ratio und die CD103CD4/CD4-Ratio, die mit den Cut-Off-Werten von Heron et al., Mota et al. und Hyldgaard et al. bezüglich der Abgrenzungsfähigkeit der Sarkoidose von anderen Erkrankungen analysiert wurden. Ein Unterschied zu diesen drei Arbeiten war der Vergleich nicht nur mit anderen ILDs, sondern auch mit einer hohen Zahl an Patienten mit Infektionen und anderen Diagnosen, entsprechend dem Fall 1 in der vorliegenden Arbeit. Im folgenden werden deshalb deren Ergebnisse des Falles 1 mit denen von Bretagne et al. verglichen. Bretagne et al. wiesen keine ausreichende Differenzierbarkeit der Sarkoidose von anderen Ursachen einer lymphozytären Alveolitis mittels der CD103CD4/CD4-Ratio - weder allein, noch in Kombination mit der CD4/CD8-Ratio - nach. Auffällig ist die starke Abweichung der Sensitivitäten und Spezifitäten bei Anwendung der fremden Cut-Offs für die CD103CD4/CD4-Ratio im Vergleich zu allen anderen Arbeiten, die vorliegende eingeschlossen. Während diese, bei einem Cut-Off im Bereich von 0,2 bis 0,25, deutlich höhere Spezifitäten als Sensitivitäten aufwiesen, war es bei Bretagne et al. umgekehrt. Dies könnte mit dem im Vergleich sehr viel niedrigeren Median von nur 0,08 bei deren Sarkoidosepatienten zu tun haben. Eine Ursache dafür könnte der durchschnittlich höhere Lymphozytenanteil aufgrund der Einschlusskriterien sein. Auch in der vorliegenden Arbeit zeigte sich bei Sarkoidosepatienten mit einer Lymphozytose  $\geq 20\%$  ein deutlich niedrigerer Median (0,12;  $n = 17$ ) als bei Patienten mit Lymphozytenanteilen  $< 20\%$  (0,27;  $n = 7$ ). Der Mittelwert hingegen blieb mit etwa 0,23 in beiden Gruppen annähernd gleich. Die Ursache für den Unterschied zwischen Median und Mittelwert muss in Ausreißern gesehen werden, die den Mittelwert bei der niedrigen Fallzahl stark beeinflussen. Dabei zeigen sich bei Lymphozytenanteilen über 20% Ausreißer, die die Aussagekraft des Mittelwertes stark einschränken. Somit erfordert der Unterschied zwischen den Medianen weiterer Abklärung. Bei Betrachtung der Nichtraucher (ohne Patienten mit Sarkoidoseverdacht oder klinisch diagnostizierter Sarkoidose) scheint der fragliche Effekt der Lymphozytose auf den Median der CD103CD4/CD4-Ratio deutlich geringer. Bei Patienten mit über 20% Lymphozyten in der BAL liegt der Median bei 0,43 (MW: 0,51), bei Lymphozytenanteilen unter 20% bei 0,39 (MW: 0,47). Die Scatterplots zur Darstellung der CD103CD4/CD4-Ratio aller Patienten in Abhängigkeit vom Lymphozytenanteil zeigten ebenfalls keinen feststellbaren Zusammenhang. Die Anwendbarkeit der CD103CD4/CD4-Ratio in dieser Arbeit bei gleichem Cut-Off von 0,345 zur Sarkoidosedagnostik war ebenfalls nicht von der Lymphozytenzahl abhängig. Ein negativer Einfluss von erhöhten Lymphozytenanteilen auf die CD103CD4/CD4-Ratio von Sarkoidosepatienten ist aber aufgrund der vermuteten Einwanderung peripherer CD103-negativer Lymphozyten eine durchaus naheliegende Folge, da bei zunehmender BAL-Lymphozytose der entsprechende Verdünnungseffekt auf CD103-positive Zellen zunehmen müsste. Jedoch scheint eine Lymphozytose keine Voraussetzung für die Anwendbarkeit der CD103CD4/CD4-Ratio zu sein, da auch Sarkoidosepatienten ohne Lymphozytose  $> 20\%$  mittels der Ratio (beim

Cut-Off von 0,345) von Nicht-Sarkoidosepatienten abgegrenzt werden konnten. Genauere Untersuchungen bezüglich des Zusammenhanges zwischen Lymphozytose und der CD103CD4/CD4-Ratio erscheinen somit notwendig. Da in der vorliegenden Arbeit jedoch die Aussagekraft der CD103CD4/CD4-Ratio im Rahmen der Sarkoidosediagnostik nicht vom Lymphozytenanteil beeinflusst wird, spielt diese Problematik für die Beantwortung der Hauptfragestellung keine Rolle. Ob die Werte von Bretagne et al. nun vor allem aufgrund der hohen Lymphozytenzahlen oder durch andere, nicht bekannte Unterschiede ausgelöst wurden, lässt sich nicht sicher feststellen. Ein eigener Cut-Off-Wert wäre in diesem Zusammenhang interessant gewesen.

*Ein Vorteil* der vorliegenden Arbeit gegenüber den anderen Arbeiten ist die hohe Zahl an Patienten mit anderen Diagnosen ( $n = 401$ ), womit eine bessere Einschätzung der Werteverteilung bei Nicht-Sarkoidosepatienten ermöglicht wird. *Ein weiterer Vorteil* ist der Einschluss aller Patienten unabhängig vom Lymphozytenanteil.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass aufgrund der unterschiedlichen Vorgehensweisen, Einschlusskriterien und Patientenpopulationen der Vergleich der einzelnen Studien schwierig ist und wichtige Fragen aufwirft. Vor allem ein Einfluss der Lymphozytenanteile auf die CD103CD4/CD4-Ratio und die daraus ermittelten Cut-Off-Werte ist möglich, jedoch in der vorliegenden Arbeit nicht nachweisbar. Die sehr unterschiedlichen Cut-Off-Werte der einzelnen Arbeiten machen die Formulierung eines allgemein anwendbaren Wertes momentan unmöglich. Sarkoidosepatienten wiesen in allen Arbeiten niedrigere CD103CD4/CD4-Ratios im Vergleich zu anderen ILDs auf, die Anwendbarkeit im Rahmen der Sarkoidosediagnostik erschien jedoch sehr unterschiedlich.

## 5.10 Klinische Anwendbarkeit der CD103CD4/CD4-Ratio im Rahmen der Sarkoidosediagnostik

In den vorangegangenen Analysen wurde die grundsätzliche Fähigkeit der CD103-assoziierten Werte, Sarkoidose von anderen Erkrankungen abzugrenzen, mittels der AUCs (Siehe S. 17) nachgewiesen. Für die Fälle 1 und 3 (dem Vergleich zwischen Patienten mit histologisch gesicherter Sarkoidose und allen Nicht-Sarkoidosen bzw. anderen ILDs) zeigte sich eine relativ gute Abgrenzbarkeit, während sich beim Fall 2 (der Vergleich zwischen Patienten mit "klinisch diagnostizierter Sarkoidose" und allen Nicht-Sarkoidosepatienten) keine ausreichenden AUCs ergaben. Der Fall 2 wurde somit aus den folgenden Analysen ausgeschlossen. Nach Bestimmung geeigneter Cut-Offs für alle drei CD103-assoziierten Werte ergaben sich Testgütekriterien in Form von Sensitivität, Spezifität, positiv und negativ prädiktiven Werten. Weiterhin wurden Testgütekriterien nicht nur für die CD103-assoziierten Werte allein, sondern auch für die gemeinsame Betrachtung der CD103CD4/CD4-Ratio (dem Marker mit der höchsten Testgüte) zusammen mit der CD4/CD8-Ratio und dem Lymphozytenanteil bestimmt. Jedoch lässt sich die klinische Anwendbarkeit eines Markers nicht allein aus der Höhe der Testgütekriterien ableiten. Dafür ist eine weitere Einschätzung in Abhängigkeit vom vorliegenden klinischen Anwendungsfeld erforderlich.

Die Ergebnisse wiesen die CD103CD4/CD4-Ratio als Besten der drei CD103-assoziierten Marker aus.

Da die Differenzierungsfähigkeit der CD103CD4/CD4-Ratio bei Rauchern in der vorlie-



genden Studienpopulation stark absank, ist die Raucheranamnese vor der Bestimmung bzw. der Interpretation der Ratio relevant. Bei Rauchern ist die CD103CD4/CD4-Ratio als diagnostischer Marker für Sarkoidose höchstwahrscheinlich nicht bzw. kaum aussagekräftig.

Für Patienten unter immunsuppressiver Therapie hingegen ließ sich kein Einfluss auf die CD103-assoziierten Werte nachweisen. Somit scheint die CD103CD4/CD4-Ratio unabhängig von der durchgeführten immunsuppressiven Therapie anwendbar zu sein. Ein erhöhter Lymphozytenanteil, welcher in anderen Arbeiten häufig als Einschlusskriterium diente ( $> 10\%$  bei Heron et al. [24] und  $> 20\%$  bei Bretagne et al. [45]), scheint zumindest nach den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit keine Voraussetzung für die Anwendbarkeit der CD103CD4/CD4-Ratio zur Sarkoidosediagnostik zu sein (vgl. 5.9). Ebenso ist auch das Vorliegen einer erhöhten CD4/CD8-Ratio zur Verwendung des Markers nicht notwendig. Dies konnte in der vorliegenden Arbeit und auch von Mota et al. [25] durch eine Analyse von Patienten mit einer CD4/CD8-Ratio  $< 3,0$  bzw.  $3,5$  nachgewiesen werden (vgl. 4.6.4 und 5.9).

Dagegen spielt der radiologische Befund für die Anwendbarkeit der CD103CD4/CD4-Ratio eine nicht zu vernachlässigende Rolle. Da bei höheren Sarkoidosestadien (Stadium III und IV) höhere CD103-assoziierte Werte nachgewiesen wurden (siehe Abschnitt 4.6.8), ist deren Aussagekraft höchstwahrscheinlich vom radiologischen Befund abhängig. Je fortgeschrittener die radiologisch nachgewiesenen Veränderungen erscheinen, desto seltener liegt eine niedrige CD103CD4/CD4-Ratio bei Sarkoidose vor. Ob eine solche niedrige Ratio bei fortgeschrittenen sarkoidoseverdächtigen pulmonalen Veränderungen aussagekräftiger ist als bei Sarkoidoseverdacht ohne radiologisches Korrelat lässt sich nicht sagen, wäre aber möglich. Eine bildgebende Diagnostik ist somit zur Einschätzung der Aussagekraft der CD103CD4/CD4-Ratio bei Sarkoidoseverdacht wichtig (vgl. 5.8).

Für eine erhöhte Aussagekraft der CD103CD4/CD4-Ratio im Rahmen der Sarkoidosediagnostik sind somit die Raucheranamnese und eine radiologische Bildgebung relevant. Für die Anwendung der CD103CD4/CD4-Ratio bei Rauchern lässt sich aus der vorliegenden Arbeit überhaupt keine Empfehlung formulieren.

Die CD103CD4/CD4-Ratio allein ist mit einem Cut-Off von  $\leq 0,345$  den eigenen Ergebnissen nach wegen der hohen Sensitivität von  $91,7\%$  für Nichtraucher vor allem zum Ausschluss, und weniger zum Nachweis, einer Sarkoidose gut anwendbar. Aus der hohen Sensitivität folgte für die vorliegende gesamte Studienpopulation (ohne Raucher!) ein sehr guter negativ prädiktiver Wert von  $99,2\%$ .

Wegen der niedrigen Spezifität von nur  $59,6\%$  und dem daraus folgenden extrem schlechten positiv prädiktiven Wert von nur  $11,9\%$  lässt sich die CD103CD4/CD4-Ratio allein mit einem Cut-Off  $\leq 0,345$  als Nachweistest für Sarkoidose jedoch nicht anwenden.

Die CD103CD4/CD4-Ratio allein (mit einem Cut-Off  $\leq 0,345$ ) kann somit am besten zum Ausschluss einer nur differentialdiagnostisch in Betracht gezogenen Sarkoidose verwendet werden. Vor allem bei Patienten mit sehr unspezifischer Symptomatik, welche viele verschiedene Diagnosen zulässt (nicht nur andere ILDs), kann eine CD103CD4/CD4-Ratio über  $0,345$  die Wahrscheinlichkeit des Vorliegens einer Sarkoidose deutlich verringern. In der vorliegenden Population konnte die Wahrscheinlichkeit des Vorliegens einer Sarkoi-

dose mit Hilfe der CD103CD4/CD4-Ratio im Fall 1 von ursprünglich 5,6% (24/425) auf 0,8% (2/241) und im Fall 3 von 12% auf 1,8% (2/112) gesenkt werden. Zu beachten ist, dass die Aussagekraft des Tests bei steigender Vortestwahrscheinlichkeit für Sarkidose absinkt. Je mehr klinische Zeichen für eine Sarkoidose vorliegen, desto ungenauer wird die CD103CD4/CD4-Ratio allein. Bei Werten unter 0,345 kann aufgrund der sehr hohen Rate an falsch positiven Testergebnisse keine Aussage über das Vorliegen einer Sarkoidose getroffen werden.

Zur Erhärtung der Verdachtsdiagnose Sarkoidose könnte die gemeinsame Betrachtung der CD103CD4/CD4-Ratio mit einem Cut-Off von  $\leq 0,345$  und der CD4/CD8-Ratio mit einem Cut-Off von  $\geq 3,0$  verwendet werden. Wenn differentialdiagnostisch viele Nicht-ILDs in Frage kommen, ist auch die Hinzunahme des Lymphozytenanteils mit einem Cut-Off von  $> 20\%$  zu erwägen. In der vorliegenden Population ergaben sich bei einer Spezifität von 95,5% (Fall 1) bzw. 89,3% (Fall 3) positiv prädiktive Werte von 44,1% (Fall 3, ohne Lymphozytenanteil) und 41,9% (Fall 1, mit Lymphozytenanteil). Diese Werte sind unabhängig von der patientenspezifischen Symptomatik und dem radiologischen Befund ermittelt worden (vgl. 5.11). Durch die Steigerung der patientenindividuellen Vortestwahrscheinlichkeit mittels Evaluation der genauen Symptomatik und radiologischen Befunden lässt sich der positiv prädiktive Wert für die untersuchten Patienten somit wahrscheinlich deutlich verbessern. Bei den radiologischen Befunden ist aber zu beachten, dass bei einer bilhilären Lymphadenopathie (radiologisches Stadium I) niedrigere Werte gezeigt wurden als in fortgeschrittenen Stadien (siehe 5.8). Wie es aussieht, sinkt die Aussagekraft der CD103CD4/CD4-Ratio bei fortschreitenden Lungenveränderungen.

Abschließend lässt sich aus den eigenen Ergebnissen die klinische Anwendbarkeit der Oberflächenmarker CD103 wie folgt kurz zusammenfassen:

Bei Nichtrauchern eignet sich die CD103CD4/CD4-Ratio mit einem Cut-Off von  $> 0,345$  bei unspezifischer klinischer Ausprägung gut zum Sarkoidoseausschluss.

Mit Hilfe der gemeinsamen Betrachtung der CD103CD4/CD4-Ratio mit einem Cut-Off von  $\leq 0,345$  und der CD4/CD8-Ratio mit einem Cut-Off von  $\geq 3,0$ , insbesondere bei Patienten mit hohem Sarkoidoseverdacht und fehlenden Zeichen einer Lungenfibrose im radiologischen Bild, zeigt sich eine deutliche Erhöhung der Wahrscheinlichkeit des Vorliegens einer Sarkoidose.

Zwar ist die generelle Aussagekraft der CD103CD4/CD4-Ratio in Zusammenschau mit den anderen Arbeiten von Heron et al., Mota et al., Hyldgaard et al. und Bretagne et al. weiterhin schwer einzuschätzen, da die unterschiedlichen Vorgehensweisen und Einschlusskriterien die Vergleichbarkeit der Ergebnisse untereinander stark einschränken. Ob sich die eigenen Ergebnisse somit auf die Grundgesamtheit übertragen lassen, lässt sich, vor allem auch wegen der ungleichen Cut-Off-Werte aus den einzelnen Arbeiten (siehe 5.9), nicht klar sagen. *Trotzdem* scheint die CD103CD4/CD4-Ratio allein und auch in Kombination mit der CD4/CD8-Ratio zur Sarkoidosediagnostik *in der Patientenpopulation der untersuchten Kliniken* (das Universitätsklinikum Halle-Kröllwitz und das Klinikum Martha-Maria Halle-Dölau) im Rahmen der Sarkoidosediagnostik Aussagekraft zu haben!

## 5.11 Mögliche Fehlerquellen und Limitationen der Studie

Wie in jeder medizinischen Arbeit sind auch in der vorliegenden einige mögliche Fehlerquellen und Limitationen zu beachten, die bei der Interpretation der Ergebnisse berücksichtigt werden müssen. Sowohl das Studiendesign, die verwendeten Geräte, als auch das statistische Vorgehen bringen ihre eigenen Fehlerquellen mit sich.

Mögliche Fehlerquellen:

Da die Patientendaten der vorliegenden Arbeit retrospektiv aktenanamnestisch zusammengetragen wurden und aus zwei verschiedenen Kliniken stammten, ließen sich die relevanten Patienteninformationen nicht standardisiert erfassen. Durch die Unterschiede im diagnostischen Vorgehen, der Dokumentation von Symptomen und der Krankengeschichte sowie der Therapie sind die Fälle untereinander nicht leicht zu vergleichen. Ebenso befanden sich die Patienten häufig in verschiedenen Stadien der Diagnosestellung und des Krankheitsverlaufs, sodass sich im Nachhinein einige Diagnosen geändert haben könnten. Auch die Diagnosesicherheit lässt sich nicht immer gut einschätzen. Da viele der vorliegenden Diagnosen erst bei speziellen Indikationen eine Therapie (meist Corticosteroide) erfordern und diese sich zwischen den einzelnen Erkrankungen häufig nicht groß unterscheiden, wurden teilweise Arbeitsdiagnosen gestellt, ohne alle zur diagnostischen Sicherung erforderlichen Schritte durchgeführt zu haben. Obwohl dies klinisch aufgrund der fehlenden Konsequenzen und der teils relativ invasiven diagnostischen Methoden zur Diagnosesicherung (häufig Biopsien) für den betroffenen Patienten sogar von Vorteil sein kann, führte dieses Vorgehen im Rahmen der vorliegenden Arbeit zu einigen Problemen. Einige der Diagnosen gelten somit per Definitionem als nicht gesichert und lassen sich nicht mit absoluter Sicherheit einer Erkrankungsgruppe zuordnen. Dies betrifft insbesondere die Gruppe der nur klinisch diagnostizierten Sarkoidosen. Ohne histologischen Nachweis kann eine andere Ursache für die sarkoidoseähnliche Symptomatik nicht ausreichend sicher ausgeschlossen werden. Die Anzahl an tatsächlichen Sarkoidosefällen in der Gruppe der nur klinisch diagnostizierten Sarkoidosen lässt sich somit nicht feststellen. Als Konsequenz wurde diese Patientengruppe (zusammen mit den Patienten mit Sarkoidose als Verdachtsdiagnose) aus den Analysen ausgeschlossen. Durch den Ausschluss dieser großen Patientengruppe ( $n = 181$ ) ist die untersuchte Restpopulation nicht mehr so repräsentativ für das Patientenkollektiv der an der Studie teilnehmenden Kliniken. Auch wird die Verteilung der CD4/CD8-Ratio höchstwahrscheinlich verfälscht. Da vor allem bei Patienten mit hoher CD4/CD8-Ratio eine Sarkoidose vermutet wird, sinkt durch den Ausschluss der Gruppen die durchschnittliche CD4/CD8-Ratio. Eine Gefahr ist dabei die unwissentliche Selektion von Patienten mit einer erhöhten CD4/CD8-Ratio ohne Sarkoidose, die eine wichtige Vergleichsgruppe darstellen.

Aufgrund der genannten Problematik bei der Diagnosestellung ist somit in allen Gruppen das tatsächliche Vorliegen anderer Erkrankungen nicht auszuschließen.

Die Gruppe der Patienten unter Sarkoidoseverdacht mit negativen Histologien wurde aus den Analysen ebenfalls ausgeschlossen, da die Rate an falsch-negativen Befunden sich nicht gut abschätzen ließ. Bei einer, wie in der vorliegenden Arbeit, relativ geringen Zahl von histologisch gesicherten Sarkoidosen ( $n = 24$  nach Ausschluss von Rauchern) wäre der Einfluss von falsch-negativen Sarkoidosen auf die Ergebnisse beträchtlich. Dennoch gehen

dabei erneut Patienten mit Sarkoidosezeichen, die jedoch keine Sarkoidose haben, verloren.

Bei der Gruppe "keine ILDs" ist zu beachten, dass diese Patienten selten gesunden Patienten entsprechen, da die Durchführung einer BAL eine klare Indikationsstellung erfordert. Sie stellen eine Gruppe sehr heterogener Erkrankungen dar, unter anderem maligner Erkrankungen und Infektionen. Die Zusammensetzung dieser Patientengruppe unterscheidet sich somit je nach Klinik wahrscheinlich extrem stark. Die Werte der Gruppe ohne ILDs lassen sich somit nicht auf Patientenkollektive anderer Kliniken übertragen.

Immer zu bedenken bei der Verwendung von Laborwerten sind Messungenauigkeiten und sonstige Fehler, die bei jeder Wertbestimmung auftreten können. Auch in der Durchflussszytometrie sind verfälschte Ergebnisse möglich, die einen Einfluss auf die bestimmten CD103-assoziierten Marker haben können.

Auch die statistische Analyse birgt Fehlerquellen. Je höher die untersuchte Zahl an Patienten ist, desto aussagekräftiger ist das daraus resultierende Ergebnis für die Grundgesamtheit. In der vorliegenden Arbeit finden sich jedoch stark schwankende Gruppengrößen mit teils sehr geringer Patientenzahl. Somit ist die Aussagekraft der Ergebnisse je nach untersuchter Patientengruppe unterschiedlich. Und natürlich führen die hohen Standardabweichungen innerhalb der Gruppen mit einer variierenden Zahl an Ausreißern zu einer erschwerten Vergleichbarkeit zwischen den einzelnen Gruppen.

Zusammenfassend lässt sich die teilweise eingeschränkte Sicherheit der Diagnosen als relevantestes Problem dieser Arbeit hervorheben, die aus der unspezifischen Symptomatik und langwierigen Diagnosestellung der ILDs resultiert. Dieser Umstand sollte bei der Interpretation der Ergebnisse beachtet werden.

Limitationen dieser Studie:

Mit dieser Studie konnte die Aussagekraft der CD103CD4/CD4-Ratio in der Sarkoidosedagnostik für das eigene Patientenkollektiv untersucht werden. Die Ergebnisse berücksichtigen jedoch die Abgrenzung der Sarkoidose von anderen Erkrankungen nur mithilfe durchflussszytometrischer Marker. Da aufgrund des retrospektiven Studiendesigns kein an die Fragestellung angepasstes standardisiertes Vorgehen möglich war, konnte die exakte Symptomatik retrospektiv nicht ausreichend genau ermittelt werden. Die radiologischen Befundtexte hingen stark von der klinischen Fragestellung ab und waren somit teilweise ebenfalls schwer miteinander vergleichbar. Folglich ließen sich die Patienten retrospektiv schwer klinisch einschätzen. Die Kombination der CD103CD4/CD4-Ratio mit klinischen Symptomen oder mit radiologischen Befunden zur Sarkoidosedagnostik war in der vorliegenden Arbeit somit nicht ausreichend möglich.

Die Unterscheidung zwischen akuter und chronischer Sarkoidose wurde bewusst nicht getroffen, da in den Arbeitsdiagnosen äußerst selten zwischen akuter oder chronischer Verlaufsform unterschieden war. Ob die Anwendbarkeit der CD103CD4/CD4-Ratio von der Verlaufsform der Sarkoidose abhängig ist, ließ sich somit nicht sagen.

## 6 Zusammenfassung und Ausblick

Aufgrund der typischerweise sehr unspezifischen Symptomatik der Sarkoidose stellt sich die sichere Diagnosestellung bisher als schwierig dar. Letztendlich bietet lediglich die Biopsie als invasive Methode eine Möglichkeit zur Diagnosesicherung, weshalb eine möglichst gute vorangegangene Diagnostik zur Minimierung der Zahl an durchgeführten invasiven Maßnahmen besonders erstrebenswert ist. Die vorliegende Arbeit beschäftigte sich mit der Frage, inwieweit der durchflusszytometrische Marker CD103, ein Oberflächenantigen auf T-Lymphozyten, zur verbesserten Diagnosestellung der Sarkoidose zusätzlich zu den bisher bekannten Optionen, oder auch eigenständig, hinzugezogen werden kann. Im Rahmen einer retrospektiven Kohortenstudie wurden die Daten von 799 Patienten nach einer bronchoalveolären Lavage bezüglich der Zellzusammensetzung in Abhängigkeit von der zugrundeliegenden Erkrankung untersucht. Dabei lag der Fokus auf interstitiellen Lungenerkrankungen, insbesondere der Sarkoidose und Lungenfibrose. Mögliche Störfaktoren, wie eine medikamentöse Immunsuppression und das Rauchverhalten, wurden gesondert in die Untersuchung einbezogen. Zur weiterführenden Analyse erfolgte eine Einteilung in unterschiedliche Hauptgruppen: Sarkoidose, keineILDs und andereILDs. Mittels ROC-Kurven konnte die diagnostische Wertigkeit verschiedener CD103-assoziiierter Marker (1: Anteil der CD103-positiven Zellen an allen T-Lymphozyten, 2: Anteil der CD103-positiven Zellen an CD4-positiven T-Zellen sowie 3: CD103CD4/CD4-Ratio) abgeschätzt werden. Um die klinische Anwendbarkeit der Marker besser bewerten zu können, wurde bei der Auswertung zwischen 3 Fällen unterschieden: Fall 1: Der Vergleich zwischen histologisch gesicherten Sarkoidosen und allen Patienten ohne Sarkoidose; Fall 2: Klinisch diagnostizierte Sarkoidosen im Vergleich mit Patienten ohne Sarkoidose; Fall 3: Histologisch gesicherte Sarkoidosen im Vergleich mit anderen interstitiellen Lungenerkrankungen. Die statistische Analyse ergab keinen bedeutenden Unterschied der Ergebnisse der Fälle 1 und 3, womit der Marker CD103 in der untersuchten Population unabhängig vom möglichen Vorliegen einer anderen interstitiellen Lungenerkrankung anwendbar ist. Die klinisch diagnostizierten Sarkoidosen (Fall 2) hingegen ließen sich nicht mit ausreichender statistischer Sicherheit differenzieren.

In der vorliegenden Arbeit konnte zusammenfassend gezeigt werden, dass der durchflusszytometrische Marker CD103 neben dem bisher bestimmten CD4/CD8-Quotienten durchaus zu einer verbesserten Diagnosestellung der Sarkoidose beitragen kann. Dafür konnte insbesondere die CD103CD4/CD4-Ratio als sinnvolles diagnostisches Mittel im Vergleich zu den anderen CD103-assoziierten Markern herausgestellt werden. Der ermittelte Cut-Off beträgt 0,345. Nicht nur in kombinierter Betrachtung mit der CD4/CD8-Ratio und dem Grad der Lymphozytose, sondern auch als eigenständiger Marker ergaben sich gute prädiktive Werte. Grundsätzlich fielen bei Patienten mit gesicherter Sarkoidose auffallend niedrigere CD103-Werte im Vergleich zu den anderen Hauptgruppen auf. Ein deutlicher Einfluss von Nikotinkonsum auf die CD103CD4/CD4-Ratio führte in den vorliegenden Ergebnissen zu einer massiv eingeschränkten Anwendbarkeit des Markers, weshalb Raucher aus den weiteren Analysen ausgeschlossen wurden. Eine vorangegangene Immunsuppression hingegen beeinflusste die Werte nicht nachweisbar. Im Vergleich zur CD4/CD8-Ratio

stellte sich die CD103CD4/CD4-Ratio in der vorliegenden Population bezüglich der diagnostischen Aussagekraft als etwa gleichwertig dar. Die CD103CD4/CD4-Ratio wies dabei eine höhere Sensitivität (91,7% zu 66,7%), die CD4/CD8-Ratio stattdessen eine höhere Spezifität (84,3% zu 59,6%) auf.

Empfehlungen zur klinischen Anwendbarkeit des Markers CD103CD4/CD4 lassen sich je nach Wahrscheinlichkeit des Vorliegens einer Sarkoidose (der Vortestwahrscheinlichkeit) bei untersuchten Nichtraucher-Patienten ableiten. Bei nicht-vorselektierten Patienten eignet sich die CD103CD4/CD4-Ratio aufgrund des hohen negativ prädiktiven Wertes von 99,2% vor allem zum Sarkoidoseausschluss, während bei bestehendem Sarkoidoseverdacht die CD103CD4/CD4-Ratio zusammen mit der CD4/CD8-Ratio (Cut-Off 3,0) zur Erhärtung der Diagnose geeignet ist. In der vorliegenden Arbeit ergab sich hierbei ein positiver prädiktiver Wert von 44,1%.

Verglichen mit den Arbeiten von Kolopp-Sarda et al., Heron et al., Mota et al., Hyldgaard et al. und Bretagne et al. [23–25, 44, 45] lässt sich die Aussagekraft der CD103-assoziierten Werte aufgrund der jeweils sehr unterschiedlichen Ergebnisse schwer auf eine Grundgesamtheit übertragen.

Im Verlauf der Arbeit führten zusätzlich einige Ergebnisse zu Fragen, die aufgrund der vorhandenen Werte und Mittel nicht beantwortet werden konnten. Um die Aussagekraft der CD103CD4/CD4-Ratio in der Sarkoidosediagnostik noch besser einschätzen zu können, sind somit weiterführende Untersuchungen nötig.

Zwar konnte in der vorliegenden Arbeit die Aussagekraft für Nichtraucher gezeigt werden, jedoch musste die Gruppe der Raucher komplett ausgeschlossen werden, da sich bei Rauchern für die Abgrenzung der Sarkoidosepatienten von Nicht-Sarkoidosepatienten mittels der CD103-assoziierten Werte keine signifikanten AUCs ergaben. Insgesamt wiesen Raucher scheinbar höhere CD103-Werte auf als Nichtraucher. Beim Vorliegen von nur 5 Rauchern mit histologisch gesicherter Sarkoidose ließ sich jedoch keine ausreichend sichere Aussage bezüglich der Wertigkeit von CD103 zur Sarkoidosediagnostik formulieren. Weitere Untersuchungen bezüglich des Einflusses von Nikotinkonsum auf den Anteil von CD103-positiven Zellen in der BAL sind somit nötig.

Der grundsätzliche Einfluss von immunsuppressiven Therapien auf die BAL-Zellzusammensetzung ist momentan noch nicht ganz klar. Aktuelle Studien zu diesem Thema beschäftigen sich mit spezifischen, auf einzelne Krankheitsbilder zugeschnittenen Fragestellungen; beispielsweise dem Effekt von inhalativen Corticosteroiden auf BAL-Zellen von stabilen COPD-Patienten [88] oder dem Effekt einer therapeutischen oralen Corticosteroidtherapie auf die BAL-Zellzusammensetzung von Sarkoidosepatienten [89]. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen lassen jedoch keine Verallgemeinerung der nachgewiesenen Effekte zu. Dass in der vorliegenden Arbeit kein klarer Einfluss einer immunsuppressiven Therapie auf den Anteil an CD103-positiven Zellen nachgewiesen werden konnte, verwundert durchaus, da bei einer bekannten Veränderung der Zellanteile im Blut auch Wirkungen auf pulmonale Immunzellen naheliegend wären. Vor allem bei der Sarkoidose, bei der höchstwahrscheinlich eine Immigration peripherer Lymphozyten zu der lymphozytären Alveolitis führt, wäre eine solche Beeinflussung naheliegend. Um die Aussagekraft einer BAL unter verschiedenen Immunsuppressiva in Zukunft besser einschätzen zu können, wären entsprechende Untersuchungen wichtig.

Ein weiterer unklarer Punkt ist der Zusammenhang zwischen dem radiologischen Sarkoidosestadium und den CD103-Anteilen. In der vorliegenden Arbeit waren die Fallzahlen zwar zu gering, um eine Aussage zu treffen, jedoch zeigten die Arbeiten von Heron et al., Mota et al. bereits einen Anstieg der CD103-positiven Zellanteile bei fortschreitenden Veränderungen des Lungengerüsts. Ob mithilfe von CD103 Aussagen zur Prognose einer Sarkoidose, oder möglicherweise auch einer Lungenfibrose generell, gemacht werden können, lässt sich aus den eigenen Ergebnissen nicht ermitteln. Die genaue Rolle von CD103 in der Pathophysiologie der Sarkoidose und der Lungenfibrose ist noch unklar und erfordert weitere Analysen.

## 7 Literatur

- [1] Arastéh, K., Baenkler, H.-W., Bieber, C. et al.: Innere Medizin. 3. überarb. Aufl. Duale Reihe. Thieme, Stuttgart, 2012, S. 401–410. DOI: 10.1055/b-002-5209. URL: <http://dx.doi.org/10.1055/b-002-5209>.
- [2] Behr, J. und Costabel, U.: Interstitielle Lungenerkrankungen - historische Entwicklung, Status quo und Ausblick. In: Pneumologie 64.9, 2010, S. 573–576. DOI: 10.1055/s-0030-1255627.
- [3] American Thoracic Society/European Respiratory Society International Multidisciplinary Consensus Classification of the Idiopathic Interstitial Pneumonias. In: American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine 165.2, 2002, S. 277–304. DOI: 10.1164/ajrccm.165.2.ats01.
- [4] Neurohr, C. und Behr, J.: Diagnostik und Therapie interstitieller Lungenerkrankungen. In: Deutsche Medizinische Wochenschrift 2009.11, 2009, S. 524–529. DOI: 10.1055/s-0029-1208082.
- [5] Seifart, C. und Vogelmeier, C.: Interstitielle Lungenerkrankungen. In: Burdach, S. E., Drexler, H., Hallek, M. et al., (Hrsg.): Medizinische Therapie 2007 / 2008. Bd. 58. Springer, Dordrecht, 2007, S. 1111–1127. DOI: 10.1007/978-3-540-48554-4\_107.
- [6] Prasse, A. und Müller-Quernheim, J.: Sarkoidose. In: Der Internist 50.5, 2009, S. 581–590. DOI: 10.1007/s00108-009-2382-2. URL: <https://doi.org/10.1007/s00108-009-2382-2>.
- [7] Iannuzzi, C. M., Rybicki et al.: Sarcoidosis. In: New England Journal of Medicine 357.21, 2007, S. 2153–2165. DOI: 10.1056/NEJMra071714. URL: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMra071714>.
- [8] Nunes, H., Bouvry, D., Soler, P. et al.: Sarcoidosis. In: Orphanet journal of rare diseases 2, 2007, S. 46. DOI: 10.1186/1750-1172-2-46. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2169207/pdf/1750-1172-2-46.pdf>.
- [9] Pabst, S., Skowasch, D. und Grohé, C.: Sarkoidose. In: Pneumologie 66.2, 2012, S. 96–109. DOI: 10.1055/s-0030-1257126. URL: <https://www.thieme-connect.de/products/ejournals/pdf/10.1055/s-0030-1257126.pdf>.
- [10] Nguyen, C. T. H., Kambe, N., Kishimoto, I. et al.: Serum soluble interleukin-2 receptor level is more sensitive than angiotensin-converting enzyme or lysozyme for diagnosis of sarcoidosis and may be a marker of multiple organ involvement. In: The Journal of Dermatology 44.7, 2017, S. 789–797. DOI: 10.1111/1346-8138.13792. URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/1346-8138.13792>.
- [11] o.V: The Cellular Origin of ACE in Sarcoidosis. In: Acta Medica Scandinavica 216.S690, 1984, S. 35–38. DOI: 10.1111/j.0954-6820.1984.tb08757.x.
- [12] Nunes, H., Uzunhan, Y., Gille, T. et al.: Imaging of sarcoidosis of the airways and lung parenchyma and correlation with lung function. In: The European respiratory journal 40.3, 2012, S. 750–765. DOI: 10.1183/09031936.00025212.
- [13] Criado, E., Sánchez, M., Ramírez, J. et al.: Pulmonary sarcoidosis: typical and atypical manifestations at high-resolution CT with pathologic correlation. In: Radiographics: a review publication of the Radiological Society of North America, Inc 30.6, 2010, S. 1567–1586. DOI: 10.1148/rg.306105512.
- [14] Miliauskas, S., Zemaitis, M. und Sakalauskas, R.: Sarcoidosis-moving to the new standard of diagnosis?. In: Medicina 46.7, 2010, S. 443–446. URL: <https://www.mdpi.com/1648-9144/46/7/443>.



- [15] Shen, Y., Pang, C., Wu, Y. et al.: Diagnostic Performance of Bronchoalveolar Lavage Fluid CD4/CD8 Ratio for Sarcoidosis: A Meta-analysis. In: *EBioMedicine* 8, 2016, S. 302–308. DOI: 10.1016/j.ebiom.2016.04.024.
- [16] Lungeninformationsdienst, Helmholtz Zentrum München: Sarkoidose - Was ist das? 2018. URL: <https://www.lungeninformationsdienst.de/krankheiten/weitere-%5C%5Clungenerkrankungen/sarkoidose/grundlagen/index.html>, besucht am 24. 09. 2020.
- [17] Prasse, A.: The Diagnosis, Differential Diagnosis, and Treatment of Sarcoidosis. In: *Deutsches Ärzteblatt international* 113.33-34, 2016, S. 565–574. DOI: 10.3238/arztebl.2016.0565.
- [18] Kirsten, D.: Sarkoidose: aktuelle Diagnostik und Therapie. In: *Deutsche medizinische Wochenschrift* 138.11, 2013, S. 537–541. DOI: 10.1055/s-0032-1332898.
- [19] Drent, M., Mansour, K. und Linssen, C.: Bronchoalveolar Lavage in Sarcoidosis. In: *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine* 28.05, 2007, S. 486–495. DOI: 10.1055/s-2007-991521. URL: <http://www.thieme-connect.com/products/ejournals/pdf/10.1055/s-2007-991521.pdf>.
- [20] Agostini, C., Adami, F. und Semenzato, G.: New pathogenetic insights into the sarcoid granuloma. In: *Current opinion in rheumatology* 12.1, 2000, S. 71–76. DOI: 10.1097/00002281-200001000-00012.
- [21] Zissel, G., Prasse, A. und Müller-Quernheim, J.: Sarcoidosis-immunopathogenetic concepts. In: *Seminars in respiratory and critical care medicine* 28.1, 2007, S. 3–14. DOI: 10.1055/s-2007-970329.
- [22] Riemann, D.: Typisierung von Lymphozyten mittels Durchflusszytometrie. Halle (Saale), 2015.
- [23] Kolopp-Sarda, M. N., Kohler, C., March, A. K. de et al.: Discriminative immunophenotype of bronchoalveolar lavage CD4 lymphocytes in sarcoidosis. In: *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology* 80.7, 2000, S. 1065–1069. DOI: 10.1038/labinvest.3780111.
- [24] Heron, M., Sliker, W. A. T., Zanen, P. et al.: Evaluation of CD103 as a cellular marker for the diagnosis of pulmonary sarcoidosis. In: *Clinical immunology* 126.3, 2008, S. 338–344. DOI: 10.1016/j.clim.2007.11.005.
- [25] Mota, P. C., Morais, A., Palmares, C. et al.: Diagnostic value of CD103 expression in bronchoalveolar lymphocytes in sarcoidosis. In: *Respiratory medicine* 106.7, 2012, S. 1014–1020. DOI: 10.1016/j.rmed.2012.03.020.
- [26] Drent, M., Mulder, P. G., Wagenaar, S. S. et al.: Differences in BAL fluid variables in interstitial lung diseases evaluated by discriminant analysis. In: *European Respiratory Journal* 6.6, 1993, S. 803–810. URL: <https://erj.ersjournals.com/content/6/6/803>.
- [27] Welker, L., Jörres, R. A., Costabel, U. et al.: Predictive value of BAL cell differentials in the diagnosis of interstitial lung diseases. In: *The European respiratory journal* 24.6, 2004, S. 1000–1006. DOI: 10.1183/09031936.04.00101303.
- [28] Micklem, K. J., Dong, Y., Willis, A. et al.: HML-1 antigen on mucosa-associated T cells, activated cells, and hairy leukemic cells is a new integrin containing the beta 7 subunit. In: *The American Journal of Pathology* 139.6, 1991, S. 1297–1301. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1750505/>.
- [29] Kilshaw, P. J. und Murrant, S. J.: Expression and regulation of beta 7 (beta p) integrins on mouse lymphocytes: relevance to the mucosal immune system. In: *European journal of immunology* 21.10, 1991, S. 2591–2597. DOI: 10.1002/eji.1830211041.
- [30] Brennan, M. und Rees, D. J.: Sequence analysis of rat integrin alpha E1 and alpha E2 subunits: tissue expression reveals phenotypic similarities between intraepithelial lymphocytes and dendritic cells in lymph. In: *European journal of immunology* 27.11, 1997, S. 3070–3079. DOI: 10.1002/eji.1830271145.

- [31] Parker, C. M., Cepek, K. L., Russell, G. J. et al.: A family of beta 7 integrins on human mucosal lymphocytes. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences* 89.5, 1992, S. 1924–1928. DOI: 10.1073/pnas.89.5.1924.
- [32] Russell, G. J., Parker, C. M., Cepek, K. L. et al.: Distinct structural and functional epitopes of the alpha E beta 7 integrin. In: *European journal of immunology* 24.11, 1994, S. 2832–2841. DOI: 10.1002/eji.1830241138.
- [33] Agace, W. W., Higgins, J. M. G., Sadasivan, B. et al.: T-lymphocyte–epithelial-cell interactions: integrin  $\alpha$ E(CD103) $\beta$ 7, LEEP-CAM and chemokines. In: *Current Opinion in Cell Biology* 12.5, 2000, S. 563–568. DOI: 10.1016/S0955-0674(00)00132-0.
- [34] ITGAE integrin subunit alpha E [Homo sapiens (human)] - Gene - NCBI. o.O., o.J. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/3682>, besucht am 31.07.2020.
- [35] del Rio, M.-L., Bernhardt, G., Rodriguez-Barbosa, J.-I. et al.: Development and functional specialization of CD103+ dendritic cells. In: *Immunological reviews* 234.1, 2010, S. 268–281. DOI: 10.1111/j.0105-2896.2009.00874.x.
- [36] van Roy, F. und Berx, G.: The cell-cell adhesion molecule E-cadherin. In: *Cellular and molecular life sciences* 65.23, 2008, S. 3756–3788. DOI: 10.1007/s00018-008-8281-1.
- [37] Erle, D. J., Brown, T., Christian, D. et al.: Lung epithelial lining fluid T cell subsets defined by distinct patterns of beta 7 and beta 1 integrin expression. In: *American journal of respiratory cell and molecular biology* 10.3, 1994, S. 237–244. DOI: 10.1165/ajrcmb.10.3.7509610.
- [38] Lohmeyer, Friedrich, Grimminger et al.: Expression of mucosa-related integrin alphaEbeta7 on alveolar T cells in interstitial lung diseases. In: *Clinical and Experimental Immunology* 116.2, 1999, S. 340–346. DOI: 10.1046/j.1365-2249.1999.00894.x.
- [39] Tissue expression of ITGAE - Summary - The Human Protein Atlas. o.J. URL: <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000083457-ITGAE/tissue>, besucht am 07.08.2020.
- [40] Ameneheslami und Philpot, J.: The role of Integrins in wound healing. 2006. URL: <https://www.scq.ubc.ca/the-role-of-integrins-in-wound-healing/>, besucht am 15.03.2020.
- [41] Ruoslahti, E.: Integrins. In: *The Journal of clinical investigation* 87.1, 1991, S. 1–5. DOI: 10.1172/JCI114957.
- [42] Stemmler, M.: Die Funktion der Cadherine bei der Musterbildung des Säugetierembryos. Max-Planck-Institut für Immunbiologie und Epigenetik, Freiburg, 2009. URL: <https://www.mpg.de/321793/forschungsschwerpunkt>, besucht am 03.08.2020.
- [43] Heron, M., Grutters, J. C., van Moorsel, C. H. M. et al.: Effect of variation in ITGAE on risk of sarcoidosis, CD103 expression, and chest radiography. In: *Clinical immunology* 133.1, 2009, S. 117–125. DOI: 10.1016/j.clim.2009.06.007.
- [44] Hyldgaard, C., Kaae, S., Riddervold, M. et al.: Value of s-ACE, BAL lymphocytosis, and CD4+/CD8+ and CD103+CD4+/CD4+ T-cell ratios in diagnosis of sarcoidosis. In: *The European respiratory journal* 39.4, 2012, S. 1037–1039. DOI: 10.1183/09031936.00144311.
- [45] Bretagne, L., Diatta, I.-D., Faouzi, M. et al.: Diagnostic Value of the CD103+CD4+/CD4+ Ratio to Differentiate Sarcoidosis from Other Causes of Lymphocytic Alveolitis. In: *Respiration* 91.6, 2016, S. 486–496. DOI: 10.1159/000446606.
- [46] Heron, M., Grutters, J. C., Dam-Molenkamp, K. M. ten et al.: Bronchoalveolar lavage cell pattern from healthy human lung. In: *Clinical and Experimental Immunology* 167.3, 2012, S. 523–531. DOI: 10.1111/j.1365-2249.2011.04529.x.

- [47] Totsch, M., Guzman, J., Theegarten, D. et al.: Bronchoalveolare Lavage. In: *Der Pathologe* 28.5, 2007, S. 346–353. DOI: 10.1007/s00292-007-0926-6.
- [48] Costabel, U.: Die diagnostische bronchoalveoläre Lavage. In: *Deutsches Ärzteblatt International* 85.15, 1988, A-1014-A-1018. URL: <http://www.aerzteblatt.de/int/article.asp?id=111362>.
- [49] Bronchoalveolar lavage constituents in healthy individuals, idiopathic pulmonary fibrosis, and selected comparison groups. The BAL Cooperative Group Steering Committee. In: *The American review of respiratory disease* 141.5 Pt 2, 1990, S. 169–202. DOI: 10.1164/ajrccm/141.5.Pt.2.S169.
- [50] Costabel, U., Danel, C., Fabbri, L. M. et al.: Clinical guidelines and indications for bronchoalveolar lavage (BAL). Report of the European Society of Pneumology Task Group on BAL. In: *European Respiratory Journal* 3.8, 1990, S. 937–976. URL: <http://erj.ersjournals.com/content/3/8/937.full.pdf>.
- [51] Meyer, K. C., Raghu, G., Baughman, R. P. et al.: An official American Thoracic Society clinical practice guideline. The clinical utility of bronchoalveolar lavage cellular analysis in interstitial lung disease. In: *American journal of respiratory and critical care medicine* 185.9, 2012, S. 1004–1014. DOI: 10.1164/rccm.201202-0320ST.
- [52] Sack, U., Rothe, G., Barlage, S. et al.: Durchflußzytometrie in der Klinischen Diagnostik. Positionspapier der Arbeitsgruppe Durchflußzytometrie und Quantitative Mikroskopie der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie und Deutschen Gesellschaft für Laboratoriumsmedizin. In: *LaboratoriumsMedizin* 24.6-7, 2000, S. 277–297. DOI: 10.1515/labm.2000.24.6-7.277.
- [53] Ibrahim, S. F. und van den Engh, G.: Flow Cytometry and Cell Sorting. In: Kumar, A., Galaev, I. Y. und Mattiasson, B., (Hrsg.): *Cell Separation. Fundamentals, Analytical and Preparative Methods*. Springer, Berlin, Heidelberg, 2007, S. 19–39. DOI: 10.1007/10\_2007\_073.
- [54] Brown, M. und Wittwer, C.: Flow Cytometry: Principles and Clinical Applications in Hematology. In: *Clinical chemistry* 46.8, 2000, S. 1221–1229. URL: <http://clinchem.aaccjnl.org/content/46/8/1221.full.pdf>.
- [55] EAWAG - Das Wasserforschungs-Institut des ETH-Bereichs: Das Prinzip der Durchflusszytometrie. 2013. URL: [https://www.eawag.ch/fileadmin/Domain1/News/2013/0124/mm\\_durchflusszytometrie\\_trinkwasser.pdf](https://www.eawag.ch/fileadmin/Domain1/News/2013/0124/mm_durchflusszytometrie_trinkwasser.pdf), besucht am 21. 09. 2020.
- [56] IBM SPSS Statistics - Überblick - Deutschland. URL: <https://www.ibm.com/de-de/marketplace/spss-statistics>, besucht am 19. 09. 2020.
- [57] Faller, H.: Sensitivität, Spezifität, positiver und negativer Vorhersagewert. In: *Die Rehabilitation* 44.1, 2005, S. 44–49. DOI: 10.1055/s-2004-834624.
- [58] Ackermann, H., Herbold, M., Kluss, C. et al.: *Medizinische Statistik*. Springer, Berlin, Heidelberg, 1996. DOI: 10.1007/978-3-642-61003-5. URL: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2F978-3-642-61003-5.pdf>.
- [59] *Epidemiologisches Glossar*. 2006. URL: <https://www.bepi.unibas.ch/550/de/glossar/>, besucht am 18. 09. 2020.
- [60] Windeler, J.: Wann sind wissenschaftliche Belege notwendig?. In: *Zeitschrift für Evidenz, Fortbildung und Qualität im Gesundheitswesen* 104.3, 2010, S. 190–195. DOI: 10.1016/j.zefq.2010.03.006.
- [61] Mittag, H.-J.: *Statistik*. Springer, Berlin, Heidelberg, 2017. DOI: 10.1007/978-3-662-55321-3. URL: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2F978-3-662-55321-3.pdf>.

- [62] MacFarland, T. W. und Yates, J. M.: Mann–Whitney U Test. In: MacFarland, T. W. und Yates, J. M., (Hrsg.): *Introduction to Nonparametric Statistics for the Biological Sciences Using R*. Springer, Cham, 2016, S. 103–132. DOI: 10.1007/978-3-319-30634-6\_4. URL: [https://doi.org/10.1007/978-3-319-30634-6\\_4](https://doi.org/10.1007/978-3-319-30634-6_4).
- [63] Nachar, N.: The Mann-Whitney U. A Test for Assessing Whether Two Independent Samples Come from the Same Distribution. In: *Tutorials in Quantitative Methods for Psychology* 4.1, 2008, S. 13–20. DOI: 10.20982/tqmp.04.1.p013. URL: <http://www.tqmp.org/RegularArticles/vol04-1/p013/p013.pdf>.
- [64] Weiß, C.: *Basiswissen Medizinische Statistik*. Springer, Berlin, Heidelberg, 2005. DOI: 10.1007/3-540-28549-0. URL: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2F3-540-28549-0.pdf>.
- [65] IBM Knowledge Center - Statistics Base Option. 2014. URL: [https://www.ibm.com/support/knowledgecenter/en/SSLVMB\\_23.0.0/statistics\\_mainhelp\\_ddita-gentopic3.html](https://www.ibm.com/support/knowledgecenter/en/SSLVMB_23.0.0/statistics_mainhelp_ddita-gentopic3.html), besucht am 09.01.2020.
- [66] Receiver-operating characteristic (ROC) plots. A fundamental evaluation tool in clinical medicine. In: *Clinical chemistry* 39.4, 1993, S. 561–577. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8472349/>.
- [67] Habibzadeh, F., Habibzadeh, P. und Yadollahie, M.: On determining the most appropriate test cut-off value. The case of tests with continuous results. In: *Biochemia medica* 26.3, 2016, S. 297–307. DOI: 10.11613/BM.2016.034.
- [68] One ROC Curve and Cutoff Analysis. In: *NCSS Statistical Software*, URL: [https://ncss-wpengine.netdna-ssl.com/wp-content/themes/ncss/pdf/Procedures/NCSS/One\\_ROC\\_Curve\\_and\\_Cutoff\\_Analysis.pdf](https://ncss-wpengine.netdna-ssl.com/wp-content/themes/ncss/pdf/Procedures/NCSS/One_ROC_Curve_and_Cutoff_Analysis.pdf).
- [69] Perkins, N. J. und Schisterman, E. F.: The Youden Index and the Optimal Cut-Point Corrected for Measurement Error. In: *Biometrical Journal* 47.4, 2005, S. 428–441. DOI: 10.1002/bimj.200410133.
- [70] Massart, D., Smeyers-Verbeke, J., Capron, X. et al.: Visual presentation of data by means of box plots. 2005. URL: [https://www.researchgate.net/publication/281121791\\_Visual\\_presentation\\_of\\_data\\_by\\_means\\_of\\_box\\_plots](https://www.researchgate.net/publication/281121791_Visual_presentation_of_data_by_means_of_box_plots).
- [71] Krzywinski, M. und Altman, N.: Visualizing samples with box plots. In: *Nature Methods* 11, 2014, 119 EP -. DOI: 10.1038/nmeth.2813. URL: <https://doi.org/10.1038/nmeth.2813>.
- [72] Karimi, R., Tornling, G., J., G. et al.: Cell recovery in bronchoalveolar lavage fluid in smokers is dependent on cumulative smoking history. In: *PLoS One* 7(3), 2012, DOI: doi:10.1371/journal.pone.0034232.
- [73] King, T. E.: Clinical advances in the diagnosis and therapy of the interstitial lung diseases. In: *American journal of respiratory and critical care medicine* 172.3, 2005, S. 268–279. DOI: 10.1164/rccm.200503-483OE.
- [74] Graefe, K.-H., Lutz, W. und Bönisch, H.: *Pharmakologie und Toxikologie: 201 Tabellen*. 1. Aufl. Duale Reihe. Thieme, Stuttgart, 2011. URL: <http://ebooks.thieme.de/9783131428615/1>.
- [75] Toutenburg, H. und Heumann, C.: *Induktive Statistik*. Springer, Berlin, Heidelberg, 2008. DOI: 10.1007/978-3-540-77510-2.
- [76] Saetta, M., Turato, G., Facchini, F. M. et al.: Inflammatory cells in the bronchial glands of smokers with chronic bronchitis. In: *American journal of respiratory and critical care medicine* 156.5, 1997, S. 1633–1639. DOI: 10.1164/ajrccm.156.5.9701081.
- [77] Moszczyński, P., Żabiński, Z., Rutowski, J. et al.: Immunological findings in cigarette smokers. In: *Toxicology Letters* 118.3, 2001, S. 121–127. DOI: 10.1016/S0378-4274(00)00270-8.

- [78] Fink, L.: Interstitielle Lungenerkrankungen. In: *Der Pathologe* 35.6, 2014, S. 597–605. DOI: 10.1007/s00292-014-1923-1.
- [79] Mensink, G., Schienkiewitz, A. und Scheidt-Nave, C.: Übergewicht und Adipositas in Deutschland: Werden wir immer dicker? Studie zur Gesundheit Erwachsener in Deutschland. In: 2012, URL: [http://www.rki.de/DE/Content/Gesundheitsmonitoring/Studien/DeGs/degsw1/Symposium/degswuebergewicht\\_adipositas.pdf?\\_\\_blob=publicationFile](http://www.rki.de/DE/Content/Gesundheitsmonitoring/Studien/DeGs/degsw1/Symposium/degswuebergewicht_adipositas.pdf?__blob=publicationFile), besucht am 29.01.2020.
- [80] Günther, A., Ermert, L., Breithecker, A. et al.: Klassifikation, Diagnostik und Therapie der idiopathischen interstitiellen Pneumonien. Eine kritische Bestandsaufnahme der gegenwärtig in Deutschland geübten Praxis. In: *Deutsches Ärzteblatt International* 100.24, 2003, S. 1676. URL: <http://www.aerzteblatt.de/int/article.asp?id=37355>.
- [81] Hauber, H.-P., Bittmann, I. und Kirsten, D.: Nicht spezifische interstitielle Pneumonie. In: *Pneumologie* 65.8, 2011, S. 477–483. DOI: 10.1055/s-0030-1256284.
- [82] Lin, H. und Jiang, S.: Combined pulmonary fibrosis and emphysema (CPFE). an entity different from emphysema or pulmonary fibrosis alone. In: *Journal of Thoracic Disease* 7.4, 2015, S. 767–779. DOI: 10.3978/j.issn.2072-1439.2015.04.17.
- [83] Du Bois, R. und King, T. E.: Challenges in pulmonary fibrosis x 5: the NSIP/UIP debate. In: *Thorax* 62.11, 2007, S. 1008–1012. DOI: 10.1136/thx.2004.031039.
- [84] Crystal, R. G., Gadek, J. E., Ferrans, V. J. et al.: Interstitial lung disease. Current concepts of pathogenesis, staging and therapy. In: *The American Journal of Medicine* 70.3, 1981, S. 542–568. DOI: 10.1016/0002-9343(81)90577-5.
- [85] Leask, A. und Abraham, D. J.: TGF-beta signaling and the fibrotic response. In: *FASEB journal. Official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 18.7, 2004, S. 816–827. DOI: 10.1096/fj.03-1273rev.
- [86] Kruit, A., Grutters, J. C., Ruven, H. J. T. et al.: Transforming growth factor-beta gene polymorphisms in sarcoidosis patients with and without fibrosis. In: *Chest* 129.6, 2006, S. 1584–1591. DOI: 10.1378/chest.129.6.1584.
- [87] Robinson, P. W., Green, S. J., Carter, C. et al.: Studies on transcriptional regulation of the mucosal T-cell integrin alphaEbeta7 (CD103). In: *Immunology* 103.2, 2001, S. 146–154. DOI: 10.1046/j.1365-2567.2001.01232.x.
- [88] Ozol, D., Aysanb, T., Solakb, Z. A. et al.: The effect of inhaled corticosteroids on bronchoalveolar lavage cells and IL-8 levels in stable COPD patients. In: *Respiratory Medicine* 99.12, 2005, S. 1494–1500. DOI: 10.1016/j.rmed.2005.04.025.
- [89] Mroz, R. M., Korniluk, M., Stasiak-Barmuta, A. et al.: Comparison of induced sputum and bronchoalveolar lavage fluid cell profile during the treatment of pulmonary sarcoidosis. In: *Journal of Physiology and Pharmacology* 58.5, 2007, S. 445–452. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18204157/>.

## 8 Thesen

1. Sarkoidosepatienten weisen niedrigere CD103-Werte auf als Patienten mit anderen ILDs oder ohne ILD.
2. Raucher weisen höhere CD103-Werte auf als Nichtraucher, wodurch die Anwendbarkeit des Markers zur Sarkoidosediagnostik bei Rauchern deutlich schlechter ist als bei Nichtrauchern.
3. Höhere radiologische Stadien der Sarkoidose gehen mit höheren CD103-Werten einher.
4. Die CD103CD4/CD4-Ratio eignet sich im Vergleich zu dem Anteil an CD103-positiven T-Zellen an allen T-Zellen und dem Anteil CD103-positiver CD4-Zellen an allen CD4-Zellen am besten zur Sarkoidosediagnostik.
5. Die CD103CD4/CD4-Ratio und die CD4/CD8-Ratio sind in Bezug auf die Sarkoidosediagnostik etwa gleichwertig (nahezu gleiche AUC), wobei die CD103CD4/CD4-Ratio sensitiver und die CD4/CD8-Ratio spezifischer ist.
6. Die Anwendbarkeit der CD103CD4/CD4-Ratio zur Sarkoidosediagnostik ist unabhängig von der Höhe der CD4/CD8-Ratio.
7. Die Testgüte der CD103CD4/CD4-Ratio ist nahezu unabhängig davon, ob Sarkoidosepatienten nur Patienten mit anderen ILDs oder allen Patienten, bei denen eine BAL durchgeführt wurde, gegenübergestellt werden.
8. Die Wahrscheinlichkeit des Vorliegens einer Sarkoidose sinkt bei einer CD103CD4/CD4-Ratio über 0,345 im Vergleich zur Vortestwahrscheinlichkeit stark ab.
9. Die CD103CD4/CD4-Ratio eignet sich bei gering vorselektierten Patienten vor allem zum Sarkoidoseausschluss.
10. Die CD103CD4/CD4-Ratio eignet sich zusammen mit der CD4/CD8-Ratio, ggf. auch mit dem Lymphozytenanteil, zur Erhärtung des Verdachts auf Sarkoidose.

# Selbständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Doktorarbeit mit dem Titel:

**Die diagnostische Wertigkeit des durchflusszytometrischen Markers CD103  
bei Sarkoidose**

selbständig und nur unter Verwendung der angegebenen Quellen und Hilfsmittel angefertigt habe.

Das Forschungsprojekt lag der Ethik-Kommission der Martin-Luther-Universität vor.  
(Schreiben vom 22.10.2019)

Bruno Mühlhölzer  
Halle, 05.06.2021

# Erklärung über frühere Promotionsversuche

Hiermit erkläre ich, dass ich keinen vorausgegangenen Promotionsversuch unternommen habe, und dass kein Promotionsversuch an einer anderen wissenschaftlichen Einrichtung läuft.

Bruno Mühlhölzer  
Halle, 05.06.2021



# Danksagung

An dieser Stelle möchte ich meine Dank nachfolgenden Personen entgegenbringen, ohne die die Fertigstellung dieser Promotionsarbeit kaum möglich gewesen wäre:

Mein Dank gilt zunächst Frau PD Dr. Riemann, meiner Doktormutter, für die Betreuung dieser Arbeit und der freundlichen Unterstützung bei deren Ausarbeitung. Die persönlichen Gespräche bezüglich verschiedenster Fragestellungen gaben mir nicht nur eine gute Hilfestellung, sondern trugen auch zu einer angenehmen Arbeitsatmosphäre bei.

Weiterhin möchte ich Frau Prof. Wollschläger der Uniklinik Halle (Saale) sowie den Herren Prof. Schütte und Dr. Busch für die Bereitstellung der notwendigen Daten zur Durchführung der statistischen Untersuchungen danken, ohne die diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Zusätzlich bedanke ich mich bei Herrn Prof. Wienke des Instituts für medizinische Statistik, Biometrie und Informatik für die statistische Beratung sowie die Unterstützung bei der Handhabung des komplexen Statistikprogrammes SPSS.

Mein besonderer Dank gilt außerdem meiner Familie und meiner Freundin, die mich nicht nur auf sprachliche Besonderheiten meiner Arbeit hingewiesen haben, sondern auch mittels interessanter Diskussionen und kritischer Anmerkungen deren Fertigstellung vorantrieben. Mit Ihrer Geduld und emotionalen Unterstützung sind sie für die Entstehung dieser Arbeit unentbehrlich gewesen.