

Aus der Kinder- und Jugendklinik der Universitätsmedizin Rostock und
der Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Venerologie
der Universitätsmedizin Rostock

Lung Clearance Index als Früherkennungsparameter von Lungenfunktionseinschränkungen bei Patienten unter Therapie mit Immun-Checkpoint-Inhibitoren - eine Pilotstudie

Inauguraldissertation zur Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Medizin (Dr. med.) der Universitätsmedizin Rostock

Maya-Leonie Camilla Steinbach, geb. 08. Juli 1996 in Freiburg im Breisgau
Einreichung: 14.11.2024, Verteidigung: 05.11.2025

Prof. Dr. Manfred Ballmann, Kinder- und Jugendklinik, Universitätsmedizin Rostock
Prof. Dr. Julia Tietze, Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Venerologie, Universitätsmedizin Rostock
Prof. Dr. Mirjam Stahl, Klinik für Pädiatrie, Charité Berlin

INHALTSVERZEICHNIS

I.	EINLEITUNG	1
1.1	KREBSERKRANKUNGEN DER HAUT	1
1.2	ICI-THERAPIE	2
1.3	WIRKUNG DER PD-1-INHIBITOREN / CTLA-4-INHIBITION	3
1.4	NEBENWIRKUNGEN DER ICI-THERAPIE.....	4
1.5	LUNGENSPEZIFISCHE NEBENWIRKUNGEN DER ICI-THERAPIE	7
1.6	LCI UND LUNGENFUNKTIONSUNTERSUCHUNG	8
II.	ZIELE.....	9
III.	MATERIAL UND METHODEN	10
3.1	STUDIENDESIGN UND ETHIKANTRAG	10
3.2	SETTING	11
3.3	LUNGENFUNKTIONSUNTERSUCHUNG.....	11
3.3.1	MULTIPLE BREATH WASHOUT	12
3.3.2	SPIROMETRIE.....	13
3.3.3	DIFFUSIONSKAPAZITÄT FÜR KOHLENMONOXID	14
3.4	DATENVERARBEITUNG UND -AUSWERTUNG	16
IV.	ERGEBNISSE.....	17
4.1	STUDIENPOPULATION	17
4.2	ANTHROPOMETRISCHE UND KLINISCHE DATEN	18
4.3	PULMONALE NEBENWIRKUNGEN	19
4.4	LUNGENFUNKTION VON ICI-PATIENTEN UND KONTROLLEN.....	19
4.5	LCI-WERTE FÜR POPULATIONEN IM ALTER ÜBER 65 JAHREN.....	22
4.6	LCI UNTER VERSCHIEDENER DAUER DER ICI-THERAPIE	24
V.	DISKUSSION.....	25
5.1	VERÄNDERUNGEN DER LUNGENFUNKTION	25
5.1.1	FEF25-75%	25
5.1.2	LCI.....	26
5.1.3	DLCO	27

5.2	GRENZEN DER ARBEIT.....	27
5.3	AUSBLICK	28
VI.	ZUSAMMENFASSUNG UND SCHLUSSFOLGERUNGEN	30
VII.	HYPOTHESEN.....	31
VIII.	LITERATURVERZEICHNIS.....	32
IX.	ANHANG	39
X.	DANKSAGUNGEN	45

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1: Prozentualer Anteil der häufigsten Tumorlokalisationen an allen Krebsneuerkrankungen in Deutschland 2020. Nach Erdmann, F. et al., 2021, (1).....	1
Abbildung 2: Immun-Checkpoints regulieren verschiedene Komponenten der Immunantwort. a) CTLA-4 fängt die eigentliche costimulatorische Wirkung von CD28 bei der initialen Immunantwort ab. b) Die PD-1 Wirkung hingegen betrifft vor allem die Immunregulation im peripheren Gewebe und Tumorgewebe, die herunterreguliert wird, sofern keine PD-1-Inhibition erfolgt. Nach Pardoll. D., 2012, (19)	4
Abbildung 3: Mögliche Mechanismen der Entstehung von irAEs unter ICI-Therapie. Nach Postow et al., 2018, (21).....	5
Abbildung 4: ICI-Therapie kann zu unerwünschten Nebenwirkungen jeden Organs führen. Dargestellt sind die häufig dokumentierten unerwünschten Nebenwirkungen unter ICI-Therapie. Nach Postow et al., 2018, (21).	6
Abbildung 5: Schematische Darstellung eines Patienten während der LuFu.	11
Abbildung 6: Bildschirm des verwendeten Geräts. In grün links ist die Kurve der Messung dargestellt, die grünen Balken rechts stellen die abnehmende N ₂ Konzentration bis auf unter 2,5% der Ausgangskonzentration dar. Aus: User Manual des EasyOne ProLab® (ndd Medical Technologies, Zürich, Schweiz), Version V04b, abgerufen 14.07.2024.	12
Abbildung 7: Atemmanöver einer standardisierten Spirometrie.....	14
Abbildung 8: Darstellung einer DLCO-Messung als Volumen-Zeit-Kurve.....	15
Abbildung 9: Auswahl der Studienpopulation.....	17
Abbildung 10: LCI-Werte in Populationen über 65 Jahren. (a) Der LCI in der lungengesunden Population im Alter von 65 bis 88 Jahren. (B) LCI-Werte im Vergleich zwischen ICI-Patienten und lungengesunden Kontrollen im Alter von über 65 Jahren. ns nicht signifikant.....	20
Abbildung 11: Ergebnisse der Lungenfunktionsmessung. Jedes Symbol kennzeichnet einen gemessenen ICI-Patienten (blau) und eine lungengesunde Kontrolle (gelb) im Vergleich für LCI-Werte (a) und Werte der FEF _{25-75%} (b). ns nicht signifikant, * signifikant.....	20
Abbildung 12: LCI-Werte bei Patienten, die ihre ICI-Therapie seit über fünf Monaten erhalten, im Vergleich zu ICI-Patienten, die seit weniger als fünf Monaten behandelt werden, sowie im Vergleich zu lungengesunden Kontrollen. * signifikant.	24

TABELLENVERZEICHNIS

TABELLE 1: LANGZEIT-TREND DER MELANOM-BEZOGENEN STERBLICHKEITSRATE IN DEN USA, 1975-2022, NATIONAL CENTER FOR HEALTH STATISTICS, CDC (8).....	2
TABELLE 2: DEMOGRAFISCHE DATEN, THERAPIEDETAILS UND WERTE DER LUNGENFUNKTIONSUNTERSUCHUNGEN.....	18
TABELLE 3: LUNGENFUNKTIONSWERTE VON ICI-PATIENTEN UND KONTROLLEN	19

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

AJCC	American Joint Committee on Cancer
AK.....	Antikörper
ATS	American Thoracic Society
CEV	cumulative expired volume
CF.....	zystische Fibrose
COPD	chronic obstructive pulmonary disease
CRP.....	c-reaktives Protein
CT.....	Computertomographie
CTLA-4	cytotoxic T-lymphocyte-associated Protein 4
DLCO	Diffusionskapazität für Kohlenmonoxid
ECOG.....	Eastern Cooperative Oncology Group
ERS	European Respiratory Society
FDA	Food and Drug Administration
FEF25-75%	forcierter expiratorischer Fluss zwischen 25-75% der FVC
FEV1	Einsekundenkapazität
FEV1/FVC	Tiffeneau-Index
FRC.....	funktionelle Residualkapazität
FVC	forcierte Vitalkapazität
ICIs	Immun-Checkpoint-Inhibitoren
ICI-Therapie	Immun-Checkpoint-Inhibitor-Therapie
ILD.....	interstitial lung disease
irAE.....	immune-related Adverse Event
LCI.....	Lung Clearance Index
LDH	Laktatdehydrogenase
LuFu	Lungenfunktionsuntersuchung
MBW.....	Multiple Breath Washout
PD1	Programmed-death-1

I. EINLEITUNG

1.1 KREBSERKRANKUNGEN DER HAUT

Die malignen Krebserkrankungen der Haut untergliedern sich in schwarzen Hautkrebs (malignes Melanom) und hellen, nicht-melanotischen Hautkrebs (Basalzellkarzinom und Plattenepithelkarzinom) (1).

Das maligne Melanom der Haut befindet sich, unter den gesamten Krebsneuerkrankungen in Deutschland, in seiner Auftretenshäufigkeit an vierter Stelle bei Frauen, an fünfter bei Männern (Abbildung 1).

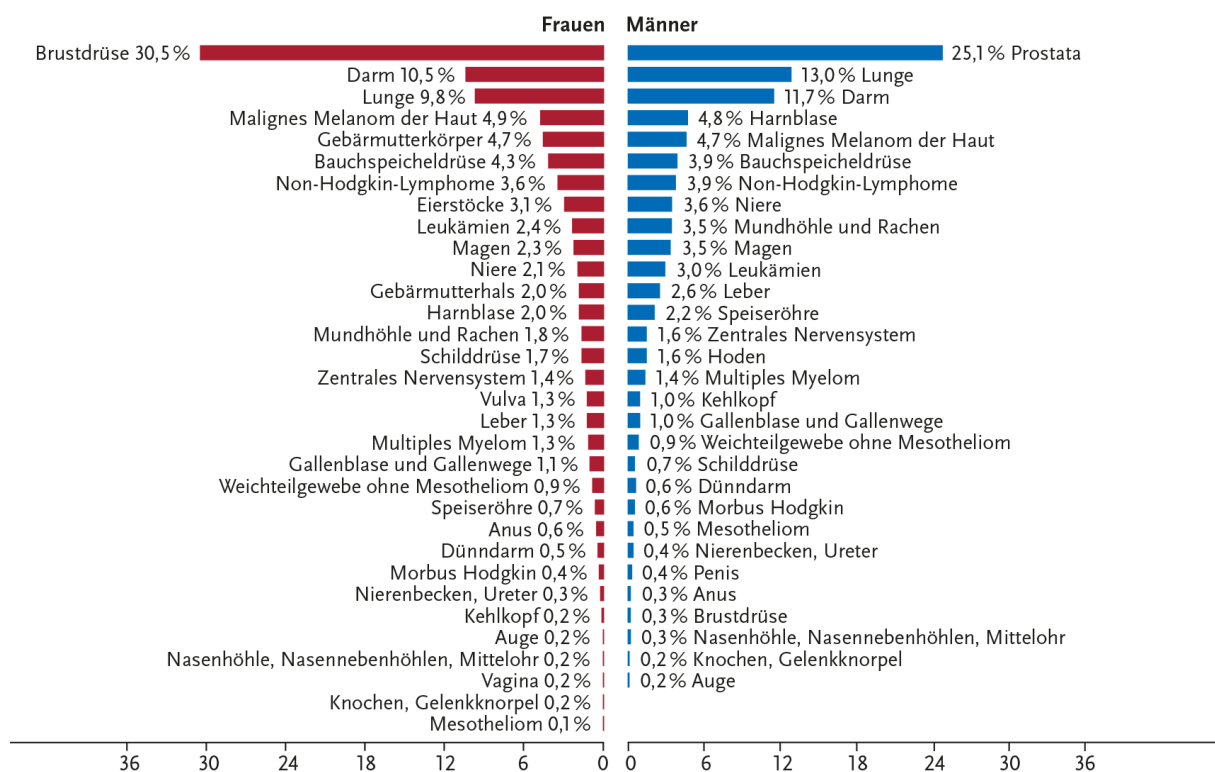


Abbildung 1: Prozentualer Anteil der häufigsten Tumorlokalisationen an allen Krebsneuerkrankungen in Deutschland 2020. Nach Erdmann, F. et al., 2021, (1)

Ultraviolettes Licht stellt den wichtigsten exogenen Risikofaktor dar, aber auch ein heller Hauttyp oder familiär vorhandene Mutationen können das Risiko an Hautkrebs zu erkranken erhöhen. Seit dem Jahr 2008 wird die Früherkennungsuntersuchung auf Hautkrebs auch von den gesetzlichen Krankenkassen abgedeckt. Das maligne Melanom wird nach AJCC in vier Stadien eingeteilt, wobei ab Stadium III ein Lymphknotenbefall vorliegt, in Stadium IV eine Fernmetastasierung, meist in Haut, Leber, Skelett, zentralem Nervensystem und Lunge (2). Nach

erfolgter Primärdiagnostik und Stadien abhängiger Ausbreitungsdiagnostik wird eine operative Entfernung des Primärtumors angestrebt. In den metastasierten Stadien werden als (adjuvante) Therapie bei vorhandener Mutation im BRAF-Gen Signaltransduktionsinhibitoren wie BRAF- oder MEK-Inhibitoren eingesetzt. Unabhängig vom Mutationsstatus kann eine Therapie mit Immun-Checkpoint-Inhibitoren (ICIs) indiziert sein. In niedrigen Stadien sind die Überlebensraten mit bis zu 95% nach 20 Jahren sehr hoch (3). In fortgeschrittenen Stadien hingegen liegen die 5-Jahresüberlebensraten je nach Therapie bei 26-52 % (4,5). Jedoch stellt dies eine enorme Verbesserung der Überlebenswahrscheinlichkeit im Vergleich zu den letzten Jahrzehnten dar (6). Es konnte ein relevanter Abfall der Sterblichkeitsraten von Melanompatienten in der US-amerikanischen Bevölkerung ab Zulassung (2013) der meisten neuen immunmodulierenden oder signaltransduktionshemmenden Medikamente gezeigt werden. Während die Melanom-bezogene Sterblichkeitsrate in der untersuchten Patientengruppe bis 2013 anstieg oder stabil blieb, fällt sie folgend zum ersten Mal im gemessenen Zeitraum seit 1975 ab (7)

Tabelle 1: Langzeit-Trend der Melanom-bezogenen Sterblichkeitsrate in den USA, 1975-2022, National Center for Health Statistics, CDC (8)

Zeitraum (Jahre)	APC (%; 95% CI)	p-Wert	Interpretation
1975 - 1988	1,64 (1,32 bis 2,01)	<0,001	steigend
1988 - 2013	0,02 (-0,08 bis 0,12)	0,68	stabil
2013 - 2017	-6,07 (-7,46 bis -4,61)	<0,001	fallend
2017 - 2022	-1,36 (-2,28 bis 0,28)	0,08	Keine statistisch signifikante Veränderung

APC annual percent change

1.2 ICI-THERAPIE

Beginnend mit der Entwicklung monoklonaler Antikörper 1975 durch Köhler et al. kommen biologische Therapeutika (Biologika) zur Beeinflussung der Immunantwort zunehmend auf den Markt. Die Biologika werden als Therapie (auto)-immunologischer Erkrankungen, aber auch zur Tumorthherapie eingesetzt (9). Biologika umfassen eine Gruppe natürlicher Proteine wie monoklonale Antikörper, Zytokine und Fusionsproteine. Als Antikörper können sie sehr zielgerichtet an krebsspezifische Antigene binden (10).

In der letzten Dekade hat sich der Einsatz von ICIs als medikamentöse Therapie des malignen Melanoms und auch Plattenepithelkarzinoms in fortgeschrittenen Stadien (III und IV) etabliert.

Die Immun-Checkpoint-Inhibitor-Therapie (ICI-Therapie) hat entscheidend das Gesamtüberleben von Patienten mit verschiedenen Tumorentitäten verlängert und stellt einen bedeutenden Fortschritt in der Behandlung bösartiger Tumoren wie dem malignen Melanom dar (11).

In der Tumorimmuntherapie wird über eine Immun-Checkpoint-Blockade durch Antikörper die körpereigene Immunantwort gegen den Tumor verstärkt (12–14). Bei den Medikamenten Nivolumab, Pembrolizumab oder Cemiplimab sind es Antikörper gegen das Transmembranprotein „programmed cell death protein 1“ (PD-1). Diese können als Monotherapie eingesetzt werden, oder auch als Kombination aus Nivolumab und Ipilimumab, wobei Ipilimumab einen Antikörper gegen das Oberflächenprotein „cytotoxic T-Lymphocyte-associated Protein 4“ (CTLA-4) darstellt.

Durch diese Therapie werden an den Immun-Checkpoints die Lymphozyten-regulierenden Signale beeinflusst. Diese Immun-Checkpoints stellen unter physiologischen Bedingungen einen wichtigen Schutzmechanismus vor Autoimmunität dar und schützen das Gewebe bei Ablauf einer regulären Immunantwort unter beispielsweise einer Infektion.

1.3 WIRKUNG DER PD-1-INHIBITOREN / CTLA-4-INHIBITION

Das PD-1-Molekül trägt zur Auslösung des Zelltods bei, indem die Zellen in den Zellzyklusarrest (G0/G1-Phase) übergehen lässt (15). Der PD-1-Rezeptor, der zusammen mit seine Liganden PD-L1 (auch bekannt als B7-H1 oder CD274) und PD-L2 (B7-DC oder CD273) agiert, fungiert als negativer Regulator des Immunsystems. Diese Moleküle können sowohl hoch als auch herunterreguliert werden. (16). Zu den PD-1-Inhibitoren, die in der Krebstherapie eingesetzt werden, gehören der humanisierte monoklonale Antikörper Pembrolizumab sowie die aus humanen Sequenzen entwickelten Antikörper Nivolumab und Cemiplimab. Diese IgG4-AK binden an PD-1-Rezeptoren, die von Antigen-präsentierenden Zellen oder aber auch Tumorzellen exprimiert werden und verhindern die Interaktion des PD-1-Rezeptors mit seinen Liganden PD-L1 und PD-L2 (17). Durch diese Blockade von Immun-Checkpoints wird die Immunantwort des Körpers reaktiviert, was zu einer verstärkten Aktivierung von T-Zellen führt, die gezielt gegen den Tumor arbeiten. Gleichzeitig werden PD-1-exprimierende Tumorzellen gehemmt (18)

Das Protein CTLA-4 kommt auf T-Helferzellen vor und wirkt als Gegenspieler des Proteins CD28, das eine zentrale Rolle bei der Co-Stimulation und Aktivierung von T-Zellen spielt. Aufgrund der höheren Bindungsaffinität von CTLA-4 zu den CD28-Liganden, CD80 und CD86, kann CTLA-4 die Signalübertragung von CD28 blockieren und so die Aktivierung der T-Zellen (19) (Abbildung 2).



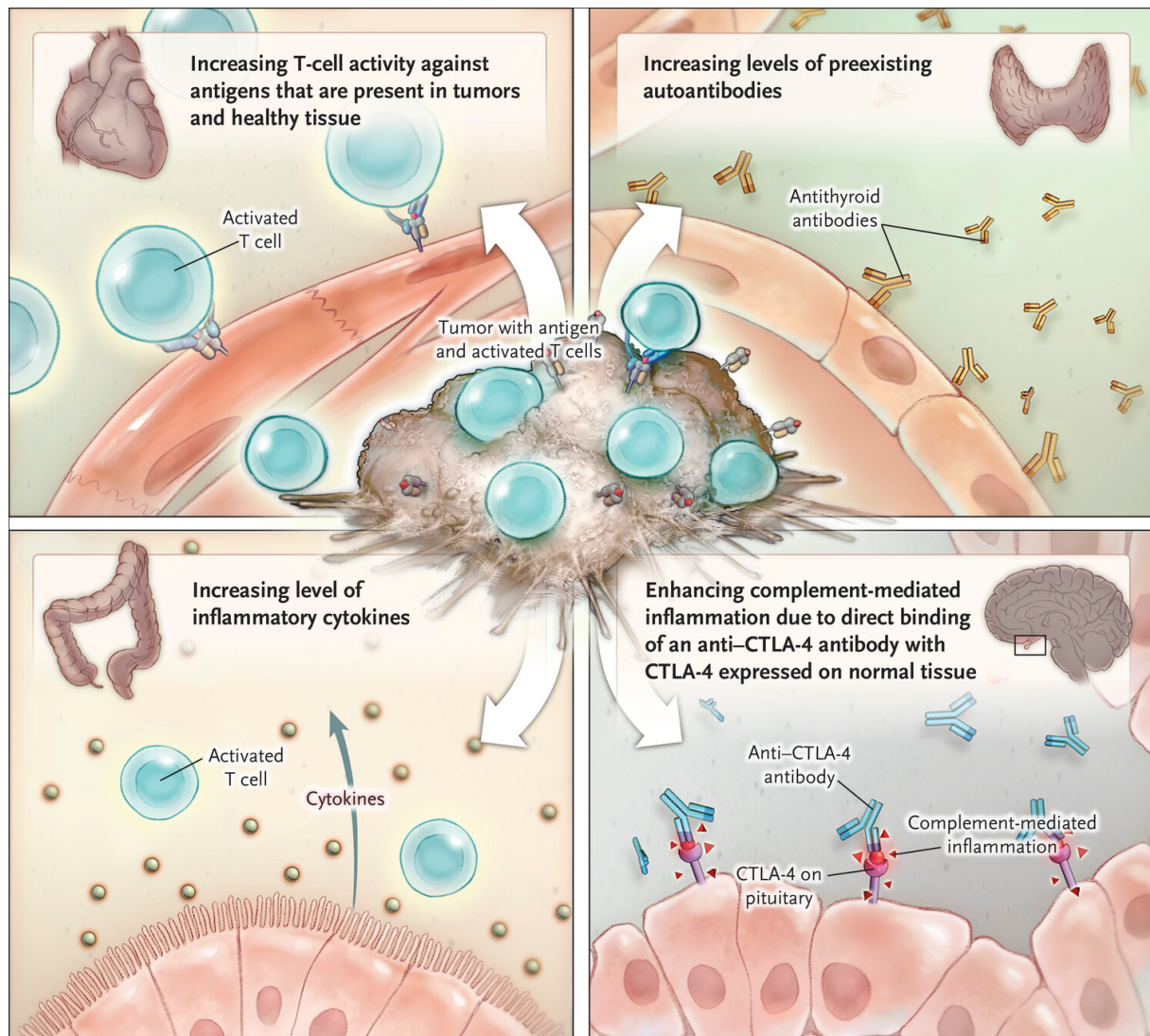


Abbildung 3: Potenzielle Mechanismen der Entstehung von irAEs unter ICI-Therapie.
Nach Postow et al., 2018, (21).

Organspezifische irAEs treten in absteigender Häufigkeit an der Haut, dem Gastrointestinaltrakt, der Leber, den endokrinen Organen, der Lunge, der Niere, dem muskuloskelettalen System, hämatologisch, den Augen, dem Herz oder dem Nervensystem auf (Abbildung 4).

Die irAEs der Haut sind mit bis zu 62% am häufigsten vertreten, treten aber meist in milderer Form auf mit Symptomen wie Juckreiz oder Entwicklung eines Hautausschlags oder einer Dermatitis. Diese irAEs können mit topischen Steroiden behandelt werden und führen in milder Form nicht zu einem ICI-Therapieabbruch (21).

Unter Kombinationstherapie treten irAEs des Gastrointestinaltrakts am häufigsten mit bis zu 46% auf, und reichen von Übelkeit und Erbrechen bis zu 18% schweren Grad 3-4 irAEs, hier meist einer Pankolitis (22).

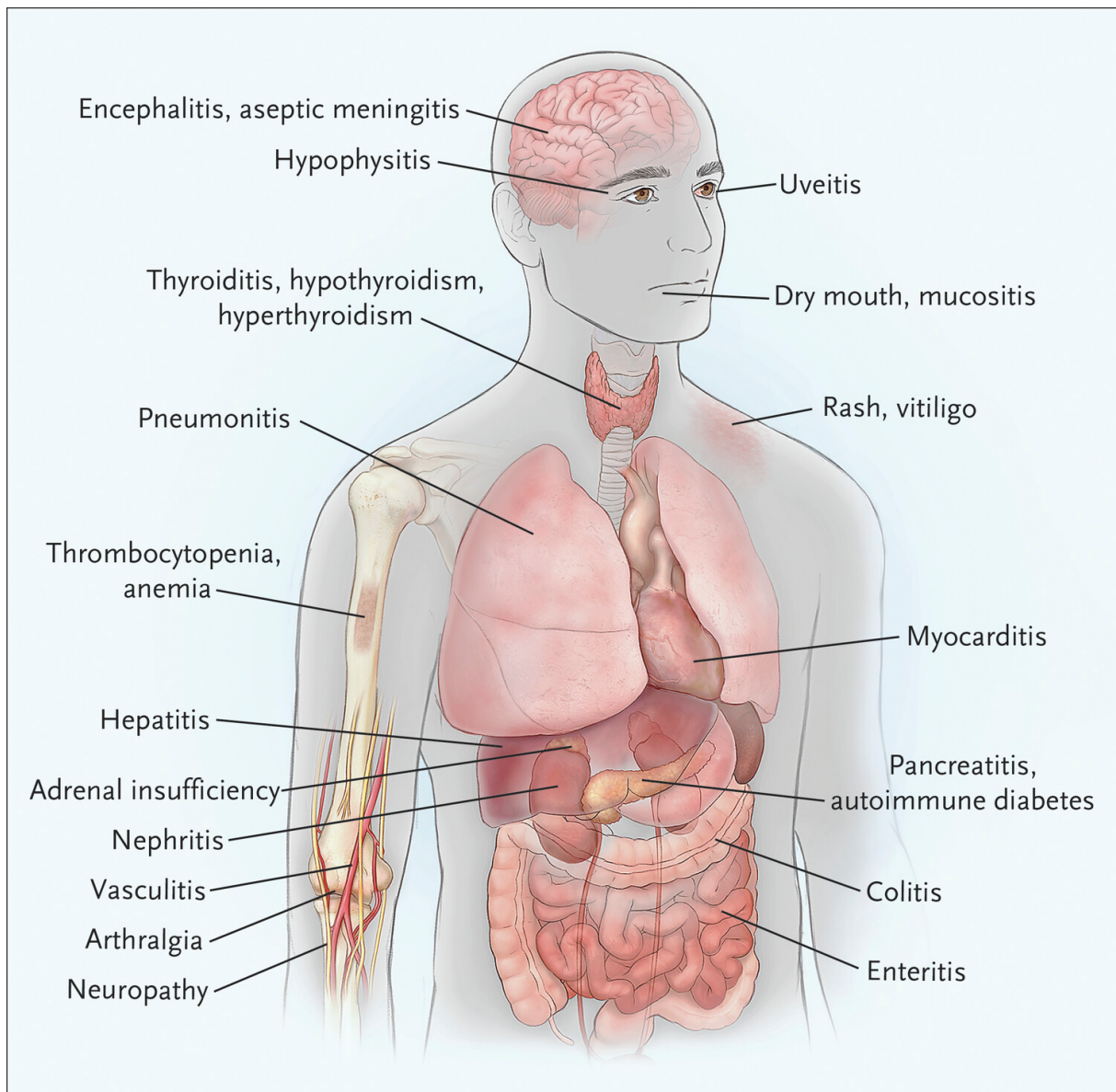


Abbildung 4: ICI-Therapie kann zu unerwünschten Nebenwirkungen jeden Organs führen. Dargestellt sind die häufig dokumentierten unerwünschten Nebenwirkungen unter ICI-Therapie. Nach Postow et al., 2018, (21).

Ebenfalls unter Kombinationstherapie treten ähnlich häufig Grad 3-4 irAEs (17%) in der Leber auf, wobei es sich oft um virale Hepatiden wie HBV, HCV, CMV oder EBV handelt (21). Endokrine Nebenwirkungen treten höhergradig mit bis zu 5% auf und betreffen oft die Schilddrüse. Die Symptome können sich sehr unspezifisch in Form von Abgeschlagenheit, Gewichtszu- oder -abnahme, Kopfschmerzen oder Stimmungsschwankungen äußern.

1.5 LUNGENSPEZIFISCHE NEBENWIRKUNGEN DER ICI-THERAPIE

Bei 2-7 % der Patienten tritt eine immunvermittelten Pneumonitis auf, wobei 1-2 % der Ereignisse Grad 3-4 aufwiesen. Man geht davon aus, dass sie in den meisten Fällen reversibel sind, jedoch können 0,2 % sogar tödlich enden (20,23–26). Die Pneumonitis ist durch eine fokale oder diffuse Entzündung des Lungenparenchyms gekennzeichnet (27). Im Falle der ICI-Therapie ist der ätiologische Mechanismus noch nicht vollständig geklärt. Im Durchschnitt entwickelt sich die Pneumonitis innerhalb von 2,8 Monaten nach Beginn der ICI-Behandlung; bei einer Kombinationstherapie tritt sie sogar noch früher auf (2,2 Monate) (28). Wie in anderen Studien beobachtet wurde, kann sich eine Pneumonitis jedoch auch in einem größeren Zeitraum von 7,4 bis 24,3 Monaten entwickeln (26).

Klinisch zeigt die Pneumonitis oft keine oder nur unspezifische Symptome wie Dyspnoe oder Husten. Die Diagnose wird typischerweise radiologisch gesichert oder in unklaren Fällen gegebenenfalls mittels Bronchoskopie bestätigt. Nach der Diagnose wird bei den Patienten in der Regel sofort mit einer hochdosierten Steroidtherapie begonnen (29). Eine Pneumonitis kann zum Abbruch der ICI-Therapie und zum Krankenhausaufenthalt führen (27,30). Unlängst wurde über Fälle berichtet, in denen sich eine chronische ICI-bedingte Pneumonitis entwickelte, obwohl die ICI-Therapie nach dem Auftreten einer irAE sofort abgesetzt wurde (31).

Die verfügbaren Daten konzentrieren sich auf eine Pneumonitis mit bereits aufgetretenen klinischen Symptomen wie Dyspnoe. Es stellt sich jedoch die Frage, ob nicht schon vor dem Auftreten von Symptomen eine Lungenschädigung vorliegen kann. Lungenschäden können in frühen Stadien reversibel sein, einige Veränderungen wie z.B. eine Lungenfibrose sind jedoch irreversibel, sodass ein frühzeitiges Erkennen der pulmonalen Veränderung von Bedeutung ist.

Neben der häufigsten irAE, der Pneumonitis, treten auch andere pulmonale Nebenwirkungen auf. Fälle von interstitieller Lungenerkrankung (ILD) werden berichtet (32). Bei Melanompatienten tritt diese meist in Grad 2 oder 3 auf, zeigt sich ebenfalls mit Atemnot oder Husten oder bleibt gar asymptomatisch (24).

Des Weiteren liegen Fallberichte von Melanompatienten unter ICI-Therapie mit Pneumonie, einhergehend mit hypoxämisch respiratorischer Insuffizienz (33), Sarkoidose (34) und pulmonaler Granulomatose, vor (35). Alle zeigten sich im (routinemäßig) durchgeführten CT und unter klinischem Zeichen von leichter Dyspnoe.

In einer Metaanalyse, in die 18610 Patienten eingeschlossen wurden, die eine irAE entwickelten, konnte gezeigt werden, dass 48% der ICI-bezogenen Todesfälle aufgrund respiratorischer Ursache auftraten. Die häufigste rein behandlungsbedingte Todesursache war eine Pneumonitis (28%) oder eine Pneumonie (6%) (36). Die Erkennung dieser hochgradigen irAEs ist folglich von hoher Relevanz. Hierauf baut die Annahme, dass ein routinemäßiges, sehr frühes

Erkennen von Lungenfunktionseinschränkungen durch sensiblere Verfahren das Outcome von diesen Patienten langfristig verbessern könnte.

1.6 LCI UND LUNGENFUNKTIONSUNTERSUCHUNG

Eine spirometrische Lungenfunktionsuntersuchung (LuFu) ist seit Jahrzehnten Standard in der Diagnostik von Atemwegserkrankungen. Allerdings lassen sich mit einer Spirometrie weder die Veränderungen der kleinen Atemwege noch die Homogenität der Luftverteilung bewerten. Bereits 1952 wurde ein weiteres Verfahren, die Multiple Breath Washout (MBW-) Methode, entwickelt, die diese Veränderungen darstellen kann (37).

Der Lung Clearance Index (LCI) ist einer der Hauptparameter, der aus einer MBW-Messung hervorgeht. Der LCI zeigt als Marker die Inhomogenität der Ventilation der Lunge an. Normalerweise verteilen sich eingeatmete Luft oder andere Gase gleichmäßig in der Lunge. Die peripheren Atemwege halten dabei den größten Teil des gesamten Lungenvolumens. In den kleineren Atemwegen beginnen auch parenchymale Veränderungen und Beeinträchtigungen der Lunge. Daher ist ein Marker wie der LCI-Wert von großer Bedeutung, der diese frühen Veränderungen anzeigen kann und für eine Belüftungsheterogenität spricht. Durch ein frühes Erkennen könnten größere Schäden am Lungengewebe verhindert werden, bevor die Patienten klinische Symptome zeigen. Von Patienten mit zystischer Fibrose (CF) ist bekannt, dass der LCI sensibel frühe Veränderungen der Lungenfunktion anzeigen kann, und diese bei Kindern ab Vorschulalter zuverlässig anzeigt, bevor Veränderungen in der Spirometrie auffallen (38,39)

Auch DLCO-Werte können eine eingeschränkte Lungenfunktion bei ICI-Patienten in einem Frühstadium aufzeigen, in dem die Werte der herkömmlichen Spirometrie noch im Normbereich liegen (40).

Die Bestimmung des LCI-Werts zeigt sich im Vergleich zur Messung der DLCO sogar noch besser handhabbar in jedem Alter, da hierfür nur eine Ruheatmung von 2-10 Minuten erforderlich ist (41).

II. ZIELE

Aufgrund des zunehmenden Einsatzes von ICI-Therapie, steigt auch umso mehr die Relevanz, Nebenwirkungen unter dieser Therapie frühzeitig zu erkennen, um auf diese adäquat reagieren zu können.

Diese Querschnittsstudie ist ein erster explorativer Versuch, die Lungenfunktion von ICI-Patienten und lungengesunden Kontrollen mit sensiblen Methoden, wie der MBW-Messung und dem daraus resultierenden Parameter LCI, zu vergleichen, um etwaige subklinische Veränderungen der Lungenfunktion schon während der ICI-Therapie zu erkennen.

Für die vorliegenden Arbeit werden dafür folgende Hypothesen aufgestellt:

1. Die MBW-Messung ist bei über 65-jährigen Patienten und lungengesunden Kontrollen gut durchführbar.
2. Patienten mit ICI-Therapie weisen einen höheren LCI-Wert als alters- und geschlechts-gematchte lungengesunde Kontrollen auf.
3. Patienten mit ICI-Therapie weisen eine verminderte Lungenfunktion in einer Spirometrie und DLCO auf, im Gegensatz zu alters- und geschlechts-gematchte lungengesunde Kontrollen.
4. Das Geschlecht hat keinen Einfluss auf den LCI-Wert.
5. Es gibt keinen Unterschied im LCI-Wert bei Patienten, die die ICI-Therapie als Monotherapie im Gegensatz zur Kombinationstherapie erhalten.
6. Ehemaliges Rauchen von ICI-Patienten führt zu keinem verschlechterten LCI-Wert im Vergleich zu Nichtraucher-ICI-Patienten.
7. Lungenmetastasen haben keinen Einfluss auf den LCI-Wert.

Hieraus ergibt sich die Fragestellung, ob der LCI-Wert in diesem Kontext ein sensitiver diagnostischer Parameter zur frühen Detektion unerwünschter Wirkungen der ICI-Therapie auf die Lunge ist.

III. MATERIAL UND METHODEN

Diese Arbeit untersucht die Lungenfunktion von ICI-Patienten auf mögliche Veränderungen im Rahmen einer klinischen Querschnittstudie.

3.1 STUDIENDESIGN UND ETHIKANTRAG

Die Pilotstudie wurde zwischen Dezember 2021 und November 2022 als Kooperation der Abteilung für Pneumologie und Allergologie der Kinderklinik und der Klinik für Dermatologie und Venerologie der Universitätsmedizin Rostock durchgeführt.

Es wurden Patienten mit malignem Melanom oder metastasiertem kutanem Plattenepithelkarzinom und alters- und geschlechtsgleiche gesunde Kontrollpersonen rekrutiert. Dazu wurden potenzielle Patienten in der Tagesklinik der Dermatologie per Akteneinsicht identifiziert und daraufhin telefonisch oder vor Ort zur Studienteilnahme eingeladen und bei Zusage ein Termin in der pädiatrischen Pneumologie vereinbart.

Einschlusskriterien der Patienten waren eine laufende Behandlung mit PD1-Inhibitoren oder einer Kombinationstherapie aus PD-1-Inhibition und CTLA-4-Inhibition, entweder in einem adjuvanten oder metastasierten Stadium. Außerdem mussten die Patienten zum Zeitpunkt der Untersuchung seit mindestens 2 Monaten mit ICI-Therapie behandelt worden sein. Ausschlusskriterien waren eine aktuelle Infektion der oberen Atemwege, aktuelles Rauchen oder bekannte Lungenerkrankungen wie Asthma bronchiale oder COPD; Patienten mit Lungenmetastasen wurden akzeptiert.

Für den LCI-Wert im untersuchten Kollektiv älterer Patienten (zumeist über 65 Jahre alt) lagen zum Zeitpunkt der Datenerhebung keine etablierten Normwerte vor (42,43). Aus diesem Grund wurde eine alters- und geschlechtsgleiche lungengesunde Kontrollgruppe über private Kontakte rekrutiert. Es wurden die gleichen Ausschlusskriterien angewandt.

Die Studie wurde in Übereinstimmung mit der Deklaration von Helsinki aus dem Jahr 1964 und ihren späteren Änderungen durchgeführt. Die Studie wurde von der lokalen Ethikkommission des Universitätsklinikums Rostock genehmigt (Registrierungsnummer A 2021-0222). Vor der Teilnahme unterzeichneten alle Teilnehmer eine schriftliche Einverständniserklärung, sowie die Zur Kenntnisnahme des Datenschutzes.

3.2 SETTING

ICI-Patienten und lungengesunden Kontrollen führten eine LuFu mit Messung von LCI, FVC, FEV₁, FEV₁/FVC, FEF_{25-75%}, FRC und DLCO durch. Zum selben Untersuchungszeitpunkt wurden die transkutane Sauerstoffsättigung und der Hämoglobinwert gemessen. Die Serumanalyse der Laktatdehydrogenase (LDH), S100 und des c-reaktiven Proteins (CRP) der ICI-Patienten wurde routinemäßig im Labor des Universitätsklinikums Rostock durchgeführt. Bis November 2022 wurde die mögliche Entwicklung einer Pneumonitis in der Anamnese erfasst. Zusätzlich wurden demografische Daten und die Krankengeschichte erhoben.

3.3 LUNGENFUNKTIONSUNTERSUCHUNG

Die LuFus für diese Studie wurden am Gerät EasyOne ProLab® (ndd Medical Technologies, Zürich, Schweiz) von geschultem Personal durchgeführt. Eine Messung aller Parameter dauerte etwa 30-50 Minuten. Vor Beginn der LuFu wurde den Studienteilnehmern zunächst der Ablauf der drei Teilmessungen MBW, Spirometrie und Diffusionskapazitätsmessung erklärt. Während der Durchführung wurden die Teilnehmer gemäß der American Thoracic Society (ATS) und European Respiratory Society (ERS) Standards instruiert, in einer entspannten, jedoch aufrechten Position zu sitzen, die Nasenklammer zu tragen und stets durch das Mundstück am Gerät ein- und auszuatmen (44–48). Vor jeder Messung kalibriert sich das Gerät selbstständig unter Hinzunahme der aktuellen Temperatur und Luftfeuchtigkeit des Raums (Abbildung 5).

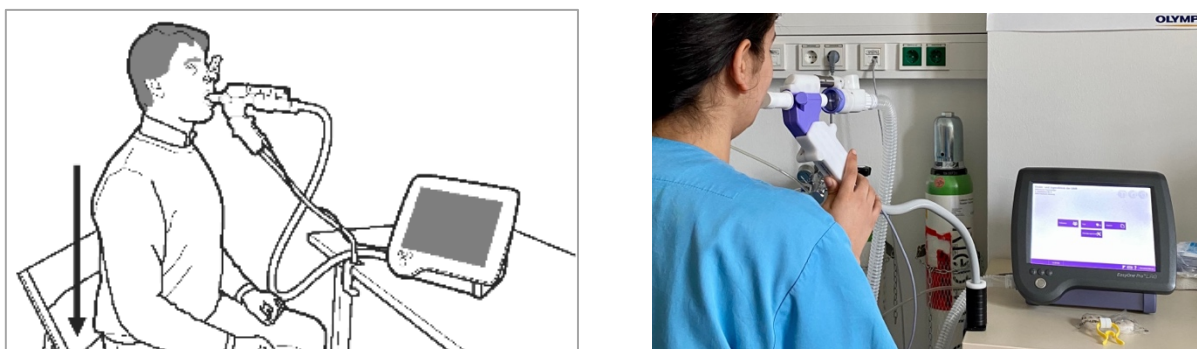


Abbildung 5: (links) Schematische Darstellung eines Patienten während der LuFu. Während der Messung sitzt der Patient aufrecht und atmet mit gleichzeitig verschlossener Nase durch das Mundstück. Dabei kann der Untersucher die Messung auf dem Bildschirm verfolgen. Aus: User Manual des EasyOne ProLab® (ndd Medical Technologies, Zürich, Schweiz), Version V04b, abgerufen 14.07.2024. **(rechts)** eigene Aufnahme zur Demonstration der LuFu mit Option auf LCI-Messung. Bild Maya Steinbach, 15.03.23.

3.3.1 MULTIPLE BREATH WASHOUT

Es gibt verschiedene MBW-Techniken, die sich in der Verwendung des jeweiligen Gases unterscheiden. In dieser Studie wurde das Setup mit Auswaschung des intrinsischen Gases Stickstoff (N_2) verwendet. Während der MBW-Messung zur Bestimmung der funktionellen Residualkapazität (FRC) und des LCI ist der Proband aufgefordert, in Ruheatmung durch das Mundstück zu atmen, bis die Messung abgeschlossen ist. Dabei wird ein Tracergas, Stickstoff, mit 100%-igem Sauerstoff ausgewaschen, bis nur noch 2,5% der Ausgangskonzentration von Stickstoff in der Ausatemluft erreicht sind. Basierend auf der entstehenden Stickstoffkurve, berechnet das Gerät die FRC sowie den LCI (Abbildung 6).

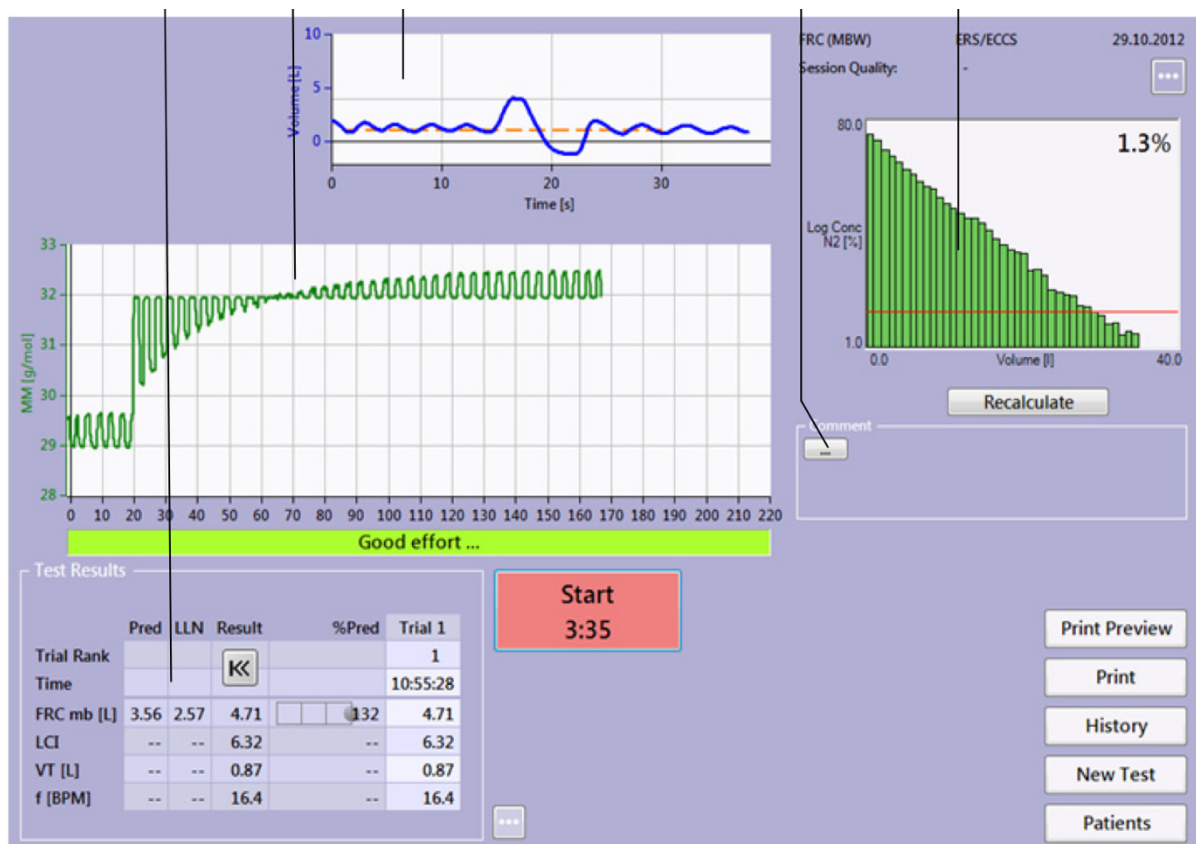


Abbildung 6: Bildschirm des verwendeten Geräts.

In grün links ist die Messkurve dargestellt, die grünen Balken rechts stellen die abnehmende N_2 -Konzentration bis auf unter 2,5% der Ausgangskonzentration dar. Aus: User Manual des EasyOne ProLab® (ndd Medical Technologies, Zürich, Schweiz), Version V04b, abgerufen 14.07.2024.

Der LCI wird als das kumulative ausgeatmete Volumen (CEV) geteilt durch die FRC beschrieben.

$$LCI = \frac{\text{CEV (cumulative expired volume)}}{\text{FRC}}$$

Die Anzahl der für die Auswaschung erforderlichen FRC-Turnovers hängt vom Grad der Inhomogenität der Lungenventilation ab. Ein höherer Grad an Inhomogenität führt zu einem höheren LCI-Wert.

Messungen von Probanden konnten in die Auswertung einfließen, wenn mindestens 2 erfolgreiche Durchführungen eines MBW mit LCI-Ergebnissen einer Variabilität <10% und einer FRC-Variabilität <25% vorlagen. Das Ende eines MBW-Tests wird durch u.a. Erreichen einer Konzentration von <1/40 der Stickstoffausgangskonzentration in drei aufeinanderfolgenden Atemzügen definiert.

3.3.2 SPIROMETRIE

Die Spirometrie beinhaltete u.a. die Messung der forcierten Vitalkapazität (FVC), der Einsekundenkapazität (FEV1), des Tiffeneau-Index (FEV1/FVC) und des forcierten expiratorischen Flusses zwischen 25-75% der FVC (FEF25-75%). Hierzu wurde der Studienteilnehmer aufgefordert folgendes Manöver auszuführen: Nach einigen ruhigen Atemzügen, sollte der Teilnehmer langsam und vollständig ausatmen. Darauf folgte direkt ein zügiges und maximales Einatmen, was die inspiratorische Vitalkapazität darstellt, direkt gefolgt von schneller maximaler bis zu 15 Sekunden dauernder Expiration. Das gemessene Volumen unter Expiration stellt die FVC dar; das forcierte Ausatemvolumen der ersten Sekunde die FEV1. Aus beiden Werten lässt sich dann der Tiffeneau-Index bilden. Dieses Manöver wurde so lange wiederholt, bis mindestens drei Versuche aufgezeichnet werden konnten (Abbildung 7).

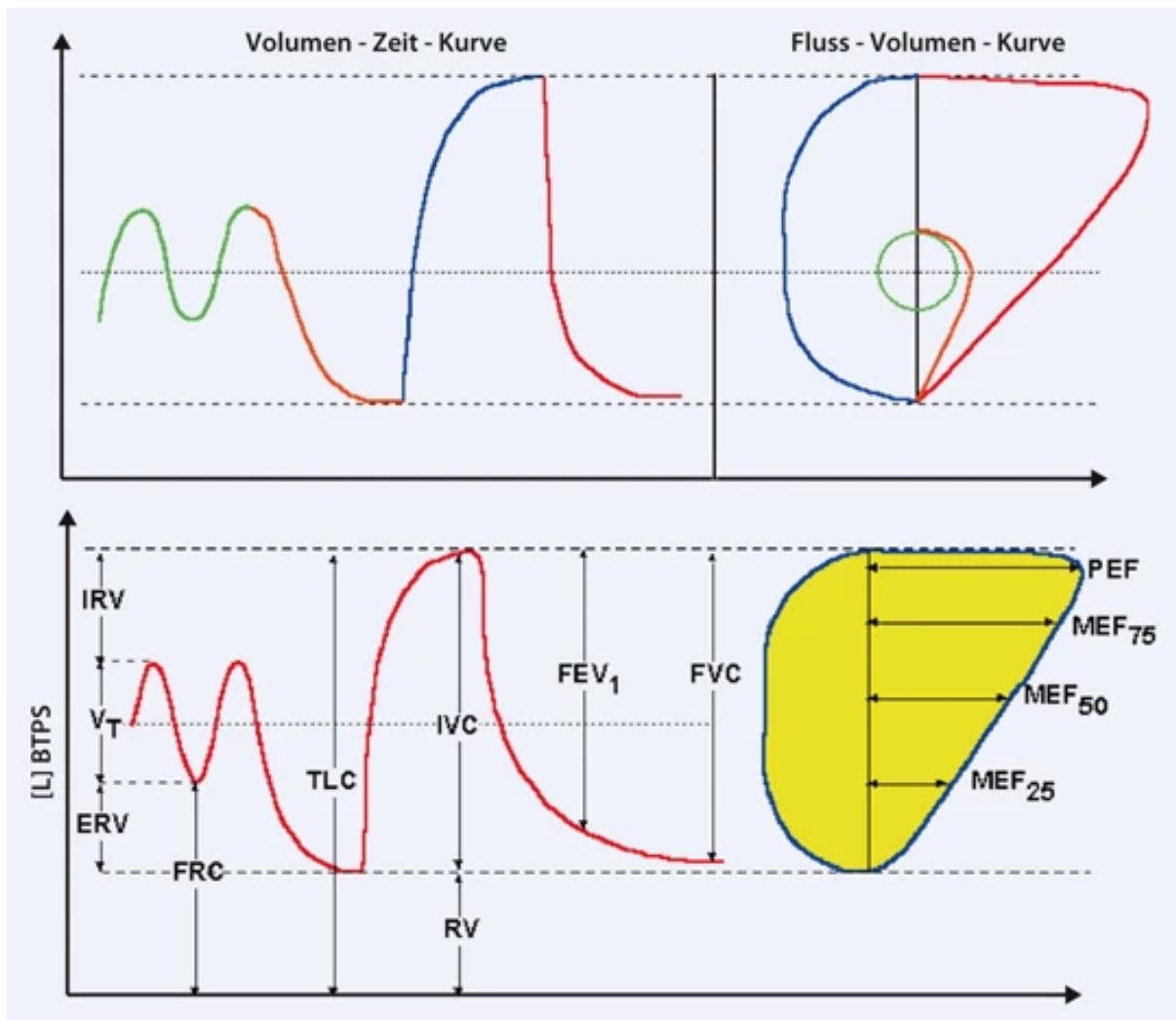


Abbildung 7: Atemmanöver einer standardisierten Spirometrie.

Oben: Volumen-Zeit-Kurve sowie Fluss-Volumen-Kurve. grün Ruheatmung, blau maximale Inspiration, rot maximale Expiration.

Unten: Lungenvolumina. **IRV** inspiratorisches Reservevolumen [L], **ERV** expiratorisches Reservevolumen [L], **V_T** Atemzugvolumen [L], **FRC** funktionelle Residualkapazität [L], **TLC** totale Lungkapazität [L], **IVC** inspiratorische Vitalkapazität [L], **RV** Residualvolumen [L], **FEV₁** forciertes expiratorisches Volumen in 1 s [L], **FVC** forcierte Vitalkapazität [L], **PEF** expiratorischer Spitzenfluss [L/s], **MEF_{75, 50, 25}** maximale expiratorische Flüsse bei Prozent ausgeatmeter FVC [L/s]. Nach: Sorichter, S., 2009, (49).

3.3.3 DIFFUSIONSKAPAZITÄT FÜR KOHLENMONOXID

Für die Messung der DLCO erfolgte zunächst die Einweisung in das durchzuführende Atemmanöver: Nach einigen ruhigen Atemzügen wird langsam und vollständig ausgeatmet (Abbildung 8). Daraufhin wird direkt zügig und maximal eingeatmet und in der maximalen Inspiration für zehn Sekunden die Luft angehalten. Die ablaufende Zeit zeigte das verwendete Gerät auch

für den Studienteilnehmer ersichtlich an und wurde gleichzeitig zur besseren Compliance des Probanden vom Studiendurchführenden angesagt. Nach Ablauf der zehn Sekunden kann entspannt ausgeatmet werden. Da durch die maximale Inspiration das DLCO-Testgas (10% Helium, Genauigkeit +10 %; 0,3 % Kohlenmonoxid, Genauigkeit +10 %; 18-25% Sauerstoff; Rest Stickstoff) eingeatmet wird, erfolgte daraufhin, ebenfalls durch das Gerät angezeigt, eine vierminütige Pause. Danach wurde die Messung wiederholt. Die DLCO-Messung zeigt die Fähigkeit der Lunge zum Gastransfer zwischen Blut und alveolärer Luft und wird um den Faktor des Hämoglobinwertes des Probanden korrigiert.

Nach Beendigung der Testreihe wurden die Datenblätter für die Studie gespeichert, sowie eine übersichtliche Dokumentation dieser dem Studienteilnehmer, z.B. zur Vorlage bei seinem Hausarzt, mitgegeben.

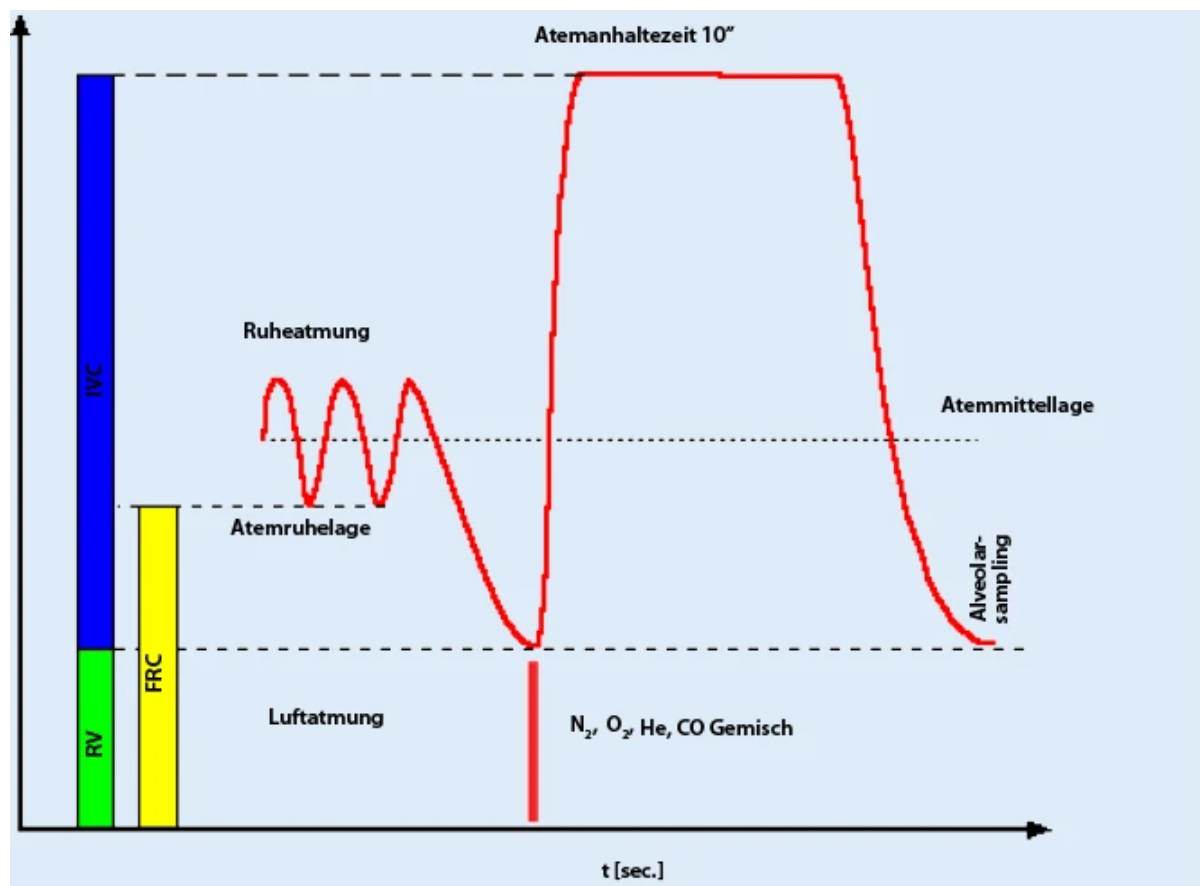


Abbildung 8: Darstellung einer DLCO-Messung als Volumen-Zeit-Kurve.

RV Residualvolumen [L], **IVC** inspiratorische Vitalkapazität [L], **FRC** funktionelle Residualkapazität [L]. Nach Sorichter, S., 2009, (49).

3.4 DATENVERARBEITUNG UND -AUSWERTUNG

Die im Rahmen dieser Studie erhobenen Patientendaten wurden pseudonymisiert gespeichert. Die statistische Analyse wurde mit SPSS® (IBM SPSS Statistics Version 25, IBM Corporation, Armonk, NY, USA) und GraphPad Prism® (Version 10.1, GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA) durchgeführt. Eine Fallzahlenplanung erfolgt mittels GPower 3.1 (Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Deutschland). Für einen einseitigen T-test für verbundene Stichproben mit einer mittleren Effektgröße ($d_z = 0,5$), einem Signifikanzniveau von $\alpha = 0,05$ und einer Power von 0,95 ergab sich eine erforderliche Stichprobe von $n = 45$ insgesamten Probanden. Anhand des Kolmogorov-Smirnov-Tests wurde die Normalverteilung der Daten überprüft. Bei Vorliegen von nicht normalverteilten Testgruppen erfolgte die Analyse der Unterschiede mittels Mann-Whitney-U-Test. Die deskriptive Statistik wurde mit Mittelwert und Standardabweichung dokumentiert. Ein paarweiser Vergleich (je alters- und geschlechts-gematchtes Paar aus Patienten und Kontrollen) der LCI-Werte wurde mit einem Binomialtest durchgeführt. Die Subgruppenanalyse wurde mit einem t-Test mit zwei Stichproben und gleichen Varianzen durchgeführt. Das Zusammenspiel mehrerer unabhängiger Variablen auf den LCI wurde mittels multivariater Regression überprüft.

Zur Einteilung der ICI-Patienten in zwei Cluster mit innerhalb minimaler und zwischen den Clustern maximaler Varianz wurde das k-Means-Clusterverfahren angewandt ($k=2$).

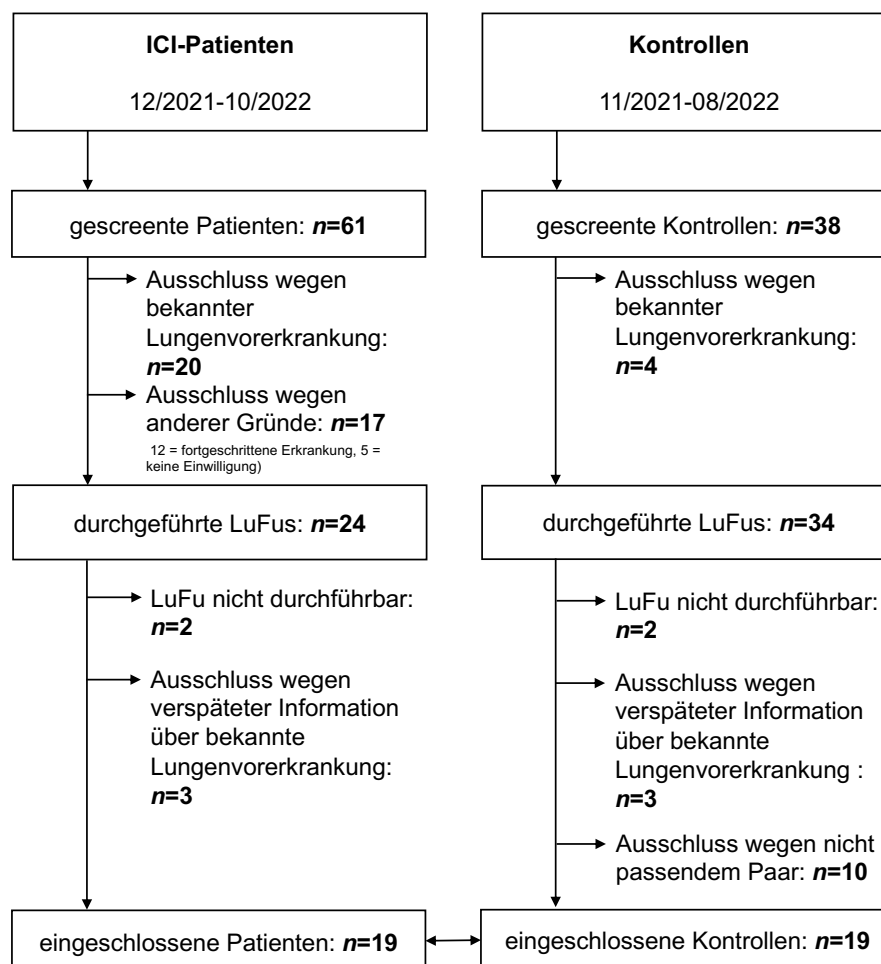
Ein p-Wert von $<0,05$ wurde als signifikant angesehen (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$).

IV. ERGEBNISSE

In dieser Arbeit wurden LuFus bei dermatologischen Patienten unter ICI-Therapie durchgeführt und mit lungengesunden Kontrollen verglichen.

4.1 STUDIENPOPULATION

Aus einem Pool von 61 gescreenten ICI-Patienten und 38 gescreenten lungengesunden Kontrollpersonen konnten 24 Patienten und 34 Kontrollen zu einer LuFu eingeladen werden. Daraus ließen sich 19 geschlechts- und altersgleiche Paare bilden, bei denen erfolgreich eine LuFu durchgeführt werden konnte. Lungengesunde und alterspassende Kontrollen konnten über private Kontakte akquiriert werden. Der vollständige Verlauf der Auswahl der Studienpopulation ist in Abbildung 9 dargestellt.



ICI Immun-Checkpoint-Inhibitor, LuFu Lungenfunktionsuntersuchung

Abbildung 9: Auswahl der Studienpopulation

4.2 ANTHROPOMETRISCHE UND KLINISCHE DATEN

Die anthropometrischen und klinischen Daten der Studienpopulation sind in Tabelle 2 dargestellt.

Tabelle 2: Demografische Daten, Therapiedetails und Werte der Lungenfunktionsuntersuchungen

Klinische Daten	ICI-Patienten	Kontrollen
Anzahl	19	19
Alter, Jahre	66,8 (14,3)	67,2 (13,1)
Geschlecht [w m]	7 [37%] 12 [63%]	7 [37%] 12 [63%]
Body mass index, kg/m ² (SD)	28,7 (4,7)	26,8 (3,6)
Ehemals Raucher	3 [16%]	0
Pack-years, Jahre (SD)	10 (4,1)	0
Komorbiditäten		
Arterielle Hypertension	13 [68%]	6 [32%]
Hypothyreose	6 [32%]	2 [11%]
ECOG-Status: 0 1 2	17 [68%] 1 [5%] 1 [5%]	19 [100%] 0 0
Diagnose		
Melanom	17 [89%]	
Plattenepithelkarzinom der Haut	2 [11%]	
Pulmonale Metastasen	6 [32%]	
ICI-Therapie		
Nivolumab 240mg/480mg	3 [16%]	
Pembrolizumab 200mg	9 [47%]	
Cemiplimab 350mg	2 [11%]	
Nivolumab 1mg/kg KG plus Ipilimumab 3mg/kg KG	5 [26%]	
Therapiesetting		
adjuvant	7 [37%]	
metastatisch	12 [63%]	
Zeit unter andauernder ICI-Therapie zum Messzeitpunkt, Monate (SD)	4,4 (2,3)	
Anzahl Zyklen zum Messzeitpunkt (SD)	6,5 (3,8)	
Laborwerte		
LDH, U/l (SD)	241,5 (77,5)	
S100, µg/l (SD)	0,1 (0,1)	
CRP (SD)	8,4 (10,6)	

ECOG eastern cooperative oncology group, LDH Laktatdehydrogenase, CRP C-reaktives Protein,

27 Prozent waren weiblich, 63 Prozent männlich. Das Alter reichte von 31 bis 88 Jahren; das Durchschnittsalter lag in beiden Gruppen bei 67 Jahren. Die ECOG-Performance-Status-Skala beschreibt das Funktionsniveau von Patienten in Bezug auf ihre Fähigkeit, sich selbst zu versorgen, ihre täglichen Aktivitäten und ihre körperlichen Fähigkeiten und variierte zwischen 0 (n = 17), 1 (n = 1) und 2 (n = 1).

Die dermatologische Diagnose der ICI-Patienten lautete entweder malignes Melanom [89%] oder Plattenepithelkarzinom der Haut [11%]. 79 Prozent der ICI-Patienten befanden sich unter

andauernder Monotherapie, entweder als PD1-Inhibition mit Nivolumab (240 mg alle zwei Wochen oder 480 mg alle vier Wochen), Pembrolizumab (200 mg alle drei Wochen) oder Cemiplimab (350 mg alle drei Wochen). 21 Prozent erhielten die Kombinationstherapie aus PD-1-Inhibition und CTLA-4-Inhibition (Nivolumab 1 mg/kg Körpergewicht plus Ipilimumab 3 mg/kg Körpergewicht viermal alle drei Wochen). Die Behandlung erfolgte im adjuvanten [37%] oder metastasierten Setting. Zum jeweiligen Untersuchungszeitpunkt waren die Patienten zwischen 2,3 und 11,7 Monaten ($4,4 \pm 2,3$ (Mittelwert $\pm$ SD)) mit ICI-Therapie behandelt worden. Im zeitlichen Verlauf der Studie wurden routinemäßig im Rahmen der Behandlung mit dem Biologikum CTs durchgeführt.

4.3 PULMONALE NEBENWIRKUNGEN

Es wurden keine pulmonalen Nebenwirkungen vor oder während der Studie berichtet oder diagnostiziert. Die CT-Bildgebung der ICI-Patienten ergab keine Hinweise auf (Früh-)Schäden der Lunge.

4.4 LUNGENFUNKTION VON ICI-PATIENTEN UND KONTROLLEN

Folgend sind die Lungenfunktionsparameter der ICI-Patienten und Kontrollen tabellarisch zusammengefasst. Fünf der 19 dermatologischen Patienten wurden zum Zeitpunkt der LuFu schon über einen Zeitraum von über 5 Monaten mit ICI-Therapie behandelt (Tabelle 3).

Tabelle 3: Lungenfunktionswerte von ICI-Patienten und Kontrollen

Lungenfunktionswerte	ICI-Patienten	Kontrollen
FVC, l (SD) FCV, % predicted (SD)	3,37 (1,03) 90,95 (16,18)	3,54 (1,21) 87,68 (12,56)
FEV1, l (SD) FEV1, % predicted (SD)	2,62 (0,81) 92,58 (18,60)	2,89 (0,98) 93,42 (13,77)
FEV1/FVC (SD) FEV1/FVC % predicted (SD)	0,78 (0,06) 101,11 (8,09)	0,82 (0,07) 106,05 (8,40)
FEF25-75%, l/s (SD) FEF25-75%, % predicted (SD)	2,49 (1,07) 110,21 (49,05)	3,21 (1,26) 126,11 (37,30)
DLCO ml/min/mmHg (SD) DLCO % predicted (SD)	21,76 (4,39) 94,32 (18,63)	22,87 (8,27) 94,63 (22,47)
FRC mb, l (SD)	2,95 (0,91)	2,82 (1,09)
LCI (SD)	8,41 (1,15)	8,07 (1,17)
- LCI ICI über 5 Monaten (SD)	9,63 (1,22)	
- LCI ICI unter 5 Monate (SD)	7,98 (0,77)	

FVC forcierte Vitalkapazität, *FEV1* Einsekundenkapazität, *FEF25-75%* forcierter expiratorischer Fluss zwischen 25-75% der FVC, *DLCO* Diffusionskapazität, *FRC* funktionelle Residualkapazität, *LCI* lung clearance index

Der LCI-Wert der ICI-behandelten Patienten lag bei $8,41 \pm 1,15$ (Mittelwert $\pm$ SD und war damit um 0,32 höher als der LCI in der Kontrollgruppe, deren LCI bei $8,07 \pm 1,1$ lag. Dieser Unterschied war jedoch nicht signifikant ($p = 0,452$) (Abbildung 10a). Eine weitere Analyse der Lungenfunktionsparameter ergab, dass der FEF25-75% bei den mit ICI behandelten Patienten im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant reduziert war ($p = 0,047$) (Abbildung 10b); beide Werte lagen noch im Normalbereich (50).

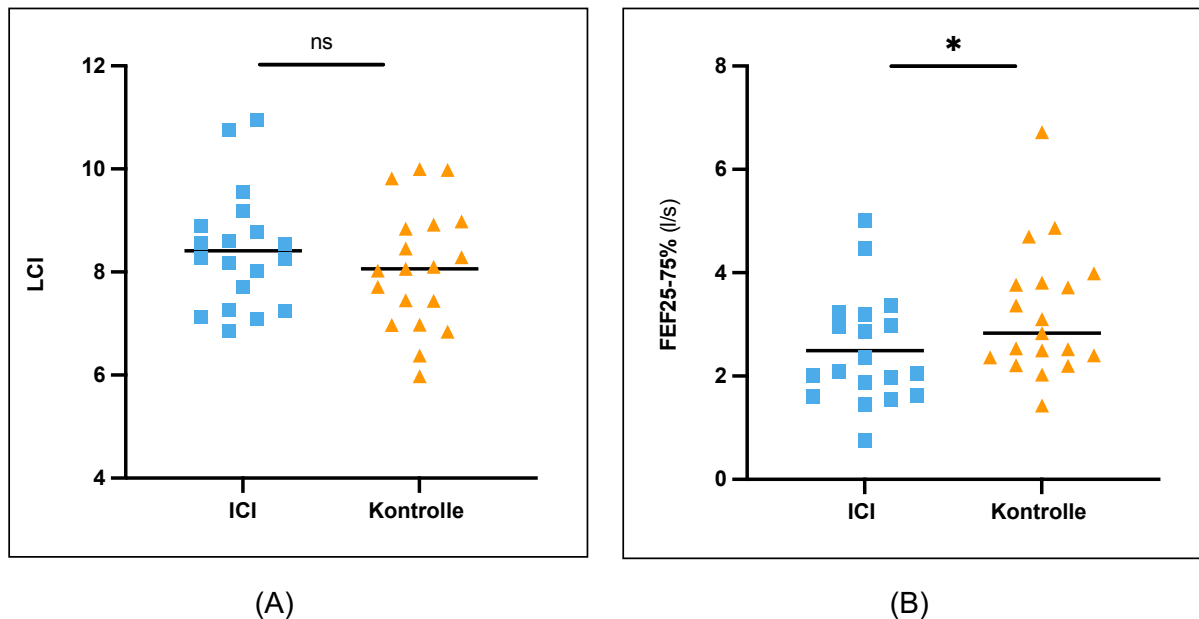


Abbildung 10: Ergebnisse der Lungenfunktionsmessung.

Jedes Symbol kennzeichnet einen gemessenen ICI-Patienten (blau) und eine lungengesunde Kontrolle (gelb) im Vergleich für LCI-Werte (a) und Werte der FEF25-75% (b). **ns** nicht signifikant, ***** signifikant

Ebenso wurden die Parameter FVC, FEV1 und der Tiffeneau-Index analysiert. Es konnte kein Unterschied zwischen der mit ICI behandelten Gruppe und der Kontrollgruppe festgestellt werden: Die mittlere FVC (% predicted) betrug 90,95 % bei den ICB-Patienten gegenüber 87,68 % bei den Kontrollen ($p = 0,465$). Die FEV1 (% predicted) lag bei 92,58 % gegenüber 93,42 % ($p = 0,914$), und der Tiffeneau-Index betrug 101,11 % gegenüber 106,05 % ($p = 0,052$). Diese Werte der ICI-Patienten und die der Kontrollen lagen alle im Normbereich.

Die DLCO (% predicted und korrigiert für Hämoglobin) betrug $94,4 \pm 19,7$ bei den mit ICI behandelten Patienten und $93,4 \pm 21,7$ ($p = 0,734$) in der Kontrollgruppe; in beiden Gruppen lagen die DLCO-Werte im Normbereich.

Um eventuelle Einflüsse von einzelnen Unterfaktoren darzustellen, wurde eine Subgruppenanalyse bezogen auf den LCI durchgeführt. In dieser konnten beim Vergleich der ICI-Patienten unter Monotherapie ($8,46 \pm 1,12$) vs. Kombinationstherapie ($8,28 \pm 1,06$) kein signifikanter Unterschied des LCI festgestellt werden ($p=0,772$). Weibliche ICI-Patienten wiesen einen LCI von $8,58 \pm 1,23$ auf, während männliche bei $8,32 \pm 1,03$ lagen, was sich nicht signifikant unterscheidet ($p=0,970$). Für die Subgruppe der 3 ehemaligen Raucher ($8,68 \pm 0,16$) und IBI-Patienten, die nie geraucht haben ($8,36 \pm 1,21$) konnte keine signifikante Unterscheidung im LCI voneinander ausgemacht werden ($p=0,771$). Ebenso wenig konnte ein Unterschied im LCI bei ICI-Patienten mit Lungenmetastasen ($8,12 \pm 0,71$) und ohne Lungenmetastasen ($8,68 \pm 1,11$) festgestellt werden ($p=0,330$).

Weder Geschlecht ($p = 0.475$), Rauchen ($p = 0.924$) noch Alter ($p = 0.075$), Lungenmetastasen oder Therapieart konnte in der multivariablen Regression als Prädiktor für den LCI in der Gruppe der ICI-Patienten erkannt werden (Gesamtmodell $p = 0.148$).

4.5 LCI-WERTE FÜR POPULATIONEN IM ALTER ÜBER 65 JAHREN

Die Handhabbarkeit der LuFus und insbesondere des MBW war bei 93 % (54 von 58) der Messungen sehr gut und eine Messung von allen drei Unterverfahren Spirometrie, MBW und DLCO erfolgreich durchführbar. Die MBW-Messung wird laut Hersteller in Qualitätsgraden definiert. Es wurden je Proband mindestens 2 Messungen durchgeführt, wobei Grad A bedeutet, dass mindestens zwei Messungen mit einer Variabilität des LCI $<5\%$ und FRC $<10\%$ vorliegt. Grad B definiert 3 Messungen mit einer Variabilität des LCI $<10\%$ und FRC $<25\%$, Grad C nur 2 Messungen mit ebengenannten Variabilitäten.

Auch die MBW-Messungen allein betrachtet erzielten eine sehr gute Durchführbarkeit mit überwiegendem Erfüllen bester Testkriterien: 33 von 38 eingeschlossenen Probanden (87%) erreichten Testgrad A, und nur 5 Probanden (13%) Testgrad C.

Für den LCI-Wert bei älteren Patienten sind zum Zeitpunkt der Datenerhebung nur sehr wenige Daten zu Normwerten veröffentlicht. Um die erhobenen LCI-Werte bestmöglich einordnen und interpretieren zu können, wurde eine lungengesunde Kontrollgruppe rekrutiert. Die ICI-Patienten, die meist über 65 Jahre alt waren ($66,8 \pm 14,3$ Jahre), konnten so mit einem lungengesunden Kollektiv ($67,2 \pm 13,1$ Jahre) verglichen werden. Diese nicht ICI-behandelte Kontrollgruppe wurde mit den ICI-Patienten alters- und geschlechtsspezifisch abgeglichen und passende Paare gebildet. 13 der 19 Paare, also 68 Prozent, waren über 65 Jahre alt.

Der LCI dieser lungengesunden Kontrollen lag zwischen 6,38 und 9,98 ($8,06 \pm 1,11$), während der LCI der ICI-Patienten von 6,85 bis 10,95 ($8,79 \pm 1,14$) reichte (Abbildung 11B). Dieser Vergleich der Mittelwerte zeigte sich jedoch statistisch nicht signifikant ($p = 0,153$). Innerhalb der lungengesunden Gruppe lässt sich ein leicht ansteigender Trend des LCI-Werts mit zunehmendem Alter feststellen; nicht signifikant ($p=0,642$) (Abbildung 11A).

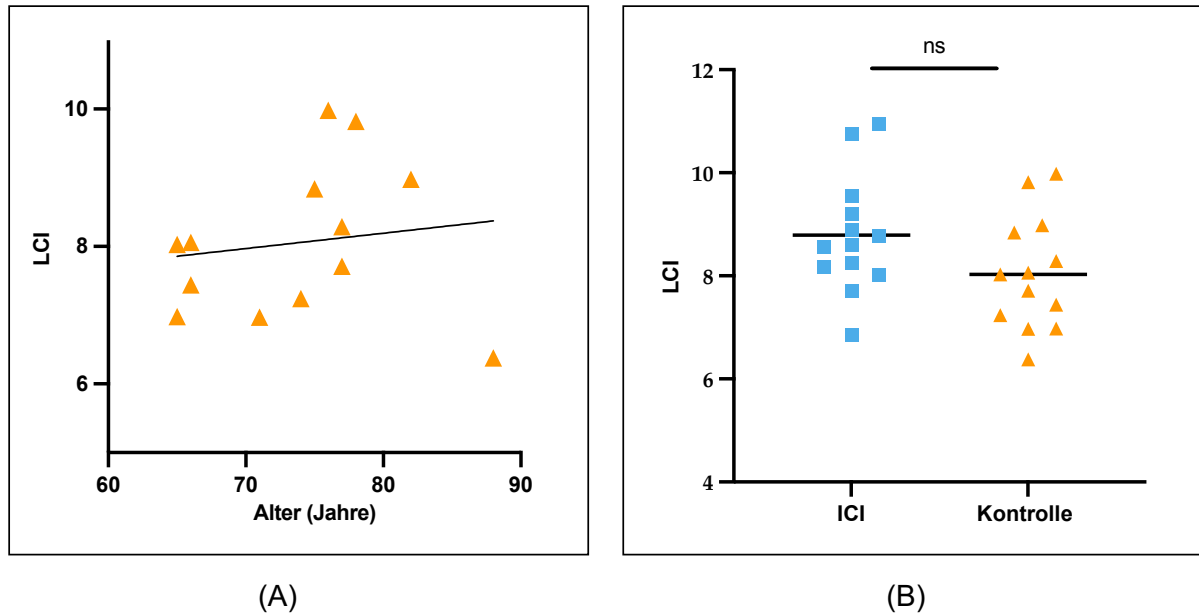


Abbildung 11: LCI-Werte in Populationen über 65 Jahren.

(A) Der LCI in der lungengesunden Population im Alter von 65 bis 88 Jahren (B) LCI-Werte im Vergleich zwischen ICI-Patienten und lungengesunden Kontrollen im Alter von über 65 Jahren. **ns** nicht signifikant.

4.6 LCI UNTER VERSCHIEDENER DAUER DER ICI-THERAPIE

Eine Analyse möglicher Untergruppen von ICI-Patienten im Hinblick auf die Dauer der laufenden ICI-Therapie ergab eine Trennung der ICI-Patienten in zwei Cluster. Ein Cluster aus ICI-Patienten, die die Therapie seit unter 5 Monaten erhielten mit einer Range zwischen 2,3-4,1 Monaten und ein Cluster, das die Therapie seit über 5 Monaten erhielt (5,5-11,7 Monate). Kein Patient erhielt die Therapie seit genau 5 Monaten. Es konnte ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den ICI-Patienten, die zum Messzeitpunkt weniger als fünf Monate behandelt wurden ($7,98 \pm 0,77$ (Mittelwert $\pm$ SD)) und denjenigen, die die Therapie schon seit über fünf Monaten erhielten ($9,63 \pm 1,23$) ($p = 0,014$) beobachtet werden. Der numerisch erhöhte LCI-Wert konnte auch beim Vergleich der Patienten, die seit über fünf Monaten mit ICI-Therapie behandelt wurden ($9,63 \pm 1,23$), mit der lungengesunden Kontrollgruppe ($8,09 \pm 1,11$) festgestellt werden ($p = 0,030$) (Abbildung 12).

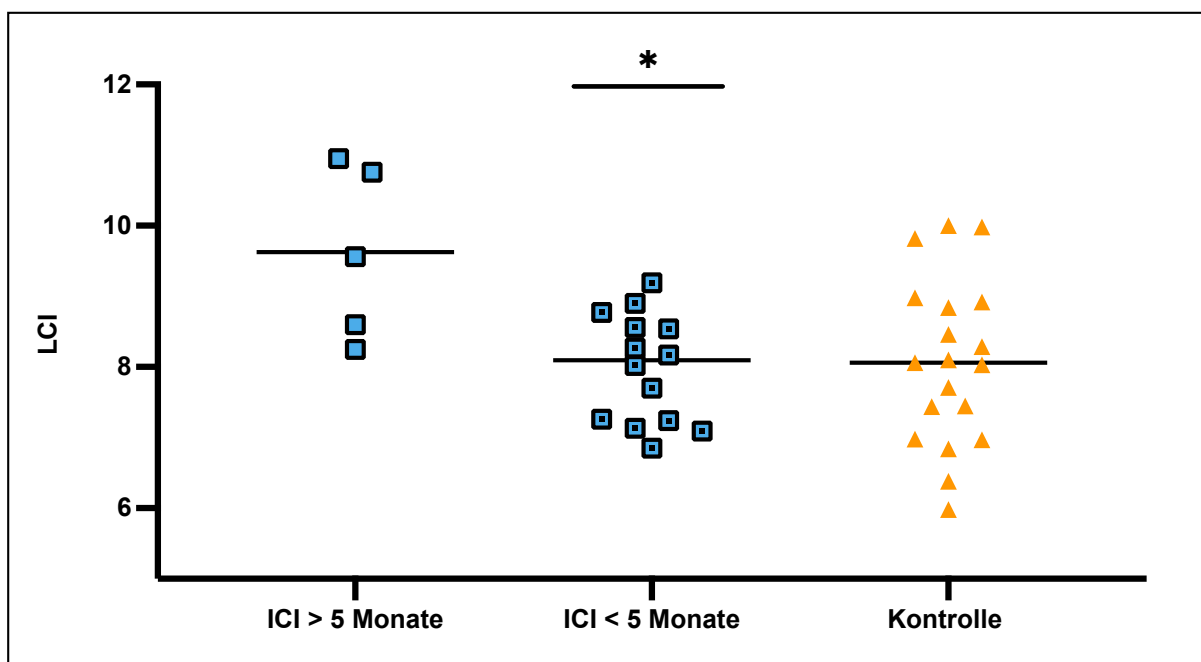


Abbildung 12: LCI-Werte bei Patienten, die ihre ICI-Therapie seit über fünf Monaten erhalten, im Vergleich zu ICI-Patienten, die seit weniger als fünf Monaten behandelt werden, sowie im Vergleich zu lungengesunden Kontrollen. * signifikant.

V. DISKUSSION

Bisher werden bei Patienten mit Melanom oder Plattenepithelkarzinom vor oder während der ICI-Therapie noch keine routinemäßige Lungenfunktionsdiagnostik durchgeführt. Die vorliegenden Daten legen nahe, dass der Lungenbeteiligung im Nebenwirkungsprofil von PD-1-Inhibitoren/CTLA-4-Blockern mehr Beachtung geschenkt werden sollte.

5.1 VERÄNDERUNGEN DER LUNGENFUNKTION

In dieser Studie gibt es Hinweise darauf, dass der sensitivste Wert (LCI) der LuFu bei ICI-Patienten mit längerer Therapiedauer (über 5 Monate) numerisch erhöht sein kann. Zusätzlich konnte ein niedrigerer Wert des FEF25-75% bei ICI-Patienten im Vergleich zu den Kontrollen gesehen werden. Dies lässt vermuten, dass langfristig eine obstruktive periphere Atemwegseinschränkung unter der Biologika-Therapie auftreten kann. Es bleibt jedoch anzumerken, dass dies keine Studie über die Langzeit-Lungenfunktionswerte von Patienten unter ICI-Therapie darstellt.

5.1.1 FEF25-75%

Die vorliegenden Daten zeigen, dass Patienten unter ICI-Therapie im Vergleich zu Kontrollen einen signifikant reduzierten FEF25-75% aufweisen. Zwar müssen beide Mittelwerte noch im hochnormalen Bereich gängiger Normwerte betrachtet werden, trotzdem ist der FEF25-75% als ein empfindlicher Marker für eine periphere Atemwegsobstruktion bekannt (51). Obwohl kein allgemeiner Konsens darüber besteht, ob der Wert FEF25-75% allein zur klinischen Entscheidungsfindung beiträgt, wird er bei bestimmten Patientengruppen als aussagekräftig erachtet. Dies gilt insbesondere für ältere Personen, die auch in dieser Studie vorrangig untersucht wurden. Der FEF25-75% könnte als frühzeitige Erkennung dienen und auf eine subklinische Entzündung hinweisen (52,53). Darüber hinaus bewertet eine weitere Studie Verschlechterungen im FEF25-75% als prädiktiven Wert für eine bevorstehende Atemwegsobstruktion in den kommenden 10 Jahren bei Patienten mit ansonsten normalen Lungenfunktionswerten (51). Da die Veränderung hier jedoch nicht aus dem Normalbereich abweicht, muss die klinische Relevanz eher an der Gesamtheit der Werte festgemacht werden, denn für gewöhnlich findet sich selten eine Diskordanz zwischen dem FEF25-75% und FVC, FEV1 und

FEV1/FVC und könnte auch bei starkem Herausstechen der Werte als Indikator für ein unzureichend ausgeführtes Atemmanöver stehen (52).

5.1.2 LCI

In anderen medizinischen Bereichen wird der LCI zur Früherkennung von Lungenfunktions Einschränkungen eingesetzt, z.B. bei Patienten mit Mukoviszidose oder rheumatischen Erkrankungen, da die Messung nicht-invasiv, einfach durchzuführen und wiederholbar ist. Dies gilt selbst bei jungen Kindern, aber, wie auch in dieser Studie gezeigt werden konnte, ebenso für Menschen über 65 mit einem ECOG 0-2 (41–43). Dies kann durch die hohe Rate problemlos durchgeführter MBW-Messungen mit zusätzlich sehr guter Testqualität gestützt werden.

Der LCI-Wert der gesamten untersuchten Kohorte zeigt leichte Veränderungen im Sinne numerisch erhöhter Werte bei ICI-Patienten. Eine beginnende Abnahme der Lungenfunktion kann vermutet werden. Besonders konnte dies bei Patienten gezeigt werden, die schon mehrere Monate unter ICI-Therapie standen. Im Cluster aus Patienten mit ICI-Behandlung über 5 Monate stieg der LCI-Wert signifikant an und weist somit auf eine mögliche Beeinträchtigung der Lungenfunktion hin. Erhöhte LCI-Werte bei Patienten aller Altersgruppen mit zystischer Fibrose (Mukoviszidose) führten zum allgemeinen Verständnis der LCI als Indikator für eine Schädigung der peripheren Atemwege (54,55). Daher kann die Annahme aufgestellt werden, dass eine leichte Beeinträchtigung der peripheren Atemwege bereits innerhalb der ersten fünf Monate der ICI-Therapie eingetreten ist. Da vermutet wird, dass seltenere irAEs, wie die Pneumonitis, in ihrer Auftretenshäufigkeit unterschätzt werden, gewinnt die frühzeitige Erkennung auch subklinischer Veränderungen durch ein Routinescreening an Bedeutung (4,56).

Parisi GF et al. (2020) betrachten den LCI-Wert erstmals bei Krebsüberlebenden im Kindesalter (57). Die Arbeitsgruppe war die erste, die eine sehr spezielle Kohorte untersuchte. Es wurde betont, dass bewusst alle Patienten mit einer Krebsvorgeschichte eingeschlossen wurden und nicht nur diejenigen mit einem höheren Risiko für pulmonale Beeinträchtigungen. Die zu untersuchende Gruppe wurde bewusst so weit wie möglich gehalten. Ebenfalls wurde hier mit lungengesunden Kontrollen verglichen. In dieser Studie konnte kein Unterschied im LCI zwischen den beiden Gruppen festgestellt werden. Während eine sehr heterogene Gruppe mit sehr unterschiedlichen Therapien analysiert wurde, war in der vorliegenden Studie eine sehr klar definierte Gruppe mit einer speziellen Therapie Gegenstand der Untersuchung. Die Heterogenität der Probanden könnte ein Grund dafür sein, dass in der Studie kein Unterschied im

LCI zwischen den Patienten und den Kontrollen festgestellt wurde. Dennoch konnte eine Tendenz zur Verschlechterung der LCI-Werte mit zunehmender Zeit nach Krebsbehandlung festhalten, also in dem Zeitabschnitt, in dem sich eine Lungenfibrose stärker bemerkbar machen würde. Eine routinemäßige Spirometrie hatte zu diesem Zeitpunkt noch keine Veränderungen der Lungenfunktion gezeigt. Dies stimmt mit den vorliegenden Ergebnissen überein, die eine numerische Erhöhung der LCI-Werte unter längerer Dauer der ICI-Behandlung zeigten. Dies könnte darauf hindeuten, dass der LCI in diesem Setting vor allem als Früherkennungsinstrument von Bedeutung sein kann.

5.1.3 DLCO

DLCO-Messungen werden als früher Marker, sowie Instrument zur Prognose und Verlaufskontrolle bei Patienten bei Rheumatoider Arthritis-assoziiierter interstitieller Lungenerkrankung eingesetzt. Mehrere Studien unterstreichen hier die Sensitivität der DLCO und damit ihre Eignung zur sehr frühen Erkennung einer eingeschränkten Lungenfunktion, noch bevor eine Verschlechterung in einer Spirometrie erkennbar ist (39,55,58–60). Diese Annahme kann mit den vorliegenden Ergebnissen übereinstimmen, da außer der FEF25-75% keine relevante Verschlechterung der Lungenfunktion in der alleinigen Spirometrie nachweisbar war und auch keine klinischen Symptome auftraten, während der empfindliche LCI-Wert bereits bei längerer ICI-Therapie eine numerische Verringerung der Lungenfunktion zeigte. Eine sorgfältige pulmonale Überwachung durch routinemäßige Lungenfunktionstests, inklusive LCI, während der ICI-Therapie ist daher empfehlenswert.

2018 wurde eine Studie publiziert, in der eine DLCO-Messung durchgeführt wird, um frühe Anzeichen einer Lungentoxizität unter Ipilimumab-Therapie zu erkennen. Bereits nach drei Ipilimumab-Dosen konnte eine verminderte DLCO festgestellt werden (40). Dies stützt die Vermutung, dass subklinische Veränderungen häufig sind und nur durch empfindlichere Lungenfunktionstests wie LCI oder DLCO erkannt werden können. Diese sensitiveren Methoden können frühe Stadien der pulmonalen Beeinträchtigung erkennen, auch wenn die verschlechterten DLCO-Werte im vorliegenden Querschnitt nicht bestätigt werden konnten.

5.2 GRENZEN DER ARBEIT

Für die durchgeführte Studie können folgende Punkte als limitierende Faktoren betrachtet werden: Die kleine Studienpopulation reduziert die Belastbarkeit der Daten. Weitere Längsschnittstudien mit möglicherweise größeren Stichproben könnten dazu beitragen, zu bewerten, ob der beschriebene Trend der Beeinträchtigung der Lungenfunktion validiert werden kann.

Zweitens wurden ICI-Patienten mit pulmonalen Metastasen nicht ausgeschlossen. Dies wurde allerdings durch die Tatsache bestärkt, dass das metastatische Stadium eine der Indikationen für die ICI-Therapie selbst ist (61–63). Die Entscheidung, Patienten mit Lungenmetastasen nicht auszuschließen, wurde durch die Beobachtung weiter bekräftigt, dass bei allen Lungenfunktionsparametern kein Unterschied zwischen den Patienten mit Lungenmetastasen und den Patienten ohne Metastasen festzustellen war.

Bei den Kontrollpatienten liegt eine Limitation darin, dass über die Messung der LuFu hinaus nur anamnestische Daten erhoben werden konnten.

5.3 AUSBLICK

In einer früheren Studie unserer Arbeitsgruppe wurden erfolgreich LCI-Messungen als sensitive und leicht durchführbare Methode zur frühen Erkennung von pulmonalen Veränderungen eingesetzt (59). In der Studie zeigte sich der LCI als sensitiver als die DLCO und wird daher als routinemäßige Methode zur Überwachung von Patienten mit rheumatischen Erkrankungen empfohlen. In der Studie waren die Patienten im Kindesalter, die leichte Handhabbarkeit der LCI-Messung stellt hier also einen enormen Vorteil dar. Es lässt sich annehmen, dass dieser Vorteil jedoch auch für über 65-jährigen Patienten gilt.

Im Feld der ICI-Therapie bei dermatologischen Patienten ist die vorliegende Arbeit ein Pilotprojekt und es wurden erstmals LCI-Messungen in diesem Setting durchgeführt. Der Querschnitt der untersuchten Kohorte konnte wichtige Unterschiede zwischen den zwei Gruppen aufzeigen. Darüber hinaus konnte das einfache Handling des LCI im zu untersuchenden Patientenkollektiv bestätigt werden.

An diese Studie anschließend wären nun LCI-Messungen über den gesamten Verlauf einer ICI-Therapie von Patienten wichtig, um je patienteneigene Ausgangswerte in die Auswertung einbeziehen zu können. Es könnte in diesem Setting auch möglich sein zu untersuchen, ob eventuelle LCI-Wertverschlechterungen wieder eine spontane Remission zeigen oder sich genau bei starken Einschränkungen der Lungenfunktion dann folgend eine pulmonale Nebenwirkung der ICI-Therapie zeigt. Im Studienzeitraum der vorliegenden Arbeit entwickelte kein Patient eine pulmonale irAE, jedoch könnte dies in einem längeren Messintervall durchaus auftreten.

Langfristig sind Untersuchungen mit größeren Patientenkollektiven erforderlich, sodass die Anzahl der Patienten keine limitierende Komponente mehr darstellt.

Grundlegend besteht ein Bedarf an Normwerten für den Parameter LCI, die über das Kindesalter hinaus gehen. Da der LCI-Messung im Feld der CF bei Kindern ein immer größerer Stellenwert zukommt, gibt es für das Alter bis 18 Jahren eine gute Datenlage. Über diesem Alter werden die Daten rar, insbesondere im deutlich fortgeschrittenen Alter über 65 Jahren oder gar über 85 Jahren. Nach abgeschlossener Studienplanung und Datenerhebung für diese Studie, wurden von der Global Lung Funktion Initiative erstmals Referenzwerte mit breit gefächertem Altersprofil veröffentlicht und können ab nun zum Vergleich herangezogen werden (64). Auch hier ist die Anzahl der Daten für Kinder und junge Erwachsene überwiegend. Durch diese Daten ist es nun möglich, auch die LCI-Werte bis zu einem Alter von 80 Jahren unabhängig von Gerät, Wahl des inerten Gases und Messmethode zu interpretieren.

VI. ZUSAMMENFASSUNG UND SCHLUSSFOLGERUNGEN

Mit dieser Pilotstudie konnte gezeigt werden, dass die Durchführung der LCI-Messung in einem Patientenkollektiv über 65 Jahren sehr gut realisierbar ist. Es konnten Normalwerte durch die Kontrollgruppe zum Vergleich mit Patienten unter ICI-Therapie erhoben werden.

Bei Patienten unter länger wählender ICI-Therapie war eine klinisch noch asymptomatische Verschlechterung der Lungenfunktionsparameter feststellbar, die auf eine frühe Lungenschädigung zurückzuführen sein könnte. Die LCI- und FEF25-75%-Werte bei Patienten unter ICI-Therapie waren verringert, während alle anderen Lungenfunktionsparameter (u.a. DLCO) noch im Normalbereich lagen. Dies führte uns zu dem Schluss, dass der Überwachung der Lungenfunktion bei den bereits etablierten Nachuntersuchungen der Melanom Therapie mehr Aufmerksamkeit geschenkt werden sollte. Eine Pneumonitis, die am häufigsten beschriebene pulmonale irAE, kann schwerwiegend und progredient sein; andere pulmonale Beeinträchtigungen, wie z. B. eine interstitielle Lungenerkrankung, können ebenfalls auftreten (24,32). Daher sollten alle potenziellen irreversiblen Schädigungen des Lungenparenchyms durch regelmäßige LuFus der Patienten frühzeitig entdeckt werden.

Ein regelmäßiges Screening von Patienten unter ICI-Therapie mit möglichst sensitiven Markern wie dem LCI, um bei einer Verschlechterung der Lungenfunktion frühzeitig in den Therapieverlauf eingreifen zu können, ist stark empfehlenswert.

VII. HYPOTHESEN

Folgende Hypothesen wurden statistisch untersucht, analysiert und diskutiert:

1. Die MBW-Messung ist bei über 65-jährigen Patienten und lungengesunden Kontrollen gut durchführbar.
2. Patienten mit ICI-Therapie weisen einen höheren LCI-Wert als alters- und geschlechts-gematchte lungengesunde Kontrollen auf.
3. Patienten mit ICI-Therapie weisen eine verminderte Lungenfunktion in einer Spirometrie und DLCO auf, im Gegensatz zu alters- und geschlechts-gematchte lungengesunde Kontrollen.
4. Das Geschlecht hat keinen Einfluss auf den LCI-Wert.
5. Es gibt keinen Unterschied im LCI-Wert bei Patienten, die die ICI-Therapie als Monotherapie im Gegensatz zur Kombinationstherapie erhalten.
6. Ehemaliges Rauchen von ICI-Patienten führt zu keinem verschlechterten LCI-Wert im Vergleich zu Nichtraucher-ICI-Patienten.
7. Lungenmetastasen haben keinen Einfluss auf den LCI-Wert.

VIII. LITERATURVERZEICHNIS

1. Erdmann F, Spix C, Katalinic A, Christ M, Folkerts J, Hansmann J, et al. Krebs in Deutschland für 2017/2018. 2021;
2. Pflugfelder A, Kochs C, Blum A, Capellaro M, Czeschik C, Dettenborn T, et al. Malignant melanoma S3-guideline “diagnosis, therapy and follow-up of melanoma.” JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft. 2013;11(s6):1–116.
3. Isaksson K, Mikiver R, Eriksson H, Lapins J, Nielsen K, Ingvar C, et al. Survival in 31 670 patients with thin melanomas: a Swedish population-based study*. British Journal of Dermatology [Internet]. 2021 Jan 1;184(1):60–7. Available from: <https://doi.org/10.1111/bjd.19015>
4. Larkin J, Chiarion-Sileni V, Gonzalez R, Grob JJ, Rutkowski P, Lao CD, et al. Five-Year Survival with Combined Nivolumab and Ipilimumab in Advanced Melanoma. New England Journal of Medicine [Internet]. 2019 Sep 27;381(16):1535–46. Available from: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1910836>
5. Robert C, Grob JJ, Stroyakovskiy D, Karaszewska B, Hauschild A, Levchenko E, et al. Five-year outcomes with dabrafenib plus trametinib in metastatic melanoma. New England Journal of Medicine. 2019;381(7):626–36.
6. Franklin C, Livingstone E, Roesch A, Schilling B, Schadendorf D. Immunotherapy in melanoma: Recent advances and future directions. European Journal of Surgical Oncology (EJSO) [Internet]. 2017;43(3):604–11. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0748798316308666>
7. Kahlon N, Doddi S, Yousif R, Najib S, Sheikh T, Abuhelwa Z, et al. Melanoma Treatments and Mortality Rate Trends in the US, 1975 to 2019. JAMA Netw Open [Internet]. 2022 Dec 6;5(12):e2245269–e2245269. Available from: <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2022.45269>
8. National Center for Health Statistics CDC. Melanoma of the Skin Long-Term Trends in U.S. Age-Adjusted Mortality Rates, 1975-2022. 2024.
9. KÖHLER G, MILSTEIN C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of pre-defined specificity. Nature [Internet]. 1975;256(5517):495–7. Available from: <https://doi.org/10.1038/256495a0>
10. Murphy K, Weaver C. Die gezielte Beeinflussung der Immunantwort. In: Murphy K, Weaver C, editors. Janeway Immunologie [Internet]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2018. p. 913–76. Available from: https://doi.org/10.1007/978-3-662-56004-4_16

11. Topalian SL, Hodi FS, Brahmer JR, Gettinger SN, Smith DC, McDermott DF, et al. Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer. *New England Journal of Medicine*. 2012;366(26):2443–54.
12. Barone A, Hazarika M, Theoret MR, Mishra-Kalyani P, Chen H, He K, et al. FDA Approval Summary: Pembrolizumab for the Treatment of Patients with Unresectable or Metastatic Melanoma. *Clinical Cancer Research* [Internet]. 2017 Oct 1;23(19):5661–5. Available from: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-16-0664>
13. Hazarika M, Chuk MK, Theoret MR, Mushti S, He K, Weis SL, et al. U.S. FDA Approval Summary: Nivolumab for Treatment of Unresectable or Metastatic Melanoma Following Progression on Ipilimumab. *Clinical Cancer Research* [Internet]. 2017 Jul 13;23(14):3484–8. Available from: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-16-0712>
14. Rizvi NA, Mazières J, Planchard D, Stinchcombe TE, Dy GK, Antonia SJ, et al. Activity and safety of nivolumab, an anti-PD-1 immune checkpoint inhibitor, for patients with advanced, refractory squamous non-small-cell lung cancer (CheckMate 063): a phase 2, single-arm trial. *Lancet Oncol*. 2015;16(3):257–65.
15. Latchman Y, Wood CR, Chernova T, Chaudhary D, Borde M, Chernova I, et al. PD-L2 is a second ligand for PD-1 and inhibits T cell activation. *Nat Immunol* [Internet]. 2001;2(3):261–8. Available from: <https://doi.org/10.1038/85330>
16. Keir ME, Liang SC, Guleria I, Latchman YE, Qipo A, Albacker LA, et al. Tissue expression of PD-L1 mediates peripheral T cell tolerance. *J Exp Med* [Internet]. 2006/04/10. 2006 Apr 17;203(4):883–95. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16606670>
17. Boussiotis VA, Chatterjee P, Li L. Biochemical signaling of PD-1 on T cells and its functional implications. *Cancer J* [Internet]. 2014;20(4):265–71. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25098287>
18. Ivashko IN, Kolesar JM. Pembrolizumab and nivolumab: PD-1 inhibitors for advanced melanoma. *American Journal of Health-System Pharmacy* [Internet]. 2016 Feb 15;73(4):193–201. Available from: <https://doi.org/10.2146/ajhp140768>
19. Pardoll DM. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer* [Internet]. 2012;12(4):252–64. Available from: <https://doi.org/10.1038/nrc3239>
20. Grimm MO, Oppel-Heuchel H, Foller S. Therapie mit PD-1/PD-L1- und CTLA-4-Immune-Checkpoint-Inhibitoren. *Urologe* [Internet]. 2018;57(5):543–51. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00120-018-0635-1>
21. Hassel JC, Heinzerling L, Aberle J, Bähr O, Eigentler TK, Grimm MO, et al. Combined immune checkpoint blockade (anti-PD-1/anti-CTLA-4): Evaluation and management of adverse drug reactions. *Cancer Treat Rev* [Internet]. 2017;57:36–49. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0305737217300701>

22. Weber J, Thompson JA, Hamid O, Minor D, Amin A, Ron I, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled, phase II study comparing the tolerability and efficacy of ipilimumab administered with or without prophylactic budesonide in patients with unresectable stage III or IV melanoma. *Clinical cancer research*. 2009;15(17):5591–8.
23. Naidoo J, Wang X, Woo KM, Iyriboz T, Halpenny D, Cunningham J, et al. Pneumonitis in Patients Treated With Anti-Programmed Death-1/Programmed Death Ligand 1 Therapy. *J Clin Oncol* [Internet]. 2016/09/30. 2017 Mar;35(7):709–17. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27646942>
24. Zimmer L, Goldinger SM, Hofmann L, Loquai C, Ugurel S, Thomas I, et al. Neurological, respiratory, musculoskeletal, cardiac and ocular side-effects of anti-PD-1 therapy. *Eur J Cancer* [Internet]. 2016;60:210–25. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0959804916001507>
25. Nishino M, Giobbie-Hurder A, Hatabu H, Ramaiya NH, Hodi FS. Incidence of Programmed Cell Death 1 Inhibitor–Related Pneumonitis in Patients With Advanced Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Oncol* [Internet]. 2016 Dec 1;2(12):1607–16. Available from: <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2016.2453>
26. Naidoo J, Page DB, Li BT, Connell LC, Schindler K, Lacouture ME, et al. Toxicities of the anti-PD-1 and anti-PD-L1 immune checkpoint antibodies. *Annals of Oncology* [Internet]. 2015;26(12):2375–91. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0923753419357151>
27. Disayabutr S, Calfee CS, Collard HR, Wolters PJ. Interstitial lung diseases in the hospitalized patient. *BMC Med* [Internet]. 2015 Sep 25;13:245. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26407727>
28. Martin-Liberal J, Kordbacheh T, Larkin J. Safety of pembrolizumab for the treatment of melanoma. *Expert Opin Drug Saf*. 2015;14(6):957–64.
29. Weber JS, Kudchadkar RR, Yu B, Gallenstein D, Horak CE, Inzunza HD, et al. Safety, efficacy, and biomarkers of nivolumab with vaccine in ipilimumab-refractory or-naïve melanoma. *Journal of clinical oncology*. 2013;31(34):4311.
30. Brahmer JR, Lacchetti C, Schneider BJ, Atkins MB, Brassil KJ, Caterino JM, et al. Management of immune-related adverse events in patients treated with immune checkpoint inhibitor therapy: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline. *J Clin Oncol*. 2018;36(17):1714.
31. Naidoo J, Cottrell TR, Lipson EJ, Forde PM, Illei PB, Yarmus LB, et al. Chronic immune checkpoint inhibitor pneumonitis. *J Immunother Cancer*. 2020;8(1).

32. Delaunay M, Cadranel J, Lusque A, Meyer N, Gounant V, Moro-Sibilot D, et al. Immune-checkpoint inhibitors associated with interstitial lung disease in cancer patients. *European Respiratory Journal* [Internet]. 2017 Aug 1;50(2):1700050. Available from: <http://erj.ersjournals.com/content/50/2/1700050.abstract>
33. Barjaktarevic IZ, Qadir N, Suri A, Santamauro JT, Stover D. Organizing pneumonia as a side effect of ipilimumab treatment of melanoma. *Chest*. 2013;143(3):858–61.
34. Eckert A, Schoeffler A, Dalle S, Phan A, Kiakouama L, Thomas L. Anti-CTLA4 monoclonal antibody induced sarcoidosis in a metastatic melanoma patient. *Dermatology*. 2008;218(1):69.
35. Berthod G, Lazor R, Letovanec I, Romano E, Noirez L, Speiser DE, et al. Pulmonary sarcoid-like granulomatosis induced by ipilimumab. *J Clin Oncol*. 2012;30(17):e156-9.
36. Wang Y, Zhou S, Yang F, Qi X, Wang X, Guan X, et al. Treatment-related adverse events of PD-1 and PD-L1 inhibitors in clinical trials: a systematic review and meta-analysis. *JAMA Oncol*. 2019;5(7):1008–19.
37. Fowler WS, Cornish ER, Kety SS. Lung function studies. VIII. Analysis of alveolar ventilation by pulmonary N₂ clearance curves. *J Clin Invest*. 1952;31(1):40–50.
38. Aurora P, Bush A, Gustafsson P, Oliver C, Wallis C, Price J, et al. Multiple-breath wash-out as a marker of lung disease in preschool children with cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005;171(3):249–56.
39. Gustafsson PM, Aurora P, Lindblad A. Evaluation of ventilation maldistribution as an early indicator of lung disease in children with cystic fibrosis. *European Respiratory Journal*. 2003;22(6):972–9.
40. Franzen D, Schad K, Kowalski B, Clarenbach CF, Stupp R, Dummer R, et al. Ipilimumab and early signs of pulmonary toxicity in patients with metastatic melanoma: a prospective observational study. *Cancer Immunology, Immunotherapy* [Internet]. 2018;67(1):127–34. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00262-017-2071-2>
41. Houtz B, Green K, Lindblad A, Singer F, Robinson P, Nielsen K, et al. Tidal N₂ washout ventilation inhomogeneity indices in a reference population aged 7-70 years. *Eur Respiratory Soc*; 2012.
42. Cooper BG, Stocks J, Hall GL, Culver B, Steenbruggen I, Carter KW, et al. The Global Lung Function Initiative (GLI) Network: bringing the world's respiratory reference values together. *Breathe (Sheff)* [Internet]. 2017 Sep;13(3):e56–64. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28955406>
43. Gonem S, Scadding A, Soares M, Singapuri A, Gustafsson P, Ohri C, et al. Lung clearance index in adults with non-cystic fibrosis bronchiectasis. *Respir Res* [Internet]. 2014;15(1):59. Available from: <https://doi.org/10.1186/1465-9921-15-59>

44. Miller MR, Hankinson J, Brusasco V, Burgos F, Casaburi R, Coates A, et al. Standardisation of spirometry. *European Respiratory Journal* [Internet]. 2005 Aug 1;26(2):319. Available from: <http://erj.ersjournals.com/content/26/2/319.abstract>
45. Miller MR, Crapo R, Hankinson J, Brusasco V, Burgos F, Casaburi R, et al. General considerations for lung function testing. *European Respiratory Journal*. 2005;26(1):153–61.
46. Wanger J, Clausen JL, Coates A, Pedersen OF, Brusasco V, Burgos F, et al. Standardisation of the measurement of lung volumes. *European Respiratory Journal* [Internet]. 2005 Sep 1;26(3):511. Available from: <http://erj.ersjournals.com/content/26/3/511.abstract>
47. MacIntyre N, Crapo RO, Viegi G, Johnson DC, van der Grinten CPM, Brusasco V, et al. Standardisation of the single-breath determination of carbon monoxide uptake in the lung. *European Respiratory Journal* [Internet]. 2005 Oct 1;26(4):720. Available from: <http://erj.ersjournals.com/content/26/4/720.abstract>
48. Pellegrino R, Viegi G, Brusasco V, Crapo RO, Burgos F, Casaburi REA, et al. Interpretative strategies for lung function tests. *European respiratory journal*. 2005;26(5):948–68.
49. Sorichter S. Lungenfunktion. *Radiologe* [Internet]. 2009;49(8):676–86. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00117-009-1877-0>
50. Quanjer PH, Stanojevic S, Cole TJ, Baur X, Hall GL, Culver BH, et al. Multi-ethnic reference values for spirometry for the 3-95-yr age range: the global lung function 2012 equations. *Eur Respir J* [Internet]. 2012/06/27. 2012 Dec;40(6):1324–43. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22743675>
51. Kwon DS, Choi YJ, Kim TH, Byun MK, Cho JH, Kim HJ, et al. FEF25-75% Values in Patients with Normal Lung Function Can Predict the Development of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* [Internet]. 2020 Nov 12;15(null):2913–21. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.2147/COPD.S261732>
52. Quanjer PH, Weiner DJ, Pretto JJ, Brazzale DJ, Boros PW. Measurement of FEF25–75% and FEF75% does not contribute to clinical decision making. *European Respiratory Journal*. 2014;43(4):1051–8.
53. Gelb AF, Williams AJ, Zamel N. Spirometry: FEV₁ vs FEF25-75 Percent. *Chest* [Internet]. 1983 Oct 1;84(4):473–4. Available from: <https://doi.org/10.1378/chest.84.4.473>
54. Horsley AR, Gustafsson PM, Macleod KA, Saunders C, Greening AP, Porteous DJ, et al. Lung clearance index is a sensitive, repeatable and practical measure of airways disease in adults with cystic fibrosis. *Thorax*. 2008;63(2):135–40.

55. Lum S, Gustafsson P, Ljungberg H, Hülkamp G, Bush A, Carr SB, et al. Early detection of cystic fibrosis lung disease: multiple-breath washout versus raised volume tests. *Thorax*. 2007;62(4):341–7.
56. Khair DO, Bax HJ, Mele S, Crescioli S, Pellizzari G, Khiabany A, et al. Combining Immune Checkpoint Inhibitors: Established and Emerging Targets and Strategies to Improve Outcomes in Melanoma. *Front Immunol* [Internet]. 2019;10. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2019.00453>
57. Parisi GF, Cannata E, Manti S, Papale M, Meli M, Russo G, et al. Lung clearance index: A new measure of late lung complications of cancer therapy in children. *Pediatr Pulmonol* [Internet]. 2020 Dec 1;55(12):3450–6. Available from: <https://doi.org/10.1002/ppul.25071>
58. Attanasi M, Lucantoni M, Rapino D, Petrosino MI, Marsili M, Gasparroni G, et al. Lung function in children with juvenile idiopathic arthritis: A cross-sectional analysis. *Pediatr Pulmonol*. 2019;54(8):1242–9.
59. Hildebrandt J, Rahn A, Keßler A, Speth F, Fischer DC, Ballmann M. Lung Clearance Index (LCI) and diffusion capacity of the lung (DLCO) in children with rheumatic disease. *European Respiratory Journal* [Internet]. 2020 Sep 7;56(suppl 64):170. Available from: http://erj.ersjournals.com/content/56/suppl_64/170.abstract
60. Fuchs SI, Gappa M. Lung clearance index: clinical and research applications in children. *Paediatr Respir Rev* [Internet]. 2011;12(4):264–70. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1526054211000431>
61. Schachter J, Ribas A, Long G V, Arance A, Grob JJ, Mortier L, et al. Pembrolizumab versus ipilimumab for advanced melanoma: final overall survival results of a multicentre, randomised, open-label phase 3 study (KEYNOTE-006). *The Lancet*. 2017;390(10105):1853–62.
62. Weber JS, D'Angelo SP, Minor D, Hodi FS, Gutzmer R, Neyns B, et al. Nivolumab versus chemotherapy in patients with advanced melanoma who progressed after anti-CTLA-4 treatment (CheckMate 037): a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2015;16(4):375–84.
63. Hodi FS, Chiarion-Sileni V, Gonzalez R, Grob JJ, Rutkowski P, Cowey CL, et al. Nivolumab plus ipilimumab or nivolumab alone versus ipilimumab alone in advanced melanoma (CheckMate 067): 4-year outcomes of a multicentre, randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2018;19(11):1480–92.
64. Ramsey KA, Stanojevic S, Chavez L, Johnson N, Bowerman C, Hall GL, et al. Global Lung Function Initiative reference values for multiple breath washout indices. *European Respiratory Journal* [Internet]. 2024 Dec 5;64(6):2400524. Available from: <https://publications.ersnet.org//content/erj/64/6/2400524.abstract>



Universitätsmedizin Rostock · PF 10 08 88 · 18055 Rostock

Kinder- und Jugendklinik

Ernst-Heydemann-Str. 8
D-18057 Rostock
www.kinderklinik-rostock.de



Direktor

Univ.-Prof. Dr. med. Jan Däbritz
Telefon: +49 381 494-7001 / -7037
Jan.Daebritz@med.uni-rostock.de

Leitender Oberarzt

Prof. Dr. med. Manfred Ballmann
Telefon: +49 381 494-7010
Manfred.Ballmann@med.uni-rostock.de

Universitätsmedizin Rostock

**Klinik und Poliklinik für
Dermatologie und Venerologie**

Direktor

Prof. Dr. med. Steffen Emmert
Telefon: +49 381 494-9701
Fax: +49 381 494-9702

Leiterin der Hauttumorzentrens

Prof. Dr. Julia Tietze
Telefon: +49 381 494-14-9742
Julia.Tietze@med.uni-muenchen.de

<https://dermatologie.med.uni-rostock.de>

**Aufklärung
zur Teilnahme an der Studie
„Lung Clearance Index zur frühen Detektion von
Lungenerkrankungen unter PD-1 Inhibitor Therapie“**

Sehr geehrte Patientin,

Sehr geehrter Patient,

mit dieser Informationsschrift bitten wir Sie um die freiwillige Teilnahme an einer wissenschaftlichen Studie, da Sie die Ein- und Ausschlusskriterien dazu erfüllen. In der Studie soll sich zeigen, ob die bei Ihnen aufgrund des Melanoms durchgeführte Therapie mit einem PD-1 Inhibitor zu möglichen Schäden in der Lunge führt, und ob wir diese möglichen Schäden frühzeitig mit der Messung des Lung Clearance Index erfassen können.

Universitätsmedizin Rostock – rechtsfähige Teilkörperschaft der Universität Rostock · www.med.uni-rostock.de

Vorstand: Harald Jeguschke, Annett Laban, Prof. Dr. Emil C. Reisinger, Prof. Dr. Christian Schmidt MPH (Vorsitz)

Aufsichtsratsvorsitzender: Mathias Brodkorb

UST-IdNr: DE 246 101 670 · Deutsche Bundesbank Filiale Rostock · IBAN: DE1613000000013001531 · BIC: MARKDEF1130

Die Teilnahme beinhaltet zunächst die Erhebung von Geburtsmonat und -jahr, Geschlecht, Diagnosen und Dauermedikation. Im Anschluss erfolgt einmalig eine Untersuchung der Lungenfunktion durch Messung des Lung-Clearance-Index (LCI). Die Messung des LCI ist eine nicht invasive Methode um frühe Lungenschädigungen zu messen, die noch keine Symptome zeigen. Die Untersuchung erfolgt in in aufrechter Position und Sie atmen (Ruheatmung) über ein Mundstück. Die Dauer der Untersuchung beträgt ca. 15-20 min. Sie müssen nur in das Gerät atmen, und das Gerät kann durch Messung der Belüftungsgleichheit in der Lunge früh Schäden in der Lunge erfassen.

Die Datenauswertung erfolgt vollständig pseudonymisiert.

Hiermit stimme ich _____, geb. _____, der Teilnahme an o.g. Studie als Proband der gesunden Kontrollgruppe und der Erhebung der damit verbundenen Daten zu.

Ich wurde durch den Prüfarzt _____ ausführlich über die Art und Durchführung der notwendigen Diagnostik informiert und bin mit der pseudonymisierten Auswertung meiner Daten einverstanden.

Ich weiß, dass meine Teilnahme freiwillig ist, und dass ich diese Einwilligungserklärung jederzeit und ohne Angabe von Gründen widerrufen kann, ohne dass mir hieraus Nachteile entstehen. Sollte ich die Untersuchung wegen etwaiger Probleme abbrechen müssen, werde ich dies dem Prüfarzt rechtzeitig mitteilen.

Ich wünsche (bitte betreffendes ankreuzen):

- ☐ eine Kopie dieser Einwilligungserklärung
- ☐ eine Kopie der erhobenen Untersuchungsdaten

Rostock, den _____

Prüfarzt: _____

Teilnehmer _____

Hinweise zum Datenschutz:

Die von Ihrer Behandlung erhobenen Parameter werden zu Forschungszwecken (d.h. nicht-kommerziell) gewonnen und dann nur noch pseudonymisiert gespeichert. Pseudonymisierung bedeutet die Verschlüsselung von Daten ohne Namensnennung nur mit Nummern codiert. Die Zuordnung der Daten oder Proben zu einer Person ist nur möglich, wenn hierfür der Schlüssel eingesetzt wird, mit dem die Daten pseudonymisiert wurden. Die personenbezogenen Daten werden unter besonderen Schutzvorkehrungen getrennt von den pseudonymisierten Daten aufbewahrt.

Eine Entschlüsselung ist nur durch den verantwortlichen Studienarzt der Hautklinik und Kinderklinik Rostock möglich (Prof. Tietze und Prof. Ballmann). Dritte erhalten keinen Einblick in Originalunterlagen. Die ärztliche Schweigepflicht gilt im Rahmen der Untersuchungen uneingeschränkt.

Die Daten der Teilnehmer werden nach dem klinischen Datenmanagement über einen Zeitraum von mindestens 15 Jahren gespeichert und anschließend vernichtet. Im Falle eines Widerrufs der Teilnahme werden die Daten umgehend gelöscht.

Sie werden gebeten, zu der Archivierung und wissenschaftlichen Auswertung der pseudonymisierten Daten durch Unterzeichnung Ihre Zustimmung zu geben.

Rostock, den _____

Prüfarzt: _____

Teilnehmer _____

Bei weiteren Fragen wenden Sie sich bitte an:

Univ.-Prof. Dr. Julia Tietze, Tel.: 0381-494-14-9742 oder Prof. Dr. med. Manfred Ballmann, Tel.: 0381 494-7010, Universitäts-Hautklinik, Stempelstraße 13 bzw. Universitäts- Kinder- und Jugendklinik Ernst-Heydemann-Str. 8, 18057 Rostock



Universitätsmedizin Rostock · PF 10 08 88 · 18055 Rostock

Kinder- und Jugendklinik

Ernst-Heydemann-Str. 8
D-18057 Rostock
www.kinderklinik-rostock.de



Direktor

Univ.-Prof. Dr. med. Jan Däbritz
Telefon: +49 381 494-7001 /-7037
Jan.Daebritz@med.uni-rostock.de

Leitender Oberarzt

Prof. Dr. med. Manfred Ballmann
Telefon: +49 381 494-7010
Manfred.Ballmann@med.uni-rostock.de

Universitätsmedizin Rostock

**Klinik und Poliklinik für
Dermatologie und Venerologie**

Direktor

Prof. Dr. med. Steffen Emmert
Telefon: +49 381 494-9701
Fax: +49 381 494-9702

Leiterin der Hauttumorzentriums

Prof. Dr. Julia Tietze
Telefon: +49 381 494-14-9742
Julia.Tietze@med.uni-muenchen.de

<https://dermatologie.med.uni-rostock.de>

**Aufklärung
zur Teilnahme an der Studie
„Lung Clearance Index zur frühen Detektion von
Lungenerkrankungen unter PD-1 Inhibitor Therapie“**

Sehr geehrte Patientin,

Sehr geehrter Patient,

mit dieser Informationsschrift bitten wir Sie um die freiwillige Teilnahme als gesunder Proband an einer wissenschaftlichen Studie. In der Studie soll sich zeigen, ob die bei aufgrund eines malignen Melanoms durchgeführte Therapie mit einem PD-1 Inhibitor zu möglichen Schäden in der Lunge führt, und ob wir diese möglichen Schäden frühzeitig mit der Messung des Lung Clearance Index erfassen können. Ihre Daten werden mit denen der Patienten unter Therapie verglichen.

Universitätsmedizin Rostock – rechtsfähige Teilkörperschaft der Universität Rostock · www.med.uni-rostock.de

Vorstand: Harald Jeguschke, Annett Laban, Prof. Dr. Emil C. Reisinger, Prof. Dr. Christian Schmidt MPH (Vorsitz)

Aufsichtsratsvorsitzender: Mathias Brodtkorb

UST-IdNr: DE 246 101 670 · Deutsche Bundesbank Filiale Rostock · IBAN: DE16130000000013001531 · BIC: MARKDEF1130

Die Teilnahme beinhaltet zunächst die Erhebung von Geburtsmonat und -jahr, Geschlecht, Diagnosen und Dauermedikation. Es erfolgt dann eine Untersuchung der Lungenfunktion durch Messung des Lung-Clearance-Index (LCI). Die Messung wird einmalig durchgeführt. Die Messung des LCI ist eine nicht invasive Methode um frühe Lungenschädigungen zu messen, die noch keine Symptome zeigen. Die Untersuchung erfolgt in aufrechter Position und Sie atmen (Ruheatmung) über ein Mundstück. Die Dauer der Untersuchung beträgt ca. 15-20 min. Sie müssen nur in das Gerät atmen und das Gerät kann durch Messung der Belüftungsgleichheit der Lunge früh Schäden in der Lunge erfassen.

Die Datenauswertung erfolgt vollständig pseudonymisiert.

Hiermit stimme ich _____, geb. _____, der Teilnahme an o.g. Studie als Proband der gesunden Kontrollgruppe und der Erhebung der damit verbundenen Daten zu.

Ich wurde durch den Prüfarzt _____ ausführlich über die Art und Durchführung der notwendigen Diagnostik informiert und bin mit der pseudonymisierten Auswertung meiner Daten einverstanden.

Ich weiß, dass meine Teilnahme freiwillig ist, und dass ich diese Einwilligungserklärung jederzeit und ohne Angabe von Gründen widerrufen kann, ohne dass mir hieraus Nachteile entstehen. Sollte ich die Untersuchung wegen etwaiger Probleme abbrechen müssen, werde ich dies dem Prüfarzt rechtzeitig mitteilen.

Ich wünsche (bitte betreffendes ankreuzen):

- ☐ eine Kopie dieser Einwilligungserklärung
- ☐ eine Kopie der erhobenen Untersuchungsdaten

Rostock, den _____

Prüfarzt: _____

Teilnehmer _____

Hinweise zum Datenschutz:

Die von Ihrer Behandlung erhobenen Parameter werden zu Forschungszwecken (d.h. nicht-kommerziell) gewonnen und dann nur noch pseudonymisiert gespeichert. Pseudonymisierung bedeutet die Verschlüsselung von Daten ohne Namensnennung nur mit Nummern codiert. Die Zuordnung der Daten oder Proben zu einer Person ist nur möglich, wenn hierfür der Schlüssel eingesetzt wird, mit dem die Daten pseudonymisiert wurden. Die personenbezogenen Daten werden unter besonderen Schutzvorkehrungen getrennt von den pseudonymisierten Daten aufbewahrt.

Eine Entschlüsselung ist nur durch den verantwortlichen Studienarzt der Hautklinik und Kinderklinik Rostock möglich (Prof. Tietze und Prof. Ballmann). Dritte erhalten keinen Einblick in Originalunterlagen. Die ärztliche Schweigepflicht gilt im Rahmen der Untersuchungen uneingeschränkt.

Die Daten der Teilnehmer werden nach dem klinischen Datenmanagement über einen Zeitraum von mindestens 15 Jahren gespeichert und anschließend vernichtet. Im Falle eines Widerrufs der Teilnahme werden die Daten umgehend gelöscht.

Sie werden gebeten, zu der Archivierung und wissenschaftlichen Auswertung der pseudonymisierten Daten durch Unterzeichnung Ihre Zustimmung zu geben.

Rostock, den _____

Prüfarzt: _____

Teilnehmer _____

Bei weiteren Fragen wenden Sie sich bitte an:

Univ.-Prof. Dr. Julia Tietze, Tel.: 0381-494-14-9742 oder Prof. Dr. med. Manfred Ballmann, Tel.: 0381 494-7010, Universitäts-Hautklinik, Stempelstraße 13 bzw. Ernst-Heydemann-Str. 8, 18057 Rostock

E-Mail: julia.tietze@med.uni-rostock.de oder manfred.ballmann@med.uni-rostock.de

X. DANKSAGUNGEN

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen Personen bedanken, die zum Gelingen dieser Dissertation beigetragen haben.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Ballmann für die exzellente Betreuung, seine wertvollen wissenschaftlichen Ratschläge und die stetige Unterstützung während der gesamten Arbeit. Ebenso bedanke ich mich bei Frau Prof. Dr. Tietze für ihre fachliche Beratung und Betreuung, sowie die hilfreichen Diskussionen auf Kongressen.

Mein Dank gilt ebenso allen teilnehmenden Probanden, die mit ihren Daten das Fundament dieser Arbeit liefern.

Bedanken möchte ich mich auch beim Team der Pneumologie Rostock für die tatkräftige Unterstützung bei der Koordination und Durchführung der Lungenfunktionsmessungen, sowie beim Team der Tagesklinik der Dermatologie Rostock für die stetige und aufmerksame Hilfe bei der Rekrutierung der Probanden.

Ich bedanke mich bei Herrn Dr. Hahn für die statistischen Ratschläge und Unterstützung.

Und nicht zuletzt gilt auch meinen Freunden und meiner Familie mein voller Dank für die fortwährende Unterstützung während der gesamten Zeit des Studiums, die auch zum Gelingen dieser Promotion beitrug. Danke!