

**Sicherheit und Verträglichkeit einer inhalativen
Heparinapplikation bei Patienten mit idiopathischer
pulmonaler Fibrose (IPF) - eine Pilotstudie**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
des Fachbereichs Medizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von Robert Josef Nass
aus Emmerich am Rhein/Kreis Kleve

Gießen 2009

Aus dem Medizinischen Zentrum für Innere Medizin
Medizinische Klinik II
des Universitätsklinikums Gießen und Marburg GmbH
Standort Gießen
Leiter: Prof. Dr. med. W. Seeger

Gutachter I: Prof. Dr. med. A. Günther
Gutachter II: Prof. Dr. med. M. Kracht

Tag der Disputation: 28.04.2010

Erklärung

„Ich erkläre: Ich habe die vorgelegte Dissertation selbständig, ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.“

Gießen, im Oktober 2009

Robert Josef Nass

Inhalt

Vorwort.....	1
KAPITEL 1: Einleitung.....	2
1.1 Epidemiologie, Ätiologie und Klinik der IPF.....	2
1.2 Diagnostik der IPF.....	3
1.3 Pathomechanismen der IPF.....	6
1.3.1 Rolle von TGF- β , TNF- α und anderen Wachstumsfaktoren.....	8
1.3.2 Fibroblasten und Myofibroblasten.....	8
1.3.3 Ungleichgewicht zwischen verschiedenen Matrixmetalloproteinasen (MMP) und deren Inhibitoren (TIMP).....	9
1.3.4 Ungleichgewicht zwischen Oxidantien und Antioxidantien.....	9
1.3.5 Rolle von Th1- und Th2-Zytokinen.....	10
1.3.6 Endothelin-1-Expression im Lungengewebe.....	10
1.3.7 Veränderungen im Surfactantsystem und ihre Auswirkungen.....	10
1.3.8 Rolle des Gerinnungssystems.....	11
1.4 Medikamentöse Therapiemöglichkeiten bei Patienten mit einer IPF.....	14
1.4.1 Bisherige Therapiekonzepte.....	14
1.4.2 Neue mögliche Therapieansätze.....	15
1.4.2.1 Antioxidative Therapie mit N-Acetylcystein.....	16
1.4.2.2 Interferon γ -1b-Therapie.....	16
1.4.2.3 Pirfenidon-Therapie.....	17
1.4.2.4 Bosentan-Therapie.....	17
1.4.2.5 Antikoagulatorische Therapie mit Warfarin.....	18
1.5 Inhalative Applikation von unfraktioniertem Heparin bei gesunden Probanden.....	18
1.6 Fragestellung.....	20

KAPITEL 2: Materialien und Methoden.....	22
2.1 Materialien und Geräte.....	22
2.2 Patienten und Methoden.....	23
2.2.1 Patientenkollektiv.....	23
2.2.1.1 Einschlusskriterien.....	23
2.2.1.2 Ausschlusskriterien.....	24
2.2.2 Studiendesign.....	25
2.2.2.1 Phase 1: Baseline, Schwellendosisermittlung und akute Effekte.....	25
2.2.2.2 Phase 2: Chronische Behandlungsphase.....	27
2.2.2.2.1 Sicherheitsendpunkte.....	29
2.2.2.2.2 Ungünstige und schwerwiegend ungünstige Ereignisse.....	29
2.2.3 Methoden.....	31
2.2.3.1 Körperliche Untersuchung.....	31
2.2.3.2 Ruhe-EKG.....	31
2.2.3.3 Messungen mit dem Lungenfunktionsgerät.....	31
2.2.3.3.1 Messmethoden der Diffusionskapazität der Lunge (DL _{CO}).....	34
2.2.3.4 Kapilläre Blutgasanalyse (BGA).....	34
2.2.3.5 Der 6-Minuten-Gehtest und die Borg-Dyspnoe-Scale.....	34
2.2.3.6 EQ-5D und VAS.....	35
2.2.3.7 Anwendung des Inhalationsgerätes.....	38
2.3 Angaben zur Statistik.....	40
 KAPITEL 3: Ergebnisse.....	 41
3.1 Daten der Baseline, Schwellendosisermittlung und akute Effekte.....	41
3.1.1 Basisdaten des Patientenkollektivs.....	41
3.1.2 Ergebnisse der Schwellendosisermittlung.....	43
3.1.3 Akute Effekte der Heparininhalation.....	44
3.2 Ergebnisse der chronischen Behandlungsphase.....	46
3.2.1 Auswertung der Sicherheitsendpunkte.....	46

3.2.2	Auftreten von ungünstigen und schwerwiegend ungünstigen Ereignissen.....	46
3.2.3	Verlauf von Lungenfunktion, kapillärer BGA, Belastungstest und Lebensqualität.....	47
3.2.3.1	Lungenfunktionstest, BGA und Leistungsfähigkeit.....	47
3.2.3.2	Selbst-Einstufung mit dem EQ-5D und der VAS.....	52
KAPITEL 4: Diskussion.....		53
4.1	Anwendungsgebiete von Heparin.....	53
4.2	Mögliche Wirkmechanismen des Heparins bei fibrosierender Lungenerkrankung.....	54
4.3	Sicherheit und Verträglichkeit einer inhalativen Therapie mit Heparin bei IPF-Patienten.....	54
4.4	Vorteile einer inhalativen Applikation mit dem AKITA® Inhalationssystem.....	56
4.5	Schlussfolgerung.....	58
KAPITEL 5: Zusammenfassung.....		59
	Summary.....	62
KAPITEL 6: Literaturverzeichnis.....		64
KAPITEL 7: Anhang.....		79
Danksagung.....		82

Liste der Abkürzungen

A:

AaDO₂	Alveolo-arterielle Sauerstoffpartialdruckdifferenz
AIP	Akute interstitielle Pneumonie
AKITA[®]	Anlage zur kontrollierten Inhalation therapeutischer Aerosole
ALT/GPT	Alanin-Aminotransferase / Glutamat-Pyruvat-Transaminase
APC	Aktiviertes Protein-C
AST/GOT	Aspartat-Aminotransferase / Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
AT	Antithrombin
ATP	Ambient temperature pressure
ATS	American Thoracic Society
aVL, aVR, aVF	Augment voltage left/right/foot

B:

BAL	Bronchoalveoläre Lavage
BGA	Blutgasanalyse
BOOP	Bronchiolitis obliterans organizing pneumonia
BTPS	Body temperature pressure saturated

C:

CFA	Kryptogene fibrosierende Alveolitis
CK	Kreatininkinase
CO	Kohlenmonoxid
COP	Kryptogene organisierende Pneumonie
CRF	Case record form
CRP	C-reaktives-Protein
CTGF	Connective tissue growth factor

D:

DAD	Diffuser alveolärer Schaden
DCOc SS	CO-Diffusionskapazität nach der <i>Steady-State</i> -Methode, Hämoglobin-korrigiert
DCO SS	CO-Diffusionskapazität nach der <i>Steady-State</i> -Methode
DIG	Disseminierte intravasale Gerinnung
DIP	Desquamative interstitielle Pneumonie

dl	Deciliter
DL_{CO}	Diffusionskapazität der Lunge für CO
E:	
EAA	Exogene allergische Alveolitis
EKG	Elektrokardiographie
EQ-5D	Euroqol-5-Dimension
ERS	European Respiratory Society
EW	Einwohner
F:	
FEV₁	Forciertes endexpiratorisches Volumen
FVC	Forcierte Vitalkapazität
G:	
GCP	Good Clinical Practice
μGT	Gamma-Glutamyl-Transferase
H:	
Hb	Hämoglobin
He	Helium
HGF	Hepatocyte growth factor
HIT	Heparin induzierte Thrombozytopenie
HR-CT	High resolution computed tomographie
I:	
ICH	International conference on harmonization
I. E.	Internationale Einheit
IFIGENIA	Idiopathic Pulmonary Fibrosis International Group Exploring NAC I Annual
IFN	Interferon
IGF	Insulin-like growth factor
IIP	Idiopathische interstitielle Pneumonie
IL	Interleukin
ILD	Interstitial lung disease
INR	International normalized ratio
IUP	Intrauterinpeessar, Intrauterinspange
IPF	Idiopathisch pulmonale Fibrose

K:

kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
kPa	Kilopascal

L:

l	Liter
LDH	Laktatdehydrogenase
LIP	Lymphoide interstitielle Pneumonie
LPS	Liposaccharide

M:

MMP	Matrixmetalloproteinase
------------	-------------------------

N:

n	Patientenanzahl
NSIP	Nicht-spezifische interstitielle Pneumonie

O:

O₂	Sauerstoff
----------------------	------------

P:

PAR	Protease-activated receptor
PAI	Plasminogen-activator-inhibitor
pCO₂	Kohlendioxidpartialdruck
PDGF	Platelet-derived growth factor
pO₂	Sauerstoffpartialdruck
pH	Pondus hydrogenii (= -log [H ⁺])
PTT	Partielle Thromboplastinzeit

R:

RB-ILD	Respiratory bronchiolitis-interstitial lung disease
ROS	Reaktive Sauerstoffspezies
RV	Residualvolumen

S:

s	Standardabweichung
SAFEFIB	Safety and Tolerability of Heparin Aerosol Application in Lung Fibrosis
SP	Surfactant-Protein

T :

TAT	Thrombin-Antithrombinkomplex
TBB	Transbronchiale Biopsie
TF	Tissue factor
TFPI	Tissue factor pathway inhibitor
TGF	Transforming growth factor
Th1 / Th2	T-Helferzellen Typ 1/2
TIMP	Tissue inhibitor of matrix metalloproteinases
TNF	Tumor-Nekrose-Faktor
TPZ	Thromboplastinzeit
TLC	Totale Lungenkapazität
TLCOc VA.	Korrektur der TLCO in Bezug auf die alveoläre Ventilation, Hämoglobin-korrigiert
TLCOc SB	Diffusionskapazität nach der <i>Single-Breath</i> -Methode
t-PA	Plasminogen-Aktivator vom Gewebe-Typ
TZ	Thrombinzeit

U:

U	Units
UIP	Usual intestinal pneumonia
u-PA	Plasminogen-Aktivator vom Urokinase-Typ

V:

V	Voltage (z. B.: EKG-Brustwandableitungen V_1 bis V_6)
VAS	Visuelle Analogskala
VATS	Videoassistierte Thorakoskopie
VC	Vitalkapazität
vs.	Versus

X:

x_{med}	Median
-----------------------------	--------

Vorwort

Die idiopathische pulmonale Fibrose (IPF), aus der Gruppe der idiopathischen interstitiellen Pneumonien, stellt eine chronisch progredient verlaufende Lungenkrankheit mit einer insgesamt sehr schlechten Prognose und einer mittleren Überlebenszeit von 24 bis 48 Monaten nach Diagnosestellung dar. Effektive und etablierte Therapieoptionen fehlen.

Aufgrund neuer Erkenntnisse bezüglich des Pathomechanismus der IPF wurden in den vergangenen Jahren neue Therapieansätze entwickelt, welche sich in der präklinischen oder klinischen Überprüfung (Phase I-III) befinden. Vor allem vor dem Hintergrund ausgeprägter Veränderungen des alveolären hämostaseologischen Gleichgewichtes zugunsten einer gesteigerten, prokoagulatorischen und antifibrinolytischen Aktivität wurde ein therapeutisches Konzept entwickelt, welches dieses veränderte Gleichgewicht bei IPF-Patienten durch Applikation antikoagulatorischer bzw. profibrinolytischer Moleküle günstig zu beeinflussen vermag.

Ziel der hier vorgelegten Dissertation war es im Rahmen einer offenen, exploratorischen, klinischen Pilotstudie zu prüfen, ob eine inhalative Applikation von Heparin eine sichere und verträgliche Therapiemöglichkeit bei IPF-Patienten darstellt (SAFEFIB - Safety and Tolerability of Heparin Aerosol Application in Lung Fibrosis).

KAPITEL 1

Einleitung

Unter dem Begriff *Interstitielle Lungenerkrankung* (ILD), auch fibrosierende oder diffus-parenchymatöse Lungenkrankheit genannt, werden mehr als 100 verschiedene Entitäten subsumiert. Hierzu gehören die idiopathischen interstitiellen Pneumonien (IIP), bei welchen die Ursache nach wie vor ungeklärt ist.

Die IIPs werden nach der aktuell gültigen Klassifikation der American Thoracic Society (ATS) und der European Respiratory Society (ERS) aus dem Jahr 2002 in sieben verschiedene Untergruppen eingeteilt. Zu ihnen gehören die idiopathische pulmonale Fibrose (IPF), die nicht-spezifische interstitielle Pneumonie (NSIP), die desquamative Interstitielle Pneumonie (DIP), die „respiratory bronchiolitis-interstitial lung disease“ (RB-ILD), die kryptogene organisierende Pneumonie (COP, auch „bronchiolitis obliterans organizing pneumonia“, BOOP, genannt), die akute interstitielle Pneumonie (AIP) und die lymphoide interstitielle Pneumonie (LIP) [1].

In der folgenden Einleitung wird im Wesentlichen auf die IPF eingegangen, welche die größte Gruppe innerhalb der idiopathischen interstitiellen Pneumonien darstellt und das Patientenklientel der vorliegenden klinischen Studie bildet.

1.1 Epidemiologie, Ätiologie und Klinik der IPF

Einer populationsorientierten Studie aus Bernalillo County (New Mexico, USA, 1988 bis 1990) zu Folge, liegt die Prävalenz einer ILD für Frauen bei 67,5 pro 100.000 Einwohnern und für Männer bei 80,9 pro 100.000 Einwohnern. Die ermittelte Inzidenz für Frauen liegt bei 26,1 pro 100.000 EW und die für Männer bei 31,5 pro 100.000 EW. Für die IPF wird eine Prävalenzrate von 13,2 pro 100.000 EW für Frauen und von 20,2 pro 100.000 EW für Männer angegeben. Die Inzidenzrate liegt hier bei 7,4 pro 100.000 EW für Frauen und bei 10,7 pro 100.000 EW für Männer. Der Anteil der IPF an den ILDs beträgt demnach etwa 20 bis 30 %, was ebenfalls in europäischen Studien belegt worden ist [2, 3, 4, 5, 6].

Die IPF, auch als kryptogene fibrosierende Alveolitis (CFA) bezeichnet, ist eine chronisch progrediente und tödlich verlaufende Erkrankung. Sie ist durch die fortschreitende Zerstörung der regulären, zarten Lungen- bzw. Alveolarstruktur und deren Ersatz durch fibrotisches Narbengewebe und ein sogenanntes Honigwabemuster („honeycombing“) gekennzeichnet. Dieser Umbauprozess der distalen Lunge führt zu Gasaustauschstörungen und zur Einschränkung der Lungendehnbarkeit (Compliance). Im Mittel liegt die Überlebenszeit nach Diagnosestellung bei zwei bis vier Jahren [7, 8, 9, 10], der Median liegt bei 28 Monaten [11]. Männer sind etwas häufiger betroffen als Frauen. Der Konsum von Nikotin stellt einen eigenständigen Risikofaktor dar.

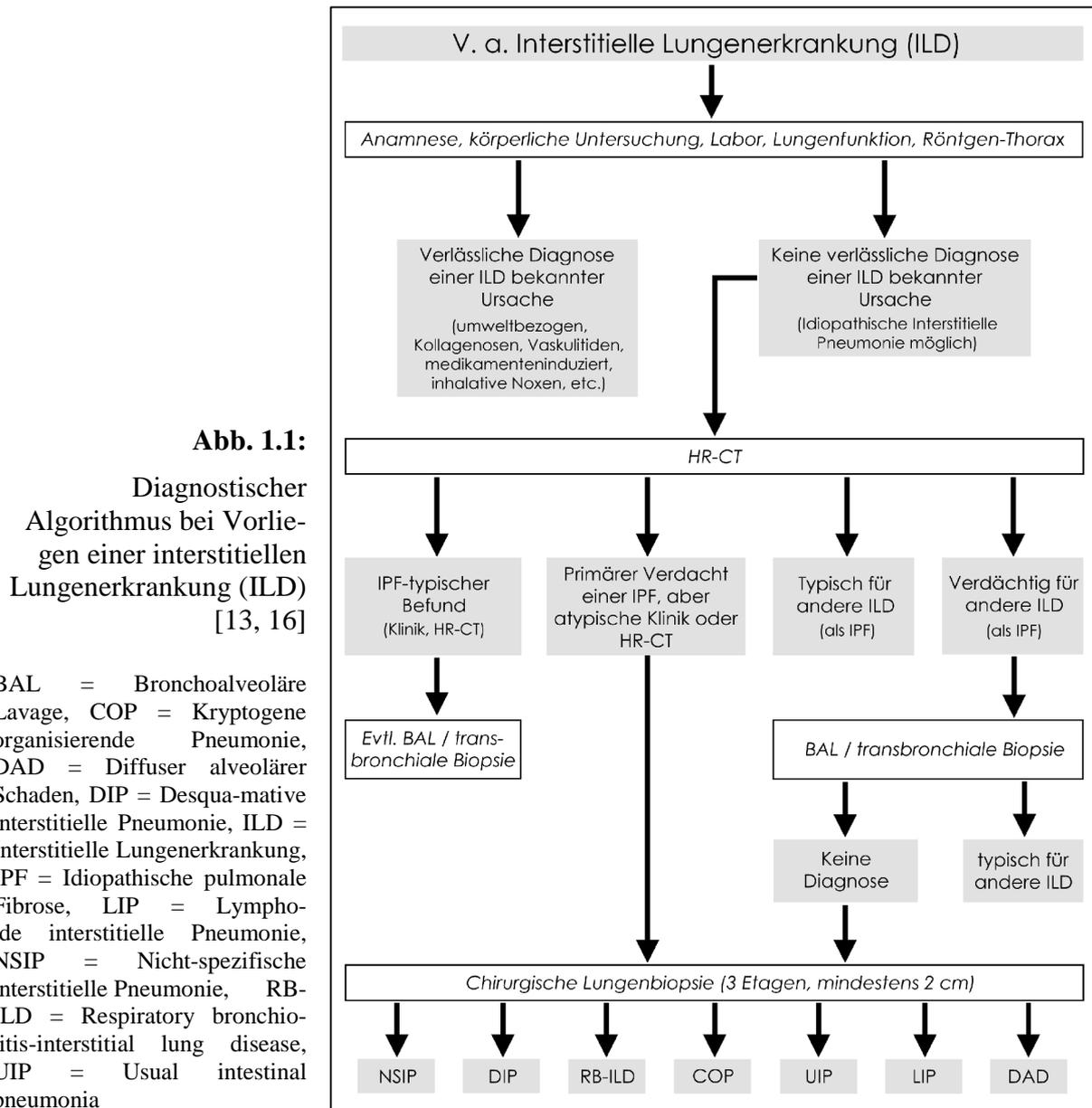
Seit längerem wird über eine mögliche genetische Ursache der IPF diskutiert. Untersuchungen haben ergeben, dass Mutationen des Surfactant-Protein-C-Gens (SP-C) oder des Telomerase-Gens bei manchen Formen der familiären IPF eine Rolle spielen könnten [12].

Klinisches Leitsymptom der IPF ist ein chronisch progredientes Krankheitsbild, gekennzeichnet durch eine körperliche Belastungsdyspnoe, welche später auch in Ruhe auftritt. Desweiteren klagten die Patienten über einen trockenen und oft quälenden Reizhusten. Bei der körperlichen Untersuchung lässt sich auskultatorisch beidseits basal betont ein feines, spätinspiratorisches Knisterrasseln („Sklerophonie“) nachweisen. Typischerweise finden sich weiterhin Uhrglasnägel und Trommelschlegelfinger. Im fortgeschrittenen Stadium lassen sich darüber hinaus aber auch eine Lippenzyanose oder Zeichen eines Cor pulmonale nachweisen [10].

1.2 Diagnostik der IPF

Zur Basis-Diagnostik bei Verdacht auf IPF gehören einleitend eine ausführliche Anamnese und eine körperliche Untersuchung, welche von apparativen Untersuchungen wie einer Röntgen-Thoraxaufnahme in zwei Ebenen und einem Lungenfunktionstest mit Messung der Diffusionskapazität der Lunge für CO (DL_{CO}) gefolgt werden (siehe Abb. 1.1).

In der Lungenfunktionsprüfung zeigt sich typischerweise eine restriktive Ventilationsstörung mit einer Abnahme der Vitalkapazität (VC), der forcierten Vitalkapazität (FVC) und der totalen Lungkapazität (TLC). Im frühen Stadium kann eine restriktive Ventilationsstörung fehlen. Sensitivster Parameter ist eine Einschränkung des pulmonalen Gasaustausches (DL_{CO} , pO_2 , $AaDO_2$) in Ruhe oder bei Belastung.



In der Röntgen-Thoraxaufnahme in zwei Ebenen präsentiert sich meist ein retikuläres Zeichenmuster, welches von der Lage her peripher basal betont und oft auch pleuraständig ist. Jedoch sollte man auch im Falle eines Normalbefundes keineswegs das Vorliegen einer IPF ausschließen. Bei dem Verdacht auf eine IIP, wie die IPF, schließt sich im nächsten Schritt als zusätzliches bildgebendes Verfahren eine hochauflösende Thorax-Computertomographie (HR-CT) an. Das HR-CT weist im Vergleich zum Röntgenthoraxbild eine deutlich erhöhte Sensitivität für eine ILD auf. Im HR-CT zeigt sich bei der IPF typischerweise beidseits symmetrisch, peripher basal und subpleural betont, ein retikuläres Zeichenmuster, eine Verdickung der Interlobularsepten, Traktionsbronchiektasen und ein Honigwabemuster („honeycombing“) [10]. Bei den radiologischen Differentialdiagnosen sollte man

insbesondere eine Lungenbeteiligung bei Kollagenosen, Asbestosen und exogener allergischer Alveolitis (EAA) berücksichtigen [13, 14, 15].

Die wesentliche Rolle einer Bronchoskopie mit bronchoalveolärer Lavage (BAL) und transbronchialer Biopsie (TBB) besteht darin, alternative Diagnosen (wie maligne oder infektiöse Erkrankungen, eosinophile Pneumonie, COP oder Sarkoidose) zu stellen oder auszuschließen. Zudem kann das Differentialzellbild der inflammatorischen Zellen in der BAL das Spektrum an Differentialdiagnosen einengen. Bei einer IPF wird meist eine prädominante neutrophile Alveolitis mit einer leichten Eosinophilenerhöhung nachgewiesen.

In vielen Fällen lässt sich bei dem Verdacht auf eine IPF die Diagnose mit großer Wahrscheinlichkeit durch eine typische Klinik, einen typischen HR-CT-Befund und den Ausschluss anderer Erkrankungen mittels Bronchoskopie sichern.

Für diesen Fall hat die internationale American Thoracic Society-/European Respiratory Society-Konsensuskonferenz (ATS/ERS) aus dem Jahre 2000 klinische Kriterien zur Diagnostik der IPF in Abwesenheit einer chirurgischen Lungenbiopsie erstellt. Die Kriterien werden im Folgenden aufgeführt, wobei alle Hauptkriterien und drei von vier Nebenkriterien zur Diagnosestellung erfüllt sein müssen [7, 13, 16].

Hauptkriterien:

- ü Ausschluss anderweitiger Ursachen einer ILD
- ü Pathologische Lungenfunktionsprüfung mit Zeichen einer restriktiven Ventilationsstörung und eingeschränktem Gasaustausch
- ü Beidseits basal betonte, retikuläre Zeichnungsmuster mit allenfalls geringgradigen milchglasartigen Trübungen im HR-CT
- ü Kein Hinweis auf das Vorliegen einer anderen ILD im Rahmen der BAL und transbronchialen Schleimhautbiopsie

Nebenkriterien:

- ü Alter über dem 50. Lebensjahr
- ü Langsam einschleichende Belastungsdyspnoe
- ü Dauer der Erkrankung von mehr als 3 Monaten
- ü Nachweis von beidseits basalem Knisterrasseln („Sklerophonie“)

Eine definitive Diagnosestellung ist allerdings nur mittels chirurgischer Lungenbiopsie, meist als videoassistierte Thorakoskopie (VATS) durchgeführt, möglich [13, 16]. Histologisch zeigt sich das Muster einer „usual interstitial pneumonitis“ (UIP).

Die Zeichen der UIP werden im Folgenden aufgeführt [13, 17]:

- Ø Zeitlich heterogenes Erscheinungsbild mit Bezirken normalen Lungengewebes, interstitieller zellulärer Infiltration, Fibrose und Honigwabenmuster
- Ø Herdförmiger Lungenbefall
- Ø Fibroblastenherde
- Ø Veränderungen beginnen pleuranah und basal (annähernd seitengleich); fortschreitend nach kranial und hiliär

1.3 Pathomechanismen der IPF

Die Pathomechanismen der IPF sind komplex und in vielen Punkten noch nicht erschlossen, zumal verschiedene Mediatoren, Wachstumsfaktoren und zelluläre Interaktionen hierfür mutmaßlich verantwortlich scheinen. Entgegen früherer Ansichten weiß man heutzutage, dass in Lungenbiopsaten bei IPF-Patienten nur leichte inflammatorische Reaktionen stattfinden und somit eine anti-inflammatorische Therapie wenig Erfolg versprechend ist. Die pathogenetische Abfolge scheint mit einer Schädigung und daraus folgender Aktivierung des alveolären Lungenepithels zu beginnen, worauf eine Störung der Wundheilung zu folgen scheint [18, 19, 20] (siehe Abb. 1.2, 1 bis s). Auf die verschiedenen Pathomechanismen wird im Folgenden näher eingegangen.

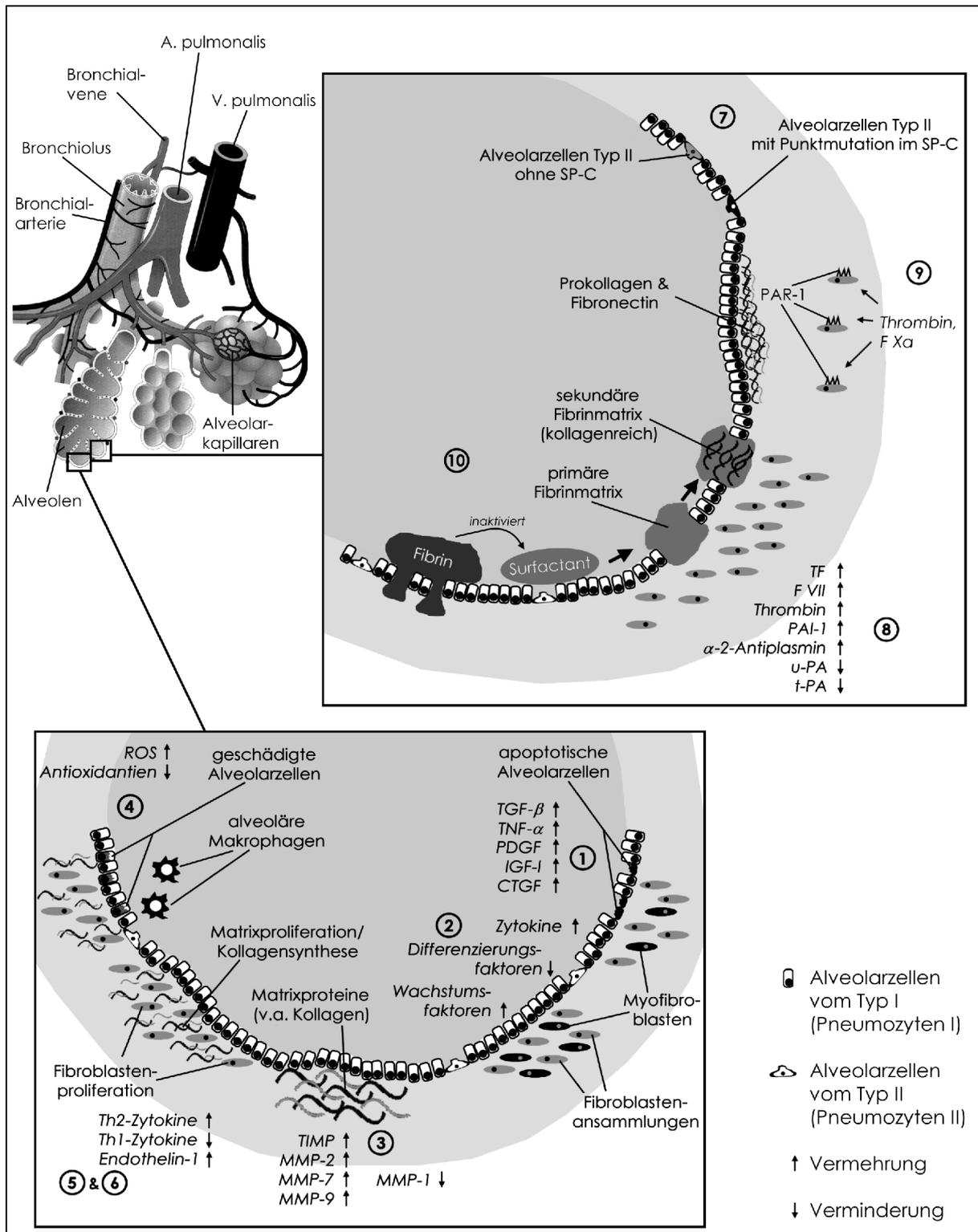


Abb. 1.2: Pathomechanismen der IPF (Abbildung modifiziert nach [21])

CTGF = Connective tissue growth factor, F VII = Gerinnungsfaktor VII, F Xa = Gerinnungsfaktor Xa, IGF-I = Insulin-like growth factor-I, MMP = Matrixmetalloproteinase, PAR-1 = Protease-activated receptor-1, PAI-1 = Plasminogen-aktivator-inhibitor-1, PDGF = Platelet-derived growth factor, ROS = Reaktive Sauerstoffspezies, SP-C = Surfactant-Protein-C, TF = Tissue factor, TGF- β = Transforming growth factor- β , TIMP = Tissue inhibitor of matrix metalloproteinase, TNF- α = Tumor-Nekrose-Faktor- α , t-PA = Plasminogen-Aktivator vom Gewebe-Typ, u-PA = Plasminogen-Aktivator vom Urokinase-Typ

1.3.1 Rolle von TGF- β , TNF- α und anderen Wachstumsfaktoren

Eine wesentliche Rolle scheint die Apoptose (= programmierter Zelltod) alveolärer Epithelzellen zu spielen, welche von mehreren Wachstumsfaktoren und Mediatoren wie TGF- β und TNF- α induziert werden kann [22, 23]. Die apoptotischen Alveolarepithelzellen konnten besonders in der Nähe von Fibroblastenansammlungen in Lungenbiopsaten nachgewiesen werden [24, 25].

In einem Tierversuch zur Verminderung von Bleomycin-induzierter Lungenfibrose bei Mäusen zeigte sich nach Verabreichung von Angiotensin-Konverting-Enzym-Inhibitoren eine Abschwächung der epithelialen Apoptose und sogar eine Verminderung der sich entwickelten Fibrose [26, 27].

Weitere Untersuchungen zeigten, dass TGF- β die Fibroblastenproliferation, die Fibroblastendifferenzierung zu Myofibroblasten und die Kollagensynthese beachtlich fördern kann [28]. In einem Tierexperiment wurde an Mäusen ein Adenoviral-vermittelter TGF- β -Gentransfer durchgeführt, welcher eine schwere pulmonale Fibrose auslöste [29]. Bei Mäusen mit Bleomycin-induzierter Lungenfibrose, welche eine erhöhte TGF- β -Expression aufwiesen, konnte man unter der Gabe eines TGF- β -Antikörpers oder eines löslichen TGF- β -Rezeptors einen Rückgang der Kollagendeposition beobachten [30, 31]. Auch weitere Wachstumsfaktoren wie PDGF (platelet-derived growth factor), IGF-I (insulin-like growth factor-I) oder CTGF (connective tissue growth factor) scheinen eine wesentliche Rolle bei der Pathogenese der IPF zu spielen [32] (siehe Abb. 1.2, 1).

1.3.2 Fibroblasten und Myofibroblasten

Wie bereits erwähnt, lassen sich histologisch Fibroblastenansammlungen bei einer IPF nachweisen. Sie kennzeichnen das Bild einer „usual interstitial pneumonitis“ (UIP) und können der Prognose über die Ausprägung der IPF dienen [7, 33, 34, 35]. In diesen Fibroblastenansammlungen befinden sich viele Myofibroblasten, welche sich vermutlich aus parenchymalen Fibroblasten entwickeln. Unterstützt wird dieser Vorgang durch sezernierte Zytokine und Wachstumsfaktoren aus inflammatorischen Zellen [7, 33, 34].

Eine weitere Hypothese besagt, dass diese Fibroblasten und Myofibroblasten vielleicht durch Epithelzellen gefördert werden oder sich aus Stammzellen des Knochenmarks entwickeln [36].

Desweiteren besteht der Verdacht, dass es bei einem Wegfall von Differenzierungsfaktoren, wie dem „hepatocyte growth factor“ (HGF) oder den Prostazyklinen, zu einer ungezügelter

Proliferation kommt, da man davon ausgeht, dass ohne die genannten Faktoren die physiologische Differenzierung der alveolären Epithelzellen und Fibroblasten nicht mehr gewährleistet werden kann [37, 38, 39, 40] (siehe Abb. 1.2, 2).

1.3.3 Ungleichgewicht zwischen verschiedenen Matrixmetalloproteinasen (MMP) und deren Inhibitoren (TIMP)

Im Interstitium der Lunge finden ständig Umbauprozesse statt, welche durch ein physiologisches Gleichgewicht von sogenannten Matrixmetalloproteinasen (MMP) und deren Inhibitoren (TIMP) bedingt werden.

Die Kollagenase MMP-1 (Kollagen I spezifisch) ist für den Abbau des interstitiellen Bindegewebes verantwortlich, während die TIMP diesen Abbau kontrolliert hemmen. Aufgrund dessen kommt es bei einer IPF durch eine Vermehrung der TIMP und eine Verminderung der MMP-1 zu einer vermehrten Bildung von Matrixproteinen (hier vor allem Kollagen) [41].

In Regionen zerstörter Basalmembranen lassen sich Erhöhungen der Gelatinasen MMP-2 und MMP-9 bei IPF-Patienten nachweisen [41]. Dies lässt vermuten, dass diese beiden Enzyme am Abbauprozess der Basalmembran beteiligt sind und in Folge dessen zu einer gestörten Reepithelialisierung und zu einer Fibroblastenanhäufung führen [41].

Da sich bei IPF Patienten zudem erhöhte Werte des Enzyms Matrilysin (MMP-7) zeigten, wird dieses Enzym verdächtig eine Fibrose auszulösen [42]. In einem Tierexperiment zeigte sich, dass Matrilysin-knock-out-Mäuse gegen appliziertes Bleomycin geschützt waren und demzufolge keine Bleomycin-induzierte Lungenfibrose entwickelten [42] (siehe Abb. 1.2, 3).

1.3.4 Ungleichgewicht zwischen Oxidantien und Antioxidantien

Experimentell und klinisch zeigten sich bei IPF-Patienten einerseits eine Erhöhung von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS), welche in Alveolarmakrophagen und Fibroblasten gebildet werden, andererseits ein Mangel an Antioxidantien im alveolären Kompartiment [43, 44, 45, 46, 47]. Durch das Ungleichgewicht der Oxidantien und Antioxidantien kommt es zu einer oxidativen Schädigung der alveolären Epithelzellen und zur Anregung weiterer Mechanismen (z. B. Fibroblastenproliferations-Aktivierung, Veränderung der extrazellulären Matrixproteine) [43, 48] (siehe Abb. 1.2, 4).

1.3.5 Rolle von Th1- und Th2-Zytokinen

Es wird vermutet, dass bei einer IPF ein Ungleichgewicht zwischen Th2-Zytokinen und Th1-Zytokinen zu Ungunsten der Th1-Zytokine im Lungengewebe herrscht [49]. Während hierbei Th2-Zytokine (Il-4, Il-5, Il-9, Il-13) die Fibroblastenaktivierung und extrazelluläre Matrixproliferation im Übermaße fördern, können Th1-Zytokine (u. a. IFN- γ) diesem Vorgang nicht mehr ausreichend entgegenwirken [49, 50]. Im Rahmen tierexperimenteller Studien bewirkte die Gabe eines Anti-Il-5-Antikörpers bei Mäusen mit Bleomycin-induzierter Lungenfibrose eine Abschwächung der Fibrose [51] (siehe Abb. 1.2, 5).

1.3.6 Endothelin-1-Expression im Lungengewebe

Bei Patienten mit einer IPF zeigte sich eine Erhöhung von Endothelin-1 im Lungengewebe, welche die Fibroblastenproliferation und die Kollagensynthese begünstigt [52, 53, 54, 55, 56]. Bei Mäusen mit Bleomycin-induzierter Lungenfibrose konnte man durch die Gabe von Bosentan, einem Endothelin-Rezeptor-Antagonisten, einen Rückgang der verminderten Gasaustauschfläche beobachten [57] (siehe Abb. 1.2, 6).

1.3.7 Veränderungen im Surfactantsystem und ihre Auswirkungen

Die Ursachen einer IPF sind derzeit noch weitestgehend unklar. Dennoch vermutet man, dass dem Surfactantsystem (insbesondere das SP-C, welches in Alveolarzellen vom Typ II gebildet wird) in einigen Fällen eine bedeutende Rolle zukommt. Im Jahre 2001 wurde erstmals bei einer Frau und ihrer Tochter, welche beide an einer ILD erkrankten, eine Punktmutation auf dem SP-C-Gen entdeckt. Die Mutation war in der ersten Base des Introns 4 lokalisiert und führte zum Verlust des Exons 4 [58]. In weiteren Untersuchungen wurde festgestellt, dass der Verlust des Exons 4 zu einer intrazellulären Ansammlung bzw. Zusammenballung (Aggregasombildung) dieses abnormen SP-C-Proteins in der Alveolarzelle führt, was wiederum eine intrazelluläre Dysfunktion und letztlich den Zelltod der betroffenen Zellen zur Folge hat [59].

Im Gegensatz zu einer Mutation des SP-C-Gens kann auch der Verlust dieses Proteins eine entscheidende Rolle bei der Schädigung der Lunge spielen. In einem Tierexperiment mit SP-C-knock-out-Mäusen konnte man durch den Verlust des SP-Cs eine fortschreitende

Lungenschädigung nachweisen. Im histologischen Präparat ließen sich Charakteristika einer interstitiellen Pneumonitis erkennen [60] (siehe Abb. 1.2, 7).

In einer 2006 veröffentlichten Studie konnte festgestellt werden, dass die IPF vor allem mit der Expression von epithelialen, myofibroblastären und am Remodeling von Gewebe beteiligten Genen assoziiert zu sein scheint [61].

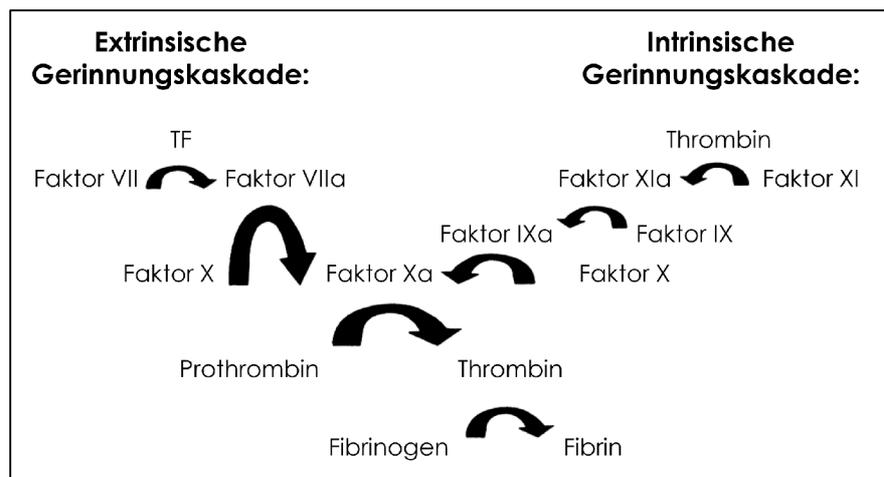
1.3.8 Rolle des Gerinnungssystems

In den BAL-Flüssigkeiten von Patienten mit chronisch interstitieller Lungenerkrankung, einschließlich der IPF, konnte eine signifikante Erhöhung der prokoagulatorischen Aktivität, begleitet von einer verringerten fibrinolytischen Aktivität, nachgewiesen werden. Identische Veränderungen des alveolären hämostaseologischen Gleichgewichtes konnten in tierexperimentellen Modellen einer Lungenfibrose aufgezeigt werden [62, 63, 64, 65, 66].

Die erhöhte prokoagulatorische Aktivität (siehe Abb. 1.2, 8) ist vor allem einer vermehrten Expression des Gewebefaktors (TF = tissue factor) zuzuschreiben, welcher mit dem Faktor VIIa assoziiert ist [3, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73]. Verschiedene inflammatorische Zytokine und profibrotische Wachstumsfaktoren stimulieren die Expression von TF in verschiedenen Zellpopulationen, was zu einer Aktivierung der extrinsischen Gerinnungskaskade (siehe Abb. 1.3) führt (Bildung eines TF-Faktor-VIIa-Komplexes) [74, 75, 76]. Erhöhte TF-Spiegel in der BAL korrelieren hierbei mit der Einschränkung der pulmonalen Compliance [3].

Abb. 1.3:
Die Gerinnungskaskade mit der schrittweisen Aktivierung der Gerinnungs-Proteasen [77]

TF = Tissue factor



In tierexperimentellen Studien zum Modell der Bleomycin-induzierten Lungenfibrose konnte gezeigt werden, dass alveoläre Makrophagen und alveoläre Typ-II-Zellen die wichtigsten zellulären Quellen für die Produktion von TF unter diesen pathologischen Bedingungen sind [66, 78].

Hingegen ist eine Verringerung der fibrinolytischen Aktivität zum einen zurückzuführen auf eine Hemmung der Plasminogen-Aktivatoren vom Urokinase-Typ (u-PA) und Gewebe-Typ (t-PA) durch gesteigerte Expression des Plasminogen-Aktivator-Inhibitors-1 (PAI-1), zum anderen auf eine Blockade von Plasmin durch α_2 -Antiplasmin [3, 63, 65, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73]. Hierbei scheinen alveoläre Makrophagen, alveoläre Typ-II-Zellen, aber auch Fibroblasten die Hauptquellen für lokal produziertes PAI-1 zu sein [64, 66, 78, 79, 80, 81, 82, 83].

Studien mit genetisch veränderten Mäusen konnten die Bedeutung von Veränderungen im u-PA/PAI-1-System bei fibrosierender Lungenerkrankung belegen: PAI-1-knock-out-Mäuse zeigten im Modell der Bleomycin-induzierten Lungenfibrose eine signifikant abgeschwächte fibroproliferative Reaktion im Vergleich zu Wildtyp-Mäusen. Dagegen konnte bei PAI-1-überexprimierenden Mäusen im gleichen Modell eine Zunahme der fibrotischen Veränderung im Lungenparenchym im Vergleich zu Wildtyp-Mäusen nachgewiesen werden [84]. Ebenso zeigte sich bei Mäusen nach induzierter Expression von u-PA im alveolären Kompartiment eine Verbesserung der Lungenfibrose [85]. Zudem waren transgene Mäuse, welche ein u-PA-Surfactant-Protein-B-Fusionsprotein exprimierten, vor akuten Lungenerkrankungen nach Verabreichung inhalativer Liposaccharide (LPS) geschützt und zeigten eine deutlich abgeschwächte fibrotische Antwort und eine verbesserte Überlebensrate nach Bleomycinapplikation [86].

Veränderungen des alveolären Gerinnungssystems mit gesteigerter prokoagulatorischer und antifibrinolytischer Aktivität sowie konsekutiver, überschießender und persistierender pulmonaler Fibrindeposition tragen vermutlich über verschiedene Vorgänge zu den Pathomechanismen fibrosierender Lungenerkrankungen bei. Eine Vielzahl von Koagulationsproteasen, wie Thrombin, Faktor Xa und TF-Faktor-VIIa-Komplex, üben direkt profibrotische Effekte auf verschiedene Zellpopulationen aus. Die meisten dieser Effekte werden durch proteolytische Aktivierung von proteaseaktivierten Rezeptoren (PARs) vermittelt (siehe Abb. 1.2, 9). Zum Beispiel stimulieren Thrombin und Faktor Xa die Fibroblastenproliferation sowie Prokollagen- und Fibronectinproduktion in einer PAR-1-abhängigen Weise [87, 88, 89].

Weiterhin induziert Thrombin die Differenzierung von normalen Lungenfibroblasten zu Myofibroblasten über die PAR-1-Aktivierung [90]. Die Aktivierung von PAR-1 durch Thrombin, Faktor Xa und den TF-Faktor-VIIa-Komplex kann darüber hinaus die Expression von profibrotischen und proinflammatorischen Zytokinen steigern [91, 92, 93, 94].

In einer aktuellen Studie konnte gezeigt werden, dass PAR-1-knock-out-Mäuse gegenüber einer Bleomycin-induzierten Lungenfibrose geschützt waren, wodurch ein Zusammenhang von PAR-1 mit pulmonaler Fibrose auf tierexperimenteller Ebene untermauert werden kann [95].

Weiterhin dürfte auch die vermehrte und persistierende Ablagerung von extravaskulärem Fibrin in der Lunge zu den Pathomechanismen der fibrosierenden Lungenerkrankung beitragen. Diese ist als Folge der Verschiebung des alveolären hämostaseologischen Gleichgewichtes zu beobachten (siehe Abb. 1.2, s). Das Fibrin selbst kann als ein Reservoir von profibrotischen Wachstumsfaktoren fungieren [96]. Bei einer IPF-Lunge findet sich die Fibrose vor allem in Arealen mit pulmonaler Fibrindeposition. Darüber hinaus hemmt Fibrin die Surfactant-Funktion in der Lunge. Dies führt zu Atelektasen und zur Verklebung der atelektatischen Lungenareale. Hierbei dient Fibrin vermutlich als eine vorläufige Matrix, in welche Fibroblasten einwandern, sich vermehren und Kollagen produzieren [97, 98]. Darüber hinaus sind Fibrin und Fibrinabbauprodukte potente, chemotaktische Proteine, welche die vaskuläre Permeabilität erhöhen [99] und somit das Einwandern von an der Fibrose beteiligten Zellen in den Alveolarraum begünstigen [100]. Allerdings liefern jüngste Beobachtungen mit Fibrin-knock-out-Mäusen zusätzliche Hinweise auf Fibrin unabhängige Mechanismen. Diese Mäuse konnten nach Bleomycinverabreichung ebenfalls eine Lungenerkrankung und pulmonale Fibrose entwickeln [101].

Sowohl bei Patienten mit fibrosierender Lungenerkrankung wie auch in Tierexperimenten konnte gezeigt werden, dass die gesteigerte intraalveoläre Aktivierung des Gerinnungssystems nicht ausreichend durch natürliche Inhibitoren, wie das Antithrombin (AT), „tissue factor pathway inhibitor“ (TFPI) oder das aktivierte Protein-C (APC), ausgeglichen wird [72, 78, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109]. Diese Inhibitoren greifen auf verschiedenen Ebenen in die TF-Faktor-VIIa-induzierte Aktivierung der Gerinnungskaskade ein. AT neutralisiert Thrombin und verschiedene andere Proteinasen in der Gerinnungskaskade. TFPI hemmt insbesondere den TF-Faktor-VIIa-Xa-Komplex. APC inaktiviert die Koagulationsfaktoren Va und VIIIa, was wiederum die Thrombin- und Fibrinbildung verringert.

Erste tierexperimentelle Untersuchungen haben gezeigt, dass die Korrektur des veränderten alveolären hämostaseologischen Gleichgewichtes durch Applikation von prokoagulatorischen und profibrinolytischen Molekülen einen vielversprechenden und neuen therapeutischen Ansatz bei fibrosierender Lungenerkrankung darstellen kann. So führte die intratracheale Applikation von APC oder die systemische Verabreichung eines direkten Thrombinhemmers zu einer signifikanten Abschwächung der Bleomycin-induzierten Lungenfibrose [85, 110, 111, 112, 113]. Außerdem konnte gezeigt werden, dass die systemische Anwendung von Heparin bei Mäusen sowie eine chronische Inhalation von unfraktioniertem Heparin bei Kaninchen zu einer deutlichen Reduktion der Lungenfibrose führt [114, 115]. Dies zeigte sich in einer weitestgehenden Normalisierung der Lungencompliance, einer Reduktion des Kollagengehaltes in der Lunge und in einer Verbesserung der histologisch und bildgebend nachweisbaren fibrotischen Veränderungen.

Eine Heparininhalation könnte als therapeutische Intervention somit auch bei IPF-Patienten zu einer Verbesserung der Erkrankung führen. Dies wurde bislang jedoch noch nicht experimentell in Studien überprüft.

1.4 Medikamentöse Therapiemöglichkeiten bei Patienten mit einer IPF

1.4.1 Bisherige Therapiekonzepte

Gegenwärtig gibt es keine zugelassene und in ihrer Effektivität bestätigte medikamentöse Therapie für IPF-Patienten. Aufgrund der früheren Annahme, dass es sich bei der IPF um eine primär entzündlich getriggerte Erkrankung handele, wurden in der Vergangenheit häufig Steroide und andere immunmodulierende Substanzen (Cyclophosphamid, Azathioprin) zur Therapie der IPF eingesetzt. In kleinen, retrospektiven Studien und anekdotischen Berichten konnte teilweise eine, meist jedoch nur vorübergehende, subjektive (ca. 40 %) und/oder objektive (ca. 10 - 30 %) Ansprache auf Steroide dokumentiert werden [116, 117, 118, 119, 120, 121]. Allerdings weisen diese Studien erhebliche methodische Schwächen auf (vor allem kleine Patientenzahl; heterogenes Patientenkollektiv, einschließlich Patienten mit anderen Formen einer ILD). Das Ansprechen auf Steroide bei IPF-Patienten ist insgesamt vermutlich deutlich geringer (ca. 8 – 17 %). Prospektive, randomisierte, placebokontrollierte Studien zur Therapie der IPF mit Steroiden liegen nicht vor. Eine Prognoseverbesserung durch Steroide wurde ebenfalls nie gezeigt.

Darüber hinaus ist eine Steroidtherapie potenziell und mit erheblichen Nebenwirkungen assoziiert.

Eine prospektive, randomisierte, doppelt blinde, placebokontrollierte Studie zeigte die mögliche Überlegenheit einer Kombinationstherapie aus Azathioprin plus Prednisolon gegenüber einer Prednisolonmonotherapie auf [117]. Trotz dieser insgesamt sehr geringen Evidenzen für eine antiinflammatorische Therapie der IPF schlägt die ATS/ERS-Konsensuskonferenz aus dem Jahre 2000, insbesondere auch aufgrund der limitierten alternativen Therapiemöglichkeiten, im Einzelfall einen zeitlich begrenzten Therapieversuch mit Azathioprin bzw. Cyclophosphamid und Steroiden vor [7]. Dies sollte unter Abwägung des individuellen Risiko-Nutzen-Profiles und unter engmaschiger Überwachung des Patienten erfolgen.

Prednisolondosis:

- Zu Beginn der Behandlung 0,5 mg/kg KG täglich (Dauer: 4 Wochen)
- Anschließend Reduktion auf 0,25 mg/kg KG täglich (Dauer: 8 Wochen)
- Danach Reduktion auf 0,125 mg/kg KG täglich

Azathioprin-/Cyclophosphamiddosis:

- 2 mg/kg KG täglich (maximal 150 mg/Tag)
- Begonnen wird die Behandlung mit 25 bis 50 mg täglich
- Danach wird die Dosis stufenweise um 25 mg alle 7 bis 14 Tage bis zur Zieldosis erhöht

Nach 6 Monaten sollte eine Zwischenbilanz über den Zustand des Patienten gezogen werden, woraufhin über eine Weiterbehandlung oder einen Abbruch der Therapie entschieden werden sollte. Nur im seltenen Falle einer Verbesserung oder Stabilisierung der Erkrankung sollte laut Empfehlung der ATS/ERS-Konsensuskonferenz eine Dauerbehandlung angesetzt werden. Bei einer Verschlechterung sollte die Therapie abgebrochen werden [122].

1.4.2 Neue mögliche Therapieansätze

Vor dem Hintergrund der unbefriedigenden Behandlungsergebnisse einer antiinflammatorischen Therapie und auf der Basis aktueller Erkenntnisse zum

Pathomechanismus der IPF wurden in den vergangenen Jahren neue Therapieansätze für die IPF entwickelt, welche sich gegenwärtig im präklinischen Stadium befinden oder in ersten klinischen Studien untersucht werden. Diese sollen im Folgenden kurz erläutert werden. Für keines dieser Medikamente besteht aktuell eine Zulassung zur Behandlung der IPF.

1.4.2.1 Antioxidative Therapie mit N-Acetylcystein

Durch eine Hochdosisgabe von N-Acetylcystein (3 mal täglich 600 mg) konnte schon in früheren Pilotstudien eine vermehrte Bereitstellung von Glutathion, dem qualitativ bedeutensten Antioxidans im alveolären Kompartiment, dokumentiert werden [123, 124].

In einer im Jahre 2004 abgeschlossenen randomisierten, placebokontrollierten, europäischen Multizentren-Studie (IFIGENIA – Idiopathic Pulmonary Fibrosis International Group Exploring NAC I Annual) wurde IPF-Patienten neben der empfohlenen Kombinationstherapie (Kortikosteroide und Azathioprin) ein Jahr lang 3 mal täglich 600 mg N-Acetylcystein verabreicht. Unabhängig von der bei allen 184 Patienten weiterhin fortschreitenden Erkrankung zeigte sich bei der Verumgruppe in dieser Phase-III-Studie eine signifikant geringere Verschlechterung der Vitalkapazität (VC) und der Diffusionskapazität (DL_{CO}) im Vergleich zur Placebogruppe. Dies entsprach einem mittleren Abfall der VC von 60 ml (Verum) versus 190 ml (Placebo). Allerdings konnte keine Verbesserung der Mortalität aufgezeigt werden [125]. In einer aktuell angelaufenen Phase-III-Studie wird ein dreiarmer Vergleich zwischen einer Monotherapie mit N-Acetylcystein, einer Kombinationstherapie aus N-Acetylcystein, Steroiden und Azathioprin sowie einer Kontrollgruppe (keine Therapie) untersucht.

1.4.2.2 Interferon γ -1b-Therapie

In einer 1999 publizierten kleinen, unkontrollierten Studie zeigten sich Hinweise auf eine mögliche Verbesserung von Lungenfunktionsparametern nach systemischer Gabe von Interferon γ -1b [126]. In einer im Jahre 2004 veröffentlichten doppelt blinden, placebokontrollierten, randomisierten, multinationalen Studie konnte dieses Ergebnis allerdings nicht bestätigt werden. Die Interferon- γ -1b-Therapie zeigte keinen signifikanten Einfluss auf den primären Endpunkt, welcher definiert war als die Zeit bis zum Krankheitsprogress bzw. bis zum Tod. Desweiteren konnte kein signifikanter Unterschied zwischen Verum und Placebo hinsichtlich der Lungenfunktionsparameter, des

Gasaustausches oder der Lebensqualität (= sekundäre Endpunkte) festgestellt werden. Es konnte allerdings ein Trend zu einem verbesserten Überleben bei der Verumgruppe, insbesondere in einer Subgruppe von Patienten mit geringer Krankheitsschwere, verzeichnet werden (17 % versus 10 %) [127]. Eine im Anschluss durchgeführte doppelt blinde, randomisierte, placebokontrollierte Phase-III-Studie (INSPIRE-Studie) wurde vorzeitig wegen fehlendem Benefit in der Interimsanalyse abgebrochen.

1.4.2.3 Pirfenidon-Therapie

Pirfenidon (5-Methyl-1-phenyl-2-(1H)-Pyridon) besitzt antiinflammatorische, antioxidative und antifibrotische, gegen das TGF- β -System gerichtete Effekte [128, 129]. Im Jahre 2005 wurde die mögliche Wirksamkeit des Pirfenidon in einer doppelt blinden, randomisierten, placebokontrollierten Studie bei 107 IPF-Patienten überprüft. Den Patienten wurde täglich Pirfenidon bis zu einer maximalen Dosis von 1800 mg verabreicht. Als Ergebnis und gleichzeitig primärer Endpunkt dieser Studie konnte nach sechs bzw. neun Monaten jedoch in der Verumgruppe keine signifikante Verbesserung der niedrigsten kapillären O₂-Sättigung während des 6-Minuten-Gehtestes im Vergleich zur Placebogruppe beobachtet werden. Aufgrund einer signifikant höheren Anzahl von akuten Exazerbationen in der Placebogruppe wurde die Studie vorzeitig beendet. Eine abschließende Beurteilung hinsichtlich des möglichen Nutzens einer Pirfenidon-Therapie ist gegenwärtig nicht möglich [130]. Weitere Phase-III-Studien sind in Planung.

1.4.2.4 Bosentan-Therapie

Aufgrund der nachweisbar erhöhten Endothelin-1-Expression im Lungengewebe bei Patienten mit einer IPF [52, 53, 54, 55, 56], wurde im Jahre 2005 eine offene Phase-I/II-Studie durchgeführt. In dieser Studie wurde zwölf IPF-Patienten jeweils zwölf Wochen lang oral das Medikament Bosentan, ein dualer Endothelinrezeptorantagonist, in einer täglichen Dosis von 62,5 mg (1. Woche) bzw. 125 mg (2. bis 12. Woche) verabreicht. Dabei stellte sich heraus, dass das Medikament ein sicheres und gut toleriertes Therapieregime bei einer IPF-Erkrankung darstellt. Es wurden keine klinisch relevanten Ventilations-Perfusionsverteilungsstörungen durch die Applikation von Bosentan ausgelöst [131].

In einer im Jahre 2008 veröffentlichten doppelt blinden, randomisierten, placebokontrollierten Multizentren-Studie wurde die Wirkung von Bosentan über eine Einnahmedauer von 12 Monaten an insgesamt 158 Patienten getestet. Die Bosentan-Therapie zeigte keinen signifikanten Einfluss auf den primären Endpunkt, d.h. die Gehstrecke im 6-Minuten-Gehtest. Allerdings zeigte sich bei den sekundären Endpunkten ein Trend zu einer Verlängerung der Zeit bis zum Krankheitsprogress bzw. bis zum Tod. Darüber hinaus ergab sich bei einer Subgruppe von Patienten eine Verbesserung der Lebensqualität [132].

1.4.2.5 Antikoagulatorische Therapie mit Warfarin

In einer im Jahre 2005 veröffentlichten japanischen, prospektiven, randomisierten, nicht-geblindeten Studie wurde eine systemische antikoagulatorische Therapie mit Warfarin (einem Cumarinderivat) bzw. einem niedermolekularen Heparin (bei rehospitalisierten Patienten) durchgeführt. An insgesamt 56 Patienten mit einer IPF erfolgte der Vergleich einer Medikamentenapplikation von Prednisolon plus Warfarin (INR-Zielwert: 2,0 bis 3,0) gegenüber der alleinigen Gabe von Prednisolon bei ambulanten Patienten. Als Ergebnis dieser Studie konnte eine signifikante Reduktion der Gesamtmortalität sowie der Mortalität in Assoziation mit akuter Exazerbation im Vergleich zur nicht-antikoagulatorischen Gruppe beobachtet werden (18 % versus 71 %). Darüber hinaus konnte in der Verumgruppe eine längere hospitalisierungsfreie Zeit erreicht werden. Im Falle einer Rehospitalisierung wurde niedermolekulares Heparin anstelle von Warfarin eingesetzt [133]. Die Studie wurde wegen signifikanter Schwächen im Studiendesign sowie der Datenerhebung und -auswertung stark kritisiert. Der ausgeprägte Effekt, trotz kleiner Patientenzahl, deutet jedoch das mögliche Potential antikoagulatorischer Therapieansätze an.

1.5 Inhalative Applikation von unfraktioniertem Heparin bei gesunden Probanden

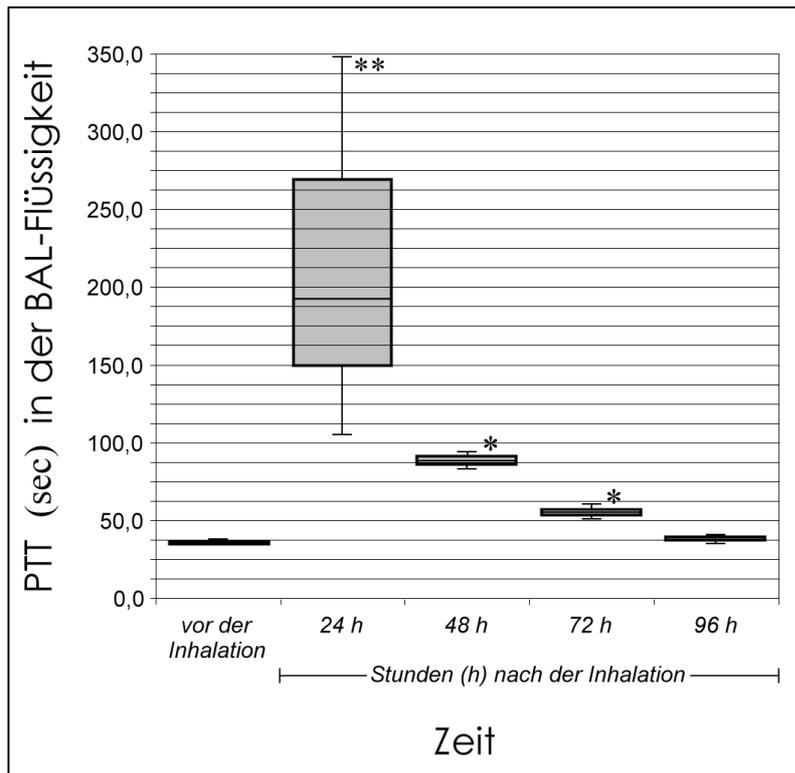
In Vorbereitung der dieser Arbeit zugrunde liegenden Studie bei IPF-Patienten wurde in einer bisher nicht veröffentlichten Pilot-Studie zur Dosisermittlung und Pharmakokinetik von inhalativem Heparin bei 19 gesunden Probanden unfraktioniertes Heparin mit einem Ultraschallvernebler (OPTINEB® der Firma Nebu-Tec Elsenfeld, Deutschland) appliziert. Diese Studie wurde am Zentrum für Innere Medizin, Medizinische Klinik II (Direktor: Prof. Dr. Werner Seeger), der Justus-Liebig-Universität Gießen durchgeführt.

Zunächst wurde an fünf Probanden durch stufenweise Erhöhung der inhalierten Heparinmenge (beginnend mit 25.000 I. E.; erhöht um je 25.000 I. E.) die Schwellendosis ermittelt. Die Schwellendosis war definiert als diejenige Menge inhalativen Heparins, aus welcher ein eben messbarer Anstieg der partiellen Thromboplastinzeit (PTT) oder der Anti-Faktor-Xa-Aktivität im Blut resultiert. Bei allen fünf Probanden konnte eine Schwellendosis von 150.000 I. E. ermittelt werden.

Zur Ermittlung der Pharmakokinetik inhalativen Heparins in der Alveole wurde daraufhin den verbleibenden Probanden einmalig die zuvor ermittelte Schwellendosis inhalativ verabreicht. Anschließend erfolgten mehrere, zeitlich versetzte Blutentnahmen sowie die Durchführung von bronchoalveolären Lavagen (BAL) vor ($n = 5$) sowie 24 ($n = 4$), 48 ($n = 4$), 72 ($n = 4$) und 96 Stunden ($n = 2$) nach der Inhalation, mit Bestimmung von PTT und Anti-Faktor-Xa-Aktivität.

In der BAL-Flüssigkeit zeigte sich die größte Verlängerung der PTT nach 24 Stunden (im Median 193,2 Sekunden). Vor der Inhalation betrug die PTT 36,5 Sekunden. Ein Effekt auf die PTT ließ sich sogar noch bis 72 Stunden nach der Heparininhalation nachweisen (siehe Abb. 1.4).

Im Weiteren wurde demonstriert, dass die Elimination inhalativen Heparins aus dem alveolären Kompartiment einer Kinetik erster Ordnung folgt und somit ein offenes „Ein-Kompartiment-Modell“ am besten den ermittelten Daten entspricht. Die Halbwertszeit inhalativen Heparins in der Alveole wurde bestimmt (= 28 Stunden) und die Heparindosis ermittelt, die zweimal täglich inhaliert werden muss, um eine „steady state“ antikoagulatorische Aktivität zu erhalten, welche in etwa der antikoagulatorischen Aktivität unmittelbar nach Inhalation der Schwellendosis entspricht. Die zweimal tägliche Applikation eines Viertels der Schwellendosis erfüllt diese Kriterien.

**Abb. 1.4:**

Verlauf der PTT in der BAL-Flüssigkeit nach Inhalation von 150.000 I. E. unfraktioniertem Heparin ($n = 19$). Dargestellt sind der Median, die jeweiligen Quartilspunkte 1 und 3 und extremsten Abweichungen.

* = $p < 0,05$

** = $p < 0,01$

1.6 Fragestellung

Zum gegenwärtigen Zeitpunkt gibt es keine etablierten und effektiven medikamentösen Therapien für Patienten mit einer IPF. Neue therapeutische Ansätze sind daher dringend erforderlich. Vor dem Hintergrund der ausgeprägten Veränderung des alveolären Gerinnungssystems bei IPF-Patienten und den vielversprechenden tierexperimentellen Studien mit antikoagulatorischen Substanzen wurde auf der Basis der pharmakokinetischen Untersuchung bei gesunden Probanden in der vorliegenden Arbeit in einer offenen, exploratorischen, klinischen Pilotstudie die Sicherheit und Verträglichkeit von inhalativem Heparin bei 20 IPF-Patienten überprüft.

Folgende Fragen wurden im Detail untersucht:

- Lässt sich für alle IPF-Patienten eine Schwellendosis des inhalierten Heparins ermitteln? Wie hoch ist die ermittelte Schwellendosis?
- Wie wirkt sich die Inhalation der Schwellendosis akut auf verschiedene Lungenfunktionsparameter, den Gasaustausch und die körperliche Belastbarkeit aus?

- Wie sicher und verträglich ist eine chronische Heparininhalation über die Dauer von 28 Tagen?
- Wie wirkt sich diese chronische Inhalation auf den Verlauf von Lungenfunktionsparametern, den Gasaustausch, die körperliche Belastbarkeit und den subjektiv empfundenen Gesundheitszustand (Quality of Life) aus?

KAPITEL 2

Materialien und Methoden

2.1 Materialien und Geräte

- | | |
|--|--|
| ⇒ Unfraktioniertes Heparin (Heparin-Natrium-25.000-ratiopharm [®] Injektionslösung,
<i>Wirkstoff:</i> Heparin-Natrium 25.000 I. E./5 ml;
5 Durchstechflaschen (N1), á 5 ml (= 5000 I.E.)) | Ratiopharm GmbH, Ulm |
| ⇒ AKITA [®] Inhalationssystem | Activaero, Gemünden |
| ⇒ Lungenfunktionsgerät MasterLab-body | Erich JAEGER GmbH & Co. KG,
Würzburg |
| ⇒ Pulsoxymeter Mallinckrodt N-20E | Nellcor Puritan Bennett inc., USA |
| ⇒ Blutdruckmessgerät | S+K Welch Allyn, Irland |
| ⇒ EKG-Gerät MAC 1200 ST (12-Kanal) | GE Medical Systems Information
Technologies |
| ⇒ Bronchoskopie-Ausstattung und Geräte
für BAL-Flüssigkeitsaufbereitung (u. a.
Endoskop Optik Olympus BF Type P 20) | Olympus Optical GmbH,
Hamburg (u. a.) |
| ⇒ Röntgengerät Siemens RD 53301
(Anlage Nr.: MSZ 4050) | Siemens AG Medical Solution,
Berlin und München |

2.2 Patienten und Methoden

2.2.1 Patientenkollektiv

Alle an der Studie teilnehmenden Patienten wurden in der Ambulanz für fibrosierende Lungenerkrankungen des Zentrums für Innere Medizin, Medizinische Klinik II (Direktor: Prof. Dr. Werner Seeger), der Justus-Liebig-Universität Gießen zwischen August 2004 und Mai 2005 rekrutiert. Die Giessener Ethikkommission genehmigte vorab das Studienprotokoll, welchem am 20.06.2004 die Freigabe erteilt wurde. Alle formalen Gesetzesvorlagen wurden nach den Richtlinien der Helsinki-Erklärung (1964) (und deren revidierten Versionen von Tokyo (1975), Venedig (1983), Hong Kong (1989), Somerset West (1996), Edinburgh (2000) und Washington (2002)) sowie nach den Regeln der ICH/GCP (International Conference on Harmonization, Good Clinical Practice) eingehalten. Die Einwilligung der Patienten wurde in allen Fällen schriftlich eingeholt. Zuvor erfolgte in mündlicher und schriftlicher Form eine Aufklärung des Patienten über Ziel und Methode der Studie sowie über den erhofften Effekt bzw. Benefit und mögliche Gesundheitsrisiken des zum Einsatz kommenden Medikamentes. Außerdem ist der Patient darüber in Kenntnis gesetzt worden, dass die Teilnahme an der Studie zu jeder Zeit und unbegründet vom Patienten widerrufen werden kann, ohne einen Nachteil in der weiterführenden ärztlichen Betreuung befürchten zu müssen. Die Dokumentation des Studienverlaufs eines jeden Patienten erfolgte in einem separat für diesen angelegten Protokollbuch (CRF).

Bei einer bereits vorbehandelten IPF wurde die Einnahme von Medikamenten, insbesondere von Steroiden und Immunsuppressiva wie z.B. Azathioprin oder Cyclophosphamid, beibehalten. Patienten, welche mit Antikoagulantien vorbehandelt wurden, wurden von der Studie ausgeschlossen.

Die Einschluss- und Ausschlusskriterien, welche bereits vor Studienbeginn festgelegt wurden, werden im nachfolgenden Abschnitt dargestellt.

2.2.1.1 Einschlusskriterien

- ü Diagnose der idiopathisch pulmonalen Fibrose gemäß der Übereinstimmungskriterien der American Thoracic Society/European Respiratory Society [7]
- ü Alter zwischen dem 18. und 70. Lebensjahr
- ü Durchführung einer körperlichen Untersuchung

- ü Körpergewicht von > 40 kg
- ü Forcierte Vitalkapazität (FVC) > 40 und < 90 % predicted
- ü Diffusionskapazität der Lunge für CO (DL_{CO}) > 30 und < 75 % predicted
- ü Kapillärer Sauerstoffpartialdruck > 55 mmHg (ohne oder mit kontinuierlicher Sauerstoffapplikation mittels Sauerstoffgerät)
- ü Schriftliche Einverständniserklärung des Patienten und Bestätigung über Aufklärung bezüglich der Studie
- ü Einhaltung der Forderungen der Ethikkommission

2.2.1.2 Ausschlusskriterien

- ü Hämoptyse unklaren Ursprungs
- ü In der Vergangenheit aufgetretene relevante Blutungen mit Hämoglobinabfall > 10 %
- ü Früheres Vorhandensein von Heparin-induzierten Antikörpern
- ü Operative Eingriffe innerhalb der letzten sechs Wochen
- ü Gegenwärtig ein Magen- oder Duodenalgeschwür oder eine entzündliche Darmerkrankung
- ü Ösophagusvarizen jeglicher Größe
- ü Gegenwärtig Kolonadenome mit in der Vergangenheit aufgetretenen intestinalen Blutungen mit Hämoglobinreduktion > 10 %
- ü Gegenwärtig ein Infekt des Respirationstraktes mit einem CRP Anstieg > 10 mg/l
- ü Verdacht auf oder nachgewiesene aktive Malignome, vor allem Bronchial-Karzinom
- ü Bedarf einer systemischen Antikoagulation mit einem INR von > 1,5
- ü Behandlungen mit anderen experimentell eingesetzten Arzneimitteln
- ü Akutes oder chronisches Linksherzversagen
- ü Starke arterielle Hypertonie (> 200 mmHG [systolisch] oder > 120 mmHg [diastolisch])
- ü Angeborene oder erworbene Gerinnungsstörung, z.B. Defekte der Gerinnungsfaktoren F VIII (Hämophilie A), F XII, F XIII oder eine verminderte Bildung von Gerinnungsfaktoren aufgrund akuter oder chronischer Lebererkrankung, gefolgt von anhaltenden Blutungen oder einem INR-Wert von > 1,5
- ü Verbrauchskoagulopathie (DIG)
- ü Verminderte Thrombozytenfunktion oder -anzahl (< 40.000/ μ l)
- ü Nachweis einer intrakraniellen Blutung

- ü Diabetische Retinopathie
- ü Ausgeprägte Leberinsuffizienz (Bilirubin > 10 mg/dl [170 µmol/l])
- ü Niereninsuffizienz mit Kreatinin-Werten > 3 mg/dl [262 µmol/l] oder eine Proteinurie > 1 g pro Tag
- ü Angeborene oder erworbene Immundefekte
- ü Vorausgegangene Bestrahlungstherapie der Lunge oder des Mediastinums
- ü Erhöhter intrakranieller Druck
- ü Schwangerschaft, Bruststillung oder das Fehlen einer sicheren Kontrazeption (hormonelle Kontrazeption, IUP, bilaterale Tubenligatur, Hysterektomie) bei Frauen, die sich in der prämenopausalen Phase befinden
- ü Patienten, welche aufgrund bestehender Vorerkrankungen die Studie mit großer Wahrscheinlichkeit nicht überleben würden
- ü Sichelzellanämie

2.2.2 Studiendesign

Im Folgenden wird der Ablauf der Studie erläutert. Die Studie setzte sich aus zwei aufeinander aufbauenden Phasen von unterschiedlicher zeitlicher Dauer zusammen:

Phase 1.: Ermittlung der Baseline-Parameter, Bestimmung der Schwellendosis und Beurteilung der akuten Effekte

Phase 2.: Chronische Behandlungsphase

2.2.2.1 Phase 1: Baseline, Schwellendosisermittlung und akute Effekte

Nach schriftlicher Einverständniserklärung für die Teilnahme an der Studie wurden am Tag der Baseline verschiedene Untersuchungen mit den Patienten durchgeführt. Zu diesen gehörten eine ausführliche Anamnese mit einer körperlichen Untersuchung (siehe 2.2.3.1) und ein 12-Kanal-Ruhe-EKG (siehe 2.2.3.2). Außerdem wurde ein Lungenfunktionstest (siehe 2.2.3.3), einschließlich der Bestimmung der DL_{CO} (siehe 2.2.3.3.1), und eine Blutgasanalyse (BGA) (siehe 2.2.3.4) durchgeführt. Als submaximaler Belastungstest wurde ein 6-Minuten-Gehtest durchgeführt. Die Erfassung einer möglicherweise auftretenden Atemnot während des Laufes erfolgte in Form der so genannten „Borg-Dyspnoe-Scale“

(siehe 2.2.3.5). Zu den weiteren Untersuchungen während der Baseline gehörten eine Röntgenaufnahme des Thorax (nativ, in zwei Ebenen) sowie eine Blutuntersuchung.

Die Blutuntersuchung am Tag der Baseline beinhaltete folgende Parameter:

- Ø **Hämatologie** (Hb, Hämatokrit, Thrombozyten, Erythrozyten, Leukozyten und Differentialblutbild)
- Ø **Klinische Chemie** (Glukose, CRP, gesamtes Bilirubin, Kreatinin, Harnstoff, ALT/GPT, AST/GOT, μ GT, alkalische Phosphatase, LDH, CK, Natrium, Kalium)
- Ø **Hämostaseologie** (PTT, TZ, TPZ (Quick), Fibrinogen, TAT, Anti-Faktor-Xa-Aktivität)
- Ø **Schwangerschaftstest bei Frauen** (falls erforderlich)
- Ø **Screening-Verfahren bezüglich Heparin-induzierter Antikörper**

Alle Blutuntersuchungen erfolgten im klinischen Zentrallabor des Fachbereichs Medizin der Justus-Liebig-Universität Gießen. Eine Ausnahme hiervon stellt das Screening-Verfahren bezüglich Heparin-induzierter Antikörper dar, welches in der Abteilung für Immunologie und Transfusionsmedizin, ebenfalls am Fachbereich Medizin der Justus-Liebig-Universität, durchgeführt wurde.

Der gegenwärtig vom Patienten empfundene Gesundheitsstatus wurde mittels eines Selbst-Einstufungsbogens (EQ-5D) und einer sogenannten visuellen Analogskala (VAS) erfasst (siehe 2.2.3.6). Die verschiedenen Untersuchungen im Rahmen der Baseline-Erhebung sind maximal sieben Tage vor dem Beginn der Schwellendosisermittlung durchgeführt worden.

Die Schwellendosisermittlung begann mit der Inhalation von 50.000 I.E. unfraktioniertem Heparin (Heparin-Natrium von Ratiopharm[®]) mit dem AKITA[®] Inhalationssystem. Bei Nichteintreten einer signifikanten Verlängerung der PTT und/oder einer Erhöhung der Anti-Faktor-Xa-Aktivität im Blut wurde die Inhalationsdosis wöchentlich um 10.000 I. E. (bis zu einer Maximal-Dosis von 120.000 I. E.) erhöht. Die Blutuntersuchung erfolgte unmittelbar sowie vier bzw. acht Stunden nach der Inhalation.

Zur Ermittlung der akuten Effekte einer Heparininhalation auf Lungenfunktion, Gasaustausch und Belastbarkeit wurden diese Parameter vor und 30 Minuten nach Inhalation der individuell ermittelten Schwellendosis bestimmt.

2.2.2.2 Phase 2: Chronische Behandlungsphase

Entsprechend der Voruntersuchungen zur Pharmakokinetik einer inhalativen Heparinapplikation bei gesunden Probanden wurde ein Viertel der individuell ermittelten Schwellendosis alle 12 Stunden (siehe Kapitel 1.5 - *Inhalative Applikation von unfraktioniertem Heparin bei gesunden Probanden*) über insgesamt 28 Tage (= d1 bis d28) inhaliert. Während der chronischen Behandlungsphase stellte sich der Patient am Tag 1, 7 (± 1 Tag), 14 (± 1 Tag), 21 (± 1 Tag) und am Tag 28 (± 2 Tage) in der Klinik zur Durchführung der im Folgenden beschriebenen Untersuchungen vor. An den ersten vier Vorstellungstagen erfolgte eine körperliche Untersuchung, eine Überprüfung der Vitalzeichen, ein Lungenfunktionstest (einschließlich der Bestimmung der DL_{CO} und einer BGA), der 6-Minuten-Gehtest und eine Blutuntersuchung (Hämatologie, klinische Chemie, Hämostaseologie und falls erforderlich bei Frauen ein Schwangerschaftstest). Am Tag 28 wurden alle Untersuchungen, welche am Tag der Baseline durchgeführt worden sind, erneut durchgeführt. Nach Beendigung der Studie wurde im Falle eines nachweisbaren Benefits dem Patienten eine Fortsetzung der Heparininhalation angeboten.

Die folgende Tabelle zeigt zusammenfassend den Verlauf der Studie mit den verschiedenen Untersuchungen.

Tabelle 2.1: Verlauf der Studie im Überblick

	Phase 1		Phase 2				
	Baseline	Schwellendosis- ermittlung (50.000 bis max. 120.000 I. E.)	d1	d7	d14	d21	d28
<i>Anamnese</i>	Ü						
<i>Körperliche Untersuchung</i>	Ü	Ü	Ü	Ü	Ü	Ü	Ü
<i>Vitalzeichen</i>	Ü	Ü	Ü	Ü	Ü	Ü	Ü
<i>Lungenfunktion (inkl. DL_{CO} & BGA)</i>	Ü	Ü	Ü	Ü	Ü	Ü	Ü
<i>6-Minuten- Gehtest & Borg- Dyspnoe-Scale</i>	Ü	Ü	Ü	Ü	Ü	Ü	Ü
<i>Hämatologie</i>	Ü	Ü	Ü	Ü	Ü	Ü	Ü
<i>Gerinnungstests</i>	Ü	Ü	Ü	Ü	Ü	Ü	Ü
<i>Biochemie</i>	Ü		Ü	Ü	Ü	Ü	Ü
<i>HIT Screening</i>	Ü						Ü
<i>Fibrosemarker</i>	Ü						Ü
<i>Röntgen Thorax (in 2 Ebenen)</i>	Ü						Ü
<i>12-Kanal-Ruhe- EKG</i>	Ü						Ü
<i>EQ-5D, VAS</i>	Ü						Ü

Ü = durchgeführt

BGA = Blutgasanalyse, d = Tag, DL_{CO} = Diffusionskapazität der Lunge für CO, EKG = Elektrokardiographie, EQ-5D = Selbst-Einstufungsbogen, HIT = Heparin-induzierte Thrombozytopenie, I. E. = Internationale Einheit, VAS = visuelle Analogskala

2.2.2.2.1 Sicherheitsendpunkte

Zur Beurteilung der Sicherheit der Heparininhalation während der chronischen Behandlungsphase wurden folgende Sicherheitsendpunkte definiert:

- Eine andererseits nicht erklärbare Verminderung der forcierten Vitalkapazität (FVC) von > 10 % und/oder eine Verminderung der Diffusionskapazität (DL_{CO}) ebenfalls von > als 10 % im Lungenfunktionstest
- Eine Verminderung der Gehstrecke im 6-Minuten-Gehtest von > 20 %
- Relevante Blutungen mit Abnahme des Hämoglobins von > 10 %
- Auftreten von Hämoptysen
- Auftreten von Heparin-induzierten Antikörpern oder einer Heparin-induzierten Thrombozytopenie
- Abweichung von Norm- bzw. Referenzwerten bei bestimmten Blutparametern

Im Gegensatz zum ursprünglichen Studienprotokoll, in welchem der Verlauf der genannten Parameter zwischen Baseline und Tag 28 (d28) beurteilt werden sollte, erfolgte in der endgültigen Auswertung ein Vergleich des Verlaufs der genannten Parameter während der eigentlichen Phase der chronischen Inhalation (d1 bis d28). Dies geschah im Wesentlichen aufgrund der individuell unterschiedlichen und teilweise recht langen Zeitintervalle zwischen Baseline und dem Beginn der chronischen Heparininhalation.

2.2.2.2.2 Ungünstige und schwerwiegend ungünstige Ereignisse

Neben den oben definierten Sicherheitsendpunkten wurden „ungünstige“ und „schwerwiegend ungünstige Ereignisse“ während der chronischen Heparininhalation erfasst.

Ungünstige Ereignisse. „Ungünstige Ereignisse“ wurden definiert als unerwünschte Vorkommnisse während des Verlaufs der Studie, unabhängig davon, ob sie auf das in der Studie verwendete Medikament zurückzuführen waren oder nicht. Beispiele solcher vom Patienten berichteten oder vom Untersucher aufgedeckten Ereignisse sind: Krankheitsgefühl, subjektive und/oder objektive Symptome, hinzugekommene Erkrankungen oder Unfälle. Die Beurteilung, in wie fern ein Ereignis im Zusammenhang mit dem inhalierten Heparin stand, erfolgte anhand einer 4-Stufen-Skala [134] und wird im Folgenden erläutert.

1. Kein Zusammenhang:

Es gibt eindeutig eine andere Begründung für das Auftreten des unerwünschten Ereignisses, welche nicht in einem Zusammenhang mit dem Heparin steht, z. B.

- das Ereignis erklärt sich aufgrund der Erkrankung(en) des Patienten oder
- ist eine Nebenwirkung eines anderen Medikamentes oder
- das Ereignis bestand schon vor der Verabreichung des Heparins.

2. Unwahrscheinlicher Zusammenhang:

Es könnte ein Zusammenhang zwischen dem unerwünschten Ereignis und der Inhalation des Heparins angenommen werden, aber es gibt ebenfalls eine plausible andere Erklärung für das Ereignis.

3. Wahrscheinlicher Zusammenhang:

Es könnte ein Zusammenhang zwischen dem unerwünschten Ereignis und der Inhalation des Heparins angenommen werden, da es plausible Gründe dafür gibt.

4. Definitiver Zusammenhang:

Besteht die Annahme eines Zusammenhangs mit der Inhalation des Heparins und gibt es keine andere Erklärung für das unerwünschte Ereignis, dann besteht ein definitiver Zusammenhang. Es muss aber auch sicher gestellt sein, dass bei Absetzen des Heparins eine Besserung und bei eventueller Wiederaufnahme der Inhalation ein Rückfall der Symptome mit hoher Wahrscheinlichkeit eintritt.

Schwerwiegend ungünstige Ereignisse. „Schwerwiegend ungünstige Ereignisse“ wurden definiert als unerwünschte Vorkommnisse, welche in einem stationären Krankenhausaufenthalt, einer Berufsunfähigkeit, einem lebensbedrohlichen oder gar tödlichen Ausgang resultierten.

2.2.3 Methoden

In den folgenden Unterpunkten sollen die wichtigsten Untersuchungsmethoden dieser Studie erläutert werden.

2.2.3.1 Körperliche Untersuchung

Die körperliche Untersuchung entsprach einer allgemeinen, medizinischen Untersuchung zur Erhebung von pathologischen Befunden. Diese schloss eine vollständige körperliche Inspektion, Palpation, Perkussion und Auskultation (inkl. Erfassung der Vitalzeichen) ein. Bei jeder Inspektion wurde der Patient auf gegenwärtig neu aufgetretene Blutungen bzw. Hämoptysen hin befragt.

2.2.3.2 Ruhe-EKG

Das 12-Kanal-Ruhe-EKG erfolgte (nach einer fünf-minütigen Ruhepause) im Liegen. Zu den EKG-Ableitungen gehörten die bipolare Extremitätenableitung nach Einthoven (I, II & III), die unipolare Extremitätenableitung nach Goldberger (aVL, aVR & aVF) und die Brustwandableitung nach Wilson (V₁ bis V₆). Dokumentiert wurden die Zeitintervalle von PQ, QRS und QT jeweils in Millisekunden und die Herzfrequenz pro Minute.

2.2.3.3 Messungen mit dem Lungenfunktionsgerät

Die Erfassung der Lungenfunktionswerte erfolgte in der Ambulanz für fibrosierende Lungenerkrankungen des Zentrums für Innere Medizin, Medizinische Klinik II (Direktor: Prof. Dr. Werner Seeger), der Justus-Liebig-Universität Gießen.

Mit dem Lungenfunktionsmessgerät vom Typ MasterLab-body lassen sich Standard-Messprogramme wie die Spirometrie und Programme zur Bestimmung des Fluss-Volumens aber auch Spezialuntersuchungen, wie die bodyplethysmographische Bestimmung des Atemwegswiderstandes und des intrathorakalen Gasvolumens, durchführen. Zusammen mit der Diffusionsmeseinheit sind die beiden wichtigsten Funktionsprüfungen (Atemmechanik und Lungendiffusion) in einem Gerät vereint.

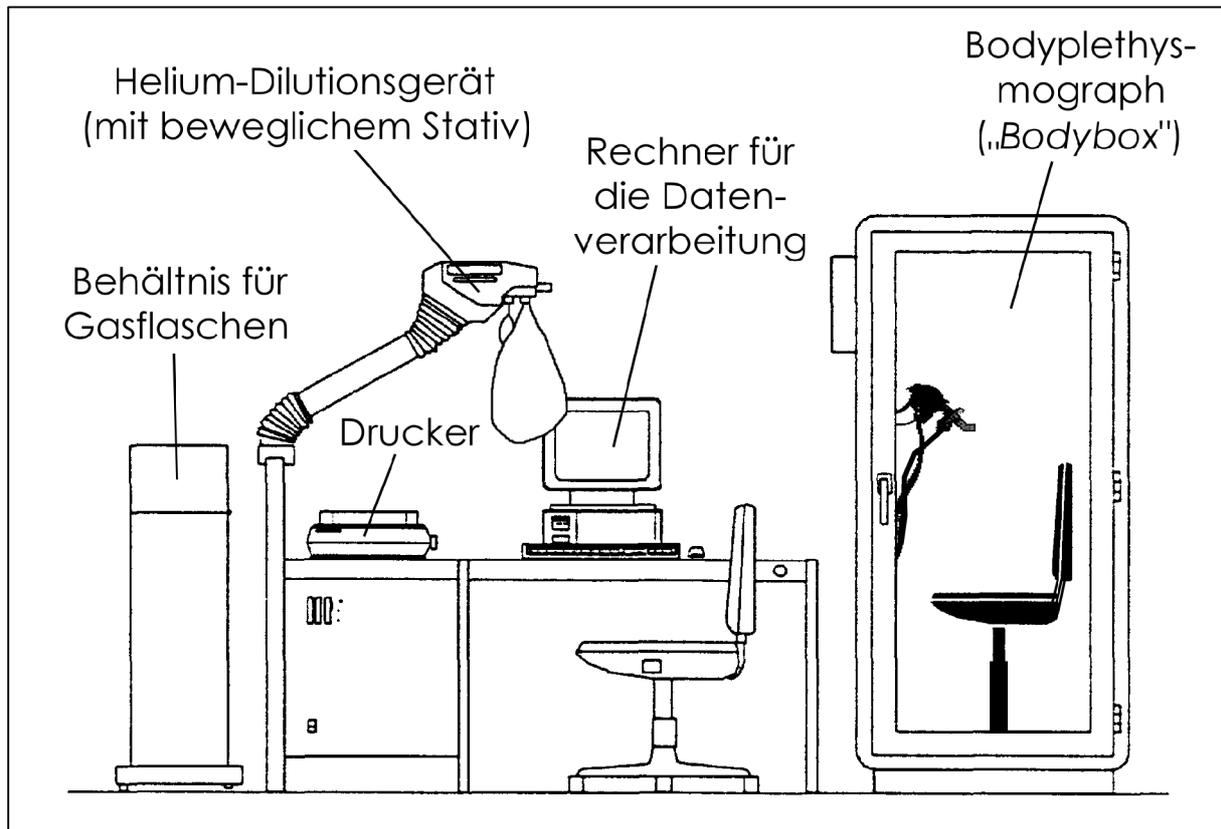


Abb. 2.1: Lungenfunktionsmessgerät vom Typ MasterLab-body (modifizierte Skizze aus dem Handbuch der Firma JAEGER)

Um das Lungenvolumen exakt zu bestimmen muss das Messaufnahmesystem vor Inbetriebnahme geeicht werden. Die Eichung findet unter ATP-Bedingungen (ambient temperature pressure), d.h. unter Umgebungsbedingungen (beinhaltet die aktuelle Temperatur, den aktuellen Luftdruck und die aktuelle Luftfeuchtigkeit), statt.

Während der Anwendung am Patienten tritt durch die Änderung von Temperatur und Luftfeuchtigkeit bei der Einatmung eine Volumenänderung auf. Diese Änderung wird durch eine Korrektur unter BTPS-Bedingungen (body temperature pressure saturated; d. h. 37 °C Lufttemperatur, aktueller Luftdruck und wasserdampfgesättigt) berücksichtigt. Die Umrechnung erfolgt automatisch von ATP in BTPS.

Für die vorliegende Dissertation wurden die in der folgenden Tabelle 2.2 aufgeführten Lungenfunktionsparameter (jeweils in Absolut- und Relativwerten) erhoben. Die ermittelten Werte beruhen auf offiziellen europäischen Referenzwerten [135].

Tabelle 2.2: Definition der Lungenfunktionsparameter

Parameter:	Messeinheit:	Definition:
R tot	[kPa*s/l]	Totaler Atemwegswiderstand
R IN	[kPa*s/l]	Inspiratorischer Atemwegswiderstand
R EX	[kPa*s/l]	Expiratorischer Atemwegswiderstand
FEV₁	[l]	Forciertes expiratorisches Volumen nach 1 Sekunde
FEV₁ % VC IN	[%]	FEV ₁ in % der inspiratorischen VC
PEF	[l/s]	Expiratorischer Spitzenfluss (peak flow)
MEF 75	[l/s]	Max. expiratorischer Fluss bei 75% der FVC
MEF 50	[l/s]	Max. expiratorischer Fluss bei 50% der FVC
MEF 25	[l/s]	Max. expiratorischer Fluss bei 25% der FVC
MMEF 75/25	[l/s]	Mittlerer, maximaler expiratorischer Fluss zwischen 25 und 75 %
ITGV	[l]	Intrathorakales Gasvolumen
RV	[l]	Residualvolumen
RV-He	[l]	Residualvolumen gemessen mit He-Gasgemisch
TLC	[l]	Totale Lungenkapazität
TLC-He	[l]	Totale Lungenkapazität gemessen mit He-Gasgemisch
RV % TLC	[%]	RV in % der TLC
VC	[l]	Vitalkapazität
FVC	[l]	Forcierte Vitalkapazität
TLCOc SB	[mmol/min/kPa]	Diffusionskapazität nach der <i>Single-Breath</i> -Methode
TLCOc VA.	[mmol/min/kPa/l]	Korrektur der TLCO in Bezug auf die alveoläre Ventilation, Hämoglobin-korrigiert
DCO SS	[mmol/min/kPa]	CO-Diffusionskapazität nach der <i>Steady-State</i> -Methode
DCOc SS	[mmol/min/kPa]	CO-Diffusionskapazität nach der <i>Steady-State</i> -Methode, Hämoglobin-korrigiert

2.2.3.3.1 Messmethoden der Diffusionskapazität der Lunge (DL_{CO})

Die Diffusionskapazität der Lunge (DL_{CO}) ist definiert als die CO-Gasmenge, welche pro Zeiteinheit und Partialdruckdifferenz zwischen Alveolarluft und pulmonalem Kapillarblut durch die alveolo-kapilläre Membran übertritt.

In der vorliegenden Studie wurde die Diffusionskapazität der Lunge für CO nach der Single-Breath-Methode (Ein-Atemzug-Methode) gemessen. Voraussetzung hierfür ist eine Vitalkapazität von größer 1,8 Litern. Betrug der Wert der Vitalkapazität weniger als 1,8 Liter, so wurde die Steady-State-Methode (Mehr-Atemzug-Methode) angewendet.

2.2.3.4 Kapilläre Blutgasanalyse (BGA)

Bei jedem Lungenfunktionstest wurde zusätzlich eine kapilläre Blutgasanalyse (BGA) durchgeführt. Auf diese Weise wurde der pO_2 , die O_2 -Sättigung, der pCO_2 , der Hämoglobin-Wert, der pH und die Basenabweichung (jeweils in Ruhelage) ermittelt.

2.2.3.5 Der 6-Minuten-Gehtest und die Borg-Dyspnoe-Scale

Um die körperliche Belastbarkeit zu objektivieren wurde ein 6-Minuten-Gehtest durchgeführt. Der 6-Minuten-Gehtest ist ein Belastungstest, welcher Aktivitäten des täglichen Lebens widerspiegelt. Er ist einfach durchzuführen, sicher, reproduzierbar und kostengünstig und eine aussagekräftige Methode zur Abschätzung und Verlaufskontrolle der submaximalen Belastbarkeit [136].

Nach Beendigung der sechs Minuten wird die zurückgelegte Gehstrecke gemessen und die eventuell vorhandene Atemnot auf der Borg-Dyspnoe-Scale durch eine Selbsteinschätzung des Patienten eingestuft. Erhielt der Patient für seinen Gehtest bei der Baseline Sauerstoff, so wurden die weiteren Untersuchungen unter selbiger Bedingung durchgeführt.

Die Borg-Dyspnoe-Scale ist wie folgt gestaffelt [137]:

0	=	keine Atemnot
0,5	=	sehr, sehr leichte Atemnot (gerade wahrnehmbar)
1	=	sehr leichte Atemnot
2	=	leichte (schwache) Atemnot
3	=	mäßige Atemnot
4	=	etwas schwere Atemnot
5	=	schwere Atemnot
6	*	
7	=	sehr schwere Atemnot
8	*	
9	=	sehr, sehr schwere Atemnot (beinahe maximal)
10	=	maximale Atemnot

(* Die Punkte 6 und 8 haben gemäß der Borg-Dyspnoe-Scale keine nähere Beschreibung.)

Vor und nach dem Lauf erfolgte mit einem Pulsoxymeter eine Messung der O₂-Sättigung und des Pulses. Der systolische und diastolische Blutdruck wurde ebenfalls vor und nach dem Lauf mit einer manuellen Blutdruckmanschette bzw. einem Stethoskop (immer am selben Oberarm) erfasst. Die Messung vor dem Lauf erfolgte nach einer fünf-minütigen Ruhepause im Sitzen. Unmittelbar nach dem Lauf wurde eine zweite Messung durchgeführt.

2.2.3.6 EQ-5D und VAS

Mit Hilfe des EQ-5D (EuroQol-5-Dimension) lässt sich der gegenwärtig vom Patienten subjektiv empfundene Gesundheitszustand messen. Der Bogen, entworfen von der EuroQol-Group, umfasst fünf verschiedene Dimensionen, zu denen es jeweils drei Aussagen (1 = keine Probleme, 2 = einige Probleme, 3 = viele Probleme; siehe Abb. 2.2) gibt. Der Patient darf pro Dimension nur eine, auf ihn am besten zutreffende Aussagemöglichkeit auswählen. Nach Ausfüllen des Bogens ergibt sich ein Code (entsprechend des individuellen Gesundheitsstatus des Patienten) bestehend aus fünf Zahlen. Abbildung 2.2 verdeutlicht die Ermittlung des Codes durch ein Beispiel. Dieser Code wird anschließend in einen populationsgewichteten Gesundheitsindex (evaluiert an der deutschen Population) überführt (siehe KAPITEL 7 - Anhang: Tabelle 7.1 und 7.2) [138].

Der Code *IIIII* bildet hierbei den besten Gesundheitsstatus ab. Dies entspricht einem Index-Wert von 1,000.

Die VAS (visuelle Analogskala) ist eine vertikale Skala mit Einteilungen von 0 bis 100 (siehe Abb. 2.3). Der Patient soll hierbei seinen gegenwärtigen Gesundheitszustand auf der Skala bestmöglich einordnen. Die Ziffer 0 bezeichnet dabei den schlechtesten und 100 den bestmöglichen Zustand.

Der Selbst-Einstufungsbogen EQ-5D und die VAS wurden am Tag der Baseline und am Tag 28 (d28) sowie bei einem vorzeitigen Abbruch von dem Patienten ausgefüllt.

Selbst-Einstufungsbogen EQ-5D	
Bitte geben Sie an, welche Aussagen Ihren heutigen Gesundheitszustand am besten beschreiben. Bitte nur ein Kästchen in jeder Gruppe abhaken (<input checked="" type="checkbox"/>)	
Beweglichkeit	
Ich habe keine Probleme beim Laufen.	<input type="checkbox"/> (1)
Ich habe Probleme beim Laufen.	<input checked="" type="checkbox"/> (2)
Ich bin bettlägerig.	<input type="checkbox"/> (3)
Selbstversorgung	
Ich habe keine Probleme, mich selbst zu versorgen.	<input checked="" type="checkbox"/> (1)
Ich habe Probleme bei der Körperpflege und beim Ankleiden.	<input type="checkbox"/> (2)
Ich bin nicht in der Lage, mich selbst zu waschen oder anzuziehen.	<input type="checkbox"/> (3)
Gewohnte Aktivitäten (Arbeit, Studium, Hausarbeit, Familie oder Freizeit)	
Ich habe keine Probleme bei meinen normalen Aktivitäten.	<input type="checkbox"/> (1)
Ich habe Probleme bei meinen normalen Aktivitäten.	<input checked="" type="checkbox"/> (2)
Ich bin nicht in der Lage, meinen normalen Aktivitäten nachzugehen.	<input type="checkbox"/> (3)
Schmerzen/Unbehagen	
Ich habe keine Schmerzen/kein Unbehagen.	<input type="checkbox"/> (1)
Ich habe mäßige Schmerzen/mäßiges Unbehagen.	<input type="checkbox"/> (2)
Ich habe starke Schmerzen/starkes Unbehagen.	<input checked="" type="checkbox"/> (3)
Angst/Depression	
Ich bin nicht ängstlich/nicht niedergeschlagen.	<input type="checkbox"/> (1)
Ich bin etwas ängstlich/etwas niedergeschlagen.	<input checked="" type="checkbox"/> (2)
Ich bin sehr ängstlich/sehr niedergeschlagen.	<input type="checkbox"/> (3)

Abb. 2.2: EQ-5D Selbst-Einstufungsbogen mit ausgewähltem Beispiel (Der Zahlen-Code in diesem Beispiel lautet: 21232; dies entspricht dem Index-Wert von 0,262)

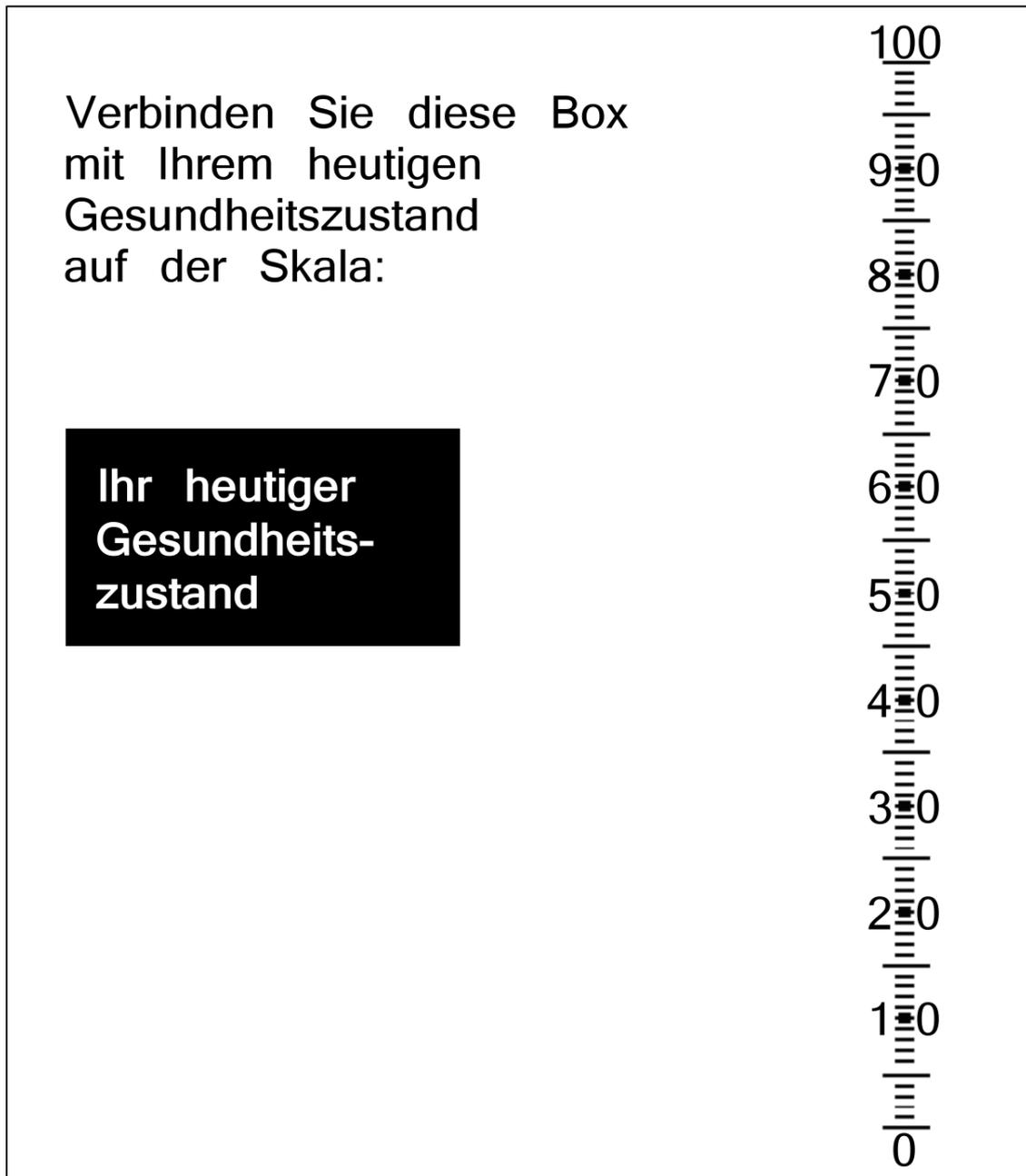


Abb. 2.3: European Quality of Life Dimension Visual Analogue Scale (EQ-5D VAS)

2.2.3.7 Anwendung des Inhalationsgerätes

Für die Heparinapplikation bei den Studienpatienten wurde das kürzlich entwickelte AKITA[®] Inhalationssystem (= Anlage zur kontrollierten Inhalation therapeutischer Aerosole) verwendet, ein Verneblungssystem, welches für alle verfügbaren flüssigen Inhalationsmedikamente zugelassen ist. Es besteht aus der Kompressor-Einheit, einem Düsenvernebler mit Mundstück, zwei Schläuchen (Verneblerschlauch und

„Hilfsluft“-Schlauch) und der *Smart Card* (Siehe Abb. 2.4). Das System darf nur bei wachen, kooperativen Patienten und grundsätzlich erst ab dem 3. Lebensjahr angewendet werden.

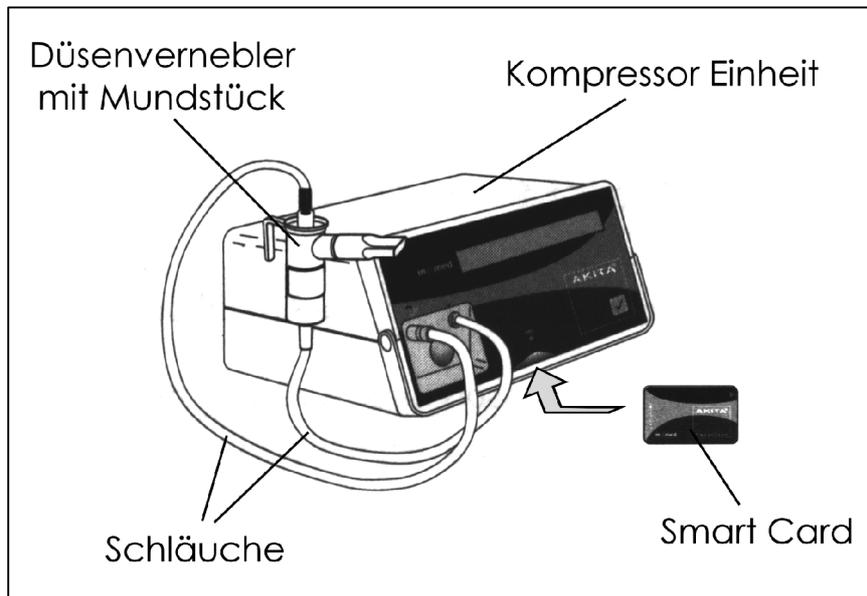


Abb. 2.4:
AKITA[®]
Inhalationssystem
(modifizierte Skizze aus
dem Handbuch der Firma
Activaero, Gemünden)

Mit einer so genannten *Smart Card* wird das Inhalationsvolumen bzw. die Inspirationszeit pro Atemzug individuell eingestellt. Die Inhalation erfolgt patientengetriggert. Ein wesentlicher Vorteil des AKITA[®] Inhalationssystems ist eine signifikant erhöhte intrathorakale und peripher-pulmonale Deposition des zu vernebelnden Medikamentes, welche vor allem durch eine Limitierung des Inhalationsflusses erreicht wird [139,140, 141].

Die Auswahl der richtigen *Smart Card* (siehe Tabelle 2.3) erfolgt auf Basis eines zuvor durchgeführten Lungenfunktionstests. Hierbei muss die Inspirationskapazität des Patienten ermittelt werden. Sie wird aus der Vitalkapazität abzüglich des Wertes des expiratorischen Reservevolumens berechnet.

Tabelle 2.3: Individuelle Auswahl der Smart Card

Inspirationskapazität [in Litern] des Patienten:	Inhalationsvolumen [in Litern] auf der Smart Card:	Inspirationszeit pro Atemzug [in Sekunden]:
< 0,72	0,5	2,5
0,72 – 0,86	0,6	3,0
0,86 – 1,00	0,7	3,5
1,00 – 1,16	0,8	4,0
1,16 – 1,33	0,9	4,5
1,33 – 1,52	1,0	5,0
1,52 – 1,75	1,1	5,5
1,75 – 2,01	1,2	6,0
2,01 – 2,32	1,3	6,5
2,32 – 2,71	1,4	7,0
> 2,71	1,5	7,5

2.3 Angaben zur Statistik

Das Zusammentragen der Rohdaten und deren Berechnungen erfolgte mit den Computerprogrammen Microsoft® Excel 2003 und SPSS für Windows (Version 11.5.1). Die grafischen Darstellungen wurden mit dem Programm PhotoImpact (Version 5.0) erstellt. Aufgrund der für die meisten Parameter nicht gegebenen Normalverteilung wurden die Daten als Median (x_{med}) und deren Quartilspunkte 1 und 3 aufgeführt. Als Testverfahren zur weiteren Berechnung wurde der verteilungsunabhängige Vorzeichentest durchgeführt.

KAPITEL 3

Ergebnisse

3.1 Daten der Baseline, Schwellendosisermittlung und akute Effekte

3.1.1 Basisdaten des Patientenkollektivs

Insgesamt wurden 20 IPF-Patienten (davon neun Frauen und elf Männer) in die Studie eingeschlossen. Alle 20 Patienten sind kaukasischen Ursprungs. Tabelle 3.1 fasst die wichtigsten demographischen und klinischen Merkmale der Patientengruppe zusammen.

Tabelle 3.1: Demographische und klinische Baseline-Merkmale

Patientendaten		
Anzahl der IPF-Patienten (<i>n</i>)		20 (♀ = 9, ♂ = 11)
Alter (in Jahren) in x_{med} (1. bis 3. Quartil)		63 (55 – 69)
Raucher-Status	Nicht-Raucher (<i>n</i>)	8 (= 40 %)
	Ehemals Raucher (<i>n</i>)	10 (= 50 %)
	Aktuell Raucher (<i>n</i>)	2 (= 10 %)
Medizinischer Status		
Zeitlicher Abstand zwischen Erstdiagnose und Studienbeginn (in Monaten) in x_{med} (1. bis 3. Quartil)		9,5 (3,5 – 30,0)
Diagnosesicherung durch offene Lungenbiopsie (<i>n</i>)		12 (= 60 %, alle mit UIP-Muster)
Relevante gleichzeitige Einnahme von Medikamenten		
Prednison (<i>n</i>)		10 (=50 %)
Andere Immunsuppressiva (<i>n</i>)		8 (= 40 %)
Nasale Sauerstoffapplikation (<i>n</i>)		3 (= 15 %)
Körperliche Belastbarkeit		
6-Minuten-Gehtest (in Metern) in x_{med} (1. bis 3. Quartil)		417 (305 – 495)
Lungenfunktionstest, kapilläre Blutgasanalyse und Pulsoxymetrie		
TLC (in % predicted) in x_{med} (1. bis 3. Quartil)		66,4 (53,3 – 85,1)
FVC (in % predicted) in x_{med} (1. bis 3. Quartil)		58,6 (43,7 – 79,6)
DL _{CO} (in % predicted) in x_{med} (1. bis 3. Quartil)		45,7 (32,5 – 53,8)
Kapillärer pO ₂ (in mmHg) in x_{med} (1. bis 3. Quartil)		70,0 (63,3 – 84,7)
O ₂ -Sättigung (in %) in x_{med} (1. bis 3. Quartil)		94,3 (91,7 – 96,7)

DL_{CO} = Diffusionskapazität der Lunge für CO, FVC = Forcierte Vitalkapazität, mmHg = Millimeter Quecksilbersäule, n = Anzahl der Patienten, O₂ = Sauerstoff, pO₂ = Sauerstoffpartialdruck, TLC = Totale Lungenkapazität, x_{med} = Median

3.1.2 Ergebnisse der Schwellendosisermittlung

Bei zwölf Patienten konnte eine Schwellendosis von 50.000 I. E. und bei sechs Patienten eine Schwellendosis von 60.000 I. E. für die Inhalation von Heparin ermittelt werden (siehe Abb. 3.1). Bei zwei Patienten konnte keine Schwellendosis ermittelt werden. Bei diesen Patienten wurde die Höchstdosis von 120.000 I. E. erreicht ohne eine signifikante Verlängerung der PTT oder eine Erhöhung der Anti-Faktor-Xa-Aktivität im Blut zu erzielen. Diese Patienten wurden nicht zur chronischen Behandlungsphase zugelassen.

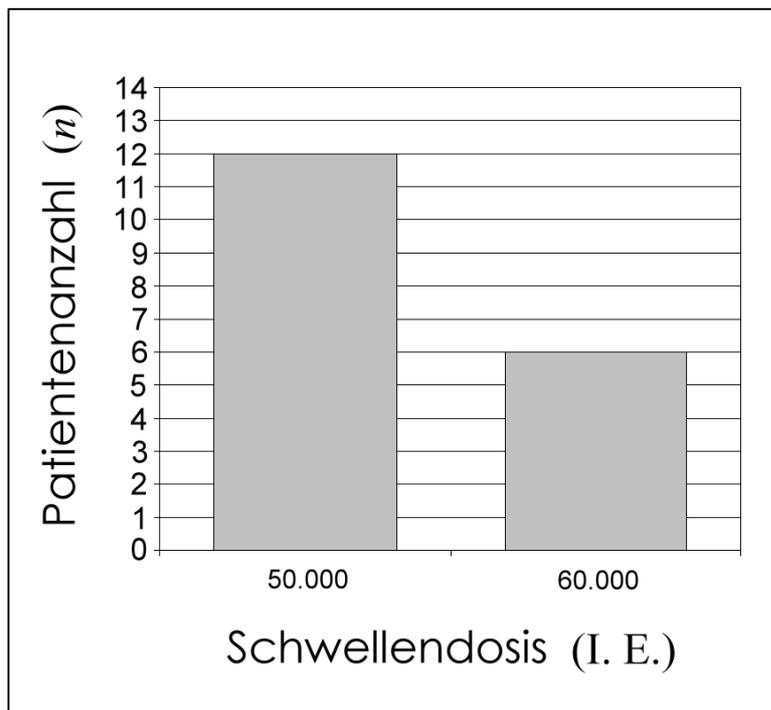


Abb. 3.1:
Ergebnisse der
Schwellendosisermittlung
($n = 18$)

Abbildung 3.2 zeigt die Veränderung der Anti-Faktor-Xa-Aktivität und der PTT am Tag der Schwellendosisermittlung ($n = 18$). Dargestellt sind die Median-Werte (x_{med}) mit den jeweiligen Quartilspunkten 1 und 3. Die Untersuchung erfolgte kurz vor der Inhalation sowie vier und acht Stunden nach der Inhalation des Heparins. Unter den drei Messungen wiesen die Anti-Faktor-Xa-Aktivität und die PTT ihren Höhepunkt nach vier Stunden auf. Zu diesem Zeitpunkt betrug der Median der Anti-Faktor-Xa-Aktivität 0,20 U/ml (1. bis 3. Quartil = 0,07 bis 0,43 U/ml), jener der PTT 33,0 Sekunden (1. bis 3. Quartil = 31,0 bis 46,0 Sekunden).

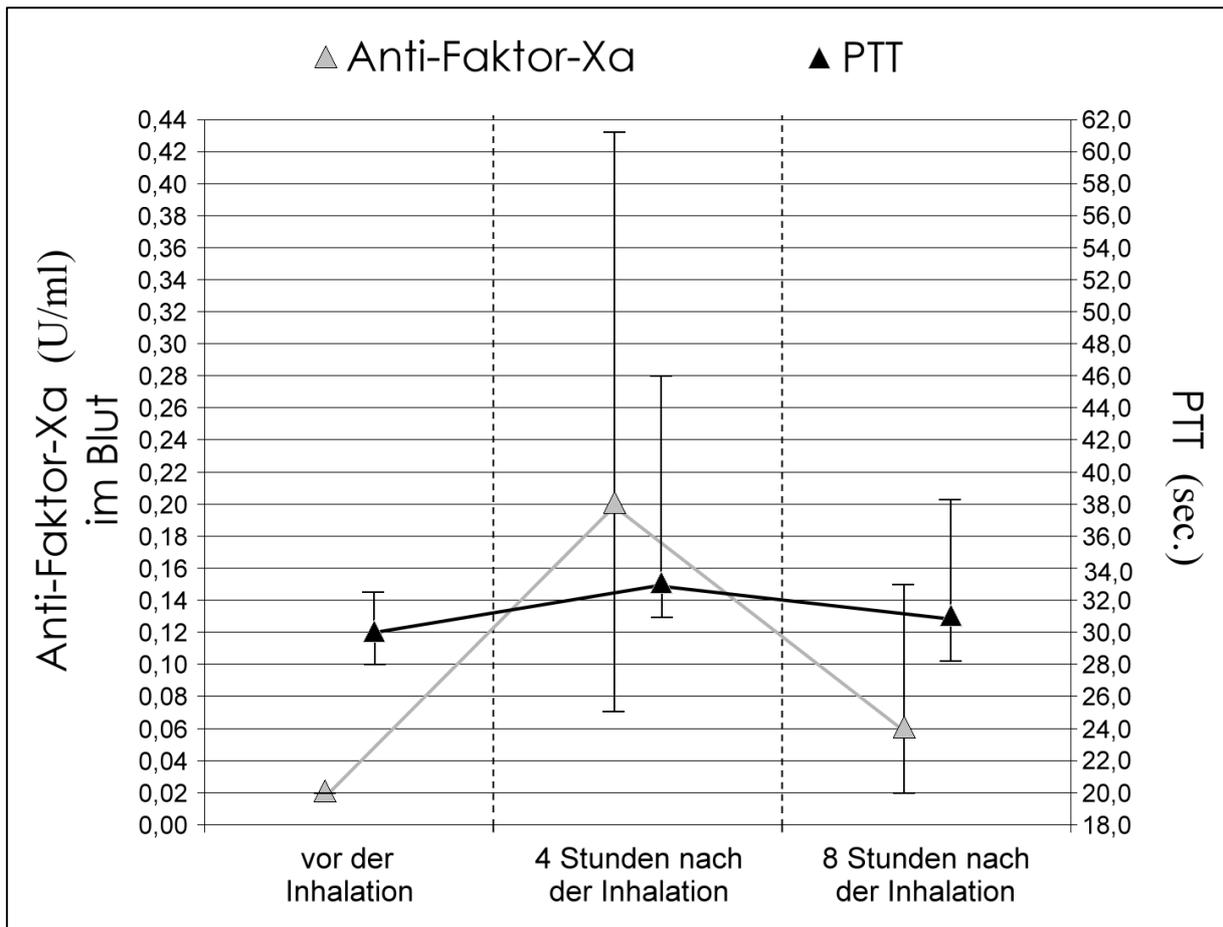


Abb. 3.2: Median-Werte mit den jeweiligen Quartilspunkten 1 und 3 der Anti-Faktor-Xa-Aktivität und der PTT im Blut am Tag der Schwellendosisermittlung ($n = 18$)

3.1.3 Akute Effekte der Heparininhalation

Zum Nachweis/Ausschluss möglicher akut nachteiliger Effekte der Heparininhalation auf Lungenfunktionswerte, Blutgasanalyse und Belastbarkeit wurden diese Parameter 30 Minuten nach Inhalation der Schwellendosis bestimmt und mit den Baseline-Werten verglichen (siehe Tabelle 3.2). Alle aufgeführten Parameter blieben unverändert. Es ergab sich somit kein Hinweis darauf, dass die Heparininhalation akut negative Effekte auf die genannten Parameter ausübt.

Tabelle 3.2: Akute Effekte der Heparininhalation nach Schwellendosisermittlung

	<i>n</i>	Baseline	30 Minuten nach Schwellendosisinhalation
TLC (in % predicted)	18	66,4 (53,3 – 85,1)	66,3 (51,0 – 93,1)
VC (in % predicted)	18	58,1 (46,1 – 76,0)	58,8 (46,6 – 76,7)
FVC (in % predicted)	18	58,6 (43,7 – 79,6)	58,4 (43,4 – 78,6)
FEV₁ (in % predicted)	18	60,5 (50,5 – 78,3)	64,8 (48,0 – 80,9)
RV (in % predicted)	18	83,9 (64,3 – 108,0)	87,7 (72,9 – 100,8)
DL_{CO} (in % predicted)	18	45,7 (32,5 – 53,8)	45,1 (31,0 – 53,8)
O₂-Sättigung (in %)	18	94,3 (91,7 – 96,7)	93,9 (91,5 – 95,8)
Kapillärer pO₂ (in mmHg)	18	70,0 (63,3 – 84,7)	69,8 (61,8 – 81,3)
6-Minuten-Gehtest (in Meter)	18	417 (305 – 495)	418 (298 – 500)
O₂-Sättigung nach 6-Minuten-Gehtest (in %)	18	85,5 (78,0 – 93,0)	86,5 (76,0 – 93,0)

Dargestellt sind der Median (mit den jeweiligen Quartilspunkten 1 und 3) von Lungenfunktionswerten, kapillären BGA-Werten und der Belastbarkeit (6-Minuten-Gehtest) im Patientenkollektiv (30 Minuten nach Schwellendosisinhalation vs. Baseline).

DL_{CO} = Diffusionskapazität der Lunge für CO, **FEV₁** = Forciertes endexpiratorisches Volumen, **FVC** = Forcierte Vitalkapazität, **n** = Anzahl der Patienten, **O₂** = Sauerstoff, **pO₂** = Sauerstoffpartialdruck, **RV** = Residualvolumen, **TLC** = Totale Lungenkapazität, **VC** = Vitalkapazität

3.2 Ergebnisse der chronischen Behandlungsphase

3.2.1 Auswertung der Sicherheitsendpunkte

Bei keinem der Patienten kam es während der 28-tägigen Beobachtungsperiode zu einer relevanten Blutung mit Abnahme des Hämoglobins von mehr als 10 % oder dem Auftreten von Hämoptysen. Ebenso konnten bei keinem Patienten Heparin-induzierte Antikörper bzw. eine Heparin-induzierte Thrombozytopenie nachgewiesen werden. Bei vier Patienten zeigte sich am Tag 28 (d 28) eine Abnahme der DL_{CO} um mehr als 10 %. Allerdings konnte bei zwei dieser Patienten, welche die Heparininhalation nach Beendigung der Studie auf Basis eines individuellen Heilversuches fortführten, eine Abnahme der DL_{CO} in Folgeuntersuchungen nicht reproduziert werden.

Bei zwei dieser vier Patienten konnte ebenfalls eine Abnahme der Gehstrecke des 6-Minuten-Gehtests um mehr als 20 % am Tag 28 festgestellt werden. Einer dieser beiden Patienten führte ebenfalls die Heparininhalation nach Beendigung der Studie fort, wobei sich eine Verbesserung der Gehstrecke auf das Ausgangsniveau in Folgeuntersuchungen zeigte.

Eine Verminderung der FVC um mehr als 10 % am Tag 28 konnte bei zwei Patienten festgestellt werden. Bei der Fortsetzung der Heparininhalation nach Beendigung der Studie konnte bei beiden Patienten keine weitere Abnahme der FVC verzeichnet werden.

3.2.2 Auftreten von ungünstigen und schwerwiegend ungünstigen Ereignissen

Bei drei Patienten kam es im Verlauf der Studie zu einem „ungünstigen Ereignis“. Einer dieser Patienten litt unter Kopfschmerzen und Myalgie, begleitet von einem leichten Anstieg der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT) und der Laktatdehydrogenase (LDH). Diese Symptomatik wurde auf einen viralen Infekt zurückgeführt. Ein Zusammenhang mit der in Studie angewendeten Heparininhalation wurde als „unwahrscheinlich“ eingestuft. Ein weiterer Patient entwickelte eine schwere Dyspnoe aufgrund eines Pneumothoraxes. Bei diesem Ereignis konnte davon ausgegangen werden, dass „kein Zusammenhang“ mit der Heparininhalation besteht. Der dritte Patient litt unter progressiver Dyspnoe ohne entsprechende Veränderungen des Lungenfunktionstests, 6-Minuten-Gehtests, der Röntgen-Thoraxaufnahme oder der Blutparameter. Ein Zusammenhang mit der in der Studie applizierten Medikation wurde auch hier als „unwahrscheinlich“ eingestuft.

Bei einem Patienten kam es am Tag 9 während der chronischen Behandlungsphase aufgrund eines schweren Atemwegsinfektes zu einem „schwerwiegend ungünstigen Ereignis“, was eine stationäre Behandlung erforderlich machte. Die Heparininhalation musste bei diesem Patienten für 5 Tage unterbrochen, konnte danach aber bis zum Tag 28 fortgesetzt werden. Tabelle 3.3 zeigt zusammenfassend alle „ungünstigen“ und „schwerwiegend ungünstigen Ereignisse“ während der chronischen Behandlungsphase.

Tabelle 3.3: Auftreten und Häufigkeit von „ungünstigen“ (1) und „schwerwiegend ungünstigen Ereignissen“ (2) während der chronischen Behandlungsphase

	Ereignis/Symptom	<i>n</i>
1	Virale Infektion mit Kopfschmerzen, Myalgie und Grippe-ähnlichen Symptomen	1 (= 5,6 %)
	Dyspnoe aufgrund eines Pneumothoraxes	1 (= 5,6 %)
	Dyspnoe ohne Veränderung des Lungenfunktionstests, 6-Minuten-Gehtests, der Röntgen-Thoraxaufnahmen oder der Blutparameter	1 (= 5,6 %)
2	Atemwegsinfektion	1 (= 5,6 %)

3.2.3 Verlauf von Lungenfunktion, kapillärer BGA, Belastungstest und Lebensqualität

3.2.3.1 Lungenfunktionstest, BGA und Belastbarkeit

Diese Studie war ursprünglich nicht als Wirksamkeitsstudie konzipiert. Dennoch wurden begleitend verschiedene Parameter während des Studienverlaufs verfolgt.

In Tabelle 3.4 werden Lungenfunktionswerte, kapilläre BGA-Werte und die körperliche Belastbarkeit (6-Minuten-Gehtest) vom Tag der Baseline, vom Tag 1 (d1) und vom Tag 28 (d28) der chronischen Behandlungsphase aufgeführt.

Alle aufgeführten Parameter blieben am Tag 28 (im Vergleich zum Tag der Baseline und Tag 1) weitestgehend unverändert. Die Lungenfunktionsparameter (TLC, VC, FVC, FEV₁, RV, DL_{CO}) zeigten im Median eine leichte Verringerung, während die Gehstrecke im

6-Minuten-Gehtest eine leichte Verbesserung aufwies. Keine dieser Veränderungen zeigte sich statistisch signifikant.

Tabelle 3.4: Veränderungen der Lungenfunktionswerte, kapillären BGA-Werte und Belastbarkeit (6-Minuten-Gehtest)

	n	Phase 1	Phase 2	
		Baseline	d1	d28
TLC (in % predicted)	18	66,4 (53,3 – 85,1)	62,5 (52,6 – 79,3)	59,7 (53,3 – 71,2)
VC (in % predicted)	18	58,1 (46,1 – 76,0)	56,9 (44,0 – 75,2)	53,7 (41,9 – 68,1)
FVC (in % predicted)	18	58,6 (43,7 – 79,6)	56,9 (43,7 – 75,0)	54,0 (43,2 – 65,0)
FEV₁ (in % predicted)	18	60,5 (50,5 – 78,3)	58,7 (46,0 – 81,2)	58,4 (49,8 – 70,3)
RV (in % predicted)	18	83,9 (64,3 – 108,0)	76,4 (66,0 – 98,6)	82,0 (70,1 – 96,4)
DL_{CO} (in % predicted)	18	45,7 (32,5 – 53,8)	44,2 (31,0 – 50,0)	39,1 (29,3 – 49,7)
O₂-Sättigung (in %)	18	94,3 (91,7 – 96,7)	94,6 (91,6 – 95,4)	94,6 (92,8 – 96,1)
Kapillärer pO₂ (in mmHg)	18	70,0 (63,3 – 84,7)	73,0 (62,7 – 79,3)	69,7 (65,0 – 82,4)
Kapillärer pCO₂ (in mmHg)	18	38,2 (36,4 – 40,6)	38,7 (36,8 – 39,4)	37,7 (35,5 – 39,6)
6-Minuten-Gehtest (in Metern)	18	417 (305 – 495)	453 (259 – 503)	473 (275 – 520)
O₂-Sättigung nach 6-Minuten-Gehtest (in %)	18	85,5 (78,0 – 93,0)	86,5 (81,0 – 90,0)	85,0 (78,0 – 89,0)

Dargestellt sind der Median (mit den jeweiligen Quartilspunkten 1 und 3) vom Tag der Baseline, d1 und d28. Die Tabelle schließt die Ergebnisse der vier Patienten mit „ungünstigen“ bzw. „schwerwiegend ungünstigen Ereignissen“ ein.

DL_{CO} = Diffusionskapazität der Lunge für CO, **FEV₁** = Forciertes endexpiratorisches Volumen, **FVC** = Forcierte Vitalkapazität, **n** = Anzahl der Patienten, **O₂** = Sauerstoff, **pCO₂** = Kohlendioxid-partialdruck, **pO₂** = Sauerstoffpartialdruck, **RV** = Residualvolumen, **TLC** = Totale Lungkapazität, **VC** = Vitalkapazität

Abbildung 3.3 zeigt den Verlauf von ausgewählten Lungenfunktionswerten. Abbildung 3.4 stellt den Verlauf der O₂-Sättigung in Ruhe, der O₂-Sättigung unmittelbar nach dem 6-Minuten-Gehtest und der erreichten Gehstrecke beim 6-Minuten-Gehtest dar. Der Verlauf des kapillären pO₂- und pCO₂-Wertes (jeweils in Ruhe) am Tag der Baseline sowie an den Vorstellungstagen während der chronischen Behandlungsphase ist in Abbildung 3.5 aufgeführt.

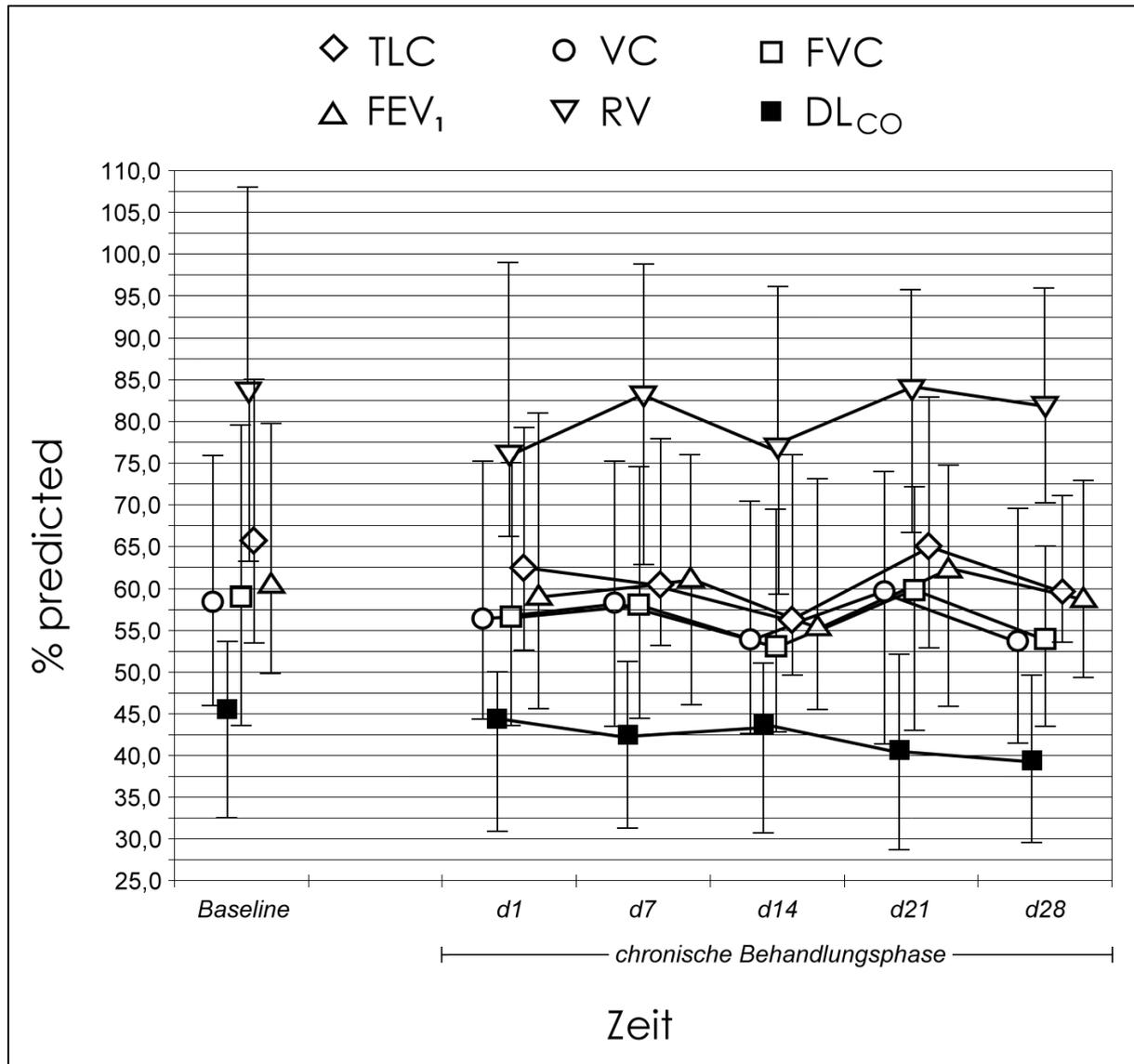


Abb. 3.3: Verlauf der Median-Werte mit den jeweiligen Quartilspunkten 1 und 3 der Lungenfunktionsparameter ($n = 18$)

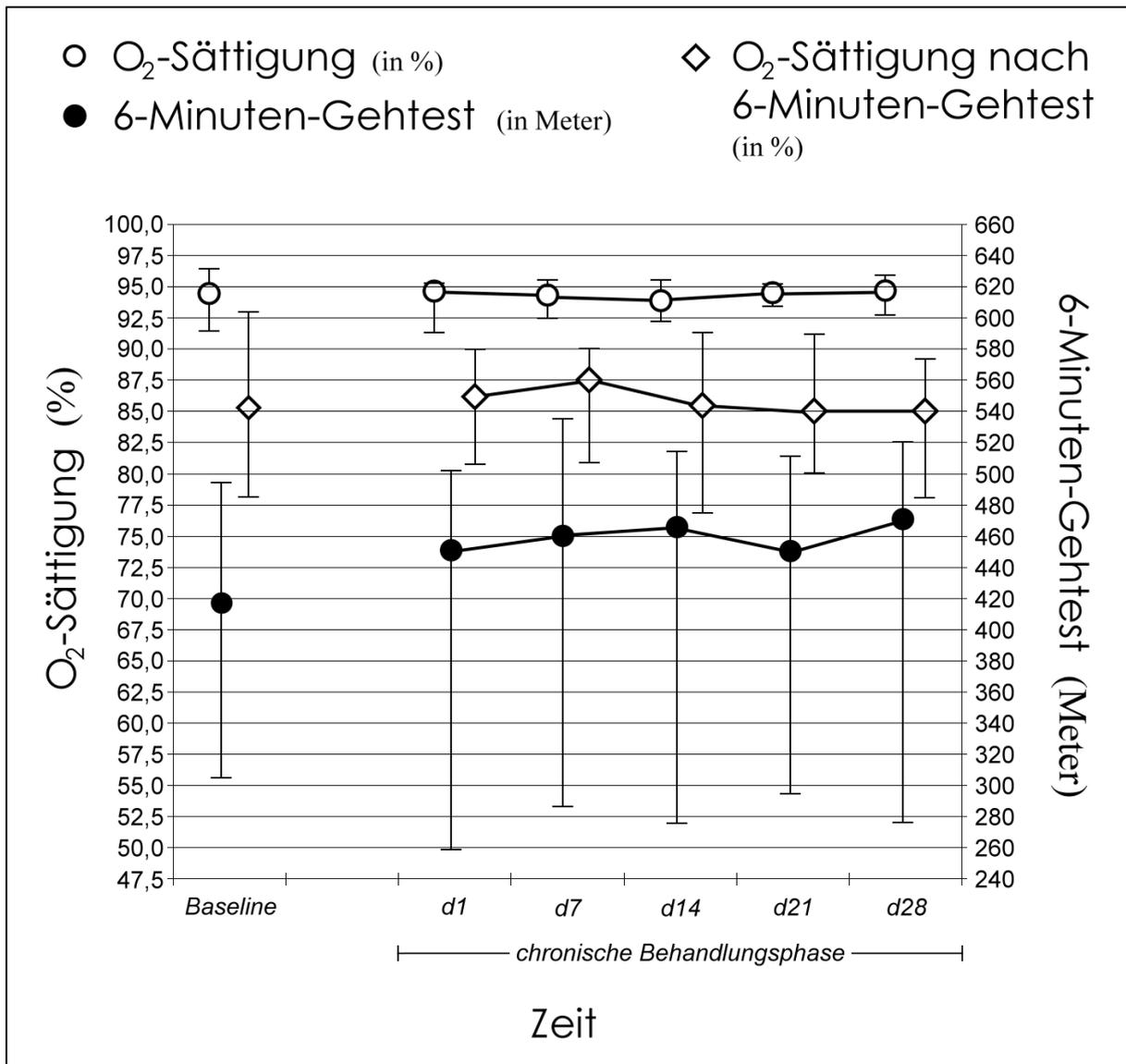


Abb. 3.4: Verlauf der Median-Werte mit den jeweiligen Quartilspunkten 1 und 3 der O₂-Sättigung in Ruhe, der O₂-Sättigung unmittelbar nach dem 6-Minuten-Gehtest und der erreichten Gehstrecke beim 6-Minuten-Gehtest ($n = 18$)

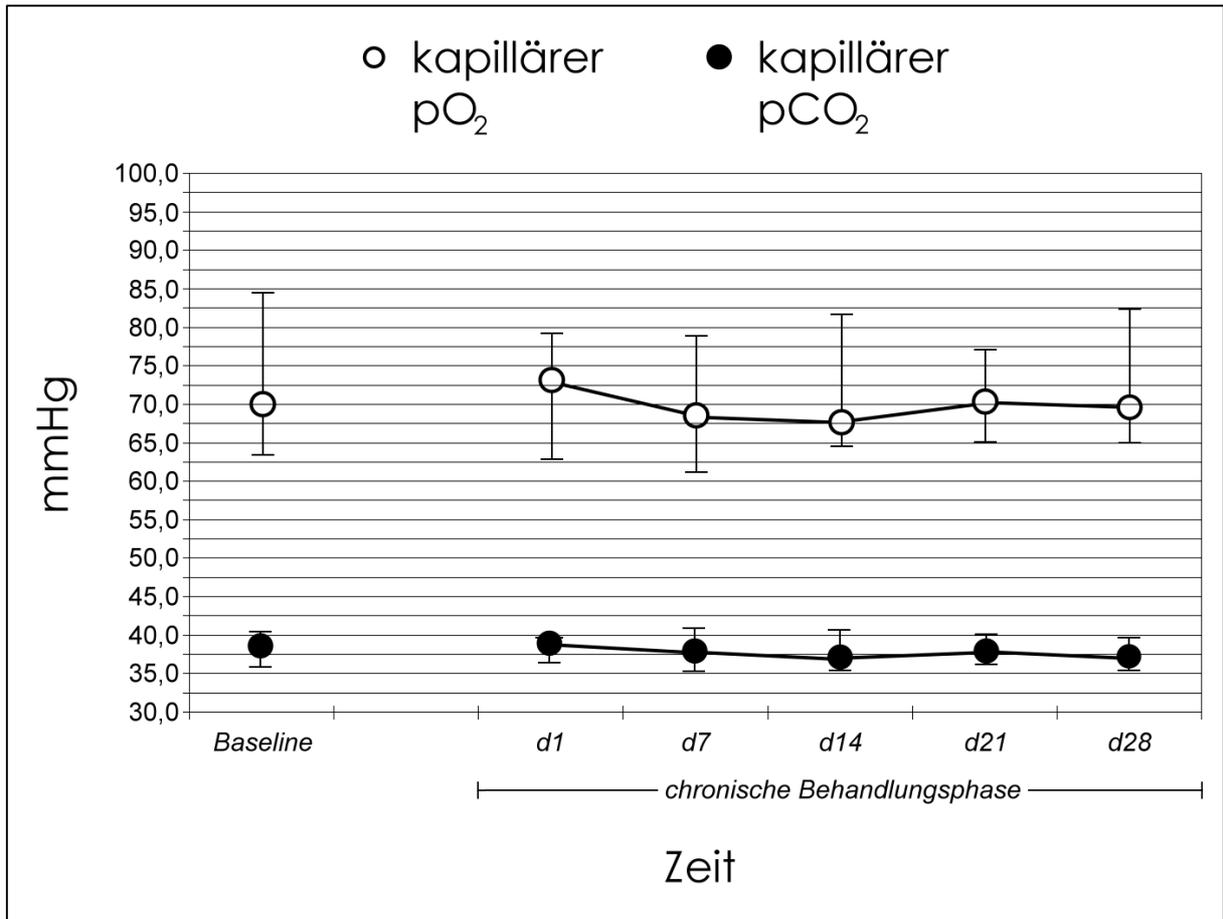


Abb. 3.5: Verlauf der Mediane mit den jeweiligen Quartilspunkten 1 und 3 des kapillären pO₂ und pCO₂ (jeweils in Ruhe; $n = 18$)

3.2.3.2 Selbst-Einstufung mit dem EQ-5D und der VAS

Der vom Patienten subjektiv empfundene Gesundheitszustand wurde mit dem EQ-5D-Selbsteinstufungsbogen und der VAS (visuelle Analogskala) am Tag der Baseline und am Tag 28 (d28) erhoben (siehe Tabelle 3.5).

Auch hier blieben die von den Patienten angegebenen Werte weitestgehend unverändert. In der VAS ergab sich eine leichte Verbesserung. Allerdings zeigte sich auch hier keine dieser Veränderungen statistisch signifikant.

Tabelle 3.5: Veränderungen des VAS-Wertes und des Index-Wertes des Gesundheitszustandes

	<i>n</i>	Phase 1	Phase 2
		Baseline	d28
VAS	18	50,0 (40,0 – 72,0)	55,0 (50,0 – 70,0)
Index-Wert (EQ-5D)	18	0,813 (0,788 – 0,999)	0,813 (0,701 – 0,900)

Dargestellt sind der Median (mit den jeweiligen Quartilspunkten 1 und 3) vom Tag der Baseline und d28. Die Tabelle schließt die Ergebnisse der vier Patienten mit „ungünstigen“ bzw. „schwerwiegend ungünstigen Ereignissen“ ein.

EQ-5D = EuroQol-5-Dimension, n = Anzahl der Patienten, VAS = Visuelle Analogskala

KAPITEL 4

Diskussion

4.1 Anwendungsgebiete von Heparin

Die intravenöse und subkutane Verabreichung von Heparin hat sich in der Behandlung und Prävention von arteriellen und venösen thromboembolischen Erkrankungen etabliert [142, 143]. Demgegenüber erfolgte eine inhalative Heparinapplikation bisher nur im Rahmen von Studien mit gesunden Probanden [139, 144, 145, 146, 147, 148] sowie an Patienten mit Asthma bronchiale oder einer COPD [149, 150, 151, 152].

Studien mit gesunden Probanden konnten zeigen, dass die Wirkungsdauer von inhalativ verabreichtem niedermolekularem Heparin länger anhält als nach subkutaner Applikation [139, 145]. Zudem konnten bei diesen Probanden weder Verschlechterungen in den Lungenfunktionswerten, noch relevante Nebenwirkungen (wie z. B. Blutungen) nach der inhalativen Verabreichung festgestellt werden [139, 146, 147, 148].

In einer randomisierten, doppelt blinden Studie konnte man bei Asthmatikern durch Heparininhalationen das Auftreten von Spätreaktionen nach Allergenexposition reduzieren [149]. In weiteren Studien mit Asthma-Patienten konnte zudem eine Verminderung von belastungsbedingten Bronchokonstriktionen durch Heparininhalationen nachgewiesen werden [150, 151].

Bei Patienten mit fibrosierender Lungenerkrankung erfolgte eine inhalative Heparinapplikation erstmals im Rahmen der dieser Arbeit zugrunde liegenden Studie. Darüber hinaus ist diese Studie, abgesehen von einer japanischen, zeitgleich mit dieser Studie durchgeführten Untersuchung zur oralen Applikation von Warfarin bzw. intravenösen Gabe von Heparin bei IPF-Patienten [133], die erste, welche eine antikoagulatorische Therapiestrategie bei IPF-Patienten verfolgte.

4.2 Mögliche Wirkmechanismen des Heparins bei fibrosierender Lungenerkrankung

Das Rational für die Applikation inhalativen Heparins bei IPF-Patienten beruht in erster Linie auf den erheblichen Störungen des alveolären Gerinnungssystems, welche bei IPF-Patienten beobachtet werden konnten. Diese Störungen sind vor allem durch eine Erhöhung der Gewebefaktor (TF) vermittelten, prokoagulatorischen Aktivität bedingt [3, 70, 71, 72, 73]. Auch die jüngsten Ergebnisse tierexperimenteller Studien legen nahe, dass antikoagulatorische Therapiestrategien ein vielversprechendes therapeutisches Konzept bei IPF darstellen könnten. So führte u.a. eine chronisch repetitive Inhalation von unfraktioniertem Heparin bei Kaninchen mit einer Bleomycin-induzierten Lungenfibrose zu einer signifikanten Reduktion der Fibrose [85, 111, 112, 113, 114, 115, 153]. Der protektive Effekt des Heparins wird vermutlich über verschiedene Mechanismen vermittelt. Heparin scheint die extravaskuläre Deposition von Fibrin in der Lunge zu verhindern oder zumindest zu reduzieren. Persistierendes und überschießend deponiertes Fibrin scheint u.a. als Reservoir profibrotischer Wachstumsfaktoren und als Matrix, in welche Fibroblasten einwandern und proliferieren, zu den Pathomechanismen fibrosierender Lungenerkrankungen beizutragen [96, 97, 98]. Desweiteren könnten durch Heparin verschiedene Proteinase der extrinsischen Gerinnungskaskade (wie Thrombin oder Faktor Xa), welche profibrotische und proinflammatorische Prozesse unterstützen, blockiert werden. Die meisten dieser zellulären Funktionen werden durch proteolytische Aktivierung von proteaseaktivierten Rezeptoren (PARs) vermittelt und umfassen die Stimulation der Fibroblastenproliferation, Induktion von Prokollagenexpression in den Fibroblasten, Induktion der Differenzierung von normalen Lungenfibroblasten zu Myofibroblasten sowie eine Erhöhung der Expression von profibrotischen und proinflammatorischen Zytokinen [87, 88, 90, 91, 154, 155]. Möglicherweise übt Heparin auch hämostaseunabhängige Effekte aus, welche eine IPF mildern könnten. Zum Beispiel konnten eine direkte Interaktion mit Wachstumsfaktoren, eine Beeinflussung von Matrixmetalloproteinase-Aktivität und eine Hemmung der Chemotaxis von neutrophilen Granulozyten und Makrophagen beobachtet werden [156, 157, 158].

4.3 Sicherheit und Verträglichkeit einer inhalativen Therapie mit Heparin bei IPF-Patienten

Insgesamt konnte durch die Ergebnisse dieser Studie gezeigt werden, dass die inhalative Anwendung von Heparin eine sichere und gut verträgliche Therapiemöglichkeit bei

einer IPF darstellt. Bei keinem der Patienten konnten nach Inhalation der individuellen Schwellendosis negative Akut-Effekte auf Lungenfunktionstests oder Belastbarkeit (6-Minuten-Gehtest) festgestellt werden. Alle aufgeführten Parameter blieben nach Inhalation der individuellen Schwellendosis weitestgehend unverändert. Ebenso kam es bei keinem Patienten während der chronischen Behandlungsphase zu einer relevanten Blutung mit Abnahme des Hämoglobins, zum Auftreten von Hämoptysen oder zu einer Heparin-induzierten Antikörperbildung bzw. Heparin-induzierten Thrombozytopenie. Auch weitere bereits bekannte, seltener vorkommende Nebenwirkungen des Heparins (wie Haarausfall, Osteoporose, leichte Thrombozytopenie, Anstieg der Serum-Gamma-Glutamyl-Transferase (γ -GT), der Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT) und der Lipase, allergische bzw. pseudallergische Reaktionen, Vasospasmen, Priapismus, Hypoaldosteronismus, metabolische Azidose und Hyperkaliämie [159]) wurden bei keinem Patienten aufgezeigt.

Bei insgesamt drei Patienten kam es zu einem ungünstigen und bei einem Patienten zu einem schwerwiegend ungünstigen Ereignis, wobei allerdings in allen vier Fällen ein Zusammenhang mit der in der Studie verwendeten Medikation als „unwahrscheinlich“ oder „kein Zusammenhang“ eingestuft wurde.

Bei einigen Patienten kam es in Bezug auf die definierten Sicherheitsendpunkte am Tag 28 (d28) zu einer Abnahme der FVC um mehr als 10%, der DL_{CO} um mehr als 10 % oder im 6-Minuten-Gehtest um mehr als 20 % verglichen mit den Werten vor der Heparininhalation. In allen Fällen, bei denen nach Ende der Studie die Heparininhalation auf Basis individueller Heilversuche fortgesetzt wurde, konnten diese Abnahmen nicht reproduziert werden bzw. traten zumindest keine weiteren Verschlechterungen auf. Daher sind diese Veränderungen am ehesten als normale Schwankungen im Rahmen wiederholter Messungen zu werten.

Im Verlauf der chronischen Behandlungsphase konnten im Median bei den Lungenfunktionsparametern, dem 6-Minuten-Gehtest und bei der Lebensqualität (erfasst mittels des EQ-5D-Selbsteinstufungsbogens und der VAS) keine signifikanten Veränderungen festgestellt werden. Bei insgesamt vier Patienten konnten Verbesserungen um mehr als 10 % in der FVC, der DL_{CO} und/oder dem 6-Minuten-Gehtest beobachtet werden. Allerdings lassen sich mit dem vorliegenden Studiendesign keine endgültigen Aussagen über die mögliche Wirksamkeit einer Heparininhalation bei IPF-Patienten treffen. Dies sollte in nachfolgenden randomisierten, kontrollierten Studien überprüft werden.

Dessen ungeachtet legen die Ergebnisse einer zeitgleich mit dieser vorliegenden Studie in Japan durchgeführten kleinen, randomisierten, kontrollierten, jedoch nicht geblindeten Studie, welche den Einfluss einer systemischen Antikoagulation auf den Verlauf der IPF bei 54 Patienten untersucht hat, nahe, dass antikoagulatorische Strategien tatsächlich einen vielversprechenden Ansatz bei der IPF darstellen könnten.

Es zeigte sich, dass zusätzlich zu Prednisolon oral appliziertes Warfarin das Gesamtüberleben bei IPF-Patienten signifikant verbessern konnte. Desweiteren konnte durch intravenös appliziertes niedermolekulares Heparin eine signifikante Reduktion der Mortalität bei hospitalisierten IPF-Patienten mit akuter Exazerbation beobachtet werden [133]. Leider weist diese Studie erhebliche Mängel im Studiendesign und der Datenanalyse auf. Darüber hinaus wurden keine genaueren Informationen über den Verlauf von Lungenfunktionsparametern oder die Häufigkeit und das Ausmaß von Begleiterkrankungen (wie pulmonale Hypertonie oder Lungenembolie etc.), welche durch die systemische antikoagulatorische Behandlung beeinflusst werden könnten, angegeben. Dennoch könnte der in dieser Studie gezeigte Überlebensvorteil, trotz der geringen Patientenzahl, auf einen insgesamt sehr ausgeprägten Effekt der Antikoagulation hindeuten.

4.4 Vorteile einer inhalativen Applikation mit dem AKITA[®] Inhalationssystem

In der dieser Arbeit zugrundeliegenden Studie wurde der inhalative Weg zur Heparinapplikation gewählt. Dies geschah mit dem Ziel, einen möglichst ausgeprägten antikoagulatorischen Effekt in der Alveole zu erreichen, bei möglichst geringem Risiko extrapulmonaler Nebenwirkungen - insbesondere von Blutungskomplikationen. Die Erhaltungsdosis und die Inhalationsintervalle während der chronischen Behandlungsphase basierten auf vorangegangenen Studien, bei welchen die zeitabhängigen, antikoagulatorischen Effekte im alveolären Kompartiment nach Heparininhalation bei gesunden Probanden untersucht wurden.

Im Gegensatz zu dem in der Vorstudie bei gesunden Probanden eingesetzten konventionellen Ultraschallvernebler erfolgte die Heparinapplikation bei den IPF-Patienten mit einem Düsenvernebler und dem kürzlich entwickelten AKITA[®] Inhalationssystem, welches mehrere wesentliche Vorteile gegenüber herkömmlichen Verneblern aufweist [139, 140, 141]. Die Technologie des AKITA[®] Inhalationssystems ermöglicht eine verbesserte intrathorakale und alveoläre Deposition des zu inhalierenden Medikamentes

(Partikel-Größenverteilung: 65 % < 5 µm; Medianer Massendurchmesser: 3,8 µm bei 1,8 bar), eine deutliche Verringerung der ungleichmäßigen Verteilung und der interindividuellen Variabilität sowie eine signifikant reduzierte Inhalationszeit. Diese Vorteile werden durch folgende Prinzipien erreicht:

- Getriggerte Aerosol-Produktion, dadurch geringerer Verlust des Aerosols bei Expiration
- Begrenzung des Inhalationsflusses auf 200 ml pro Sekunde, dadurch verringerte Ablagerung des Aerosols im proximalen Lungenabschnitt
- Individuelle Einstellung des Inhalationsvolumens (basierend auf zuvor ermittelten Daten im Lungenfunktionstest), dadurch optimale Beförderung des Aerosols in die peripheren Lungenabschnitte

Eine verringerte Deposition des Heparins im proximalen Lungenabschnitt ist besonders für IPF-Patienten vorteilhaft, da hierdurch auch das Auftreten eines starken Hustenreizes bei der Inhalation verringert werden kann. Durch Aufzeichnung aller Inhalationsvorgänge auf der *Smart Card* lässt sich darüber hinaus die Compliance des Patienten gut kontrollieren.

In Übereinstimmung mit dieser Überlegung lagen die ermittelten Schwellendosen bei den Studienpatienten nach Heparininhalation mit dem AKITA[®] Inhalationssystem deutlich niedriger als bei den in der vorangegangenen Studie untersuchten gesunden Probanden, bei welchen die Applikation mittels eines herkömmlichen Ultraschallverneblers erfolgte (Schwellendosen: 90 % ≤ 60.000 I. E. bei IPF-Patienten versus 150.000 I. E. bei gesunden Probanden). Dies ist umso bemerkenswerter, da alle Patienten eine signifikant eingeschränkte Lungenfunktion aufwiesen und erhebliche interindividuelle Unterschiede in den Lungenfunktionen vorlagen.

In der vorliegenden Studie konnten bei zwei IPF-Patienten (= 10 %) keine Schwellendosen ermittelt werden. Bei diesen Patienten wurde die im Studienprotokoll festgelegte Höchstdosis von 120.000 I. E. unfraktioniertem Heparin erreicht ohne eine signifikante Verlängerung der PTT oder eine Erhöhung der Anti-Faktor-Xa-Aktivität im Blut zu erzielen. Eine Erklärung hierfür konnte gegenwärtig nicht gefunden werden. Diese beiden Patienten gehörten nicht zu den Patienten mit der ausgeprägtesten Einschränkung der Lungenfunktion. Das korrekte Vorgehen während der Inhalation wurde permanent überwacht.

Dessen ungeachtet scheint die Anwendung des AKITA[®] Inhalationssystems das bevorzugte System zur inhalativen Applikation von Medikamenten bei IPF-Patienten zu sein.

4.5 Schlussfolgerung

Zusammenfassend erwies sich die Inhalation von Heparin bei IPF-Patienten als sicher und gut verträglich. Insbesondere vor dem Hintergrund der gegenwärtig noch sehr schlechten Prognose und des Mangels an therapeutischen Strategien bei einer IPF ist dieses Ergebnis ermutigend und sollte in zukünftigen Studien bestätigt und weiterentwickelt werden. Insbesondere sind Wirksamkeitsstudien erforderlich, welche einen möglichen Einfluss einer inhalativen Heparintherapie auf Verlauf und Prognose der IPF untersuchen.

KAPITEL 5

Zusammenfassung

Patienten mit fibrosierenden Lungenerkrankungen, einschließlich der idiopathischen pulmonalen Fibrose (IPF), weisen eine erhöhte „tissue factor“ (TF)-Faktor-VII-vermittelte prokoagulatorische Aktivität im alveolären Kompartiment auf. Darüber hinaus deuten die ebenfalls nachweisbar erhöhten D-Dimer-Konzentrationen in den bronchoalveolären Lavageflüssigkeiten von IPF-Patienten auf einen erhöhten Fibrinumsatz in den Alveolen hin. Veränderungen des alveolären hämostaseolytischen Gleichgewichtes tragen vermutlich über verschiedene Mechanismen zu der Pathogenese fibrosierender Lungenerkrankungen bei. So können Gerinnungsproteasen beispielsweise die Proliferation und Bindegewebsbildung von Fibroblasten anregen. Fibrin selbst scheint auch als Reservoir für profibrotische Wachstumsfaktoren und als Matrix für einwandernde und anschliessend proliferierende Fibroblasten zu fungieren. Tierexperimentelle Studien haben bereits gezeigt, dass die Applikation antikoagulatorischer und profibrinolytischer Moleküle, einschließlich Heparin, die Fibroseentwicklung im Modell der Bleomycin-induzierten Lungenschädigung signifikant abschwächen kann.

Vor diesem Hintergrund wurde in der vorliegenden Arbeit erstmals im Rahmen einer klinischen Pilotstudie die Sicherheit und Verträglichkeit einer inhalativen Heparin-gabe bei IPF-Patienten untersucht. Insgesamt 20 IPF-Patienten wurden entsprechend der Kriterien der Amerikanischen und Europäischen Expertengesellschaften aus dem Jahre 2000 in die Studie eingeschlossen. Die Inhalation des unfraktionierten Heparins erfolgte mittels des kürzlich entwickelten AKITA[®] Inhalationssystems, welches u.a. durch Limitierung des Inhalationsflusses eine signifikant verbesserte alveoläre Deposition des zu vernebelnden Medikamentes garantiert. Es erfolgte zunächst die Ermittlung der individuellen Schwellendosis, welche als die inhalative Dosis Heparin definiert war, welche zu einer eben messbaren Verlängerung in globalen Blutgerinnungstests führt. Für zwölf der 20 Patienten konnte eine Schwellendosis von 50.000 I.E. Heparin und für sechs Patienten eine Schwellendosis von 60.000 I.E. ermittelt werden. Für zwei Patienten ließ sich trotz maximaler Inhalation von insgesamt 120.000 I.E. Heparin keine Schwellendosis ermitteln. Die Gründe dafür sind gegenwärtig nicht bekannt. Diese beiden Patienten wurden nicht in die

Studienphase der chronischen Inhalation aufgenommen. Die Inhalation der individuellen Schwellendosis hatte keine akut negativen Effekte auf Lungenfunktion, Gasaustausch oder Belastungskapazität. Während der chronischen Behandlungsphase erfolgte die Heparininhalation über einen Zeitraum von 28 Tagen mit einer zweimal täglichen inhalativen Applikation von jeweils ein Viertel der individuell ermittelten Schwellendosis. Insgesamt konnte eine gute Verträglichkeit einer derartigen Heparininhalation dokumentiert werden. Bezüglich der vorher definierten Sicherheitsendpunkte traten bei keinem der Patienten Hämoptysen oder andere Blutungskomplikationen mit relevantem Hämoglobinabfall auf. Auch wurden bei keinem Patienten Heparin-induzierte Antikörper bzw. eine Heparin-induzierte Thrombozytopenie während der 28-tägigen Beobachtungsperiode nachgewiesen. Bei vier Patienten zeigte sich eine Abnahme der CO-Diffusionskapazität (DL_{CO}) um mehr als 10 % am Tag 28 im Vergleich zur Baseline. Bei zwei dieser Patienten kam es darüber hinaus zu einer Abnahme der Gehstrecke im 6-Minuten-Gehtest um mehr als 20 % bzw. zu einem Abfall der forcierten Vitalkapazität (FVC) um mehr als 10 %. In Folgeuntersuchen konnten diese Veränderungen jedoch bei keinem der Patienten, welche die Heparininhalation auf Basis eines individuellen Heilversuches nach Studienende fortgesetzt hatten, reproduziert werden. Es konnten zumindest keine weiteren Verschlechterungen beobachtet werden. Daher repräsentieren diese Veränderungen am ehesten die normale Schwankungsbreite wiederholter Messungen. Die Medianwerte für Lungenfunktionsparameter, Gasaustausch, Belastungstest und Lebensqualitätsscores aller Patienten änderten sich während der 28-tägigen Beobachtungsperiode nicht. Bei drei Patienten kam es im Verlauf der 28-tägigen Beobachtungsperiode zu einem „ungünstigen Ereignis“, wobei ein kausaler Zusammenhang mit der Heparininhalation als „unwahrscheinlich“ bzw. als „kein Zusammenhang“ eingestuft werden konnte. Bei einem weiteren Patienten kam es zu einem „schwerwiegend ungünstigen Ereignis“. Dieser Patient musste kurzzeitig wegen eines pulmonalen Infektes stationär aufgenommen werden. Für die Dauer des stationären Aufenthaltes wurde die Heparininhalation unterbrochen, dann aber bis zum Tag 28 fortgesetzt. Auch hier ergab sich kein kausaler Zusammenhang mit der Heparininhalation.

Aus den in dieser Studie gewonnenen Ergebnissen kann zusammenfassend geschlussfolgert werden: Eine inhalative Heparinapplikation stellt ein sicheres und gut toleriertes, neues therapeutisches Konzept bei IPF-Patienten dar. Das Design der Studie lässt jedoch keine abschließende Beurteilung hinsichtlich der Wirksamkeit einer inhalativen Heparinapplikation bei IPF-Patienten zu. Zukünftige Effektivitätsstudien sind erforderlich, um die Wirksamkeit

und einen möglichen positiven Einfluss eines derartigen Regimes hinsichtlich des Verlaufs und der Prognose der IPF zu beurteilen.

Summary

Patients with fibrotic lung diseases, including idiopathic pulmonary fibrosis (IPF), show an increased tissue factor (TF)-factor-VII-mediated procoagulative activity in the alveolar compartment. Furthermore, elevated D-dimer concentrations in the broncho-alveolar lavage fluids of IPF patients suggest a higher fibrin turnover in the alveoles. Changes in the alveolar haemostatic balance contribute to the pathogenesis of fibrotic lung diseases probably by different mechanisms. For example, coagulative proteases may stimulate the proliferation of fibroblasts and connective tissue formation. Fibrin itself also appears to function as a reservoir of profibrotic growth factors and as a matrix for immigration and subsequent proliferation of fibroblasts. Animal studies have already demonstrated that the application of anticoagulative and profibrinolytic molecules, including heparin, may significantly attenuate the development of fibrosis in the model of bleomycin-induced lung injury.

Based on this information, in the present dissertation safety and tolerability of inhaled heparin were tested in the context of a clinical pilot study with IPF patients. Twenty IPF patients were included in the study, with reference to the criteria of the American and European Expert-Societies from the year 2000. Unfractionated heparin was inhaled using the recently developed AKITA[®] inhalation system, which guarantees a significantly improved alveolar deposition of the nebulized study drug by among others limiting the inhalation flow. The individual threshold dose was defined as the inhalation dose of heparin that results in a measurable prolongation of global blood coagulation tests. This threshold dose was 50,000 I.U. heparin for 12 out of the 20 patients and 60,000 I.U. heparin for a further six. For 2 patients no threshold dose could be found despite a maximum inhalation of a total 120,000 I.U. heparin. The reasons are currently unknown. These two patients were not included in the study phase of the chronic inhalation treatment. The inhalation of the individual threshold dose had no negative acute effects on pulmonary function, gas exchange and exercise capacity. During the chronic treatment period patients inhaled one quarter of the individually determined threshold dose twice daily for 28 days. Overall, a good tolerability could be documented. Regarding the previously defined “safety endpoints”, there was no haemoptysis nor was there any bleeding with corresponding decline in haemoglobin values in any of the patients. During the 28 days observation period we found neither heparin-induced antibodies nor heparin-induced thrombocytopenia. In four patients we found a decline in

CO diffusion capacity (DL_{CO}) of more than 10 % at day 28 compared to baseline. Two of these four patients showed a reduction in the 6-minute-walking distance of more than 20 % or a decrease in the forced vital capacity (FVC) of more than 10 %, respectively. However, in follow up investigations these changes could not be reproduced in patients, who continued the inhalation of heparin on compassionate grounds after the end of the study. No further deteriorations could be observed. Therefore, the observed changes are likely to represent the normal variability in repeated measurements. For all patients the median values of lung function parameters, gas exchange, exercise capacity and quality of life scores did not change during the observation period of 28 days. During the observation period “adverse events” occurred in three patients, but a causal connection with the study drug application was classified as “unlikely” or “no relation”. In another patient a “serious adverse event” occurred. For this patient a short in-patient treatment was necessary because of a respiratory infection. For the duration of the inpatient stay heparin inhalation was interrupted, but then continued until day 28. Again, there was “no relation” with the inhalation of heparin.

The results obtained in this study lead to the following conclusion: A heparin inhalation is safe and well tolerated in IPF patients. The design of the study does not allow any conclusion regarding the efficacy of heparin inhalation in IPF patients. Future efficacy trials are required to determine the efficacy and possible positive influence of such a regime on course and prognosis of IPF.

KAPITEL 6

Literaturverzeichnis

1. **American Thoracic Society (ATS), and the European Respiratory Society (ERS) (2002).** American Thoracic Society/European Respiratory Society international multidisciplinary consensus classification of the Idiopathic Interstitial Pneumonias. *Am J Respir Crit Care Med* 165: 277 – 304.
2. **Coultas DB, Zumwalt RE, Black WC, Sobonya RE (1994).** The epidemiology of interstitial lung disease. *Am J Respir Crit Care Med* 150: 967 – 972.
3. **Gunther A, Mosavi P, Ruppert C, Heinemann S, Temmesfeld-Wollbrück B, Velcovsky HG, Morr H, Grimminger F, Walmrath D, Seeger W (2000).** Enhanced tissue factor pathway activity and fibrin turnover in the alveolar compartment of patients with interstitial lung disease. *Thromb Haemost* 83: 853 – 860.
4. **Schweisfurth H, Kieslich C, Satake N, Loddenkemper R, Schonfeld N, Mader I, Treutler D, Matthiessen W, Schmidt C, Leonhardt P, Siemon G, deWall N, Gerke U, Costabel U (2003).** How are interstitial lung disease diagnosed in Germany? Results of the scientific registry for the exploration of interstitial lung diseases (“Fibrosis registry”) of the WALT. *Pneumologie* 57: 373 – 382.
5. **Thomeer M, Demedts M, Vandeurzen K; VRGT Working Group on Interstitial Lung Diseases (2001).** Registration of interstitial lung diseases by 20 centres of respiratory medicine in Flanders. *Acta Clin Belg* 56: 163 – 172.
6. **Rizzato G, Bariffi F (1999).** Inchiesta epidemiologica sulle interstiziopatie polmonari in Italia: Dati e risultati a macchia di leopardo. *L Internista* 7: 20 – 24.
7. **American Thoracic Society (2000).** Idiopathic pulmonary fibrosis: diagnosis and treatment. International consensus statement. American Thoracic Society (ATS), and the European Respiratory Society (ERS). *Am J Respir Crit Care Med* 161: 646 – 664.
8. **Panos RJ, Mortenson R, Niccoli SA, King TE (1990).** Clinical deterioration in patients with idiopathic pulmonary fibrosis: causes and assessment. *Am J Med* 88: 396 – 404.

9. **Latsi PI, du Bois RM, Nicholson AG, Colby TV, Bisirtzoglou D, Nikolakopoulou A, Veeraraghaven S, Hansell DM, Wells AU (2003).** Fibrotic Idiopathic Interstitial Pneumonia. The prognostic value of longitudinal functional trends. *Am J Respir Crit Care Med* 168: 531 – 537.
10. **Markart P, Seeger W, Günther A (2006).** Differenzielle Therapie bei Lungenfibrose. *Internist* 47 (Supplement 1): 26 – 32.
11. **Schwartz DA, Helmers RA, Galvin JR, Van Fossen DS, Frees KL, Dayton CS, Burmeister LF, Hunninghake GW (1994).** Determinants of survival in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 149: 450 – 454.
12. **Thomas AQ, Lane K, Phillips J, Prince M, Markin C, Speer M, Schwartz DA, Gaddipati R, Marney A, Johnson J, Roberts R, Haines J, Stahlman M, Loyd JE (2002).** Heterozygosity for a surfactant protein C gene mutation associated with usual interstitial pneumonitis and cellular nonspecific interstitial pneumonitis in one kindred. *Am J Respir Crit Care Med* 165: 1322 – 1328.
13. **Günther A, Ermert L, Breithecker A, Hackstein N, Eickelberg O, Morr H, Grimminger F, Velcovsky HG, Seeger W (2003).** Klassifikation, Diagnostik und Therapie der idiopathischen interstitiellen Pneumonien: Eine kritische Bestandsaufnahme der gegenwärtig in Deutschland geübten Praxis. *Dtsch Arztebl* 100: A 1676 – 1685.
14. **Buschman DL, Gamsu G, Waldron JA Jr, Klein JS, King TE Jr (1992).** Chronic hypersensitivity pneumonitis: use of CT in diagnosis. *Am J Roentgenol* 159: 957 – 960.
15. **Wells A (1998).** High resolution computed tomography in sarcoidosis: a clinical perspective. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis* 15: 140 – 146.
16. **Markart P, Hundack L, Ghofrani A, Grimminger F, Seeger W, Gunther A (2005).** Idiopathic interstitial pneumonias: pathomechanisms and therapeutic options. *Pneumologie* 59: 554 – 561.
17. **Katzenstein AL, Myers JL (1998).** Idiopathic pulmonary fibrosis. Clinical relevance of pathologic classification. *Am J Respir Crit Care Med* 157: 1301 – 1315.
18. **Pardo A, Selman M (2002).** Idiopathic pulmonary fibrosis: new insights in its pathogenesis. *Int J Biochem Cell Biol* 34: 1534 – 1538.
19. **Selman M, King TE, Pardo A (2001).** Idiopathic pulmonary fibrosis: Prevaling and evolving hypotheses about its pathogenesis and implications for therapy. *Ann Int Med* 134: 136 – 151.
20. **Gross TJ, Hunninghake GW (2001).** Medical progress: Idiopathic pulmonary fibrosis. *N Engl J Med* 345: 517 – 525.

21. **Welsch U (2003):** Blutversorgung der Lunge. In Welsch U (Hrsg.): Sobotta – Lehrbuch Histologie. Urban & Fischer Verlag, München Jena, 294 – 295.
22. **Wang R, Alam G, Zagariya A, Gidea C, Pinillos H, Lalude O, Choudhary G, Oezatalay D, Uhal BD (2000).** Apoptosis of lung epithelial cells in response to TNF- α requires angiotensin II generation de novo. *J Cell Physiol* 185: 253 – 259.
23. **Hagimoto N, Kuwano K, Inoshima I, Yoshimi M, Nakamura N, Fujita M, Maeyama T, Hara N (2002).** TGF- β 1 as an enhancer of Fasmediated apoptosis of lung epithelial cells. *J Immunol* 168: 6470 – 6478.
24. **Uhal BD, Joshi I, Hughes WF, Ramos C, Pardo A, Selman M (1998).** Alveolar epithelial cell death adjacent to underlying myofibroblasts in advanced fibrotic human lung. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 275 (6 Pt 1): L1192 – 1199.
25. **Katzenstein AL (1985).** Pathogenesis of “fibrosis” in interstitial pneumonia: an electron microscopic study. *Hum Pathol* 16: 1015 – 1024.
26. **Kuwano K, Kunitake R, Maeyama T, Hagimoto N, Kawasaki M, Matsuba T, Yoshimi M, Inoshima I, Yoshida K, Hara N (2001).** Attenuation of bleomycin-induced pneumopathy in mice by a caspase inhibitor. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 280: L316 – 325.
27. **Wang R, Ibarra-Sunga O, Verlinski L, Pick R, Uhal BD (2000).** Abrogation of bleomycin-induced epithelial apoptosis and lung fibrosis by captopril or by caspase inhibitor. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 279: L143 – 151.
28. **Border WA, Noble NA (1994).** Mechanisms of Disease: Transforming Growth Factor (β) in Tissue Fibrosis. *N Engl J Med* 331: 1286 – 1292.
29. **Sime PJ, Xing Z, Graham FL, Csaky KG, Gauldie J (1997).** Andenoviral-mediated gene transfer of active TGF- β ₁ induces prolonged aggressive fibrosis in rat lung. *J Clin Invest* 100: 768 – 776.
30. **Giri SN, Hyde DM, Hollinger MA (1993).** Effect of antibody to transforming growth factor b on bleomycin induced accumulation of lung collagen in mice. *Thorax* 48: 959 – 966.
31. **Wang Q, Wang Y, Hyde DM, Gotwals PJ, Koteliansky VE, Ryan ST, Giri SN (1999).** Reduction of bleomycin induced lung fibrosis by transforming growth factor β soluble receptor in hamster. *Thorax* 54: 805 – 812.
32. **Coker RK, Laurent GJ (1998).** Pulmonary fibrosis: cytokines in the balance. *Eur Respir J* 11: 1218 – 1221.

33. **Selman M, Pardo A (2002).** Idiopathic pulmonary fibrosis: an epithelial/fibroblastic cross-talk disorder. *Respir Res* 3: 3.
34. **Kuhn C, McDonald JA (1991).** The roles of the myofibroblast in idiopathic pulmonary fibrosis. Ultrastructural and immunohistochemical features of sites of active extracellular matrix synthesis. *Am J Pathol* 138: 1257 – 1265.
35. **King TE Jr, Schwarz MI, Brown K, Tooze JA, Colby TV, Waldron JA Jr, Flint A, Thurlbeck W, Cherniack RM (2001).** Idiopathic pulmonary fibrosis: relationship between histopathologic features and mortality. *Am J Respir Crit Care Med* 164: 1025 – 1032.
36. **Hashimoto N, Jin H, Liu T, Chensue SW, Phan SH (2004).** Bone marrow-derived progenitor cells in pulmonary fibrosis. *J Clin Invest* 113: 243 – 252.
37. **Marchand-Adam S, Marchal J, Cohen M, Soler P, Gerard B, Castier Y, Leseche G, Valeyre D, Mal H, Aubier M, Dehoux M, Crestani B (2003).** Defect of hepatocyte growth factor secretion by fibroblast in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 168: 1156 – 1161.
38. **Kolodsick JE, Peters-Golden M, Larios J, Toews GB, Thannickal VJ, Moore BB (2003).** Prostaglandin E₂ inhibits fibroblast to myofibroblast transition via E. Prostanoid receptor 2 signaling and cyclic adenosine monophosphate elevation. *Am J Respir Cell Mol Biol* 29: 537 – 544.
39. **Clark JG, Kostal KM, Marino BA (1982).** Modulation of collagen production following bleomycin-induced pulmonary fibrosis in hamster. Presence of a factor in lung that increase fibroblast prostaglandin E₂ and cAMP and suppresses fibroblast proliferation and collagen production. *J Biol Chem* 257: 8098 – 8105.
40. **Lama V, Moore BB, Christensen P, Toews GB, Peters-Golden M (2002).** Prostaglandin E₂ synthesis and suppression of fibroblast proliferation by alveolar epithelial cells is Cyclooxygenase-2-dependent. *Am J Respir Cell Mol Biol* 27: 752 – 758.
41. **Selman M, Ruiz V, Cabrera S, Segua L, Ramirez R, Barrios R, Pardo A (2000).** TIMP-1, -2, -3, and -4 in idiopathic pulmonary fibrosis. A prevailing nondegradative lung microenvironment? *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 279: L562 – 574.
42. **Zuo F, Kaminski N, Eugui E, Allard J, Yakhini Z, Ben-Dor A, Lollini L, Morris D, Kim Y, DeLustro B, Sheppard D, Pardo A, Selman M, Heller RA (2002).** Gene expression analysis reveals matrilysin as a key regulator of pulmonary fibrosis in mice and humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 99: 6292 - 6297

43. **MacNee W, Rahman I (1995).** Oxidants/antioxidants in idiopathic pulmonary fibrosis. *Thorax* 50: S53 – 58.
44. **Cantin AM, Hubbard RC, Crystal RG (1989).** Glutathione deficiency in the epithelial lining fluid of the lower respiratory tract in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am Rev Respir Dis* 139: 370 – 372.
45. **Cantin AM, North SL, Fells GA, Hubbard RC, Crystal RG (1987).** Oxidant-mediated epithelial cell injury in idiopathic pulmonary fibrosis. *J Clin Invest* 79: 1665 – 1673.
46. **Strausz J, Müller-Quernheim J, Stepling H, Ferlinz R (1990).** Oxygen radical production by alveolar inflammatory cells in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am Rev Respir Dis* 141: 124 – 128.
47. **Thannickal VJ, Fanburg BL (1995).** Activation of an H₂O₂-generating NADH oxidase in human lung fibroblasts by transforming growth factor β_1 . *J Biol Chem* 270: 30 334 – 30 338.
48. **Larios JM, Budhiraja R, Fanburg BL (2001).** Oxidative protein cross-linking reactions involving L-tyrosine in transforming growth factor β_1 -stimulated fibroblasts. *J Biol Chem* 276: 17 437 – 17 441.
49. **Wallace WA, Ramage EA, Lamb D, Howie SE (1995).** A type 2 (Th2-like) pattern of immune response predominates in the pulmonary interstitium of patients with cryptogenic fibrosing alveolitis (CFA). *Clin Exp Immunol* 101: 436 – 441.
50. **Geiser Th (2003).** Idiopathic pulmonary fibrosis – a disorder of alveolar wound repair? *Swiss Med Wkly* 133: 405 – 411.
51. **Gharaee-Kermani M, McGarry B, Lukacs N, Huffnagle G, Egan RW, Phan SH (1998).** The role of IL-5 in bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *J Leukoc Biol* 64: 657 – 666.
52. **Cambrey AD, Harrison NK, Dawes KE, Southcott AM, Black CM, du Bois RM, Laurent GJ, McAnulty RJ (1994).** Increased levels of endothelin-1 in bronchoalveolar lavage fluid from patients with systemic sclerosis contribute to fibroblast mitogenic activity in vitro. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1.1: 439 – 445.
53. **Peacock AJ, Dawes KE, Shock A, Gray AJ, Reeves JT, Laurent GJ (1992).** Endothelin-1 and endothelin-3 induce chemotaxis and replication of pulmonary artery fibroblast. *Am J Respir Cell Mol Biol* 7: 492 – 499.
54. **Shahar I, Fireman E, Topilsky M, Grief J, Schwarz Y, Kivity S, Ben-Efraim S, Spirer Z (1999).** Effect of endothelin-1 on α -smooth muscle actin expression and on alveolar fibroblasts proliferation in interstitial lung disease. *Int J Immunopharmacol* 21: 759 – 775.

55. **Uguccioni M, Pulsatelli L, Grigolo B, Facchini A, Fasano L, Cinti C, Fabbri M, Gasbarrini G, Meliconi R (1995).** Endothelin-1 in idiopathic pulmonary fibrosis. *J Clin Pathol* 48: 330 – 334.
56. **Giaid A, Michel RP, Stewart DJ, Sheppard M, Corrin B, Hamid O (1993).** Expression of endothelin-1 in lungs of patients with cryptogenic fibrosing alveolitis. *Lancet* 341: 1550 – 1554.
57. **Park SH, Saleh D, Giaid A, Michel RP (1997).** Increased endothelin-1 in bleomycin-induced pulmonary fibrosis and the effect of an endothelin receptor antagonist. *Am J Respir Crit Care Med* 156: 600 – 608.
58. **Nogee LM, Dunbar AE 3rd, Wert SE, Askin F, Hamvas A, Whitsett JA (2001).** A mutation in the surfactant protein C gene associated with familial interstitial lung disease. *N Engl J Med* 344: 573 – 579.
59. **Mulugeta S, Nguyen V, Russo SJ, Muniswamy M, Beers MF (2005).** A Surfactant Protein C Precursor Protein BRICHOS Domain Mutation Causes Endoplasmic Reticulum Stress, Proteasome Dysfunction, and Caspase 3 Activation. *Am J Respir Cell Mol Biol* 32: 521 – 530.
60. **Glasser SW, Detmer EA, Ikegami M, Na CL, Stahlman MT, Whitsett JA (2003).** Pneumonitis and emphysema in sp-C gene targeted mice. *J Biol Chem* 278: 14 291 – 14 298.
61. **Selman M, Pardo A, Barrera L, Estrada A, Watson SR, Wilson K, Aziz N, Kaminski N, Zlotnik A (2006).** Gene expression profiles distinguish idiopathic pulmonary fibrosis from hypersensitivity pneumonitis. *Am J Respir Crit Care Med* 173: 188 – 198.
62. **Fujimoto H, Gabazza EC, Hataji O, Yuda H, D'Alessandro-Gabazza CN, Nakano M, Franco OE, Hayashi T, Suzuki K, Adachi Y, Taguchi O (2003).** Thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor and protein C inhibitor in interstitial lung disease. *Am J Respir Crit Care Med* 167: 1687 – 1694.
63. **Idell S, James KK, Gillies C, Fair DS, Thrall RS (1989).** Abnormalities of pathways of fibrin turnover in lung lavage of rats with oleic acid and bleomycin-induced lung injury support alveolar fibrin deposition. *Am J Pathol* 135: 387 – 399.
64. **Olman MA, Mackman N, Gladson CL, Moser KM, Loskutoff DJ (1995).** Changes in procoagulant and fibrinolytic gene expression during bleomycin-induced lung injury in the mouse. *J Clin Invest* 96: 1621 – 1630.
65. **de Waard V, Hansen HR, Spronk HH, Timmerman JJ, Pannekoek H, Florquin S, Reitsma PH, ten Cate H (2006).** Differential expression of tissue factor mRNA and protein expression in murine sepsis. The role of the granulocyte revisited. *Thromb Haemost* 95: 348 – 353.

66. **Wygrecka M, Markart P, Ruppert C, Petri K, Preissner KT, Seeger W, Guenther A (2007).** Cellular origin of pro-coagulant and (anti)-fibrinolytic factors in bleomycin-injured lungs. *Eur Respir J* 29: 1105 – 1114.
67. **Idell S, James KK, Levin EG, Schwartz BS, Manchanda N, Maunder RJ, Martin TR, McLarty J, Fair DS (1989).** Local abnormalities of coagulation and fibrinolytic pathways predispose to alveolar fibrin deposition in the adult respiratory distress syndrome. *J Clin Invest* 84: 695–705.
68. **Bertozzi P, Astedt B, Zenzius L, Lynch K, LeMaire F, Zapol W, Chapman HA Jr (1990).** Depressed bronchoalveolar urokinase activity in patients with adult respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 322: 890 – 897.
69. **Hasday JD, Bachwich PR, Lynch JP 3rd, Sitrin RG (1988).** Procoagulant and plasminogen activator activities of bronchoalveolar fluid in patients with pulmonary sarcoidosis. *Exp Lung Res* 14: 261 – 278.
70. **Nakstad B, Lyberg T, Skjøsberg OH, Boye NP (1990).** Local activation of the coagulation and fibrinolysis systems in lung disease. *Thromb Res* 57: 827 – 838.
71. **Kotani I, Sato A, Hayakawa H, Urano T, Takada Y, Takada A (1995).** Increased procoagulant and antifibrinolytic activities in the lungs with idiopathic pulmonary fibrosis. *Thromb Res* 77: 493 – 504.
72. **Fujii M, Hayakawa H, Urano T, Sato A, Chida K, Nakamura H, Takada A (2000).** Relevance of tissue factor and tissue factor pathway inhibitor for hypercoagulable state in the lungs of patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Thromb Res* 99: 111 – 117.
73. **Imokawa S, Sato A, Hayakawa H, Kotani M, Urano T, Takada A (1997).** Tissue factor expression and fibrin deposition in the lungs of patients with idiopathic pulmonary fibrosis and systemic sclerosis. *Am J Respir Crit Care Med* 156: 631 – 636.
74. **Rao LV, Rapaport SI (1988).** Activation of factor VII bound to tissue factor: a key early step in the tissue factor pathway of blood coagulation. *Proc Natl Acad Sci USA* 85: 6687 – 6691.
75. **Osnes LT, Westvik AB, Joø GB, Okkenhaug C, Kierulf P (1996).** Inhibition of IL-1 induced tissue factor (TF) synthesis and procoagulant activity (PCA) in purified human monocytes by IL-4, IL-10 and IL-13. *Cytokine* 8: 822 – 827.
76. **Samad F, Pandey M, Loskutoff DJ (1998).** Tissue factor gene expression in the adipose tissues of obese mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 95: 7591 – 7596.
77. **Chambers RC (2003).** Role of coagulation cascade proteases in lung repair and fibrosis. *Eur Respir J* 44: 33s – 35s.

78. **Wygrecka M, Markart P, Ruppert C, Kuchenbuch T, Fink L, Bohle RM, Grimminger F, Seeger W, Günther A (2004).** Compartment- and cell-specific expression of coagulation and fibrinolysis factors in the murine lung undergoing inhalational versus intravenous endotoxin application. *Thromb Haemost* 92: 529 – 540.
79. **Netzel-Arnett S, Mitola DJ, Yamada SS, Chrysovergis K, Holmbeck K, Birkedal-Hansen H, Bugge TH (2002).** Collagen dissolution by keratinocytes requires cell surface plasminogen activation and matrix metalloproteinase activity. *J Biol Chem* 277: 45 154 – 45 161.
80. **Legrand C, Polette M, Tournier JM, de Bentzmann S, Huet E, Monteau M, Birembaut P (2001).** uPA/plasmin system-mediated MMP-9 activation is implicated in bronchial epithelial cell migration. *Exp Cell Res* 264: 326 – 336.
81. **Okumura Y, Sato H, Seiki M, Kido H (1997).** Proteolytic activation of the precursor of membrane type 1 matrix metalloproteinase by human plasmin. A possible cell surface activator. *FEBS Lett* 402: 181 – 184.
82. **Yee JA, Yan L, Dominguez JC, Allan EH, Martin TJ (1993).** Plasminogen-dependent activation of latent transforming growth factor beta (TGF beta) by growing cultures of osteoblastlike cells. *J Cell Physiol* 157: 528 – 534.
83. **Maquerlot F, Galiacy S, Malo M, Guignabert C, Lawrence DA, d'Ortho MP, Barlovatz-Meimon G (2006).** Dual role for plasminogen activator inhibitor type 1 as soluble and as matricellular regulator of epithelial alveolar cell wound healing. *Am J Pathol* 169: 1624 – 1632.
84. **Eitzman DT, McCoy RD, Zheng X, Fay WP, Shen T, Ginsburg D, Simon RH (1996).** Bleomycin-induced pulmonary fibrosis in transgenic mice that either lack or overexpress the murine plasminogen activator inhibitor-1 gene. *J Clin Invest* 97: 232 – 237.
85. **Sisson TH, Hanson KE, Subbotina N, Patwardhan A, Hattori N, Simon RH (2002).** Inducible lung-specific urokinase expression reduces fibrosis mortality after lung injury in mice. *Am J Physiol* 283: L1023 – 1032.
86. **Markart P, Ruppert C, Petri K, Wygrecka M, Weaver TE, Seeger W, Günther A (2005).** Transgenic mice expressing a surfactant protein-B-urokinasefusion protein in the distal respiratory epithelium show improved survival after bleomycin-induced lung injury. *Am J Respir Crit Care Med*: A346.
87. **Chambers RC, Dabbagh K, McAnulty RJ, Gray AJ, Blanc-Brude OP, Laurent GJ. (1998).** Thrombin stimulates fibroblasts procollagen production via proteolytic activation of protease-activated receptor-1. *Biochem J* 333: 121 – 127.

88. **Blanc-Brude OP, Archer F, Leoni P, Derian C, Bolsover S, Laurent GJ, Chambers RC (2005).** Factor Xa stimulates fibroblast procollagen production, proliferation, and calcium signalling via PAR1 activation. *Exp Cell Res* 304: 16 – 27.
89. **Chambers RC, Laurent GJ (2002).** Coagulation cascade protease and tissue fibrosis. *Biochem Soc Trans* 30: 194 – 200.
90. **Bogatkevich GS, Tourkina E, Silver RM, Ludwicka-Bradley A (2001).** Thrombin differentiates normal lung fibroblasts to a myofibroblast phenotype via the proteolytically activated receptor-1 and a protein kinase C-dependent pathway. *J Biol Chem* 276: 45 184 – 45 192.
91. **Chambers RC, Leoni P, Blanc-Brude OP, Wembridge DE, Laurent GJ (2000).** Thrombin is a potent inducer of connective tissue growth factor production via proteolytic activation of protease-activated receptor-1. *J Biol Chem* 275: 35 584 – 35 591.
92. **Ludwicka-Bradley A, Tourkina E, Suzuki S, Tyson E, Bonner M, Fenton JW 2nd, Hoffman S, Silver RM (2000).** Thrombin upregulates interleukin-8 in lung fibroblasts via cleavage of proteolytically activated receptor-I and protein kinase C-gamma activation. *Am J Respir Cell Mol Biol* 22: 235 – 243.
93. **Shimizu T, Nishihira J, Watanabe H, Abe R, Honda A, Ishibashi T, Shimizu H (2004).** Macrophage migration inhibitory factor is induced by thrombin and factor Xa in endothelial cells. *J Biol Chem* 279: 13 729 – 13 737.
94. **Monroe DM, Key NS (2007).** The tissue factor-factor VIIa complex: procoagulant activity, regulation, and multitasking. *J Thromb Haemost* 5: 1097 – 1105.
95. **Howell DC, Johns RH, Lasky JA, Shan B, Scotton CJ, Laurent GJ, Chambers RC (2005).** Absence of Proteinase-Activated Receptor-1 signalling affords protection from bleomycin-induced lung inflammation and fibrosis. *Am J Pathol* 166: 1353 – 1365.
96. **Grainger DJ, Wakefield L, Bethell HW, Farndale RW, Metcalfe JC (1995).** Release and activation of platelet latent TGF-beta in blood clots during dissolution with plasmin. *Nat Med* 1: 932 – 937.
97. **Burkhardt A (1989).** Alveolitis and collapse in the pathogenesis of pulmonary fibrosis. *Am Rev Respir Dis* 140: 513 – 524.
98. **Seeger W, Elssner A, Guenther A, Kraemer HJ, Kalinowski HO (1993).** Lung surfactant phospholipids associate with polymerizing fibrin - loss of surfactant activity. *Am J Respir Cell Mol Biol* 9: 213 – 220.

99. **Dang CV, Bell WR, Kaiser D, Wong A (1985).** Disorganisation of cultured vascular endothelial cell monolayers by fibrinogen fragment D. *Science* 227: 1487 – 1490.
100. **Leavell KJ, Peterson MW, Gross TJ (1996).** The role of fibrin degradation products in neutrophil recruitment to the lung. *Am J Respir Cell Mol Biol* 14: 53 – 60.
101. **Hattori N, Degen JL, Sisson TH, Liu H, Moore BB, Pandrangi RG, Simon RH, Drew AF (2000).** Bleomycin-induced pulmonary fibrosis in fibrinogen-null mice. *J Clin Invest* 106: 1341 – 1350.
102. **Gando S, Kameue T, Matsuda N, Hayakawa M, Morimoto Y, Ishitani T, Kemmotsu O (2003).** Imbalance between the levels of tissue factor and tissue factor pathway inhibitor in ARDS patients. *Thromb Res* 109: 119 – 124.
103. **Ambrus JL, Ambrus CM (1990).** Changes in the fibrinolytic system in infantile and adult respiratory distress syndrome (ARDS), caused by trauma and/or septic shock in patients and experimental animals. *J Med* 21: 67 – 84.
104. **Fourrier F, Chopin C, Goudemand J, Hendrycx S, Caron C, Rime A, Marey A, Lestavel P (1992).** Septic shock, multiple organ failure, and disseminated intravascular coagulation. Compared patterns of antithrombin III, protein C, and protein S deficiencies. *Chest* 101: 816 – 823.
105. **Owings JT, Bagley M, Gosselin R, Romac D, Disbrow E (1996).** Effect of critical injury on plasma antithrombin activity: low antithrombin levels are associated with thromboembolic complications. *J Trauma* 41: 396 – 405.
106. **Ware LB, Fang X, Matthay MA (2003).** Protein C and thrombomodulin in human acute lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 285: L514 – L521.
107. **Kobayashi H, Gabazza EC, Taguchi O, Wada H, Takeya H, Nishioka J, Yasui H, Kobayashi T, Hataji O, Suzuki K, Adachi Y (1998).** Protein C anticoagulant system in patients with interstitial lung diseases. *Am J Respir Crit Care Med* 157: 1850 – 1854.
108. **Yasui H, Gabazza EC, Taguchi O, Risteli J, Risteli L, Wada H, Yuda H, Kobayashi T, Kobayashi H, Suzuki K, Adachi Y (2000).** Decreased protein C activation is associated with abnormal collagen turnover in the intraalveolar space of patients with interstitial lung disease. *Clin Appl Thromb Hemost* 6: 202 – 205.
109. **de Moerloose P, De Benedetti E, Nicod L, Vifian C, Reber G (1992).** Procoagulant activity in bronchoalveolar lavage fluids: No relationship with tissue factor pathway inhibitor activity. *Thromb Res* 65: 507 – 518.

110. **Yasui H, Gabazza EC, Tamaki S, Kobayashi T, Hataji O, Yuda H, Shimizu S, Suzuki K, Adachi Y, Taguchi O (2001).** Intratracheal administration of activated protein C inhibits bleomycin-induced lung fibrosis in the mouse. *Am J Respir Crit Care Med* 163: 1660 – 1668.
111. **Sisson TH, Hattori N, Xu Y, Simon RH (1999).** Treatment of bleomycin-induced pulmonary fibrosis by transfer of urokinase-type plasminogen activator genes. *Hum Gene Ther* 10: 2315 – 2323.
112. **Hart DA, Whidden P, Green F, Henkin J, Woods DE (1994).** Partial reversal of established bleomycin-induced pulmonary fibrosis by rh-urokinase in a rat model. *Clin Invest Med* 17: 69 – 76.
113. **Howell DC, Goldsack NR, Marshall RP, McAnulty RJ, Starke R, Purdy G, Laurent GJ, Chambers RC (2001).** Direct thrombin inhibition reduces lung collagen accumulation and connective tissue growth factor mRNA levels in bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *Am J Pathol* 159: 1383 – 1395.
114. **Piguet PF, Van GY, Guo J (1996).** Heparin attenuates bleomycin but not silica-induced pulmonary fibrosis in mice: possible relationship with involvement of myofibroblasts in bleomycin and fibroblasts in silica-induced fibrosis. *Int J Exp Pathol* 77: 155 – 161.
115. **Guenther A, Luebcke N, Ermert M, Schermuly RT, Weissmann N, Breithecker A, Markart P, Ruppert C, Quantz K, Ermert L, Grimminger F, Seeger W (2003).** Prevention of bleomycin-induced lung fibrosis by aerosolization of heparin or urokinase in rabbits. *Am J Respir Crit Care Med* 168: 1358 – 1365.
116. **Meier-Sydow J, Rust M, Kronenberger H, Thiel C, Amthor M, Riemann H (1979).** Long-term follow-up of lung function parameters in patients with idiopathic pulmonary fibrosis treated with prednisone and azathioprine or D-penicillamine. *Prax Klin Pneumol* 33: 680 – 688.
117. **Raghu G, Depaso WJ, Cain K, Hammar SP, Wetzel CE, Dreis DF, Hutchinson J, Pardee NE, Winterbauer RH (1991).** Azathioprine combined with prednisone in the treatment of idiopathic pulmonary fibrosis: a prospective, double-blind randomised, placebo-controlled clinical trial. *Am Rev Respir Dis* 144: 291 – 296.
118. **Mapel DW, Samet JM, Coultas DB (1996).** Corticosteroids and the treatment of idiopathic pulmonary fibrosis: past, present, and future. *Chest* 110: 1058 – 1067.
119. **Rudd RM, Haslam PL, Turner-Warwick M (1981).** Cryptogenic fibrosing alveolitis relationships of pulmonary physiology and bronchoalveolar lavage to treatment and prognosis. *Am Rev Respir Dis* 124: 1 – 8.
120. **Carrington CB, Gaensler EA, Coutu RE, et al (1978).** Natural history and treated course of usual and desquamative interstitial pneumonia. *N Engl J Med* 298: 801 – 809.

121. **Wright PH, Heard BE, Steel SJ, et al (1981).** Cryptogenic fibrosing alveolitis: assessment by graded trephine lung biopsy histology compared with clinical, radiographic, and physiological features. *Br J Dis Chest* 75: 61 – 70.
122. **Gunther A, Markart P, Eickelberg O, Seeger W (2006).** Pulmonary fibrosis - a therapeutic dilemma? *Med Klin (Munich)* 101: 308 – 312.
123. **Behr J, Maier K, Degenkolb B, Krombach F, Vogelmeier C (1997).** Antioxidative and clinical effects of high-dose N-Acetylcysteine in fibrosing alveolitis. Adjunctive therapy to maintenance immunosuppression. *Am J Respir Crit Care Med* 156: 1897 – 1901.
124. **Behr J, Degenkolb B, Krombach F, Vogelmeier C (2002).** Intracellular glutathione and bronchoalveolar cells in fibrosing alveolitis: effects of N-acetylcysteine. *Eur Respir J* 19: 906 – 911.
125. **Demedts M, Behr J, Buhl R, Costabel U, Dekhuijzen R, Jansen HM, MacNee W, Thomeer M, Wallaert B, Laurent F, Nicholson AG, Verbeken EK, Verschakelen J, Flower CD, Capron F, Petruzzelli S, De Vuyst P, van den Bosch JM, Rodriguez-Becerra E, Corvasce G, Lankhorst I, Sardina M, Montanari M; IFIGENIA Study Group (2005).** High-dose acetylcysteine in idiopathic pulmonary fibrosis. *N Engl J Med* 353: 2229 – 2242.
126. **Ziesche R, Hofbauer E, Wittmann K, Petkov V, Block LH (1999).** A preliminary study of long-term treatment with interferon γ -1b and low-dose prednisolone in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *N Engl J Med* 341: 1264 – 1269.
127. **Raghu G, Brown KK, Bradford WZ, Starko K, Noble PW, Schwartz DA, King TE Jr; Idiopathic Pulmonary Fibrosis Study Group (2004).** A placebo-controlled trial of interferon γ -1b in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *N Engl J Med* 350: 125 – 133.
128. **Margolin SB, Lefkowitz S (1994).** Pirfenidone: a novel pharmacologic agent for prevention and resolution of lung fibrosis. *FASEB J* 8: A382.
129. **Iyer SN, Gurujeyalakshmi G, Giri SN (1999).** Effects of pirfenidone on transforming growth factor- β gene expression at the transcriptional level in bleomycin hamster model of lung fibrosis. *J Pharmacol Exp Ther* 291: 367 – 373.
130. **Azuma A, Nukiwa T, Tsuboi E, Suga M, Abe S, Nakata K, Taguchi Y, Nagai S, Itoh H, Ohi M, Sato A, Kudoh S (2005).** Double-blind, placebo-controlled trial of pirfenidone in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 171: 1040 – 1047.

131. **Gunther A , Enke B, Markart P, Hammerl P, Morr H, Behr J, Stahler G, Seeger W, Grimminger F, Leconte I, Roux S, Ghofrani HA (2007).** Safety and tolerability of bosentan in Idiopathic Pulmonary Fibrosis: an open label study. *Eur Respir J* 29: 713 – 719.
132. **King TE Jr, Behr J, Brown KK, du Bois RM, Lancaster L, de Andrade JA, Stähler G, Leconte I, Roux S, Raghu G (2008).** BUILD-1: a randomized placebo-controlled trial of bosentan in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 177 (1): 75 – 81.
133. **Kubo H, Nakayama K, Yanai M, Suzuki T, Yamaya M, Watanabe M, Sasaki H (2005).** Anticoagulant therapy for idiopathic pulmonary fibrosis. *Chest* 128: 1475 – 1482.
134. **Karch FE, Lasagna L (1975).** Adverse drug reactions. A critical review. *JAMA* 234: 1236 – 1241.
135. **Quanjer PH, Tammeling GJ, Cotes JE, Pedersen OF, Peslin R, Yernault JC (1993).** Lung volumes and forced ventilatory flows. Report working party. Standardization of lung function tests, European community for steel and coal. Official statement of the European Respiratory Society. *Eur Respir J Suppl* 16: 5 – 40.
136. **Guyatt GH, Sullivan MJ, Thompson PJ, Fallen EL, Pugsley SO, Taylor DW, Berman LB (1985).** The 6-minute walk: a new measure of exercise capacity in patients with chronic heart failure. *Can Med Assoc J* 132: 919 – 923.
137. **Borg GA (1982).** Psychophysical bases of perceived exertion. *Med Sci Sports Exerc* 14: 377 – 381.
138. **Greiner W, Claes C, Buschbach JJV, Graf von der Schulenburg JM (2005).** Validating the EQ-5D with time trade off for the German population. *Eur J Health Econ* 6: 124 – 130.
139. **Scheuch G, Brand P, Meyer T, Herpich C, Müllinger B, Brom J, Weidinger G, Kohlhäufel M, Häussinger K, Spannagl M, Schramm W, Siekmeier R (2007).** Anticoagulative effects of the inhaled low molecular weight heparin certoparin in healthy subjects. *J Physiol Pharmacol.* 58 Suppl 5: 603 – 614.
140. **Brand P, Beckmann H, Maas Enriquez M, Meyer T, Müllinger B, Sommerer K, Weber N, Weuthen T, Scheuch G (2003).** Peripheral deposition of α 1-protease inhibitor using commercial inhalation devices. *Eur Respir J* 22: 263 – 267.
141. **Griese M, Ramakers J, Krasselt A, Starosta V, van Koningsbruggen S, Fischer R, Ratjen F, Müllinger B, Huber RM, Maier K, Rietschel E, Scheuch G (2004).** Improvement of alveolar glutathione and lung function but not oxidative state in cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 169: 822 – 828.

142. **Gould MK, Dembitzer AD, Doyle RL, Hastie TJ, Garber AM (1999).** Low-molecular-weight heparins compared with unfractionated heparin for treatment of acute deep venous thrombosis. A meta-analysis of randomized controlled trials. *Ann Intern Med* 130: 800 – 809.
143. **Quinlan DJ, McQuillan A, Eikelboom JW (2004).** Low-Molecular-Weight Heparin Compared with Intravenous Unfractionated Heparin for Treatment of Pulmonary Embolism. A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Ann Intern Med* 140: 175 – 183.
144. **Hellgren M, Hägnevik K, Blombäck M (1981).** Heparin aerosol – effect on blood coagulation and pulmonary function. *Thromb Res* 21: 493 – 502.
145. **Harenberg J, Malsch R, Angelescu M, Lange C, Michaelis HC, Wolf H, Heene DL (1996).** Anticoagulant effects and tissue factor pathway inhibitor after intrapulmonary low-molecular weight heparin. *Blood Coagul Fibrinolysis* 7: 477 – 483.
146. **Jaques LB, Mahadoo J, Kavanagh LW (1976).** Intrapulmonary heparin. A new procedure for anticoagulant therapy. *Lancet* 2: 1157 – 1161.
147. **Bendstrup KE, Chambers CB, Jensen JI, Newhouse MT (1999).** Lung deposition and clearance of inhaled (99m)Tc-heparin in healthy volunteers. *Am J Respir Crit Care Med* 160: 1653 – 1658.
148. **Bendstrup KE, Gram J, Jensen JI (2002).** Effect of inhaled heparin on lung function and coagulation in healthy volunteers. *Eur Respir J* 19: 606 – 610.
149. **Diamant Z, Timmers MC, van der Veen H, Page CP, van der Meer FJ, Sterk PJ (1996).** Effect of inhaled heparin on allergen-induced early and late asthmatic responses in patients with atopic asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 153: 1790 – 1795.
150. **Garrigo J, Danta I, Ahmed T (1996).** Time course of the protective effect of inhaled heparin on exercise-induced asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 153: 1702 – 1707.
151. **Ahmed T, Garrigo J, Danta I (1993).** Preventing bronchoconstriction in exercise-induced asthma with inhaled heparin. *N Engl J Med* 329: 90 – 95.
152. **Youngchaiyud P, Kettel LJ, Cugell DW (1969).** The effect of heparin aerosols on airway conductance in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am Rev Respir Dis* 99: 449 – 452.
153. **Yasui H, Gabazza EC, Tamaki S, Kobayashi T, Hataji O, Yuda H, Shimizu S, Suzuki K, Adachi Y, Taguchi O (2001).** Intratracheal administration of activated protein C inhibits bleomycin-induced lung fibrosis in the mouse. *Am J Respir Crit Care Med* 163: 1660 – 1668.

154. **Tani K, Ogushi F, Takahashi H, Kawano T, Endo T, Sone S (1997).** Thrombin stimulates platelet-derived growth factor release by alveolar macrophages- significance in bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *J Med Invest* 44: 59 – 65.
155. **Pendurthi UR, Allen KE, Ezban M, Rao LV (2000).** Factor VIIa and thrombin induce the expression of Cyr61 and connective tissue growth factor extracellular matrix signaling proteins that could act as possible downstream mediators in factor VIIa x tissue factor-induced signal transduction. *J Biol Chem* 275: 14632 – 14641.
156. **Matzner Y, Marx G, Drexler R, Eldor A (1984).** The inhibitory effect of heparin and related glycosaminoglycans on neutrophil chemotaxis. *Thromb Haemost* 52: 134 – 137.
157. **Sasaki M, Kashima M, Ito T, Watanabe A, Sano M, Kagaya M, Shioya T, Miura M (2000).** Effect of heparin and related glycosaminoglycan on PDGF-induced lung fibroblast proliferation chemotactic response and matrix metalloproteinases activity. *Mediators Inflamm* 9: 85 – 91.
158. **Ishihara M, Shklee PN, Yang Z, Liang W, Wie Z, Stack RJ, Holme K (1994).** Structural features in heparin which modulate specific biological activities mediated by basic fibroblast growth factor *Glycobiology* 4: 451 – 458.
159. **Glusa E, Pindur G, Wenzel E (2001):** Pharmakologie der Hämostase: Antithrombotische und blutstillende Therapie. In: Forth W, Henschler D, Rummel W, Förstermann U, Starke K (Hrsg.): Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie; 8. Auflage. *Urban und Fischer, München Jena*, 555 – 592.

KAPITEL 7

Anhang

Tabelle 7.1: Zahlen-Codes des EQ-5D- Bogens für die Ermittlung des „popular preference value health index“ (evaluiert an der deutschen Population); Tabelle modifiziert nach [138]

Gesundheitsstatus	Index-Wert	Gesundheitsstatus	Index-Wert	Gesundheitsstatus	Index-Wert
11111	1.000	12132	0.274	13223	0.325
11112	0.999	12133	0.209	13231	0.187
11113	0.611	12211	0.912	13232	0.187
11121	0.887	12212	0.912	13233	0.122
11122	0.887	12213	0.524	13311	0.502
11123	0.499	12221	0.800	13312	0.502
11131	0.361	12222	0.800	13313	0.437
11132	0.361	12223	0.412	13321	0.390
11133	0.296	12231	0.274	13322	0.390
11211	0.999	12232	0.274	13323	0.325
11212	0.999	12233	0.209	13331	0.187
11213	0.611	12311	0.589	13332	0.187
11221	0.887	12312	0.589	13333	0.122
11222	0.887	12313	0.524	21111	0.900
11223	0.499	12321	0.477	21112	0.900
11231	0.361	12322	0.477	21113	0.512
11232	0.361	12323	0.412	21121	0.788
11233	0.296	12331	0.274	21122	0.788
11311	0.676	12332	0.274	21123	0.400
11312	0.676	12333	0.209	21131	0.262
11313	0.611	13111	0.502	21132	0.262
11321	0.564	13112	0.502	21133	0.197
11322	0.564	13113	0.437	21211	0.900
11323	0.499	13121	0.390	21212	0.900
11331	0.361	13122	0.390	21213	0.512
11332	0.361	13123	0.325	21221	0.788
11333	0.296	13131	0.187	21222	0.788
12111	0.912	13132	0.187	21223	0.400
12112	0.912	13133	0.122	21231	0.262
12113	0.524	13211	0.502	21232	0.262
12121	0.800	13212	0.502	21233	0.197
12122	0.800	13213	0.437	21311	0.577
12123	0.412	13221	0.390	21312	0.577
12131	0.274	13222	0.390	21313	0.512

Fortsetzung der Tabelle auf der nächsten Seite

Fortsetzung der *Tabelle 7.1*

Gesundheits- status	Index- Wert	Gesundheits- status	Index- Wert	Gesundheits- status	Index- Wert
21321	0.465	23223	0.226	32132	-0.053
21322	0.465	23231	0.088	32133	-0.118
21323	0.400	23232	0.088	32211	0.262
21331	0.262	23233	0.023	32212	0.262
21332	0.262	23311	0.403	32213	0.197
21333	0.197	23312	0.403	32221	0.150
22111	0.813	23313	0.338	32222	0.150
22112	0.813	23321	0.291	32223	0.085
22113	0.425	23322	0.291	32231	-0.053
22121	0.701	23323	0.226	32232	-0.053
22122	0.701	23331	0.088	32233	-0.118
22123	0.313	23332	0.088	32311	0.262
22131	0.175	23333	0.023	32312	0.262
22132	0.175	31111	0.349	32313	0.197
22133	0.110	31112	0.349	32321	0.150
22211	0.813	31113	0.284	32322	0.150
22212	0.813	31121	0.237	32323	0.085
22213	0.425	31122	0.237	32331	-0.053
22221	0.701	31123	0.172	32332	-0.053
22222	0.701	31131	0.034	32333	-0.118
22223	0.313	31132	0.034	33111	0.175
22231	0.175	31133	-0.031	33112	0.175
22232	0.175	31211	0.349	33113	0.110
22233	0.110	31212	0.349	33121	0.063
22311	0.490	31213	0.284	33122	0.063
22312	0.490	31221	0.237	33123	-0.002
22313	0.425	31222	0.237	33131	-0.140
22321	0.378	31223	0.172	33132	-0.140
22322	0.378	31231	0.034	33133	-0.205
22323	0.313	31232	0.034	33211	0.175
22331	0.175	31233	-0.031	33212	0.175
22332	0.175	31311	0.349	33213	0.110
22333	0.110	31312	0.349	33221	0.063
23111	0.403	31313	0.284	33222	0.063
23112	0.403	31321	0.237	33223	-0.002
23113	0.338	31322	0.237	33231	-0.140
23121	0.291	31323	0.172	33232	-0.140
23122	0.291	31331	0.034	33233	-0.205
23123	0.226	31332	0.034	33311	0.175
23131	0.088	31333	-0.031	33312	0.175
23132	0.088	32111	0.262	33313	0.110
23133	0.023	32112	0.262	33321	0.063
23211	0.403	32113	0.197	33322	0.063
23212	0.403	32121	0.150	33323	-0.002
23213	0.338	32122	0.150	33331	-0.140
23221	0.291	32123	0.085	33332	-0.140
23222	0.291	32131	-0.053	33333	-0.205

Tabelle 7.2: Berechnung des Indexes des Gesundheitsstatus mit ausgewähltem Beispiel (Tabelle modifiziert nach [138])

Werte für die Berechnung des Index (gültig für Deutschland)		Beispiel für die Errechnung des Indexes des Gesundheitsstatus 21232	
Voller Gesundheitsstatus (Code = 11111)	= 1,000	Voller Gesundheitsstatus	= 1,000
Mindestens eine 2 oder eine 3 im Code enthalten	- 0.001	Mindestens eine 2 oder eine 3 ist im Code enthalten	- 0.001
Mindestens eine 3 im Code enthalten (N3)	- 0.323	Mindestens eine 3 ist im Code enthalten (N3)	- 0.323
Beweglichkeit = 2	- 0.099	Beweglichkeit = 2	- 0.099
Beweglichkeit = 3	- 0.327		
Selbstversorgung = 2	- 0.087	Selbstversorgung = 1	- 0.000
Selbstversorgung = 3	- 0.174		
Gewohnte Aktivitäten = 2	-	Gewohnte Aktivitäten = 2	-
Gewohnte Aktivitäten = 3	-		
Schmerzen/ Unbehagen = 2	- 0.112	Schmerzen/ Unbehagen = 3	- 0.315
Schmerzen/ Unbehagen = 3	- 0.315		
Angst/Depression = 2	-	Angst/Depression = 2	-
Angst/Depression = 3	- 0.065		
		Index-Wert	= 0.262

Dargestellt wird die Ermittlung des Index-Wertes anhand des Codes, welcher den Gesundheitsstatus angibt. Der Index ergibt sich anhand der von der EuroQol-Group festgelegter Rechenkriterien.

Danksagung

Mein Dank gilt in erster Linie Herrn Professor Dr. W. Seeger und Herrn Professor Dr. A. Günther für die Überlassung des Promotionsthemas und für die Betreuung während meiner Tätigkeit als Doktorand.

Besonders danken möchte ich Herrn Professor Dr. A. Günther für seine intensive und kompetente Betreuung, für seine Ideen und Anregungen, seine stets vorhandene Hilfsbereitschaft und Geduld.

Außerdem danke ich Herrn PD Dr. P. Markart, welcher mir in seiner guten Zusammenarbeit mit Herrn Professor Dr. A. Günther ebenfalls mit vielen Ideen und Anregungen sowie in der Gestaltung der Arbeit hilfreich zur Seite stehen konnte.

Einen herzlichen Dank an alle Patientinnen und Patienten der Ambulanz für fibrosierende Lungenerkrankungen an der Justus-Liebig-Universität Gießen, welche bereitwillig und motiviert an den Untersuchungen teilgenommen haben, sowie den studentischen, ärztlichen und pflegerischen Mitarbeitern der Ambulanz für fibrosierende Lungenerkrankungen für ihre kollegiale Mithilfe.

Mein besonderer Dank gilt auch der unerwartet und frühzeitig verstorbenen Frau K. Endres für die organisatorische Mitarbeit. Weiterhin bin ich Frau S. Heinemann, Herrn L. Hundack und Frau P. Hoffmann für ihre Hilfe bei der optimalen Betreuung der Patienten, für ihre tatkräftige Unterstützung der Arbeit und für die sehr angenehme Arbeitsatmosphäre dankbar.

Ein ganz besonders großer Dank geht an Sandra Schöne, die mich jederzeit tatkräftig motiviert und mit viel Liebe unterstützt hat.

Nicht zuletzt danke ich Herrn Dr. R.-H. Bödeker und Frau C. Scheibelhut für die statistische Verarbeitung der Datensammlung, deren Geduld, Ideen, Hilfsbereitschaft und Mühen, welche einen wesentlichen Teil zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.