

AUS DER KLINIK FÜR INNERE MEDIZIN V –
FÜR PNEUMOLOGIE, ALLERGOLOGIE, BEATMUNGS- UND UMWELTMEDIZIN
DIREKTOR: PROF. DR. MED. DR. RER. NAT. ROBERT BALS

Assoziation des sCD14-Serumspiegels mit klinischen
Parametern bei Patienten mit Chronisch obstruktiver
Lungenerkrankung

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

2020

vorgelegt von
Teresa Sophie Stegmaier
geboren am 16.02.1992 in Stuttgart

Tag der Promotion: 01.10.2020

Dekan: Univ.-Prof. Dr. M.D. Menger

1. Berichterstatter: Prof. R. Bals
2. Berichterstatter: Prof. M. W. Laschke

Für meine Familie

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	i
Abbildungsverzeichnis	i
Tabellenverzeichnis	i
Abkürzungsverzeichnis	i
1 Zusammenfassung und Abstract	3
1.1 Zusammenfassung	3
1.2 Abstract	4
2 Einleitung	6
2.1 Chronisch obstruktive Lungenerkrankung (COPD)	6
2.1.1 Definition	6
2.1.2 Klassifikation	6
2.1.3 Epidemiologie und Mortalität	7
2.1.4 Ätiologie	8
2.1.5 Pathogenese der COPD.....	11
2.1.6 Therapie der COPD	12
2.1.7 Exazerbationen	13
2.2 Biomarker und CD14	15
2.2.1 Definition Biomarker	15
2.2.2 Membrangebundenes CD14 (mCD14) und lösliches CD14 (sCD14).....	16
2.2.3 Lipopolysaccharid (LPS)	17
2.2.4 Funktionen von mCD14 und sCD14	18
2.3 Fragestellung der Studie.....	20
3 Material und Methoden	22
3.1 Studiendesign PULMOHOM.....	22
3.2 Patientenkollektiv.....	22
3.3 Materialien.....	23
3.3.1 Fragebögen für klinische Datenerhebung.....	23
3.3.2 Erhebung klinischer Parameter	23
3.3.3 Blutentnahme-Röhrchen	24
3.3.4 Messung Biomarker sCD14 im Labor	24
3.3.5 Weiteres Zubehör und Geräte	25
3.4 Methoden	25
3.4.1 Studienablauf	25
3.4.2 Auswertung der Biomarker im Labor	27
3.4.3 Statistik	28
4 Ergebnisse	30
4.1 Einfluss von Biologischen Personenmerkmalen auf den sCD14- und LPS-Serumspiegel .	30
4.2 Einfluss der Komorbiditäten auf den sCD14- und LPS-Serumspiegel	32
4.3 Einfluss des Rauchverhaltens auf den sCD14- und LPS-Spiegel	36
4.4 Zusammenhang des Schweregrades der COPD und dem sCD14-Spiegel.....	39
4.4.1 Zuordnung GOLD und ABCD-Klassifikation	39
4.4.2 Analyse der Lungenfunktionsparameter	42
4.4.3 6-min-Gehstrecke und CAT/mMRC-Fragebögen	43
4.4.4 Kapillare Blutgasanalyse	44
4.5 Zusammenhang zwischen der jährlichen Exazerbationsrate und dem sCD14-Spiegel	44
5 Diskussion	49

Inhaltsverzeichnis

5.1	sCD14-Spiegel steigt im Alter an.....	49
5.2	sCD14 bei Probanden mit Diabetes mellitus erhöht.....	50
5.3	Zusammenhang zwischen dem Rauchverhalten und dem sCD14-Spiegel.....	54
5.4	Schweregrad der COPD korreliert nicht mit sCD14-Serumspiegel.....	55
5.5	Probanden mit häufiger Exazerbationsrate zeigen verringerte sCD14 Spiegel.....	57
6	Schlusswort.....	61
7	Literaturverzeichnis.....	62
8	Publikation.....	74
9	Danksagung.....	75
10	Lebenslauf.....	76

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Klassifikation der COPD nach ABCD-Schema aus dem Jahr 2017(1).....	7
Abb. 2: Strukturaufbau von LPS (Mike Jones, Overview of LPS structure,2010).	17
Abb. 3: Inhibitorische Mechanismen von sCD14 auf die Immunaktivierung nach Kitchens, R. L., & Thompson, P. A. (2005). Modulatory effects of sCD14 and LBP on LPS-host cell interactions. Journal of Endotoxin Research, 11(4), 225–229.).....	19
Abb. 4: Korrelation mit Anpassungslinie und Konfidenzintervall des sCD14-Serumspiegel in pg/ml und Lebensalter der Probanden in Jahren ($p < 0.05$).	31
Abb. 5: Vergleich des sCD14-Serumspiegels in pg/ml bei Patienten mit Diabetes und ohne Diabetes mit Fehlerbalken ($p=0.049$).....	35
Abb. 6: Kreisdiagramm Zuordnung in COPD- und ABCD-Klassifikation der Probanden	39
Abb. 7: Vergleich der sCD14-Mittelwerte der Studienteilnehmer in den GOLD-Stadien der COPD ($p > 0.05$)	40
Abb. 8: Vergleich LPS-Mittelwert in EU/ml der COPD-Klassifikation Gruppe ABC und COPD-Klassifikation Gruppe D ($p < 0.05$).....	41
Abb. 9: Korrelation mit Anpassungslinie und Konfidenzintervall zwischen dem Residualvolumen in l und dem sCD14-Spiegel der Probanden in pg/ml ($p < 0.05$).	43
Abb. 10: Korrelation mit Anpassungslinie und Konfidenzintervall zwischen der Gesamtanzahl an Exazerbationen pro Jahr und dem sCD14-Wert der Probanden in pg/ml.....	46
Abb. 11: Korrelation mit Anpassungslinie und Konfidenzintervall zwischen der Anzahl an Exazerbationen pro Jahr mit Arztbesuch und dem sCD14-Wert der Probanden in pg/ml	47
Abb. 12: Korrelation mit Anpassungslinie und Konfidenzintervall zwischen der Anzahl an Exazerbationen pro Jahr mit Krankenhausaufenthalt und dem sCD14-Wert der Probanden in pg/ml	47

Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Schweregradeinteilung der COPD nach GOLD- und DGP-Leitlinie 2018(1) 6

Tab. 2: Übersicht über die verwendeten Blutentnahme-Röhrchen..... 24

Tab. 3: Übersicht der Patientenmerkmale..... 30

Tab. 4: Erhobene Komorbiditäten der Studienteilnehmer 33

Tab. 5: Mittelwerte des sCD14- in pg/ml und des LPS-Spiegels in EU/ml im Vergleich der Gruppen „in den letzten vier Wochen geraucht“ (ja=1/ nein=0)..... 37

Tab. 6: Übersicht des Rauchverhaltens der Studienteilnehmer 38

Tab. 7: Zuordnung der Studienteilnehmer in GOLD- und ABCD-Klassifikation 39

Tab. 8: Übersicht Lungenfunktionsparameter, CAT-Score und MMRC-Grad sowie der 6min-Gehstrecke der Probanden. 42

Tab. 9: Exazerbationshäufigkeiten pro Jahr der Probanden im Gesamten, mit Aufsuchen eines Arztes und einem stationären Krankenhaus-Aufenthalt. 45

Abkürzungsverzeichnis

BAL	Bronchoalveoläre Lavage
BMI	Body Mass Index
CAT	COPD Assessment Test
CD	Cluster of Differentiation
COPD	Chronic obstructive Pulmonal Disease
CRF	Case report form
CRP	C-reaktives Protein
CSF	Colony-stimulation factor
CCQ	Clinical COPD Questionnaire
DGP	Deutsche Gesellschaft für Pneumologie
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EGFR	Epidermal Growth Factor Receptor
eLVR	endoskopische Lungenvolumenreduktion
Et al.	et alii (und andere)
FEV1	Einsekundenkapazität
GOLD	Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease
IL-8	Interleukin 8
kDa	Kilo-Dalton (Molekülmasse)
LPS	Lipopolysaccharide
LBP	Lipopolysaccharid-binding-protein
LAB-ID	Labor-Identifikationsnummer
Max.	Maximum
MD2	Myeloid differentiation-2
mMRC	Modified British Medical Research Council
MMP12	Matrix-Metalloproteinase 12
NIH	National Institutes of Health

Abkürzungsverzeichnis

paO ₂	Arterieller Sauerstoffpartialdruck
PRR	Pattern recognition receptor
ROS	Reaktive Sauerstoffspezies
SGRQ-C	St. George's respiratory questionnaire for COPD patients
TGF α	Transforming growth factor alpha
TLR4	Toll-like rezeptor 4
TLCO	Totale Lungenkapazität
TRAM	Toll-like receptor adaptor molecule
TRIF	TIR-domain-containing adapter-inducing interferon- β
VC	Vitalkapazität
WHO	World Health Organisation
Z.n.	Zustand nach

1 Zusammenfassung und Abstract

1.1 Zusammenfassung

Hintergrund: Die Chronisch obstruktive Lungenerkrankung (COPD) ist eine komplexe inflammatorische Erkrankung der Lunge, welche mit einer nicht reversiblen Beeinträchtigung der Lungenfunktion einhergeht. Die steigende Prävalenz der Erkrankung zeigt sich insbesondere auch in der Zunahme der Krankheitskosten, welche durch häufige Hospitalisationen aufgrund von Exazerbationen verursacht werden. Wiederholte Exazerbationen führen zudem zu einer deutlich schlechteren Lebensqualität und negativen Krankheitsprognose. Daher ist die stetige Suche nach spezifischen Markern grundlegend, welche eine Krankheitsprognose oder Anfälligkeit gegenüber Exazerbationen anzeigen und somit zur Prävention einer Exazerbation dienen können.

Die lösliche Form des Oberflächenproteins CD14, sCD14, wurde bisher als stimulierender und hemmender Entzündungs- und Immunmarker für zahlreiche chronische inflammatorische Erkrankungen untersucht. Dabei ist insbesondere die Funktion der Lipopolysaccharid-Erkennung, dem Hauptbestandteil der äußeren Zellwand von Gram-negativen Bakterien, durch sCD14 nachgewiesen worden. Ziel dieser Studie war es, sCD14 mit klinischen Parametern von COPD-Patienten zu untersuchen, um einen möglichen prognostischen Marker für die Erkrankung zu identifizieren.

Methode: Es wurden 56 Probanden mit diagnostizierter COPD unterschiedlicher GOLD-Stadien an der pneumologischen Universitätsklinik des Saarlandes im Rahmen der PULMOHOM-Studie rekrutiert. Nach Erhebung der anamnestischen und klinischen Daten in einem standardisierten Fragebogen wurden Proben zur Ermittlung des sCD14- und LPS-Serum-Spiegels entnommen. Diese wurden nach Zentrifugation mittels Fluoreszenz-Immunoassay im Human Magnetic Luminex® Screening analysiert. Im Anschluss wurde die Korrelation der sCD14-Werte mit biologischen Merkmalen der Probanden, dem Rauchverhalten sowie dem Schweregrad der COPD-Erkrankung und der Anzahl an Exazerbationen untersucht. In der multivariaten Regressionsanalyse wurde die Einflussstärke der einzelnen Parameter auf den sCD14-Serumspiegel erhoben.

Ergebnis: Insgesamt wurden die Daten von n=24 weiblichen und n=32 männlichen Probanden ausgewertet, wobei bei 60,7% (n=34) ein GOLD-Stadium IV vorlag. Bei den biologischen Personenmerkmalen korrelierte nur das Alter positiv signifikant mit dem sCD14-Spiegel ($r=0,322$, $p=0,020$). Im t-Test für Mittelwertvergleiche bei unabhängigen Stichproben zeigte sich ein signifikanter Unterschied des sCD14-Spiegels zwischen den Gruppen mit (n=10) oder ohne Diabetes (n=36). Hierbei wiesen Probanden mit Diabetes mellitus signifikant höhere sCD14-Werte auf ($T(54)= 2,028$, $p<0,05$). Es zeigte sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Rauchverhalten oder dem COPD Stadium nach GOLD/ABCD der Probanden und dem sCD14-Spiegel. In der linearen Regressionsanalyse zeigte sich, dass ein niedrigerer sCD14-Spiegel unabhängig vom Schweregrad der COPD sowie der Lungenfunktion als signifikanter Einflussfaktor mit der Exazerbationshäufigkeit pro Jahr assoziiert ist ($F(7,42) = 3,338$, $p=0,005$). Dies stellte sich nicht für den LPS-Serumspiegel dar.

Schlussfolgerung: In Zusammenschau der Ergebnisse konnten wir erstmals nachweisen, dass der sCD14 Serumspiegel signifikant mit der Exazerbationshäufigkeit der COPD-Patienten korreliert. So zeigten Probanden mit niedrigen sCD14-Werten häufiger Exazerbationen. Zum einen könnte die Exazerbations-Anfälligkeit dieser COPD-Patienten, durch den hierbei verringerten antiinflammatorischen und protektiven Effekt von sCD14 verursacht sein. Zum anderen besteht die Möglichkeit, dass es durch häufige LPS-Kontakte zu Verbrauch von sCD14 und „Desensibilisierung“ des Individuums gegenüber LPS mit konsekutiv verringerter Immunabwehr kommt.

1.2 Abstract

Background: Chronic obstructive pulmonary disease is a complex inflammatory disease of the lung, which implicates a non-reversible decrease of lung function. The growing prevalence of the disease is particularly shown in the increase of the medical expenses, which result from the frequent hospitalization caused by exacerbations. Frequent exacerbations lead to reduced quality of life and worse clinical outcome. Therefore, a constant search for predictive biomarkers is fundamental, which show a certain susceptibility to exacerbations and may function as a preventive instrument.

sCD14 has been examined as a stimulating and inhibiting inflammation- and immune marker for many chronic inflammatory diseases. In this context the detecting function of LPS, a surface protein of gram-negative bacteria by sCD14, is primary. The aim of this study was to investigate the correlation between clinical parameters of COPD patients and their sCD14 serum level in order to identify a potential prognostic serum marker.

Methods: We investigated 56 patients with diagnosed COPD in different GOLD stadiums at the Pneumological University medical center of Saarland within the PULMOHOM study in ambulant and stationary setting. Besides the elicitation of anamnestic and clinical data, we collected serum samples to measure the sCD14- and LPS serum-levels. After centrifugation the serum samples were analyzed by fluorescence-immunassay in the Human Magnetic Luminex® screening tool. Afterwards the correlation between the sCD14-serum levels and parameters as biological features, the smoking behavior, the degree of severity of disease and the incidence rate of exacerbations was investigated. A multivariate logistic regression analysis was performed to measure the strength of influence among the parameters on the sCD14 serum levels.

Results: In total data from n=24 female and n=32 male patients were analyzed, whereas 60,7 % (n=34) of the probands classified as GOLD-stadium IV. Among patients' biological characteristics only age correlated positively significant with the sCD14 serum level ($r=0,322$, $p=0,020$). In the group comparison performing independent t-test, it is shown that patients with diabetes (n=10) had significant higher sCD14 serum levels than those without diabetes (n=36) ($T(54) = 2.028$, $p<0.05$). There was no significant correlation between smoking behavior as well as the COPD disease stadium of the probands according to GOLD/ABCD classification and the sCD14 serum level. In the logistic regression analysis, considering COPD disease stadium and lung function, a significant corre-

lation between low sCD14 serum levels and high incident rate of exacerbations per year was confirmed ($F(7,42) = 3,338, p=0,005$). There was no significant correlation between LPS serum level and incident rate of exacerbations.

Conclusion: Based on this study we had shown for the first time that the sCD14 serum level significantly correlates with the incident rate of exacerbations of COPD patients. Individuals with lower sCD14 serum levels suffer from exacerbations more frequently. The susceptibility to exacerbations could be caused by the missing anti-inflammatory and protective effect of sCD14. On the other hand, frequent LPS exposure could deplete sCD14 in the serum and “desensitize” the individual against LPS and therefore cause a reduced immune defense.

2 Einleitung

2.1 Chronisch obstruktive Lungenerkrankung (COPD)

2.1.1 Definition

Die Deutsche Atemwegsliga und die Deutsche Gesellschaft der Pneumologie (DGP) definiert die COPD als eine progrediente Atemwegsobstruktion, die nach Gabe von Bronchodilatoren und/ oder Kortikosteroiden nicht vollständig reversibel ist. Die COPD zeigt oft eine abnorme Entzündungsreaktion in der Lunge bzw. im gesamten Organismus, die durch die Exposition von inhalativen Noxen wie Tabakrauch entstanden ist (1).

Die fehlende oder nicht vollständige Reversibilität der Atemwegsobstruktion ist das Hauptkriterium, das gegen die Diagnose Asthma bronchiale spricht. Jedoch zeichnet sich immer deutlicher ab, dass eine strikte Trennung zwischen COPD und Asthma nicht immer möglich ist.

Von der COPD abzugrenzen ist auch die chronische Bronchitis, welche durch produktiven Husten über einen Zeitraum von 3 Monaten über mindestens zwei aufeinanderfolgende Jahre beschrieben ist (3). Die chronische Bronchitis und das Lungenemphysem sind jedoch Teil der COPD und können bei dieser Erkrankung in unterschiedlich starker Ausprägung vorliegen.

Das Lungenemphysem wird wiederum als eine irreversible, distal der Bronchioli terminales lokalisierte Erweiterung der Lufträume aufgrund von Destruktion der Wände definiert (1).

Im Jahr 1997 wurde das globale Programm GOLD von der National Institution of Health, USA (NIH) und der World Health Organisation (WHO) ins Leben gerufen, welches die Prävention und Therapie der COPD verbessern soll. (4).

2.1.2 Klassifikation

Die COPD wird nach GOLD und DGP-Leitlinien in 4 Schweregrade klassifiziert, welche anhand der Lungenfunktionsdiagnostik bestimmt werden. Dabei orientiert man sich immer an den Werten nach erfolgter Bronchodilatation (1).

Schweregrad	FEV ₁ % Soll	FEV ₁ / FVC
I	≥80% des Soll FEV ₁	<70
II	50%-79% des Soll FEV ₁	<70
III	30%-49% des Soll FEV ₁	<70
IV	< 30 % des Soll FEV ₁	<70

Tab. 1: Schweregradeinteilung der COPD nach GOLD- und DGP-Leitlinie 2018(1)

Neben dieser Einteilung existiert der BODE-Index, dessen Punkte-Score eine bessere Aussage über die Gesamtmortalität und die Mortalität der COPD erlaubt als die FEV1 (5).

Eine aktuellere Klassifizierung der COPD-Patienten erfolgt durch das ABCD-Schema im Jahr 2017. Dieses berücksichtigt neben der Atemwegobstruktion gemessen am spirometrischen Stadium I-IV die Exazerbationsrate und die Ausprägung der Symptome im Alltag gemessen an den Fragebögen mMRC und CAT (4). Diese Klassifizierung korreliert besser mit der gesundheitsbezogenen Lebensqualität und den durch die COPD verursachten Kosten. Sie zeigt zudem deutlich, dass für die Beurteilung des Schweregrades der COPD mehrere Komponenten berücksichtigt werden müssen (6).

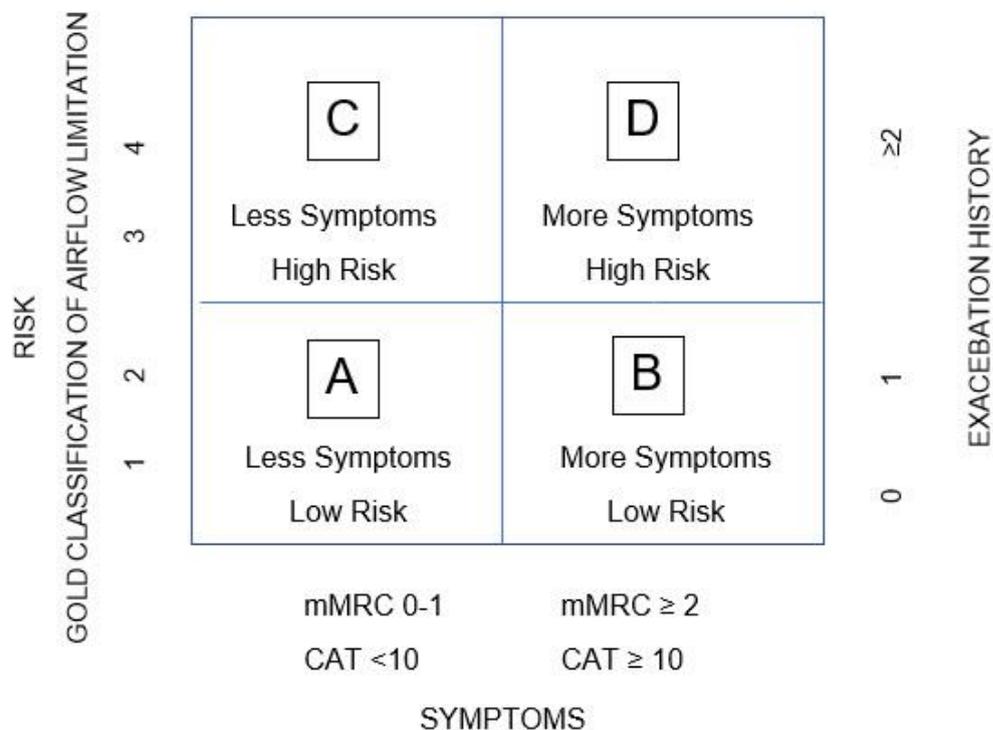


Abb. 1: Klassifikation der COPD nach ABCD-Schema aus dem Jahr 2017(1)

2.1.3 Epidemiologie und Mortalität

Die genaue Prävalenz der COPD ist wegen der relativ schwierigen Definition schwer festzulegen; zudem ist sie eine deutlich unterdiagnostizierte Erkrankung (7).

In einer 2006 durchgeführten Metaanalyse wurde die Prävalenz weltweit auf ca. 9-10% bei den über 40-Jährigen geschätzt, jedoch wurden dabei vor allem Daten aus Europa und Nordamerika ausgewertet (8). Die Universität Hannover legte im Rahmen der BOLD-Studie im Jahr 2008 repräsentativ für Deutschland folgende Zahlen für die COPD (ermittelt durch Lungenfunktionswerte) in Deutschland vor; Gesamt- Prävalenz 13,3% (Männer 18,1%, Frauen 9,3%). Dabei war bei nur 7,7 % die COPD bereits davor durch einen Arzt diagnostiziert worden (9).

Im Jahr 2017 starben 32.104 Menschen an der COPD-Erkrankung in Deutschland. In Deutschland nahm die Zahl der Todesfälle der COPD von 2005 auf 2011 um ca. 25% zu (10).

In Zukunft wird eine noch stärkere Zunahme erwartet. Zudem ist ein deutlicher Anstieg der Zahl an COPD erkrankten und verstorbenen Frauen zu beobachten, was vor allem am zunehmenden Tabakkonsum der Frauen liegt (11).

Diese Entwicklung zeigt sich auch weltweit - lag die COPD im Jahre 1990 auf Platz 6 der Todesursache wird sie im Jahr 2020 Platz 3 der Todesstatistik belegen. Gründe dafür sind zum einen die abnehmende Mortalität anderer Erkrankungen und die zunehmende Luftverschmutzung (4).

Aufgrund ihrer Häufigkeit entstehen durch die COPD auch große Kosten für das Gesundheitssystem. In den EU-Ländern betragen 2011 die durch COPD verursachten Gesamtkosten 141,1 Milliarden Euro (10). Die direkten und indirekten Kosten der COPD in Deutschland schätzte man bereits im Jahr 1996 auf 5.471 Milliarden Euro (12).

Für das Jahr 2012 wurden in Deutschland die direkten Kosten, entstanden durch Medikamente, Hausbesuche und Krankenhausaufenthalte pro Patient pro Jahr mit 2.595-8.924 Euro berechnet. Die indirekten Kosten durch Arbeitsausfall und Frühverrentung wurden zwischen 8.621- 27.658 Euro pro Jahr pro Kopf je nach Schwere der Erkrankung eingeschätzt. Damit lägen diese noch höher als bisher vermutet (13).

Eine Studie von Menn et al. zeigt, dass die Kosten für stationäre Aufenthalte knapp die Hälfte der Gesamtkosten ausmacht (14). Ein weiterer Punkt, der die große Bedeutung der COPD für das Gesundheitssystem zeigt, ist die hohe Zahl an Rentenzugängen durch die verminderte Erwerbsfähigkeit. Die COPD als eine Erkrankung der alten Menschen machte 2011 insgesamt 67% aller lungenerkrankungsbedingten Rentenfälle (ICD: J00-J99) aus (10).

2.1.4 Ätiologie

Der wichtigste Risikofaktor für die Entwicklung einer COPD ist der Konsum von Zigaretten. Doch auch Nieraucher, welche niemals Zigaretten konsumierten, können COPD entwickeln (15). Daher werden weitere endogene und exogene Faktoren angenommen, welche im Zusammenspiel oder einzeln die COPD auslösen können.

Exogene Faktoren

Exposition gegenüber inhalativer Noxen

Unter diesem Punkt lässt sich die Exposition gegenüber aktivem und passivem Tabakkonsum, sowie berufsbedingter Noxen und der allgemeinen Luftverschmutzung zusammenfassen.

Das Zigarettenrauchen ist ohne Zweifel der bekannteste Grund für die Entstehung der COPD.

Es konnte gezeigt werden, dass bei sogenannten empfänglichen Rauchern die Abnahme der Lungenfunktion gemessen am FEV1 über der Norm liegt. So nimmt die FEV1 bei gesunden Nichtrauchern aufgrund des natürlichen FEV1-Verlustes ab dem dritten Lebensjahrzehnt um ca. 19,6ml/Jahr bei den Männern und 17,6ml/Jahr bei den Frauen ab. Bei rauchenden Männern bzw. Frauen nahm die FEV1 dagegen um 38,2ml/Jahr bzw. 23,9ml/Jahr ab (16).

Es entwickelt jedoch nicht jeder Raucher eine chronische Obstruktion. Laut Kohansal et al. nur 33% der regelmäßig rauchenden Männer, sowie 24,2% der regelmäßig rauchenden Frauen. Im Vergleich dazu entwickelten bei den Nichtrauchern nur 7,4% der Männer und 5,6% der Frauen eine Obstruktion. Es ist noch nicht abschließend geklärt, warum manche Raucher „empfindlich“ gegenüber der Obstruktion sind und andere nicht.

Außerdem zeigte die Studie, dass Männer und Frauen, die vor dem 30. Lebensjahr mit dem Rauchen aufhörten, sich in der Abnahme der FEV1 zu den Nichtrauchern kaum unterschieden, was den großen Benefit einer frühen Tabakentwöhnung zeigt (16).

Doll et al. konnten in einer langjährigen Follow-up Studie zeigen, dass die Mortalität bei Rauchern mit COPD gegenüber Nichtrauchern mit COPD erhöht ist (17).

Die Ausbildung der COPD durch Passivrauchen war lange Zeit ein wenig beachtetes Thema. Es wurde oft nachgewiesen, dass ein schwacher Zusammenhang zwischen Passiv-Rauchen und Symptomen wie Husten, Auswurf und Dyspnoe besteht. Hagstadt et al. sehen die passive Exposition mit Tabakrauch als einen Risikofaktor für eine COPD für Nichtraucher, der den gleichen Einfluss auf die Entstehung der Krankheit hat wie aktives moderates Rauchen (ca.14 Zigaretten/Tag) (18).

Auch eine von Eisner et al. im Jahr 2005 veröffentlichte Studie zeigt einen Zusammenhang zwischen passiver Exposition gegenüber Tabakrauch und dem höheren Risiko für eine COPD. Sie vermuten, dass einer von elf COPD Fällen aus passiver Rauchexposition zuhause entsteht. Des Weiteren zeigten sie, dass ein Synergismus zwischen Passivrauchen und eigenem aktivem Rauchen zur Entstehung der COPD besteht (19).

Ein sehr wichtiger Risikofaktor für die Entstehung der COPD sind berufsbedingte inhalative Noxen. Die American Thoracic Society schätzt, dass das Risiko an COPD zu erkranken für die Bevölkerung mit Exposition gegenüber inhalativen Noxen am Arbeitsplatz ca. 15 % beträgt (20). Da dabei vor allem Zahlen aus Europa und Nordamerika ausgewertet wurden, kann man davon ausgehen, dass das Risiko in Ländern mit schlechtem Arbeitsschutz noch höher ist (4).

Ein weiterer Risikofaktor für den COPD charakteristischen Abfall von Lungenfunktionsparametern ist die Luftverschmutzung durch Verbrennung fossiler Energieträger. Dabei spielen vor allem Stickstoffdioxid, Ozon, Schwefeldioxid und weitere Partikel eine Rolle (21).

Eine im Jahr 2011 durchgeführte Studie aus Dänemark fand heraus, dass ein Zusammenhang zwischen der Inzidenz der COPD und der Langzeit-Exposition gegenüber Luftverschmutzung durch Verkehr besteht (22). Ebenso wiesen Abbey et al. nach, dass eine Abnahme der Lungenfunktion bei Nichtrauchern mit erhöhten Partikelzahlen in der Umwelt assoziiert ist (23). Jedoch zeigt sich in vie-

len Studien auch, dass die Luftverschmutzung allein nicht als Ursache gesehen werden kann, da oft viele Kofaktoren mit einwirken und eine klare Abtrennung schwierig ist.

Sozioökonomischer Status

Der sozioökonomische Status umfasst unter anderem Einkommen, Bildung, Arbeits- und Wohnsituation (24). Es besteht laut der Copenhagen City Heart Studie ein reziproker Zusammenhang zwischen den Faktoren Einkommen und Bildung in Bezug auf die Abnahme der Werte von FEV1 beziehungsweise FVC. Des Weiteren sei die Indikation für stationäre Aufnahmen aufgrund von COPD mit dem niedrigsten sozioökonomischen Status dreimal höher als bei der Gruppe mit dem höchsten Status (25). Jedoch würde der Zusammenhang zwischen sozioökonomischen Status und COPD auch aufgrund der mit schlechtem sozioökonomischem Status verknüpften Faktoren wie Luftverschmutzung in der Umgebung, Infektionen und schlechter Ernährung bestehen (4).

Endogene Faktoren

Unter den endogenen Faktoren werden die genetischen oder erworbenen Faktoren des Patienten zusammengefasst, welche für die Entstehung der COPD bedeutend sind.

Geschlecht und Lebensalter

Jahrelang wurde angenommen, dass Männer ein größeres Risiko für COPD besitzen als Frauen, was an der höheren Zahl an rauchenden Männern gelegen haben wird. Jedoch lagen die Todeszahlen der COPD bei den Frauen im Jahr 2000 erstmals über der Zahl der Männer (26). Gold et al. zeigten, dass Mädchen eine höhere Vulnerabilität gegenüber Lungenschäden nach Tabakexposition zeigten als Jungen (27). Diese Ergebnisse einer höheren Anfälligkeit der Frauen für Lungenschäden und schwerere Krankheitsverläufe bestätigten Sorheim und Mitarbeiter (28).

COPD ist in der Regel eine Erkrankung der zweiten Lebenshälfte, somit steigt das Risiko mit dem Alter. Es sei jedoch unklar, ob die Alterungsprozesse an sich oder der Effekt an kumulativen Jahren gegenüber Noxen der tatsächliche Grund seien (4).

Genetik

Die bekannteste genetische Ursache für ein erhöhtes Risiko für COPD ist der vererbte schwere Mangel an alpha-1-Antitrypsin, einem Serin-Protease-Inhibitor (29). Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass zum Beispiel Varianten in den Matrix-Metalloproteinase 12 (MMP12) codierenden Genen das Risiko an COPD zu erkranken positiv oder negativ beeinflussen können (30).

Dass eine genetische Komponente bei der Entwicklung einer COPD eine Rolle spielt, konnten auch McCloskey und Kollegen zeigen, indem sie vermehrtes Auftreten von COPD in der nichtrauchenden Verwandtschaft von schwer erkrankten COPD Patienten nachwiesen (31).

Lungenentwicklung und respiratorische Erkrankungen im Kindesalter

Schädliche Einflüsse, die intrauterin das Geburtsgewicht und die Lungenreifung stören, verringern beim Kind die Lungenfunktion beziehungsweise erhöhen dadurch das Risiko an COPD zu erkranken (32). Eine Studie von Svanes et al. konnte zeigen, dass negative Einflüsse im Kindesalter wie mütterliches Rauchen, Infektionen des Respirationstrakts in der Kindheit sowie kindliches Asthma das Risiko für COPD gleichermaßen erhöhen wie späteres starkes Rauchen (33). Asthmatiker an sich haben bei gleichem Tabakkonsum ein beinahe dreizehnmal höheres Risiko an COPD zu erkranken als Nicht-Asthmatiker (34).

2.1.5 Pathogenese der COPD

Die COPD ist eine chronisch entzündliche Erkrankung, bei der vor allem drei Pathomechanismen eine Rolle spielen: chronisch obstruktive Bronchitis, Emphysembildung und vermehrte Mucussekretion. Diese Pathomechanismen beruhen auf einer komplexen Aktivierungskaskade von verschiedenen Entzündungszellpopulationen sowie der Freisetzung erkrankungsspezifischer Mediatoren (35), welche im folgenden Abschnitt nur angeschnitten werden können.

Durch Zigarettenrauch und andere Noxen werden Alveolarmakrophagen aktiviert und setzen unter anderem Interleukin 8 und Leukotrien B4 frei. Der Mediator Interleukin 8 führt zur Infiltration von neutrophilen Granulozyten, welche dann zusammen mit angelockten CD8+- Zellen im Rahmen des Entzündungsprozesses vermehrt Elastasen freisetzen. Eine große Zahl an Elastasen wie Serinprotease, Protease C, Kathepsin und Matrix-Metalloproteasen führt zu einem Proteasen-Antiproteasen-Ungleichgewicht. Dies setzt eine Elastolyse in Gang, welche eine Instabilität der Bronchioliwand zur Folge hat und nach expiratorischem Kollaps letztlich ein Lungenemphysem im Resultat hat. Die in den kollabierten Bronchioli festgesetzte Luft führt zu Gasaustauschstörungen und zu der meist typischen Hyperkapnie/Hypoxie-Konstellation (4).

Die vermehrte Mucusproduktion wird durch den freigesetzten Wachstumsfaktor EGFR, welcher zuvor von TGF α aktiviert wurde, bedingt. Diese große Menge an Mucus verschlimmert die Obstruktion. Durch die stimulierten Alveolarmakrophagen wird zudem TGF-1 β freigesetzt, welches schlussendlich eine Fibrosierung und Verdickung der Bronchialwände zur Folge hat (35). Die Zunahme der Wanddicke bestimmt dabei am meisten die Flusslimitation und damit den Progress der Krankheit (36).

Doch nicht nur in der Lunge kommt es zu entzündlichen Prozessen. Es konnte gezeigt werden, dass bei COPD-Patienten eine systemische Entzündung vorliegt, welche sich durch erhöhte Werte von Interleukin 6 (IL-6), Interleukin 8 (IL-8), Tumornekrosefaktor alpha (TNF- α) und C-reaktives Protein (CRP) äußert. Dieser Punkt der systemischen Entzündung ist bedeutend für die Entstehung von Arteriosklerose und dadurch verbundenen Erkrankungen wie koronare Herzkrankheit und zerebraler Insult (37). Des Weiteren führt die systemische Entzündung zu Kachexie, Osteoporose, normozytärer Anämie und zum metabolischen Syndrom (4).

Eine große Rolle in der Pathogenese der COPD spielt zudem oxidativer Stress durch eine Imbalance zwischen Reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) und Antioxidantien in der Lunge der Erkrankten (38). Neue Erkenntnisse im Bereich oxidativer Stress und COPD bieten Möglichkeiten für erweiterte Therapien zum Beispiel mittels oraler N-Acetylcystein-Substitution als Radikalfänger (39).

2.1.6 Therapie der COPD

Die Therapie der COPD richtet sich laut DGP- und GOLD-Leitlinien 2017 nach einer Stadien-Therapie, welche sich an Ausmaß der Symptomatik und Exazerbationsanamnese orientiert. Wichtig ist dabei zu erwähnen, dass keine der bereits bekannten Pharmakotherapie-Maßnahmen die progrediente Abnahme der Lungenfunktionsparameter verhindern kann, sondern nur zur Symptomlinderung, Verbesserung der Lebensqualität und Verminderung der Exazerbationsfrequenz führt (1).

Oberstes Ziel ist immer die Raucherentwöhnung, wobei im Rahmen der Nikotinersatztherapie für Nikotinnasensprays die höchste Effektivität gezeigt wurde (1).

Zunächst sollte mit einer Bedarfsmedikation von inhalativen kurzwirksamen Bronchodilatoren wie β_2 -Sympathomimetika und Anticholinergika begonnen werden. Dabei soll die Inhalationstechnik zu Beginn hinreichend erklärt und im Therapieverlauf regelmäßig überprüft werden.

Bei bestehenden Symptomen soll dann eine regelmäßige Gabe langwirksamer Bronchodilatator (β_2 -Agonist, Anticholinergikum) erfolgen. Bei wiederkehrenden Exazerbationen wird die bestehende Therapie mit einem inhalativen Kortikoid kombiniert. Es wird jedoch von einer Langzeit-Monotherapie mit inhalativen Kortikoiden aufgrund von erhöhter Gefahr von Pneumonien und Knochenbrüchen abgeraten und die effektivere Kombinationstherapie empfohlen (4).

Auch von der Langzeittherapie mit oralen Kortikosteroiden wird abgeraten, jedoch sind sie zur Behandlung akuter Exazerbationen nützlich.

Der Einsatz von Theophyllin wird erst empfohlen nachdem die Möglichkeiten der verschiedenen Kombinationstherapien ausgeschöpft wurden.

Zu Phosphodiesterase-Hemmern wie Roflumilast als Zusatz zur Therapie mit Bronchodilatoren wird erst bei schwererkrankten COPD-Patienten mit $FEV_1 < 50\%$ und häufigen Exazerbationen geraten (1).

Neue Therapieansätze mittels Immunmodulator aus Bakterienkulturen des unteren Respirationstrakts sind Gegenstand aktueller Studien. Es konnte bereits gezeigt werden, dass sie die Schwere von Exazerbationen und dadurch das Risiko der Krankenhauseinweisung senken können, jedoch wird ihr Einsatz aufgrund noch fehlender Evidenz derzeit nicht empfohlen (40).

Neben der Pharmakotherapie besitzen die nichtmedikamentösen Maßnahmen einen hohen Stellenwert. So wird die Impfung gegen Pneumokokken und gegen Influenza zur Verringerung von Atemwegsinfektionen, welche Exazerbationen auslösen können, bei allen bronchopulmonalen Er-

krankungen empfohlen. Das Stichwort „Pulmonale Rehabilitation“ spielt ebenfalls eine wichtige Rolle. Darunter versteht man ein multidisziplinäres Betreuungsprogramm, welches die physischen und psychischen Leiden des Patienten lindern soll und die bestmögliche Lebensqualität erwirkt. Neben der Tabakentwöhnung, Patientenschulung, körperlichem Training und Ernährungsberatung spielt auch die psychosoziale Betreuung eine Rolle. Es konnte ein klinisch signifikanter Nutzen für Symptomkontrolle und Lebensqualität der Patienten durch die Rehabilitation nachgewiesen werden (41).

Die Leitlinien der Deutschen Atemwegliga empfehlen die Langzeitsauerstofftherapie bei hypoxämischen Patienten mit oder ohne Hyperkapnie bei Ruhe- $\text{paO}_2 \leq 55 \text{ mmHg}$. Das Ziel ist dabei den arteriellen Sauerstoffpartialdruck auf Werte über 60 mmHg zu erhöhen, um eine ausreichende Gewebeversorgung und Entlastung der Atemmuskulatur zu erwirken (1). Es konnte nachgewiesen werden, dass die Langzeitsauerstoff-Therapie bei COPD-Patienten mit chronisch respiratorischer Insuffizienz mit Anwendungszeiten von über 15 Stunden pro Tag das Überleben verbessert (41).

Zu den chirurgischen Therapieoptionen zählt neben der chirurgischen Lungenvolumenreduktion, welche durch Entfernung von stark emphysematös veränderten Lungenarealen die Überblähung reduzieren soll, die endoskopische Lungenvolumenreduktion. Die chirurgische Alternative bringt dabei gegenüber der Medikation vor allem Patienten mit apikalem Lungenemphysem und geringer Belastbarkeit einen Benefit in der Belastbarkeit und Prognose (42). Die endoskopische Variante (eLVR) durch Implantation durch Ventilsysteme verbessert moderat vor allem bei Patienten mit starker Flusslimitation ($\text{FEV}_1 < 15\text{-}45\%$) und Überblähung die Lungenfunktionsparameter, die Belastbarkeit und Symptomschwere, jedoch auf Kosten von häufigeren Exazerbationen, Pneumonien und Hämoptysen (43).

2.1.7 Exazerbationen

Das Ereignis einer Exazerbation im Verlauf der COPD-Erkrankung wird von der Deutschen Liga für Atemwegserkrankungen definiert durch eine tägliche Schwankungen überschreitende Veränderung der Dyspnoe, des Hustens und/oder des Auswurfs für mindestens zwei Tage. Dadurch wird eine Änderung der Medikation nötig –welche einige Autoren bereits in der Erhöhung der Bronchodilatoren- Dosis, andere erst mit der Notwendigkeit von Glukokortikoid- und/ oder Antibiotika-Therapie sehen. Exazerbationen treten gehäuft in den Wintermonaten auf und führen in dieser Zeit sechsmal häufiger zu Krankenhauseinweisungen wegen akuter Exazerbation im Vergleich zu den Sommermonaten (1).

Ursachen für die akute Verschlechterung der chronisch obstruktiven Lungenerkrankung sind eine entzündlich bedingte vermehrte Bronchokonstriktion und/oder Schleimproduktion mit Überblähung. In 50% der Fälle ist dies durch respiratorische Infektionen bedingt; 30% werden durch unbekannte Auslöser und 10% durch saison- und ortsabhängige Luftverschmutzung verursacht (44).

Zum häufigen Erregerspektrum für Exazerbationen zählen u.a. *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis* sowie virale Erreger (z.B. *Infuenzaviren*, *Respiratory Syncytial Virus* und *Adenoviren*) (1).

Klinisch stellt sich der Patient häufig mit zunehmender Atemnot, vermehrtem Husten und erhöhter Sputummenge bzw. Sputumkonversion vor. In besonders schweren Fällen treten eine progrediente zentrale Zyanose, Einsatz der „Atemhilfsmuskulatur“ und periphere Ödeme auf. Durch die Blutgasanalyse sollte der Säuren-Basen-Haushalt bestimmt werden, um gegebenenfalls eine intensivmedizinische Betreuung mit nichtinvasiver oder invasiver Beatmung einzuleiten. Bei leichten Fällen reicht oft ambulant eine Intensivierung der Bronchodilatatorendosis oder Gabe eines systemischen Glukokortikoid, bzw. bei Verfärbung des Sputums die Therapie mittels Antibiotika (v.a. Aminopenicilline, Tetrazykline oder Oralcephalosporine) aus. Bei alten Patienten mit Komorbiditäten und vorbestehender schlechter Lungenfunktion (FEV1 <30%) sollte dabei immer eine stationäre Aufnahme in Betracht gezogen werden (1).

Zur Prävention der Exazerbation empfiehlt die GOLD Organisation in ihren Leitlinien 2018 die Rauchentwöhnung, die Impfung gegen *Infuenzaviren* und *Pneumokokken* sowie eine Therapie mit langwirksamen Bronchodilatoren mit oder ohne inhalativer Glukokortikoid-Therapie. Zudem können Phosphodiesterase-4-Hemmer die Exazerbationsrate senken (4).

Die Gravität des Problems Exazerbation bei COPD wird an den Zahlen einer prospektiven Kohortenstudie von Connor et. al deutlich; unter den eingewiesenen Patienten mit schwerer Exazerbation bei fortgeschrittener COPD starben 11% bereits während des Krankenhausaufenthaltes und 43% nach Entlassung im ersten Jahr danach. Das Überleben hing dabei von der Schwere der Erkrankung, dem Body Mass Index, dem Alter sowie den Komorbiditäten wie Herzinsuffizienz und Cor pulmonale ab (45).

Soler-Cataluna et al. konnten erstmals zeigen, dass häufige schwere akute Exazerbation mit Krankenhauseinweisung ein unabhängiger Einflussfaktor auf die Mortalität der Patienten ist. Sie konnten damit die Schlussfolgerung widerlegen, dass nicht wie bisher angenommen die höhere Mortalität nach einer Exazerbation hauptsächlich durch ein fortgeschrittenes Stadium der Grunderkrankung und schwere Begleiterkrankungen zu erklären ist (46).

Doch nicht nur die erhöhte Mortalität gegenüber dem stabilen Krankheitszustand ist eine Gefahr der Exazerbation. So konnte gezeigt werden, dass Patienten mit moderater bis schwerer COPD die häufiger exazerbieren einen rascheren Abfall der Lungenfunktion erfahren. So hatten Patienten mit >2,92 Exazerbationen pro Jahr einen FEV1-Abfall von 40ml/Jahr im Vergleich zum Patientenkollektiv mit <2,92 Exazerbationen, welche eine Abnahme des FEV1-Werts von 32ml/Jahr zeigten (47).

Zudem wirken sich häufige Exazerbationen stark auf die Lebensqualität der Patienten aus. So gaben 54% der Patienten sechs Monate nach Krankenhausaufenthalt wegen akuter Exazerbation an, dass sie bei mindestens einer häuslichen Tätigkeit Hilfe benötigen würden und 49% der Patienten beschrieben ihren Gesundheitszustand als schlecht (48).

Es wurde mittlerweile der Phänotyp des „frequent exacerbator“ definiert, welcher anfälliger für Exazerbationen scheint, als andere Patienten mit demselben Erkrankungsstadium und diese Anfälligkeit auch stabil über die beobachtete Zeit von drei Jahren beibehält. Dabei wurde eine Anzahl von ≥ 2 Exazerbationen pro Jahr als „frequent“ angesetzt (49).

Der Grund warum manche COPD-Erkrankte häufiger als andere eine Exazerbation erleiden, konnte noch nicht vollständig geklärt werden. Jedoch zeigten Patel und Kollegen, dass Patienten mit erhöhter Kolonisation von Bakterien im stabilen Stadium häufiger exazerbieren (50). Außerdem zeigten die „frequent exacerbator“ auch im stabilen Stadium Zeichen einer verstärkten Entzündung, was sich durch eine erhöhte Menge der Zytokine Interleukin-8 und Interleukin-6 im Sputum äußerte. Diese verstärkte Entzündung hatte keinen Einfluss auf die Lungenfunktion in der stabilen Phase, ist jedoch auf eine größere Anzahl an Raucherjahren zurückzuführen. Die Menge an Zytokinen im Sputum ließ aber keine Vorhersage über die Schwere der Exazerbation zu (51).

Sakae et al. fanden zudem einen Zusammenhang zwischen der gastroösophagealen Refluxkrankheit und der Häufigkeit von Exazerbationen. Patienten mit Symptomen dieser Erkrankungen neigten häufiger zu Exazerbationen als Patienten ohne beziehungsweise mit behandelter Erkrankung (52). Zudem wirkt sich das Vorliegen von Komorbiditäten wie kardiovaskuläre Erkrankungen und Asthma verstärkend auf die Anzahl an Exazerbationen aus (53).

Ein weiterer wichtiger Einflussfaktor auf die Anfälligkeit für Exazerbationen ist die Schwere der COPD-Erkrankung an sich; so exazerbieren Patienten mit schlechter Lungenfunktion deutlich häufiger. Hurst et al. identifizierten zudem die Anzahl an Exazerbationen in der Vorgeschichte des Patienten als wichtiger Vorhersagewert für künftige Exazerbationen. So zeigte sich der Phänotyp des „frequent exacerbator“ in ihren Untersuchungen über drei Jahre kohärent in seiner Exazerbationshäufigkeit. Des Weiteren konnten sie eine unabhängige signifikante Assoziation des Phänotyps mit einer schlechteren Lebensqualität und einer erhöhten Zellzahl an Leukozyten nachweisen (54).

Letztendlich bedarf es weiterer Studien, um die Ursachen und Pathogenese der „frequent exacerbator“ zu untersuchen und zusätzliche Möglichkeiten zur Prävention der Exazerbationen zu finden.

2.2 Biomarker und CD14

2.2.1 Definition Biomarker

Die Arbeitsgruppe „Biomarker Definition“ des National Institute of Health definiert 1998 den Begriff Biomarker, Abkürzung für Biologischer Marker, als ein objektiv gemessenes Charakteristikum, welches als Indikator für normale physiologische und pathologische Prozesse, sowie das pharmakologische Ansprechen auf therapeutische Interventionen dient. Darunter fallen neben Blutdruck, Puls und Standard-Laborwerten auch komplexe Parameter aus Blut und Gewebe (55). Dabei können die

Biomarker in ihrer Verwendung unterschieden werden. Neben den diagnostischen Biomarkern, die zur Erkennung und Abgrenzung einer Erkrankung dienen, kann zwischen prädiktiven und prognostischen Biomarkern unterschieden werden. Dabei zeigen prädiktive Biomarker das Risiko für eine Erkrankung oder das voraussichtliche Ansprechen auf eine Therapie an. Prognostische Biomarker ermöglichen hingegen Aussagen über Krankheitsverlauf oder Heilungschancen. Einige Biomarker können jedoch beiden Kategorien zugeteilt werden (56).

Zusätzlich kann zwischen „trait“ und „state“ Biomarkern differenziert werden. Dabei werden trait-Marker als unveränderliche Merkmale definiert, wie beispielweise Genomveränderungen. State-Marker hingegen geben Informationen über den gegenwärtigen Status der Erkrankung, zum Beispiel Enzymkonzentrationen (57).

2.2.2 Membrangebundenes CD14 (mCD14) und lösliches CD14 (sCD14)

Das auf Chromosom 5 lokalisierte Gen CD14 (cluster of differentiation 14) kodiert für das Differenzierungsantigen CD14, welches als Pattern recognition receptor (PRR) ein wichtiger Teil der angeborenen Immunabwehr ist (58). Es liegt in zwei unterschiedlichen Formen vor. Zum einen als ein an einen Glycosylphosphatidylinositol-Anker gebundenes Oberflächen-Protein (53kDa), das sogenannte membrangebundene CD14 (mCD14), und zum anderen als lösliches Protein, soluble CD14 (sCD14) (59,60). Das mCD14-Oberflächenprotein findet sich hauptsächlich auf Monozyten und zu geringem Teil auf neutrophilen Granulozyten. In den vergangenen Jahren stellte sich heraus, dass auch B-Zellen, Chondrozyten, Dendritische Zellen und Keratinozyten den Oberflächenmarker mCD14 aufweisen (61). Funda et. al fanden heraus, dass zudem enterale Endothelzellen zum einen mCD14-Oberflächenproteine exprimieren können und zum anderen sCD14 freisetzen können (62).

Die lösliche Form sCD14 wird entweder von mCD14 proteolytisch oder lipolytisch abgespalten (48kDA) oder direkt von intrazellulären Vesikeln aus Leber und Monozyten (56kDA) freigesetzt (63,64). Das eine vom Oberflächenprotein mCD14 unabhängige Entstehung von sCD14 bestehen muss, zeigte sich bei GPI-defiziente Patienten mit Paroxysmaler nächtlicher Hämoglobinurie (PNH), welche normal hohe sCD14-Werte trotz mangelndem mCD14 zeigten (65).

sCD14 ließ sich bisher im Serum, im Urin niereninsuffizienter Patienten sowie in der Bronchiallavage bei Patienten mit *acute respiratory distress syndrom* (ARDS) nachweisen (66). Zudem detektierten Labeta und Kollegen sCD14 in der Muttermilch, was eine entscheidende Rolle im Aufbau der gesunden Immunabwehr im Darm des Neugeborenen spiele (67). Die Konzentration von sCD14 im Serum bei gesunden Individuen beträgt laut Landmann et al. 2-3 ug/ml (66). sCD14 ist vor allem bei entzündlichen Erkrankungen wie beispielsweise dem Kawasaki-Syndrom (68), atopischer Dermatitis (69) sowie bei Patienten mit Polytrauma und Verbrennungen (70) erhöht. Bas et. al bewiesen, dass sCD14 als Akute-Phase Protein der Klasse 2 angesehen werden kann, dessen Freisetzung aus der Leber hauptsächlich von Interleukin 6 getriggert wird (61). Vor allem im Rahmen einer akuten Sepsis

zeigten laut Hiki und Kollegen Patienten stark erhöhte sCD14-Spiegel im Vergleich zu gesunden Individuen (65).

2.2.3 Lipopolysaccharid (LPS)

Lipopolysaccharid (LPS) ist ein Glykoprotein, welches sich als Hauptkomponente in der Zellwand von gramnegativen Bakterien finden lässt. Das klassische LPS setzt sich aus drei Teilen zusammen.

Erstens dem Lipid A –Teil, welcher LPS in der Zellwand verankert und hauptsächlich für die proinflammatorische Wirkung des LPS verantwortlich gemacht wird (71).

Zweitens der Kernzone, welche sich aus einem verbindenden äußeren und inneren Teil zusammensetzt und zusätzlich zur Integrität der Zellwand beiträgt; sowie drittens den O-spezifischen Seitenketten, welche stammspezifisch sind und so zur großen Varietät der Antigene beitragen (72).

LPS selbst induziert erst nach Erkennung durch den Wirtsorganismus eine Immunantwort, was zum einen über Stimulation der Proliferation des Makrophagen- und Monozyten-System über den colony-stimulierenden-Faktor (CSF) vermittelt wird (73).

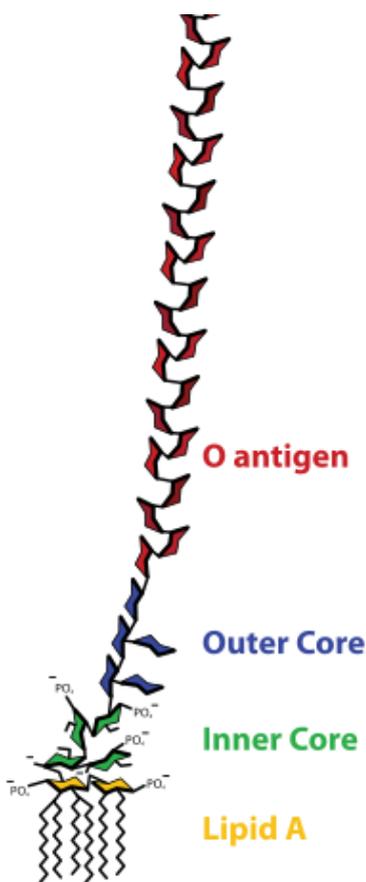


Abb. 2: Struktur Aufbau von LPS (Mike Jones, Overview of LPS structure, 2010) This file is licensed under the Creative Commons Attribution-Share Alike 3.0 Unported license.

2.2.4 Funktionen von mCD14 und sCD14

CD14 wird eine entscheidende Rolle bei der Erkennung des Oberflächenantigen Lipopolysacchariden (LPS) zugesprochen. Gemeinsam als Ko-Rezeptor mit toll-like Rezeptor 4 (TLR4) und dem Myeloid differentiation protein 2 (MD2) setzt mCD14 eine intrazelluläre Kaskade zur Immunabwehr in Gang. Dafür bindet es in der Anwesenheit von Lipopolysaccharid-binding-protein (LBP) an LPS und überträgt es mittels sogenannten „lipid rafts“ an den TLR4/MD-2-Komplex auf der Zelloberfläche. Über TLR4 erfolgt dann über den TIRAP-MyD88-abhängigen Signalweg eine Aktivierung des Transkriptionsfaktors NFκB, was schlussendlich zu einer Zytokin-Freisetzung und vermehrten Expression von Immunzellen führt. Es findet anschließend eine Internalisierung des gesamten LPS/CD14/TLR4/MD-2-Komplexes in das Zellinnere der Monozyten statt und von dort wird er in die Endosomen überführt (74).

In den Endosomen wird dann der TRAM-TRIF-Signalweg initiiert. Dieser zweite wichtige Signalweg führt über die Aktivierung von IRF3 und ebenfalls NFκB zur Produktion von Typ-I Interferon und dem Zytokin CCL5 (75). Hingegen induziert der MyD88-abhängige Weg die Produktion von TNFα und IL6 und IL12 (76). Lange Zeit wurde angenommen, dass die Signalkaskade über CD14 eine dringende Voraussetzung für die zelluläre Immunantwort auf LPS sei. Jedoch zeigte Haziot et al, dass bei CD14-defizienten Mäusen bei hohen LPS-Konzentrationen ebenfalls eine Immunantwort stattfand (77). Sie konnten zudem zeigen, dass CD14- und TLR4-defiziente Mäuse nach LPS- oder *Escheria-coli*-Injektionen eine frühere Infiltration von neutrophilen Granulozyten aufwiesen und dadurch schneller die Bakteriämie beseitigen konnten (78).

Watanabe und Kollegen zeigten, dass via LPS-Liposomen, welche direkt durch Clathrin-vermittelte Endozytose in die Endosomen aufgenommen wurden, der TRAM-TRIF-Signalweg unabhängig von CD14 aktiviert werden konnte (76).

Zanoni et al. bestätigten ebenfalls, dass CD14 zum einen für die Bindung an den TLR4/MD2-Rezeptor nötig sei, welche aber bei hohen LPS-Konzentrationen jedoch auch ohne CD14 möglich sei. Zum anderen sei CD14 an der Internalisierung des Rezeptorkomplexes in die dendritischen Zellen entscheidend beteiligt, wobei diese Funktion nicht durch hohe LPS-Konzentrationen ersetzt werden könne. Somit sei CD14 für die Produktion von Typ1-Interferon über den TRAM-TRIF-Signalweg essentiell, welche nicht durch Endozytose der LPS-Liposomen bei Abwesenheit von CD14 erfolge (79).

Eine weitere Funktion des mCD14 neben der Erkennung infektiöser Partikel liege in der Funktion als Regulator der Apoptose – eine Induktion der Expression des Rezeptors schütze die Zelle vor Apoptose, eine Downregulation führe zur Induktion der Apoptose der Monozyten (80).

Während mCD14 vor allem in der Erkennung von LPS und Aktivierung einer Entzündungsreaktion eine Rolle spielt, wurden für die lösliche Form sCD14 verschiedene teils gegensätzliche Funktionen beschrieben (81).

Zum einen könne sCD14 ebenfalls eine stimulierende Wirkung auf die Kaskade der Zellaktivierung ausüben. Dies könne einmal durch Abgabe von LPS-Monomeren an mCD14 erfolgen (82) oder durch direkte Übertragung von LPS-Monomeren an den TLR4/MD2-Rezeptorkomplex auf Zellen wie glatten Muskelzellen, auf welchen bisher keine Expressierung von mCD14 nachweisbar war (83).

Zum anderen habe sCD14 aber ebenso eine hemmende Wirkung auf die Immunantwort, indem es durch Bindung von LPS die Bildung von TNF α verhindere (84). Kitchens et al zeigten, dass sCD14 die LPS-Erkennung und Immunantwort der Monozyten durch Abtrennung von LPS von mCD14 umgehe. Dies erfolge durch Bindung von LPS an Plasma-Lipoproteine über sCD14.

Dabei seien normale beziehungsweise leicht erhöhte sCD14-Spiegel von 2,5ug/ml ausreichend. Erniedrigte sCD14-Spiegel unter 2ug/ml wiederum erhöhten die Zytokin-Ausschüttung und hätten dabei einen proinflammatorischen Effekt. Dabei gehen sie davon aus, dass erniedrigte sCD14-Spiegel lokal hilfreich für die Immunabwehr seien, und systemisch erhöhte sCD14 den Organismus vor einer überschießenden Immunantwort schützen (85). In Abbildung 3 ist dieser Mechanismus schematisch dargestellt.

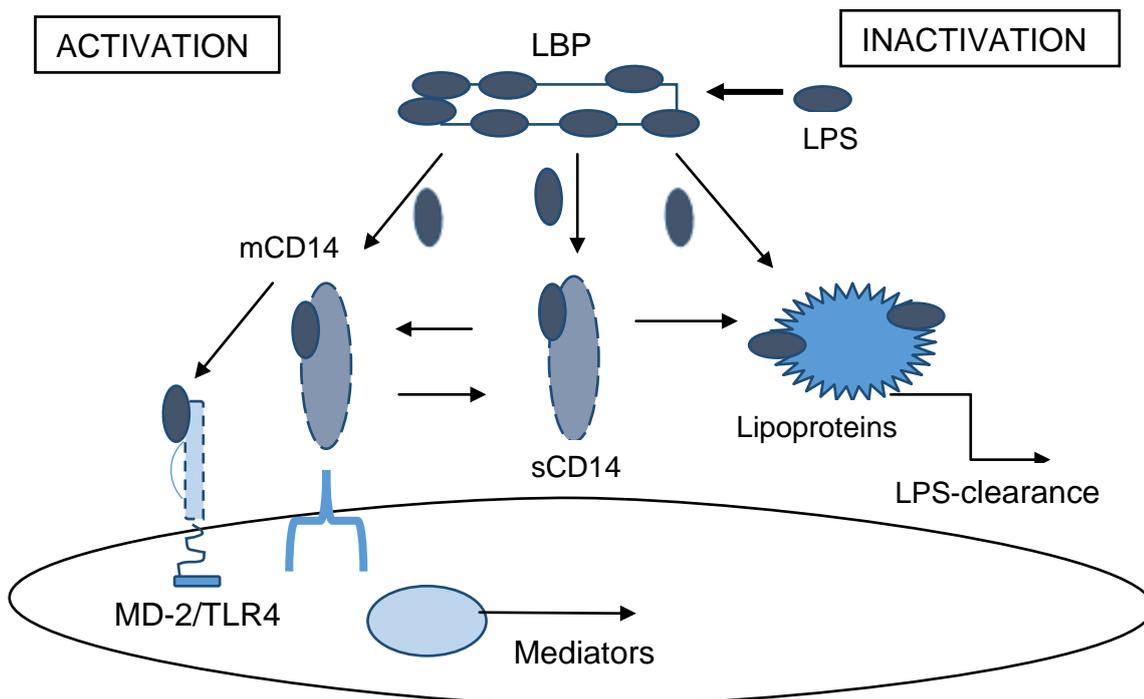


Abb. 3: Inhibitorische Mechanismen von sCD14 auf die Immunaktivierung, Abbildung nach Kitchens, R. L., & Thompson, P. A. (2005). Modulatory effects of sCD14 and LBP on LPS-host cell interactions. *Journal of Endotoxin Research*, 11(4), 225–229.)

Gluck und Kollegen konnten nachweisen, dass sich erhöhte sCD14-Spiegel während einer gramnegativen Sepsis positiv auf die Überlebensrate auswirkten und eine Heilungstendenz anzeigten, wohingegen eine Downregulation von mCD14 für schwere Krankheitsverläufe spräche (86). Dass erhöhte sCD14-Werte protektiv für den Organismus im Rahmen einer Sepsis wirken, bestätigten auch Jacque et al. So konnten gentechnisch veränderte Mäuse mit mehreren Kopien des CD14-Gens zehnfach höhere Mengen an sCD14 ausschütten und so letale LPS-Dosen besser neutralisieren und folglich überleben (87). Phillip et al konnten nachweisen, dass natives und rekombinantes sCD14 das Wachstum und die Differenzierung von B-Lymphozyten in vitro stimuliere und den Immunglobulin-Spiegel in neonatalen Mäusen dadurch steigere (88).

Desweiteren konnte durch Cauwels und Kollegen gezeigt werden, dass durch Injektionen von rekombinanten sCD14 in den Liquor im Rahmen einer bakteriellen Meningitis die Zytokinausschüttung erhöht wurde. Dies lässt sie schlussfolgern, dass im extravaskulären Raum, eine Erhöhung des sCD14-Spiegels einen proinflammatorischen Effekt zeigt (89).

Neben seiner Rolle in der Erkennung von LPS gramnegativer Bakterien, könne sCD14 auch eine Funktion als Rezeptor für Peptidoglycan, dem Hauptbestandteil in der Zellwand grampositiver Bakterien einnehmen (90). Hierbei konnten Jorgensen und Kollegen zeigen, dass durch Stimulation mit Peptidoglycan die CD14-Expression von Monozyten gesteigert werde. Hingegen werde durch anhaltende LPS-Stimulation die CD14-Expression im Verlauf verringert. Daher gehe man von zwei unterschiedlichen Möglichkeiten der Monozytenaktivierung je nach Bakterienart aus (91). Dessing et al. gehen davon aus, dass das grampositive Bakterium *Streptococcus pneumonia* sCD14, unabhängig von TLR-Mechanismen, zu invasiven Infektionen im unteren Atemweg nutzte (92).

2.3 Fragestellung der Studie

Im Anbetracht der zunehmenden Relevanz der COPD-Erkrankung für die Weltbevölkerung und das Gesundheitssystem sowie der Notwendigkeit zur Prävention von Exazerbationen ist es wichtig, Marker zu erforschen, welche eine Aussage über die Anfälligkeit gegenüber solchen Exazerbationen machen können.

Zudem wird weiterhin versucht, ein verbessertes Klassifikationssystem der COPD-Stadien zu erstellen, welches die Schweregrade der Erkrankung abgesehen von Lungenfunktionsparametern beurteilt. Dies ist durch die ABCD-Klassifikation bereits schrittweise gelungen, könnte jedoch eventuell durch weitere klinische Parameter oder Biomarker ergänzt werden.

Aufgrund der bisher bekannten immunstimulierenden und immunhemmenden Funktionen von CD 14 in der Immunkaskade gegen gramnegative Pathogene interessierte uns insbesondere der Einfluss von häufigen (Infekt)-Exazerbationen auf den sCD14-Serumspiegel. Hierzu ist insbesondere die enge Verknüpfung von Lipopolysaccharid (LPS), einem Bestandteil von gramnegativen Bakterien, und CD14 in dieser Kaskade interessant.

Die vorgelegte Arbeit hatte zum Ziel erstmals die Korrelation des sCD14-Serumspiegel von Patienten mit COPD auf verschiedene klinische Parameter zu untersuchen. Konkret sollten folgende Fragen untersucht werden:

- Welchen Einfluss haben persönliche Merkmale, Komorbiditäten und das Rauchverhalten der Probanden auf den sCD14-Spiegel?
- Wird der sCD14 durch den Schweregrad der COPD und die Exazerbationsrate beeinflusst?
- Eignet sich der sCD14- und LPS Serumspiegel als Biomarker für COPD-Patienten?

3 Material und Methoden

3.1 Studiendesign PULMOHOM

Die PULMOHOM-Studie ist eine prospektive Kohorten-Studie. Sie schließt neben der COPD weitere Patienten mit Lungenerkrankungen wie Bronchialkarzinom, Pulmonale Hypertonie sowie Mukoviszidose ein, welche in der Robert-Koch-Klinik betreut werden. Die Studie umfasst zum einen die klinische Datenerhebung mittels Fragebögen sowie das Sammeln von Biomaterialien wie Sputum oder Blut für ein großes Biobank-Register.

Das Projekt wurde durch die Ethikkommission der Ärztekammer des Saarlandes bewilligt, jeder Patient willigt in die Studienteilnahme in schriftlicher Form ein.

3.2 Patientenkollektiv

Im Zeitraum von Januar 2014 bis Juli 2015 rekrutierten wir 65 kaukasische Patienten aus dem saarländischen Raum, welche die Ambulanz der Klinik für Innere Medizin V zu Kontrollterminen oder Aufklärungsgesprächen für eine endoskopische Lungenvolumenreduktion (eLVR) aufsuchten.

Die Studie sollte eine Aussage über den Einfluss des sCD14-Serumspiegels auf die klinischen Parameter sowie den Krankheitszustand bei stabilen COPD-Patienten treffen, daher war der stabile Krankheitszustand ein Haupteinschlusskriterium.

Der stabile Krankheitszustand wurde festgelegt als Abwesenheit aller exazerbationstypischer Zeichen wie eine verschlechterte Dyspnoe, Sputumkonversion und Medikationsänderung sowie keine aktuelle Antibiotika-Behandlung.

Die eingeschlossenen Patienten mussten folgende Kriterien erfüllen:

- Alter über 40 Jahren
- Gesicherte COPD durch Spirometrie $FEV_1/VC < 70\%$
- Keine Anzeichen einer akuten Exazerbation
- Keine weiteren Lungenerkrankungen wie Bronchialkarzinom, Mukoviszidose, alpha-Antitrypsin-Mangel
- Patienten mit oder ohne Z.n. endoskopischer Lungenvolumenreduktion (eLVR)

Da von den 65 rekrutierten Patienten bei neun Zeichen einer akuten Exazerbation vorlagen, wurden sie nachträglich wieder aus der Studie ausgeschlossen. Das Patientenkollektiv verkleinerte sich dadurch auf 56 Patienten.

3.3 Materialien

3.3.1 Fragebögen für klinische Datenerhebung

Für die PULMOHOM- Studie wurde ein standardisierter Erhebungsbogen „CRF PULMOHOM“ erstellt. Der Erhebungsbogen erfasst zum einen Grunddaten wie Alter, Geschlecht und Körpergröße/-gewicht. Zum anderen wurden neben der Anamnese der Komorbiditäten und der aktuellen Medikation eine ausführliche COPD- und Raucheranamnese durchgeführt.

Es wurde erfasst welche GOLD-Klassifikation die Patienten besitzen, ob sie eine Sauerstofftherapie erhalten und ob der alpha-Antitrypsin-Status bekannt ist. Zudem wurde durch die Fragebögen erhoben, wie häufig die Patienten pro Jahr eine Exazerbation ohne oder mit Arztkonsultation und Klinikweisung erleiden. Des Weiteren wurde erfragt, ob sie eine chirurgische oder endoskopische Lungenvolumenreduktion erhalten haben.

Bezüglich des Nikotinkonsums wurde die packyear-Zahl, die Exposition gegenüber Tabakrauch am Arbeitsplatz und im Haushalt sowie die Raucheranamnese der Eltern erfasst.

Desweiteren wurden subjektive Patientenfragebögen wie der COPD Assessment Test (CAT), die modified MRC Dyspnoe Skala (MMRC), die COPD-spezifische Version des St. Georges Respiratory-Questionnaire (SGRQ-C) und dem deutschen Clinical COPD Questionnaire (CCQ German) verwendet.

Der CAT und MMRC erlauben eine validierte und reproduzierbare Aussage des aktuellen Gesundheitszustandes der Patienten bzgl. Lebensqualität und Dyspnoe. Die im CAT festgehaltene Symptomschwere ermöglicht jedoch eine bessere Aussage über zukünftige Exazerbationen und dadurch entstehende Kosten als der MMRC (93). Der CCQ ermöglicht ebenfalls eine gute Evaluation des Gesundheitszustandes mit einer hohen individuellen Validität. Zudem spiegelt der CCQ laut der Patienten besser ihr subjektives Krankheitsgefühl wider als der CAT und wird deswegen von ihnen bevorzugt (94).

Dem Fragebogen wurden eine ausführliche Patienteninformation über die Studie und ein Einwilligungsbogen für das Forschungsprojekt angehängt.

Der gesamte Bogen wurde pseudonymisiert, indem die Labornummer (LAB-ID) der Blutproben als neue Identifikationsnummer der Patienten festgelegt wurde.

3.3.2 Erhebung klinischer Parameter

Neben den anamnestischen Daten wurden im Rahmen des Klinikbesuches zudem zahlreiche klinische Parameter erhoben. Zum einen wurde bei einem Großteil der Probanden die aktuelle Lungenfunktion mittels Spirometrie und Bodyplethysmographen in der Ambulanz der Lungenklinik bestimmt. Dabei wurde die Standardempfehlung der Deutschen Atemwegsliga 2015 für diese Verfahren eingehalten (95). Des Weiteren wurde eine kapilläre Blutgasanalyse aus dem Ohrläppchen der Patienten entnommen.

Zudem erfolgte der Test der 6-min-Gehstrecke nach ATS Guidelines 2002 mit Erhebung der empfundenen Atemnot mittels Borg-Skala (96).

3.3.3 Blutentnahme-Röhrchen

Die verwendeten Probeentnahme-Röhrchen stellte das Medizintechnik-Unternehmen BD, die Firma SARSTEDT sowie Thermo Scientific zur Verfügung. Die noch nicht benutzten Röhrchen wurden bei max. 25°C gelagert und vor direkter Sonneneinstrahlung geschützt. Eine regelmäßige Temperaturkontrolle wurde durch die Studiensekretärinnen Frau Seibert und Frau Weingard gewährleistet.

Probenart	Bezeichnung Röhrchen	Volumen (ml)	Artikelnummer
Serum	BD Vacutainer Serumröhrchen	10	367896
Na-Citrat	BD Vacutainer Citrat Röhrchen	6	366575
EDTA	BD P100 Röhrchen	8,5	366448
PAXgene	PAXgene Blood RNA Tube	8,5	366448
Sekundärröhrchen	SARSTEDT Reagenzröhrchen transparent	7	60.550.109
Kryo Sekundärröhrchen	Thermo Scientific Nunc transparent	4,5	337516

Tab. 2: Übersicht über die verwendeten Blutentnahme-Röhrchen.

3.3.4 Messung Biomarker sCD14 im Labor

Zur Detektion des Biomarkers sCD14 im Serum wurde das Human Magnetic Luminex® Screening Assay der Firma R&D Systems Europe Ltd. verwendet (Artikelnr. LXSAHM). Die Detektionsgrenze lag dabei bei 39,6pg/ml. Das Assay ist ausschließlich für Forschungszwecke indiziert und nicht für den Gebrauch von diagnostischen Verfahren.

Die multiplexe Quantifizierung wurde durch das Instrument Luminex MAGPIX® (Artikelnr. MAGPIX-XPON4.1-CEIVD) der Firma Luminex Corporation, Austin, Texas, USA. ausgeführt.

Die Messung und vorläufige Analyse der Werte erfolgte mittels der Software xPonent® von Merck Millipore, Billerica, Massachusetts, USA, die finale Auswertung und Berechnung dann mit dem Milliplex Analyst® von VigeneTech Inc., Carlisle, Massachusetts, USA.

3.3.5 Weiteres Zubehör und Geräte

Für die Blutentnahme wurde das BD Vacutainer Safety-Lok™ Blutentnahmeset mit Halter der Firma BD (Artikelnr. 368652) verwendet.

Die Proben wurden in die Sekundärröhrchen überführt mittels der Transferpipette, steril, SARSTEDT (Artikelnr. 861171001).

Die Zentrifugation der Proben erfolgte in der Kühlzentrifuge Hettich, Typ Rotixa P 4201 (Kalibrierung im Sinne DIN ISO 9000ff).

3.4 Methoden

3.4.1 Studienablauf

Vorbereitung

In der Vorbereitung wurden für jeden Patienten neun der beschriebenen Röhrchen mit Barcode und Labornummer beklebt und jedem Röhrchen eine unverwechselbare 7-stellige Labornummer zugeteilt. Diese Nummer setzt sich aus den ersten beiden Ziffern AB, welche der PULMOHOM-Studie zugewiesen sind, und einer fortlaufenden 3-stelligen LAB-ID, welche rein patientenbezogen ist, zusammen. Die letzten beiden Ziffern der Labornummer kommen durch die darin enthaltene Probenart zustande, z.B. PAXgene ist Probenart 09.

Des Weiteren wurde ein CRF mit der passenden LAB-ID beklebt, um die Biomaterialien den klinischen Daten zuordnen zu können.

Durchführung der Datenerhebung

Die Patienten wurden bei einem ambulanten Routinebesuch in der Inneren Medizin V durch einen Arzt über die Studie aufgeklärt und erklärten dann durch Signatur ihre Einwilligung im beiliegenden Bogen.

Daraufhin wurde den Patienten der Fragebogen ausgehändigt und der zu ergänzende Datensatz wie die aktuelle Lungenfunktion/Spiroergometrie, das Routinelabor und den Wert der 6-Minuten-Gehstrecke, aus dem SAP der Robert-Koch-Klinik entnommen.

Im Anschluss daran erfolgte die Blutentnahme unter Routinebedingungen durch die Krankenschwestern oder die Doktorandin.

Die Entnahme wurde in der Reihenfolge gemäß dem Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) durchgeführt.

1. Routinelabor
2. Natrium-Citrat (2x 6ml)
3. Serumröhrchen (2x 10ml)
4. EDTA I & II (1x je 6 ml)
5. P100 (1x 8,5ml)
6. PAXgene (1x 2,5ml)

Weiterverarbeitung der entnommenen Blutproben

Die Verarbeitung der Blutproben wurde anhand der Allgemeinen Arbeitsanweisungen (SOP) von Fr. Weingard (Stand 22.11.2013) durchgeführt.

Die Röhrchen EDTA I und PAXgene wurden 8-10-mal vorsichtig geschwenkt und anschließend sofort bei -80°C zwischengelagert.

Die beiden Serumröhrchen wurden 30min zur Probengerinnung stehen gelassen, anschließend erfolgte die Zentrifugation bei 1300xg für 10min bei 20°C. Daraufhin wurden das abgesetzte Plasma in die vorbereiteten Sekundärröhrchen überführt und die Primärröhrchen samt Pellet verworfen. Beide Sekundärröhrchen wurden anschließend bei -80°C zwischengelagert.

Die Röhrchen EDTA II, beide Citrat-Plasma-Proben und die P100-Probe wurden für 20min bei 2500xg und 20°C zentrifugiert. Im Anschluss wurde der Überstand des EDTA II- Röhrchens mittels Transferpipette in ein Sekundärröhrchen überführt und das verbleibende EDTA II-Pellet bei -80°C eingefroren. Bei beiden Citrat-Plasma-Proben wurde der Überstand in Sekundärröhrchen pipettiert, anschließend bei -80°C gelagert und der restliche Inhalt verworfen. Der durch den mechanischen Plasmaseparator getrennte P100 Überstand wurde in das spezielle Kryo-Sekundärröhrchen überführt und ebenfalls bei -80°C eingefroren.

Die Verarbeitung aller Proben erfolgte innerhalb der vorgeschriebenen Zeitstunde.

Für alle eingefrorenen Proben wurde ein Versandschein für das Labor angelegt, in dem Datum, Art der Proben und Doktorand vermerkt wurden. Nach 4 Wochen Zwischenlagerung erfolgte dann der Transport auf Trockeneis zur Biomaterialbank (BMB).

3.4.2 Auswertung der Biomarker im Labor

Die Auswertung der Blutproben erfolgte im Labor der Inneren Medizin V des Universitätsklinikum des Saarlandes mittels Fluoreszenz-Immunoassay durch Herrn Dr. rer. physiol. Christan Herr.

Nach Erhalt der gefrorenen Proben durch das Labor wurde zur Untersuchung der sCD14-Konzentration im Serum das Human Magnetic Luminex® Screening Assay nach Anleitung durchgeführt. Hierbei wurden zur Vorbereitung der Serumproben zunächst jeweils 10µl des Patientenserums mit 90µl der gepufferten Proteinlösung Calibrator Diluent RD6-52 vermengt. Daraufhin wurden 10µl der nun verdünnten Probe mit weiteren 190µl Calibrator Diluent RD6-52 Lösung zusammengeführt und somit eine 1:200- Verdünnung der Probe hergestellt.

Zudem erfolgte die Vorbereitung der Waschpuffer-Lösung und der Standardlösungen. Dabei wurde zunächst 20ml des Wasch-Puffer-Konzentrats mit destilliertem Wasser vermengt, um 500ml Wasch-Puffer-Lösung herzustellen.

Zur Herstellung der Standardlösung 1 wurden jeweils 100µl des gelieferten Standardcocktails mit 900µl Proteinlösung Calibrator Diluent RD6-52 vermischt. In fünf weitere Polypropylene-Röhrchen wurden jeweils 200µl Calibrator Diluent RD6-52 pipettiert und mit den Namen Standardlösung 2-6 gekennzeichnet.

Es wurde dann eine Verdünnungsreihe hergestellt, indem zuerst 100µl von Standardlösung 1 in Standardlösung 2 gegeben wurden, von welchem nach vorsichtigem Schütteln daraufhin 100µl in das Röhrchen der Standardlösung 3 gegeben wurde.

Im Anschluss wurde dann aus Standardlösung 3 100µl entnommen und in Standardlösung 4 überführt. Diese Schritte wurden weitere zwei Male wiederholt bis Standardlösung 6 entstanden war. Dabei diente Standardlösung 1 als oberer Maßstab und Calibrator Diluent RD6-52 als „Blanko“.

Zur Vorbereitung des Mikropartikel-Cocktails wurde dieser zunächst für 30 Sekunden (sec) bei 1000x g zentrifugiert bevor der Kappenverschluss entfernt wurde. Dann erfolgte eine Durchmischung der Partikel durch vorsichtiges vortexen. Daraufhin wurden 500µl des Mikropartikel-Cocktails mit 5ml der Lösung Diluent RD2-1 verdünnt. Die Vorbereitung erfolgte innerhalb der vorgeschriebenen 30min vor Gebrauch des Mikropartikel-Cocktails.

Mit dem gleichen Verfahren von Zentrifugation, Vortexen und Verdünnung mit Diluent RD2-1 erfolgte die Vorbereitung des Biotin Antikörper-Cocktails.

Im Anschluss daran wurde der Fluoreszenz -Farbstoff Streptavidin-PE unter Lichtschutz vorbereitet. Zuerst wurde er dafür vor Entfernung des Kappenverschlusses für 30sec bei 1000xg zentrifugiert und anschließend vorsichtig gevortext. Daraufhin wurden 220µl des Streptavidin-PE Konzentrates mit 5,35ml Waschpuffer-Lösung verdünnt.

Die Einstellung des Luminex Magpix® Analyzer erfolgte nach Anleitung. Die zu messende Mikropartikel-Region von CD14 war Nummer 29, es wurden 50 Events/Bead festgestellt mit Probengrößen von 50µl. Als zu messender Faktor wurde die Mediane Fluoreszenz-Intensität (MFI) eingestellt.

Zur Durchführung des Assays wurden dann jeweils 50µl des Mikropartikel-Cocktails in die isolierten Nüpfchen („wells“) der Mikrotiterplatte gegeben. Dazu wurden dann jeweils 50µl der vorbereiteten Proben oder Standardlösungen 1-6 gegeben und mit einer Folien-Abdichtplatte abgedeckt. Bei Raumtemperatur erfolgte dann die Inkubation für zwei Stunden auf einem horizontalen Orbitalschüttler mit 800±50rpm.

Im Anschluss wurde die magnetische Trennplatte unterhalb der Mikrotiterplatte angebracht und nach einer Minute die Flüssigkeit aus den wells entfernt. Dann wurde jeder well mit 100µl Waschpuffer-Lösung befüllt, um nach einer Minute erneut die Flüssigkeit aus den wells zu entfernen. Dieser Waschprozess wurde weitere drei Male durchgeführt.

Als nächstes wurden in jedes well 50µl des verdünnten Biotin-Antikörper-Cocktail gegeben und nach Verschluss mit einer Folien-Abdichtplatte für eine Stunde bei Raumtemperatur auf dem horizontalen Orbitalschüttler mit 800±50rpm inkubiert. Der oben beschriebene Waschprozess wurde dann wiederholt.

Jedes well wurden daraufhin mit jeweils 50µl der verdünnten Streptavidin-PE befüllt, mit der Folien-Abdichtplatte abgedeckt und für 30 Minuten bei Raumtemperatur auf der Schüttelplatte inkubiert. Nach einem erneuten wie bereits oben beschriebenen Waschprozess wurde dann in jedes well jeweils 100µl Waschpuffer-Lösung gegeben und für zwei Minuten auf die Schüttelplatte gestellt. Dies sollte zur erneuten Durchmischung der Mikropartikel dienen, um im Anschluss innerhalb von 90 Minuten die Auslesung mittels Luminex Magpix® zu starten.

Die Werte wurden dann mit der Software xPonent® von Merck Millipore gemessen und analysiert. Die Berechnung der Standardkurve und abschließende Ergebnisdarstellung erfolgte mit der Software Milliplex Analyst® von VigeneTech Inc.

Dokumentation der Ergebnisse

Die ausgefüllten CRFs wurden im Anschluss in das Open Clinica Software Programm (OpenClinica LLC Waltham, MA USA) übertragen. Das Programm erlaubt eine digitale Sicherung der Daten und ermöglicht den direkten Transfer in das SPSS-Programm.

Es erfolgte eine weitere Anonymisierung der Patienten in Open Clinica, da dort für jeden Patienten eine spezielle Kennung durch einen webbasierten Pseudonymisierungsdienst (Mainzliste, Universität Mainz 2013) generiert wurde.

3.4.3 Statistik

Die statistische Auswertung erfolgte mit Hilfe des Statistical Package for Social Science (SPSS) 23 (SSPS Incorporated, Chicago, USA).

Für die Untersuchung des Zusammenhangs zwischen kategorialen Parametern und des sCD14-Spiegels wurde der t-Test für unabhängige Stichproben angewandt. Zum Mittelwertvergleich zwischen mehr als zwei Gruppen erfolgte die einfaktorielle Varianzanalyse (univariate ANOVA).

Anhand der Produkt-Moment-Korrelation nach Pearson wurde der lineare Zusammenhang zwischen sCD14 und stetigen Variablen wie der Exazerbationsanzahl auf Signifikanz überprüft.

Mittels multipler linearer Regressionsanalyse wurde dann die Beziehung zwischen den unabhängigen Variablen (Alter, packyears, Geschlecht) und der abhängigen Variable (sCD14) untersucht. Um die Verwendung von kategorialen Variablen in der Regressionsanalyse zu ermöglichen, wurden diese zuvor „Dummy“ codiert.

4 Ergebnisse

Wir untersuchten in unserer Studie die Korrelation des Serummarkers sCD14 sowie LPS in Bezug auf klinische Parameter von COPD-Patienten. Dabei wurde die sCD14- Serumkonzentrationen von 56 COPD- Patienten gemessen und diese in Zusammenhang mit verschiedenen Einflussfaktoren wie Personenmerkmale, Komorbiditäten, Rauchverhalten sowie Schweregrad der Erkrankung und Exazerbationsrate gestellt.

Aufgrund der engen Verbindung von sCD14 als Rezeptor für LPS, erhoben wir ebenfalls den LPS-Serumspiegel der Probanden, um mögliche Einflüsse und Interaktionen der Werte besser beurteilen zu können.

4.1 Einfluss von Biologischen Personenmerkmalen auf den sCD14- und LPS-Serumspiegel

Die Anzahl an eingeschlossenen Patienten umfasste n=65. Alle Patienten waren kaukasischer Ethnie. Da anamnestisch bei n=9 eine akute Exazerbation nicht ausgeschlossen werden konnte, wurde die Anzahl an Studienpatienten auf n=56 reduziert. Eine Übersicht über die Patientenmerkmale findet sich in Tabelle 3.

Ein Großteil der 56 Patienten hatte eine fortgeschrittene COPD-Erkrankung im GOLD-Stadium 3 (15) und 4 (34). Bei 33 Patienten kann von „frequent exacerbators“ gesprochen werden mit ≥ 2 Exazerbationen pro Jahr. Die Hälfte der 56 Patienten hatte eine eLVR in der Vergangenheit durchführen lassen (n=28).

Geschlecht (m / w)	32 / 24
Alter (in Jahren; Mittelwert \pm SD)	62,84 (\pm 8,97)
Raucher/ Ex-Raucher/Nieraucher	7 / 48 / 1
Packyears (Mittelwert \pm SD)	44,92 (\pm 27,22)
FEV1 in L (Mittelwert \pm SD)	0,95 (\pm 0,53)
GOLD 1/2/3/4	1 / 6 / 15 / 34
ABCD	2 / 5 / 2 / 47
CAT (Mittelwert \pmSD)	22,21 (\pm 7,87)
MMRC (Mittelwert \pmSD)	2,68 (\pm 0,81)
Exazerbationen (<2 / \geq2)	23 / 33
6-Minuten-Gehstrecke (in m; Mittelwert \pm SD)	291,66 (\pm 103,31)
St.n. eLVR	28

Tab. 3: Übersicht der Patientenmerkmale

Es wurde für n=56 der sCD14-Wert mittels Human CD14 Luminex Assay bestimmt. Dieser lag dabei im Mittel bei 79,53 pg/ml (\pm 9,82 pg/ml). Zudem wurde der LPS-Serum-Spiegel von n=53 Patienten

bestimmt. Dieser lag im Mittel bei 0,3930 EU/ml ($\pm 0,7767$). Es zeigte sich keine signifikante Korrelation zwischen dem sCD14-Spiegel und dem LPS-Wert der Probanden.

Insgesamt wurden die Daten von $n=24$ weiblichen und $n=32$ männlichen Probanden ausgewertet. Es zeigte sich im t-Test für Mittelwertvergleiche bei unabhängigen Stichproben kein signifikanter Unterschied des sCD14- oder LPS-Spiegels zwischen Männern und Frauen.

Das mittlere Alter der Studienteilnehmer lag bei 62,84 ($\pm 8,97$) Jahren. Es stellte sich hier eine signifikante positive Korrelation zwischen Lebensalter und sCD14-Spiegel der Probanden dar ($r=0,320$, $p=0,016$). Diese Assoziation zwischen Lebensalter und sCD14-Spiegel bestätigte sich in der multiplen linearen Regressionsanalyse $F(5,44) = 4,783$, $p=0,001$ unter Einbezug Parameter Körpergröße, der Lungenfunktionsparameter FEV1, FEV1/VC und RV, packyears und der Exazerbationsanzahl pro Jahr. Somit steigt der sCD14-Wert signifikant ($p=0,041$) mit zunehmendem Lebensalter an unabhängig der Schwere der Erkrankung (Abb.2).

Der LPS-Serumspiegel zeigte keine signifikante Korrelation mit Alter, Körpergewicht oder Größe.

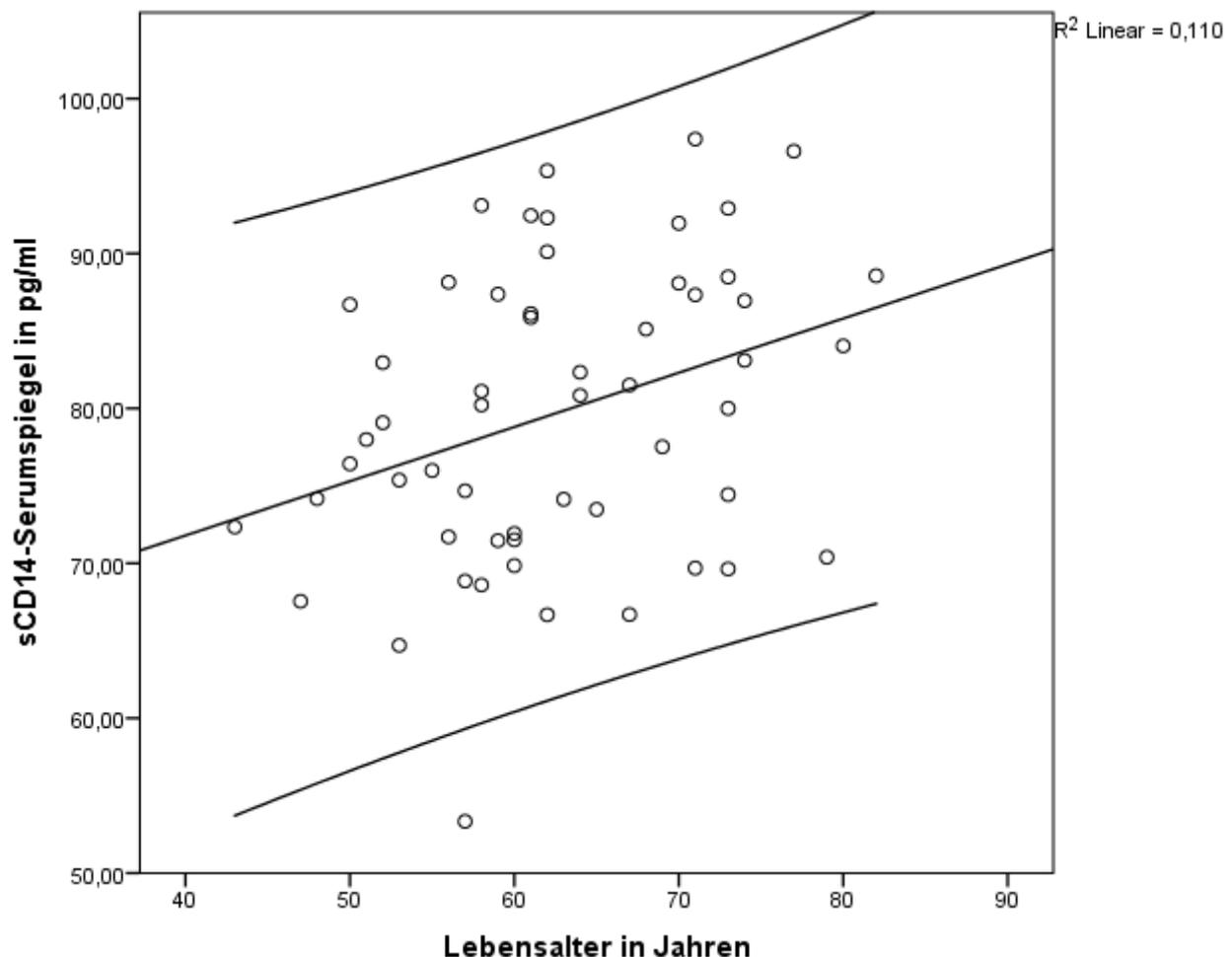


Abb. 4: Korrelation mit Anpassungslinie und Konfidenzintervall des sCD14-Serumspiegel in pg/ml und Lebensalter der Probanden in Jahren ($p < 0,05$).

4.2 Einfluss der Komorbiditäten auf den sCD14- und LPS-Serumspiegel

Im PULMOHOM-Fragebogen wurden unterschiedliche vorbekannte Komorbiditäten der Probanden erhoben, wobei bei ausschließlich n=2 Studienteilnehmern keine Komorbiditäten vorlagen.

Maximal lagen 12 Komorbiditäten gleichzeitig vor, dies traf bei n=2 Probanden zu. Im Mittel lag die Anzahl an Komorbiditäten bei n=5,57 ($\pm 2,95$) Komorbiditäten pro Probanden.

Die nachfolgende Tabelle 4 dient zur Übersicht der erhobenen Komorbiditäten der Studienteilnehmer.

Komorbidität	Ja =1	Nein= 0	Gesamt	Fehlend
Hypertonus	23	33	56	0
Koronare Herzkrankheit	12	44	56	0
Z.n. Myokardinfarkt	6	50	56	0
Z.n. Schlaganfall	1	55	56	0
pAVK	11	44	55	1
Ulcus ventriculi/duodeni	29	27	56	0
Hypothyreose	12	42	54	2
Hyperthyreose	3	50	53	3
Osteoporose	19	36	55	1
Karzinomerkrankungen (ausgeschlossen Bronchial-Ca)	12	43	55	1
Varikosis	11	45	56	0
Thrombose	5	50	55	1
Leberzirrhose	3	53	56	0
Hepatitis	5	50	55	1
Choledocholithiasis	9	47	56	0
Diabetes mit und ohne Insulin	10	46	56	0
Blutfette	16	39	55	1
Gicht	7	49	56	0
Eisenmangelanämie	5	50	55	1
Nierenbeckenentzündung	3	52	55	1
Nierenkoliken	1	54	55	1

Ergebnisse

Arthrose	14	39	53	3
Arthritis	7	47	54	2
Epilepsie	1	55	56	0
Parkinson	0	56	56	0
Allergien	23	33	56	0

Tab. 4: Erhobene Komorbiditäten der Studienteilnehmer

Wir fassten die Komorbiditäten in verschiedenen Übergruppen nach Organsystemen und Ätiologie zusammen. So wurden Erkrankungen des Herz-Kreislaufsystems wie Koronare Herzkrankheit, Hypertonie, Z.n. Schlaganfall, Z.n. Myokardinfarkt und pAVK als Gruppe Kardiovaskuläre Erkrankungen zusammengefasst. Bei n=29 Patienten der Studienteilnehmer war zu diesem Zeitpunkt eine oder mehrere kardiovaskuläre Erkrankungen bekannt.

Beim t-Test für unabhängige Stichproben zeigte sich kein signifikanter Unterschied des sCD14-Spiegels bei den Gruppen „eine oder mehr kardiovaskuläre Erkrankungen“ (n=29) oder „keine kardiovaskulären Vorerkrankungen“ (n=27).

Die Erkrankungen *Ulcus duodeni* und *Ulcus ventriculi* wurden zusammengefasst zu *Ulcus*-Erkrankungen des Gastrointestinal Traktes. Hierbei gab es keinen Unterschied des sCD14-Spiegels zwischen den Probanden mit *Ulcus*-Erkrankungen (n=29) und ohne Erkrankung (n=27).

Zudem wurden Erkrankungen wie Leberzirrhose, Hepatitis und Cholezystitis dem Krankheitskomplex Leber und Galle (n=17) zugeordnet, was jedoch keinen Einfluss auf den sCD14-Spiegel hatte.

Wenn bei den Patienten ein Diabetes mit oder ohne Insulinpflichtigkeit vorlag, wurde dies zur Übergruppe Diabetes zusammengefasst. Die traf bei n=10 Patienten zu.

Hier konnte gezeigt werden, dass im t-Test für Mittelwertvergleiche bei unabhängigen Stichproben ein signifikanter Unterschied des sCD14-Spiegels zwischen den Gruppen mit oder ohne Diabetes bestand. Die Varianzen Homogenität wurde zuvor mittels Levene-Test geprüft. So lag bei den Patienten mit Diabetes der mittlere sCD14-Wert bei 85,09 ($\pm 9,13$) pg/ml, wohingegen Patienten ohne Diabetes einen Mittelwert von 78,32 ($\pm 9,64$) pg/ml aufwiesen ($T(54) = 2.028$ $p < 0.05$) (Abb.3). Keine signifikante Korrelation fand sich zwischen der Häufigkeit an Exazerbationen und dem Vorliegen von Diabetes.

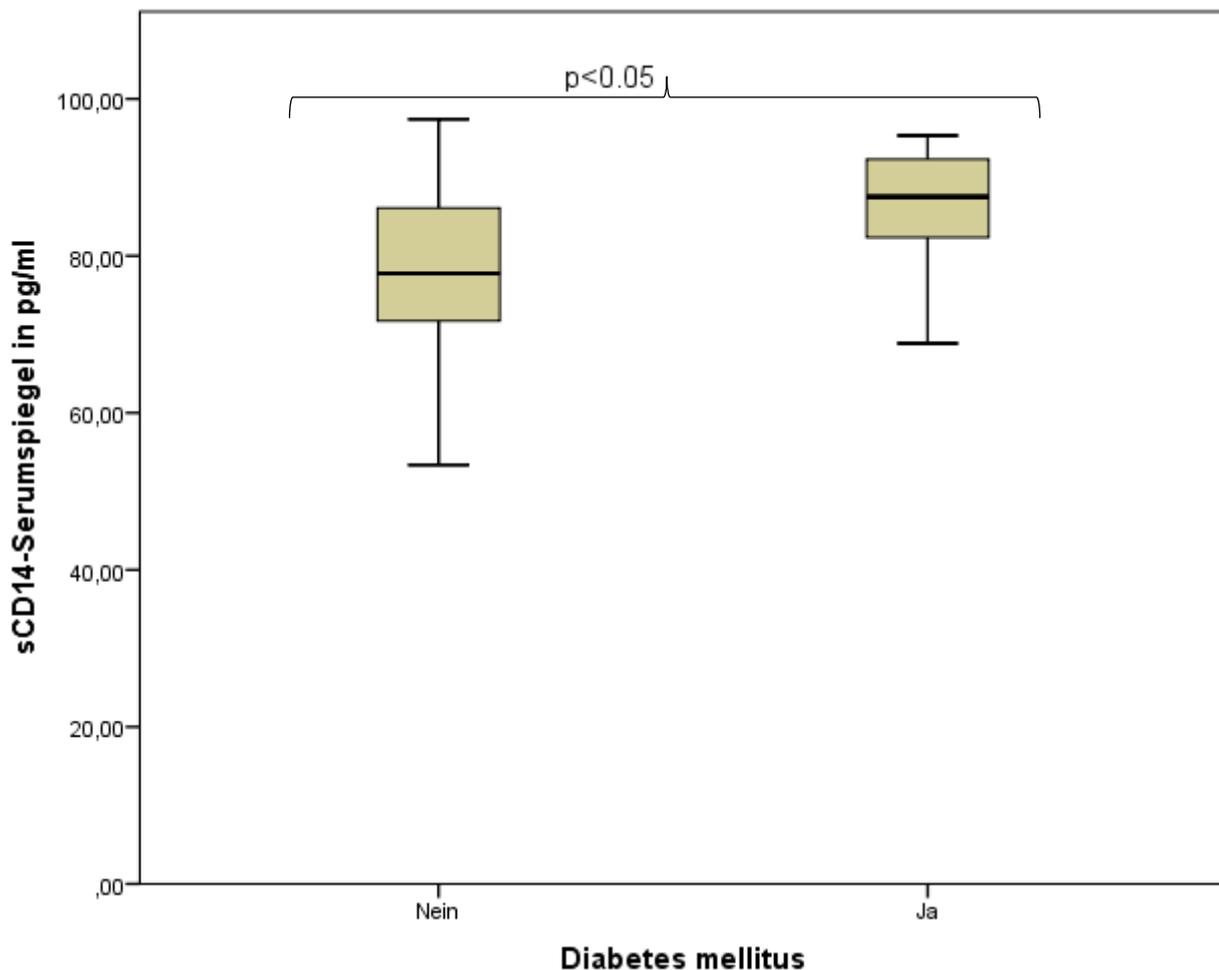


Abb. 5: Vergleich des sCD14-Serumspiegels in pg/ml bei Patienten mit Diabetes und ohne Diabetes mit Fehlerbalken ($p=0.049$)

Eine Unter- und Überfunktion der Schilddrüse wurde zu der Komorbidität Schilddrüsenerkrankungen zusammengefasst. Auch hier zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen mit ($n=15$) und ohne Schilddrüsenerkrankung ($n=41$) auf den sCD14-Spiegel.

Zu der Komorbidität Allergien wurden Allergien wie Heuschnupfen sowie gegen Nahrungsmittel, Tierhaare, Metalle, Hausstaub und andere gezählt. Bei 23 Studienteilnehmern lag die Komorbidität Allergie vor. Hier stellte sich im sCD14-Wert kein signifikanter Unterschied zu der Gruppe ohne Komorbidität Allergie dar ($n=33$).

Bei 12 Studienteilnehmer war zum Zeitpunkt der Erhebung anamnestisch eine kurativ behandelte oder stabile Karzinomkrankung außerhalb der Lunge bekannt, wobei diese Gruppe mit Komorbidität Karzinom keinen signifikanten Unterschied des sCD14-Wertes zu der Gruppe ohne Karzinomanamnese ($n=43$) zeigte.

Letztendlich konnte kein Zusammenhang zwischen der Gesamtanzahl der Komorbiditäten der Probanden und dem sCD14-Spiegel nachgewiesen werden.

Der LPS-Serumspiegel zeigte keine signifikanten Korrelationen mit den Komorbiditätengruppen Kardiovaskuläre Erkrankungen, Ulcuserkrankungen des Gastrointestinaltraktes, Erkrankungen von

Leber und Galle, Diabetes mit oder ohne Insulinpflichtigkeit, Schilddrüsenerkrankungen Allergien oder Karzinomerkrankungen.

Zusammenfassend konnte nur ein signifikanter Unterschied der Gruppen mit oder ohne Komorbidität Diabetes der COPD-Patienten bezüglich des sCD14-Siegels dargestellt werden.

4.3 Einfluss des Rauchverhaltens auf den sCD14-und LPS-Spiegel

Um den Einfluss des Rauchverhaltens auf den sCD14-und LPS-Spiegel zu untersuchen, wurde mittels des PULMO-Fragebogens die Aktivität und Intensität des Nikotinkonsums sowie der Genuss von weiteren Tabakprodukten der Probanden erfragt.

Von 56 Studienteilnehmern gaben n=55 an, jemals in ihrem Leben geraucht zu haben. Lediglich n=1 Studienteilnehmer war Nieraucher.

Von den 55 Ex-/Rauchern hatten n=7 Probanden in den letzten vier Wochen geraucht. Bei diesen 7 Rauchern lag der Nikotinkonsum aktuell im Mittel bei 16,86 (\pm 9,13) Zigaretten/ Tag. Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied des sCD14-Spiegels im t-Test für unabhängige Stichproben zwischen der Gruppe, die in den letzten vier Wochen geraucht hatte (Mittelwert sCD14: $80,21 \pm 7,77$ pg/ml), und der Gruppe, die die letzten vier Wochen nicht geraucht hatte (Mittelwert sCD14: $79,66 \pm 9,83$ pg/ml) (Tab.4). Der sCD14-Spiegel wird folglich nicht vom aktuellen Rauchverhalten beeinflusst. Auch zeigten Probanden, die zuletzt geraucht hatten, keine vermehrte Tendenz zu Exazerbationen.

Bei den LPS-Serumwerten zeigte sich ebenfalls kein signifikanter Unterschied zwischen der Gruppe, welche in den letzten vier Wochen geraucht hatte, und der Gruppe, die nicht geraucht hatte.

	Rauchen in den letzten vier Wochen	N	Mittelwert	Standardabweichung
CD14	0	49	79,66	± 9,83
	1	7	80,21	± 7,78
LPS	0	46	0,38	± 0,80
	1	7	0,45	± 0,63

Tab. 5: Mittelwerte des sCD14- in pg/ml und des LPS-Spiegels in EU/ml im Vergleich der Gruppen „in den letzten vier Wochen geraucht“ (ja=1/ nein=0) ($p>0.05$)

Des Weiteren gaben n=53 von 55 ex-/rauchenden Studienteilnehmer an regelmäßig zu rauchen bzw. geraucht zu haben, bei n=2 Studienteilnehmer wurde nur gelegentlicher Nikotinkonsum angegeben.

Bei den 47 Ex-Rauchern lag der Mittelwert der maximalen Anzahl an gerauchten Zigaretten pro Tag bei 27,81 ($\pm 17,75$) (min. 4 Zig. /Tag, max. 100 Zig. /Tag). Es zeigte sich keine signifikante Korrelation zwischen der Anzahl der gerauchten Zigaretten pro Tag und dem sCD14-Wert. Ebenso ließ sich keine signifikante Korrelation zwischen dem LPS-Spiegel und der Anzahl an pro Tag gerauchten Zigaretten zeigen. Des Weiteren zeigten unsere Daten keinen Zusammenhang zwischen der Anzahl an gerauchten Zigaretten und der Häufigkeit an Exazerbationen.

Bei n=54 der 55 ex-/rauchenden Studienteilnehmern konnte das Alter bei Rauchbeginn eruiert werden, dies lag im Mittel bei 17,22 ($\pm 4,19$) Jahren (min. 6 Jahre, max. 30 Jahre).

Durch die Erhebung des Alters bei Rauchbeginn und zusätzlich des Datums der zuletzt gerauchten Zigarette sowie der gerauchten Anzahl der Zigaretten pro Tag, ließ sich die Zahl der „pack-years“ (pys) bei n=52 Probanden errechnen. Diese lag im Mittel bei 44,92 ($\pm 27,22$) pys (Tab. X2). Es ließ sich keine signifikante Korrelation zwischen der Anzahl an „packyears“ und dem sCD14- sowie dem LPS-Spiegel eruieren.

Insgesamt zeigt die Intensität des Tabakkonsums also keinen Einfluss auf den sCD14-Serumwert.

Bei n=23 von 56 Probanden lag eine passive Rauchbelastung durch rauchende Personen im Haushalt vor. Dabei wurden im Mittel 20,29 ($\pm 22,85$) Zigaretten/Tag (min. 4 Zig./Tag, max. 100 Zig./Tag) geraucht. Dies ist in der nachfolgenden Tabelle 6 aufgeführt.

Des Weiteren gaben n=48 der Probanden an, dass an Ihrem Arbeitsplatz geraucht wird/wurde. Zudem rauchten bei n=31 der Probanden ein Elternteil in der Kindheit, bei n=11 Studienteilnehmern beide Elternteile.

Insgesamt waren n=11 der 56 Probanden zusätzlichem Passivrauchen in Kindheit, Arbeitsplatz und Haushalt ausgesetzt. Es zeigte sich jedoch kein signifikanter Einfluss des Passivrauchens auf den

sCD14- und LPS- Spiegel im Vergleich zu der Gruppe, die nicht dreifach Passivrauch ausgesetzt waren.

Den zusätzlichen Konsum von Zigarren, Zigarillos und Pfeife gaben n=8 Probanden an. Hier zeigte sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem sCD14-Spiegel und der Exazerbationsrate im Vergleich zu den nicht konsumierenden Probanden. Diese Ergebnisse zeigten sich ebenfalls beim LPS-Spiegel.

Anzahl an aktiven Rauchern in den letzten vier Wochen	N=7
Anzahl an Probanden, die jemals geraucht hatten	N=55
Mittleres Alter bei Rauchbeginn in Jahren	17,22 (± 4,19)
Mittlerer maximaler Zigarettenkonsum pro Tag	27,81 (±17,75)
Mittlere Anzahl an packyears	44,92 (± 27,22)
Anzahl an Probanden mit Konsum von Zigarren, Pfeife, Zigarillos	N=8
Anzahl an Probanden mit Passivrauchen im Haushalt	N=23
Anzahl an Probanden mit Passivrauchen am Arbeitsplatz	N=48
Anzahl an Probanden mit Passivrauchen in der Kindheit	N=31

Tab. 6: Übersicht des Rauchverhaltens der Studienteilnehmer

4.4 Zusammenhang des Schweregrades der COPD und dem sCD14-Spiegel

4.4.1 Zuordnung GOLD und ABCD-Klassifikation

Zur Untersuchung des Einflusses der Schwere der Erkrankung auf den sCD14- und LPS Spiegel wurden die Probanden mittels Lungenfunktion den GOLD-Klassifikationen zugeteilt.

Bei der Mehrzahl (n= 32) der 56 Probanden lag eine COPD GOLD-Klassifikation Grad 4 vor. Nach der neueren ABCD-Klassifikation, welche zusätzlich die Ergebnisse der CAT-, mMRC-Fragebögen und die Exazerbationsrate berücksichtigt, lag bei n=46 eine COPD der Klasse D vor. Die nachfolgende Tabelle soll zu Übersicht über die Einteilung der Probanden dienen. (Tab.7).

GOLD Klasse	1	2	3	4	Gesamt
n =	1	6	14	35	56
Prozent	1,8%	10,7%	25%	62,5%	100%
ABCD Klasse	A	B	C	D	
n =	2	5	2	46	55
Prozent	3,6%	9,0%	3,6%	83,8%	100%

Tab. 7: Zuordnung der Studienteilnehmer in GOLD- und ABCD-Klassifikation

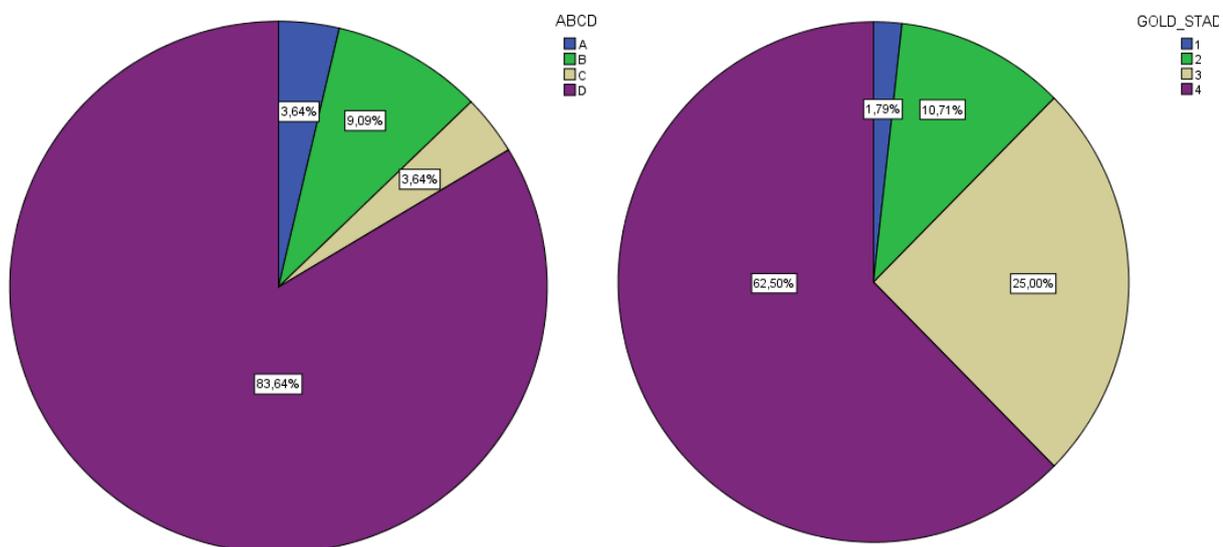


Abb. 6: Kreisdiagramm Zuordnung in COPD- und ABCD-Klassifikation der Probanden

In der einfaktoriellen Varianzanalyse zeigte sich im Mittelwert-Vergleich zwischen den GOLD-Gruppen kein signifikanter Unterschied des sCD14-Spiegels. Auch in der Einteilung in die ABCD-Klassifikation zeigte sich im Vergleich der sCD14-Spiegel-Mittelwerte zwischen den Gruppen kein signifikanter Unterschied.

Die gemessenen LPS-Werte zeigten ebenfalls keine signifikante Korrelation mit den GOLD-Stadien, jedoch zeigte sich bei der Einteilung in die ABCD-Klassifikation ein Zusammenhang zum LPS-Wert.

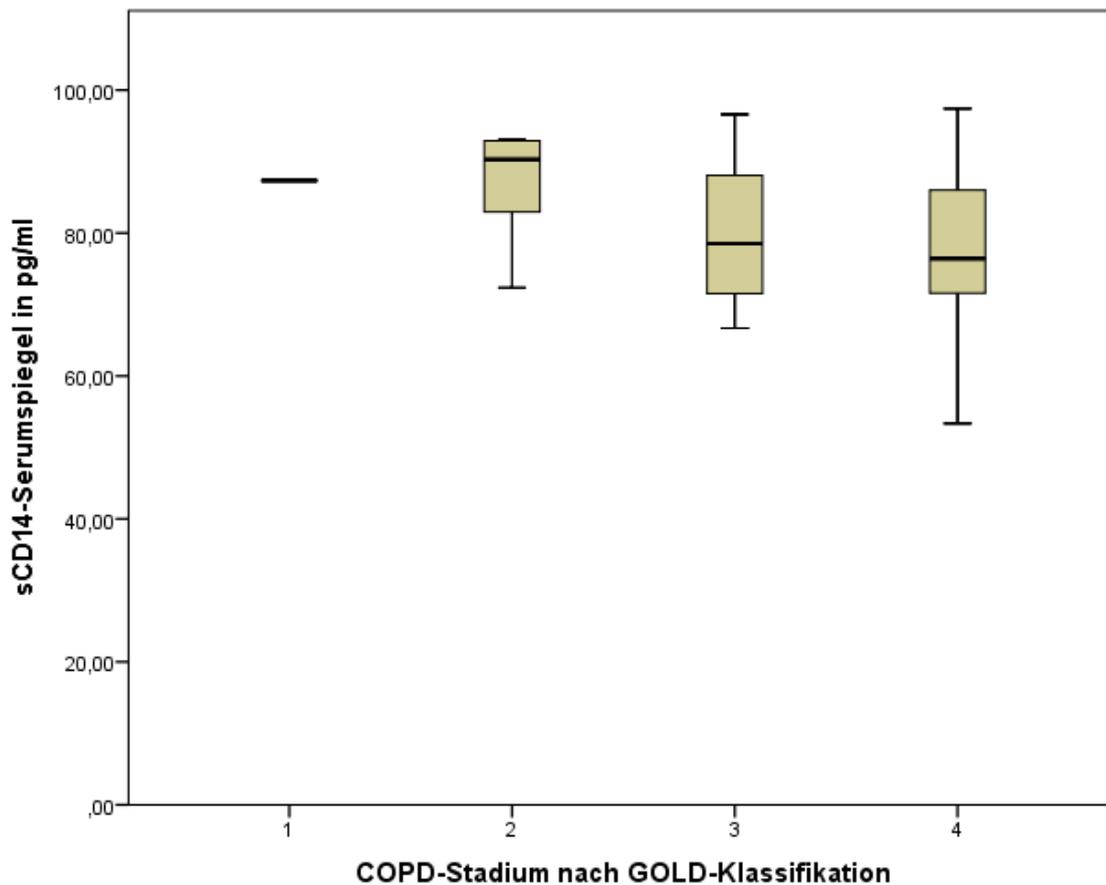


Abb. 7: Vergleich der sCD14-Mittelwerte der Studienteilnehmer in den GOLD-Stadien der COPD ($p > 0.05$)

Da der Hauptteil der Patienten der Klassifikation D zugerechnet werden konnte, wurden diese Probanden der Gruppe D ($n=46$) denjenigen der Gruppe ABC ($n=9$) gegenübergestellt. Da mittels Levene-Test Varianzheterogenität festgestellt wurde, erfolgte der Welch-Test. Hier zeigte sich ein signifikanter Unterschied ($p=0,038$) zwischen den LPS-Mittelwerten dieser beiden Gruppen. So lag der LPS-Mittelwert der Probanden mit der COPD-Klassifikation D bei $0,46 (\pm 0,84)$ EU/ml und bei den Probanden der COPD-Klassifikation ABC bei $0,12 (\pm 0,26)$ EU/ml (Abb. 6). Probanden der Gruppe D zeigten also signifikant höhere LPS-Werte als Probanden in milderen Stadien der Gruppe ABC.

Dieser Zusammenhang konnte zwischen den Gruppen ABC und D für den sCD14-Spiegel nicht gezeigt werden.

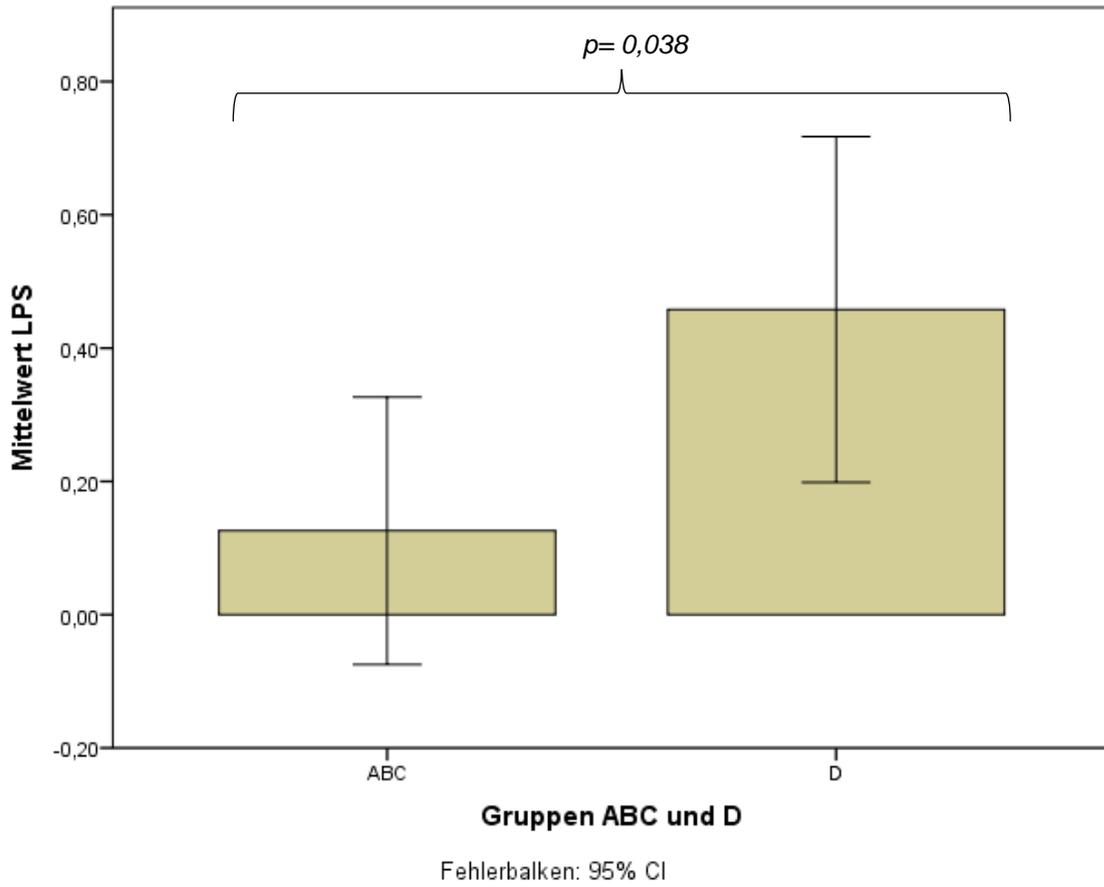


Abb. 8: Vergleich LPS-Mittelwert in EU/ml der COPD-Klassifikation Gruppe ABC und COPD-Klassifikation Gruppe D ($p < 0,05$)

4.4.2 Analyse der Lungenfunktionsparameter

Bei Betrachtung der Lungenfunktionsparameter der Probanden lag bei den 56 Studienteilnehmern die Einsekundenkapazität FEV1 im Mittel bei 0,95 ($\pm 0,53$) l und die Einsekundenkapazität in Prozent FEV1% bei 34,50 ($\pm 14,92$) %. Der Mittelwert der relativen Einsekundenkapazität FEV1/VC wurde mit 44,16% ($\pm 14,31\%$) ermittelt. Tabelle 8 gibt eine Übersicht der Lungenfunktionsparameter, Ergebnisse der CAT und mMRC-Fragebögen sowie der 6-min-Gehstrecke der Studienteilnehmer.

	Anzahl	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standardabweichung
FEV1 in L	55	0,34	2,77	0,96	$\pm 0,50$
FEV1 in %	49	12	76	34,81	$\pm 14,91$
FEV1/VC in %	49	21,80	78,30	44,47	$\pm 14,28$
RV in L	49	2,20	8,81	5,24	$\pm 1,40$
TLCO in L	47	3,09	11,25	7,20	$\pm 1,81$
paO2 in mmHg	41	37	78	70,34	$\pm 9,27$
paCO2 in mmHg	41	32	55	37,99	$\pm 3,68$
6-Min.-Gehstrecke in m	47	55	485	290,95	$\pm 104,31$
CAT-Score	55	5	40	22,38	$\pm 7,84$
mMRC-Grad	55	1	4	2,67	$\pm 0,81$

Tab. 8: Übersicht Lungenfunktionsparameter, CAT-Score und MMRC-Grad sowie der 6min-Gehstrecke der Probanden.

Der Mittelwert des Residualvolumens RV lag bei 5,22 ($\pm 1,39$) l. Dabei zeigte sich, dass mit zunehmendem Residualvolumen der Probanden der sCD14-Wert signifikant abnahm ($r=-0,318$, $p=0,024$) (Abb.9). In der multiplen linearen Regressionsanalyse konnte sich unter Einbezug des Alters, Exazerbationsanzahl sowie von FEV1/VC der Einfluss des Residualvolumens auf den sCD14-Spiegel bestätigen, $F(5,44) = 4.783$, $p=0,012$. Patienten mit fortgeschrittenem Emphysem zeigten also eine Abnahme des sCD14-Wertes. Dieser Zusammenhang ließ sich für das Residualvolumen und LPS nicht darstellen.

Wir konnten ebenfalls keine weiteren signifikanten Korrelationen zwischen dem sCD14 Serumspiegel und den übrigen Lungenfunktionsparametern darstellen.

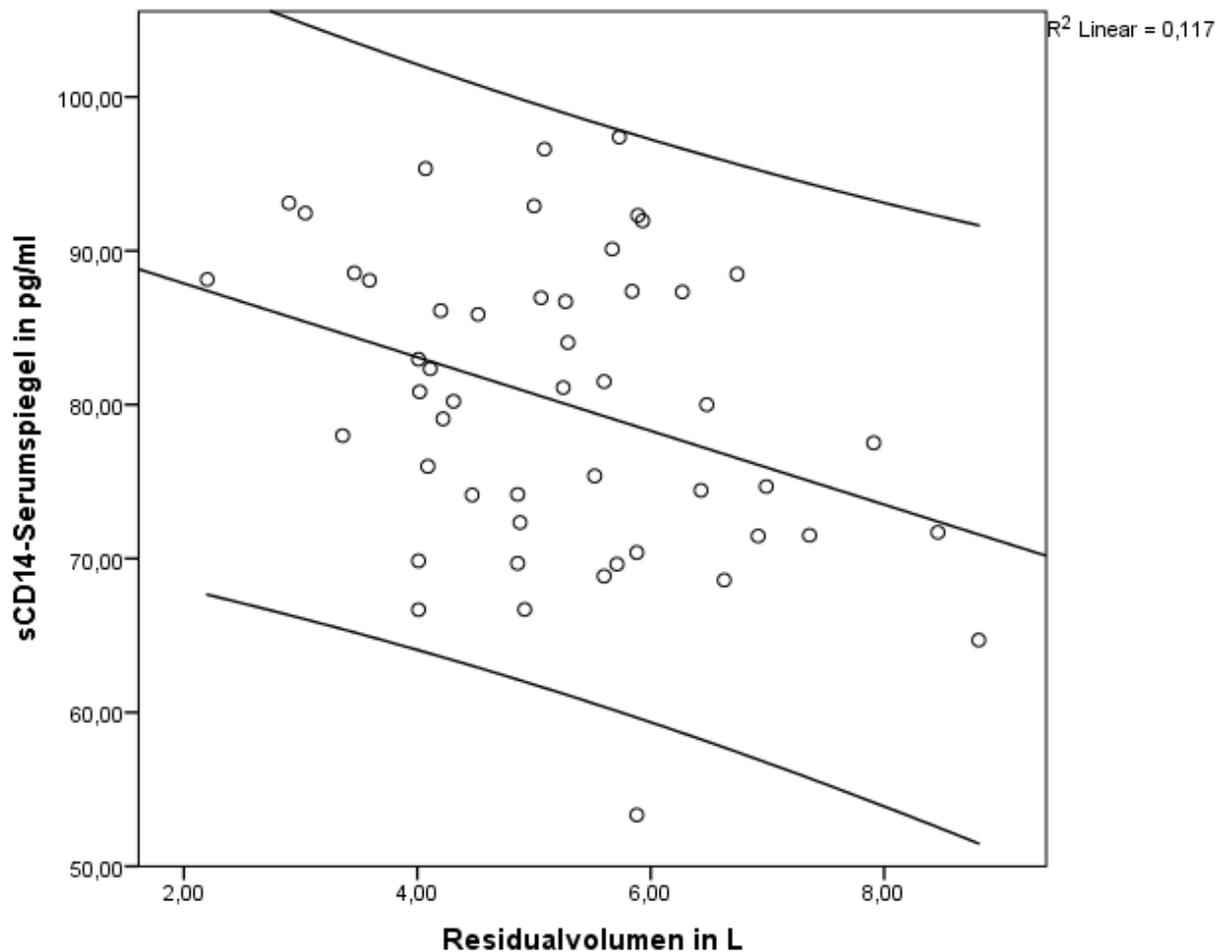


Abb. 9: Korrelation mit Anpassungslinie und Konfidenzintervall zwischen dem Residualvolumen in l und dem sCD14-Spiegel der Probanden in pg/ml ($p < 0.05$).

4.4.3 6-min-Gehstrecke und CAT/mMRC-Fragebögen

Im Test der 6-min-Gehstrecke erreichten die Probanden im Mittel eine Strecke von 291,61 ($\pm 103,31$) m. Die zurückgelegte Entfernung im 6-min-Gehstrecke-Test ließ keinen Zusammenhang mit dem sCD14- oder LPS-Wert erkennen.

Zur Bewertung der subjektiven Schwere der COPD wurden der CAT-Score sowie der mMRC-Grad erhoben. Die erhobene CAT-Summe lag im Mittel bei 22,04 ($\pm 8,048$) Punkten. Es zeigte sich, dass ein hoher CAT-Summen-Wert positiv mit der Anzahl an Exazerbationen in den letzten 12 Monaten korreliert ($r = 0,345$, $p < 0,01$). Kein Zusammenhang konnte zwischen dem sCD14- und LPS-Spiegel und der CAT-Summe ermittelt werden.

Bei der mMRC-Einteilung der Dyspnoe in vier Schweregrade bei COPD lag bei der Mehrzahl ($n = 32$) der Patienten ein mMRC-Grad 3 vor. Hier ließ sich kein signifikanter Unterschied in der einfaktoriellen Varianzanalyse zwischen den Gruppen bezüglich der Exazerbationsrate oder zu den sCD14- und LPS-Werten darstellen.

4.4.4 Kapillare Blutgasanalyse

Eine kapillare Blutgas-Analyse aus dem Ohrläppchen war bei n=42 Probanden erfolgt. Hier lag der Sauerstoffpartialdruck pO₂ im Mittel bei 70,52 ($\pm 9,239$) mmHg und der mittlere Kohlendioxidpartialdruck pCO₂ bei 37,99 ($\pm 3,636$) mmHg.

Der Datensatz ließ keinen signifikanten Zusammenhang zwischen dem kapillärem Sauerstoffpartialdruck pO₂ sowie dem Kohlendioxidpartialdruck pCO₂ und dem sCD14-Wert darstellen. Der LPS-Spiegel zeigte ebenfalls keinen signifikanten Zusammenhang zu den Blutgas-Werten der Probanden.

Zusammenfassend konnten wir zeigen, dass ein fortgeschrittenes Emphysem gemessen am Residualvolumen mit niedrigeren sCD14-Spiegeln assoziiert ist. Es konnte jedoch kein Zusammenhang zwischen der Schwere der COPD-Erkrankung, welche sich durch die höhere gemessene GOLD-Klassifikation und Abnahme von FEV₁% sowie FEV₁/VC zeigt, dargestellt werden. In Bezug auf den LPS-Serumwert fanden wir heraus, dass dieser bei Probanden mit fortgeschrittener COPD-Erkrankung in der Gruppe D im Rahmen der ABCD-Klassifikation signifikant erhöht ist im Vergleich zu der zusammengefassten Gruppe ABC.

4.5 Zusammenhang zwischen der jährlichen Exazerbationsrate und dem sCD14-Spiegel

Für die Auswertung unserer Fragestellung hinsichtlich der Aussagekraft des sCD14-Spiegels im Zusammenhang mit der Häufigkeit der Exazerbation der Probanden wurde die Exazerbationsrate anamnestisch erhoben. Dabei wurden die Patienten darüber aufgeklärt, dass eine Exazerbation eine die täglichen Schwankungen überschreitende akute Veränderung der Dyspnoe, des Hustens und/oder des Auswurfs ist, wodurch eine Änderung der Medikation nötig wird. Die gesamte Anzahl an Exazerbationen in einem Jahr pro Probanden lag im Mittel bei 3,04 ($\pm 3,203$) Exazerbationen. Das Maximum lag dabei anamnestisch bei 15 Exazerbationen pro Jahr. Dieser Proband wurde als Ausreißer aus der statistischen Berechnung ausgeschlossen. Die maximale Anzahl an eingeschlossenen Werten lag daher bei 13 Exazerbationen pro Jahr.

Im Mittel wurde bei 2,29 ($\pm 3,137$) der Exazerbationen/Jahr eines Probanden ein Arztbesuch notwendig. Eine stationäre Aufnahme in ein Krankenhaus war anamnestisch bei 1,56 ($\pm 2,767$) Exazerbationen/ Jahr erfolgt (Tab. 9).

	N	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standardabweichung
Exazerbationen gesamt/Jahr	55	0	13	3,04	±3,203
Exazerbationen mit Arztbesuch/ Jahr	55	0	13	2,29	±3,137
Exazerbationen mit Krankenhausaufenthalt/ Jahr	55	0	12	1,56	±2,767
Ausreißer	1		15		
Gesamt	56				

Tab. 9: Exazerbationshäufigkeiten pro Jahr der Probanden im Gesamten, mit Aufsuchen eines Arztes und einem stationären Krankenhaus-Aufenthalt.

Zwischen der Anzahl an Exazerbationen gesamt pro Jahr und dem sCD14-Spiegels der Probanden zeigte sich eine signifikante Korrelation ($r=-0,412$, $p=0,002$). Je häufiger ein Proband eine Exazerbation in den letzten 12 Monaten anamnestisch angegeben hatte, desto niedriger zeigte sich der sCD14-Serumspiegel (Abb.10).

In der multiplen linearen Regressionsanalyse bestätigte sich, dass ein niedrigere sCD14-Spiegel sich unabhängig der Lungenfunktionsparameter (FEV1, FEV1/VC und RV), Zigarettenkonsum und Alter sowie Körpergröße als signifikanter Einflussfaktor auf die Exazerbationshäufigkeit pro Jahr auswirkt, $F(7,42)=3,338$, $p=0,005$.

Es ließ sich hingegen kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Exazerbationsrate pro Jahr und dem LPS-Spiegel der Patienten darstellen.

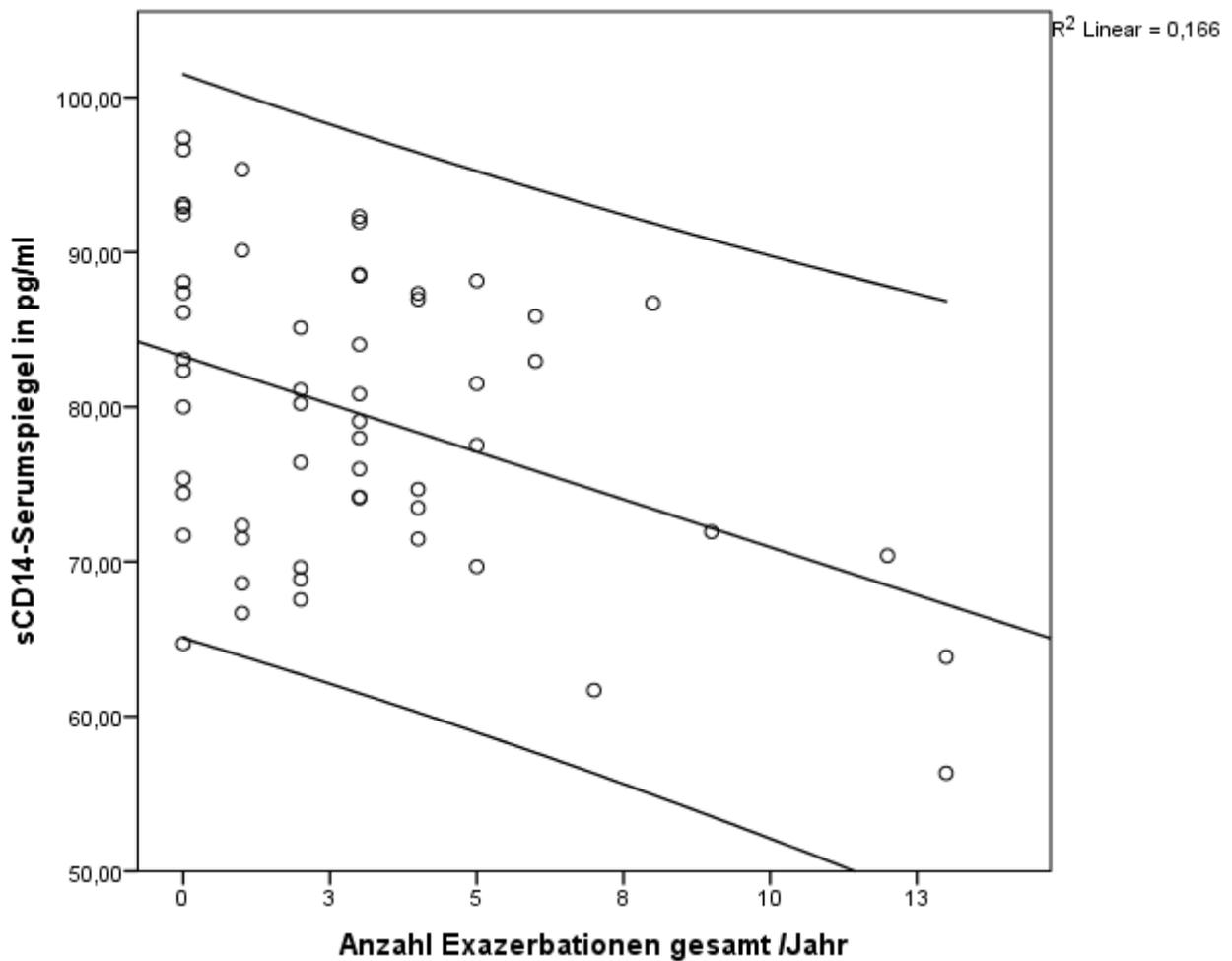


Abb. 10: Korrelation mit Anpassungslinie und Konfidenzintervall zwischen der Gesamtanzahl an Exazerbationen pro Jahr und dem sCD14-Wert der Probanden in pg/ml ($p < 0,01$)

Es ließ sich ebenfalls eine signifikante negative Korrelation von sCD14 mit der Anzahl an Exazerbationen pro Jahr mit Arztbesuch ($r = -0,476$, $p < 0,01$) und stationärem Krankenhausaufenthalt ($r = -0,469$, $p < 0,01$) darstellen.

Die Serum-LPS-Werte der Probanden zeigten hingegen keinen signifikanten Zusammenhang mit der Anzahl an Exazerbationen gesamt, mit Arztbesuch und Krankenhausaufenthalt.

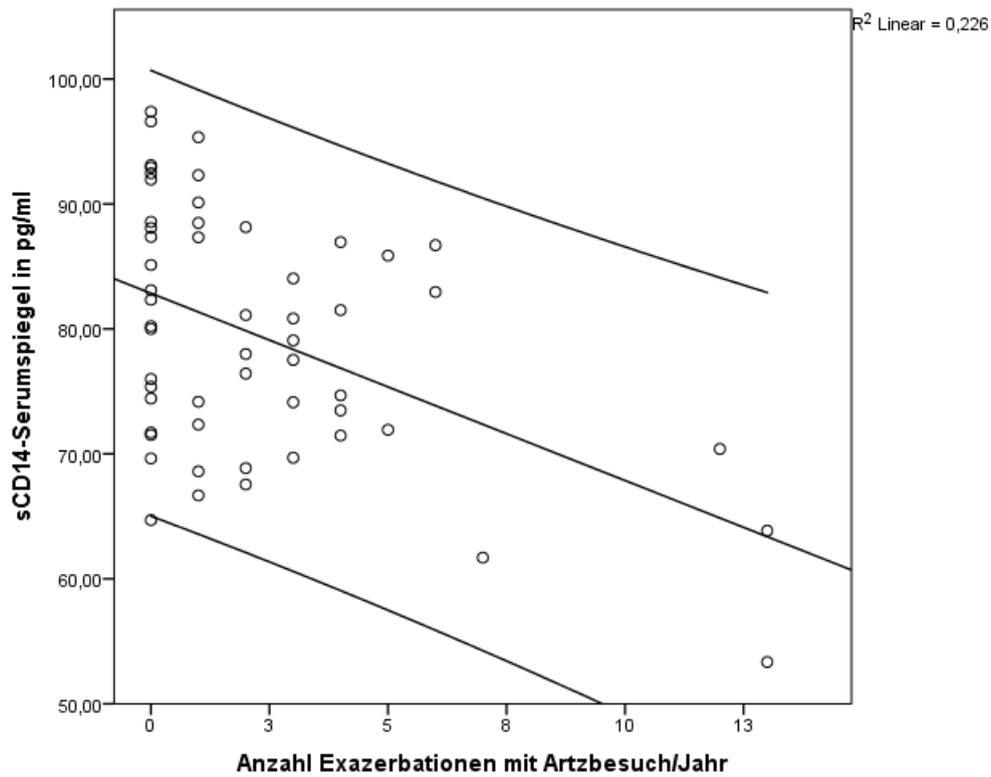


Abb. 11: Korrelation mit Anpassungslinie und Konfidenzintervall zwischen der Anzahl an Exazerbationen pro Jahr mit Arztbesuch und dem sCD14-Wert der Probanden in pg/ml ($p < 0.01$)

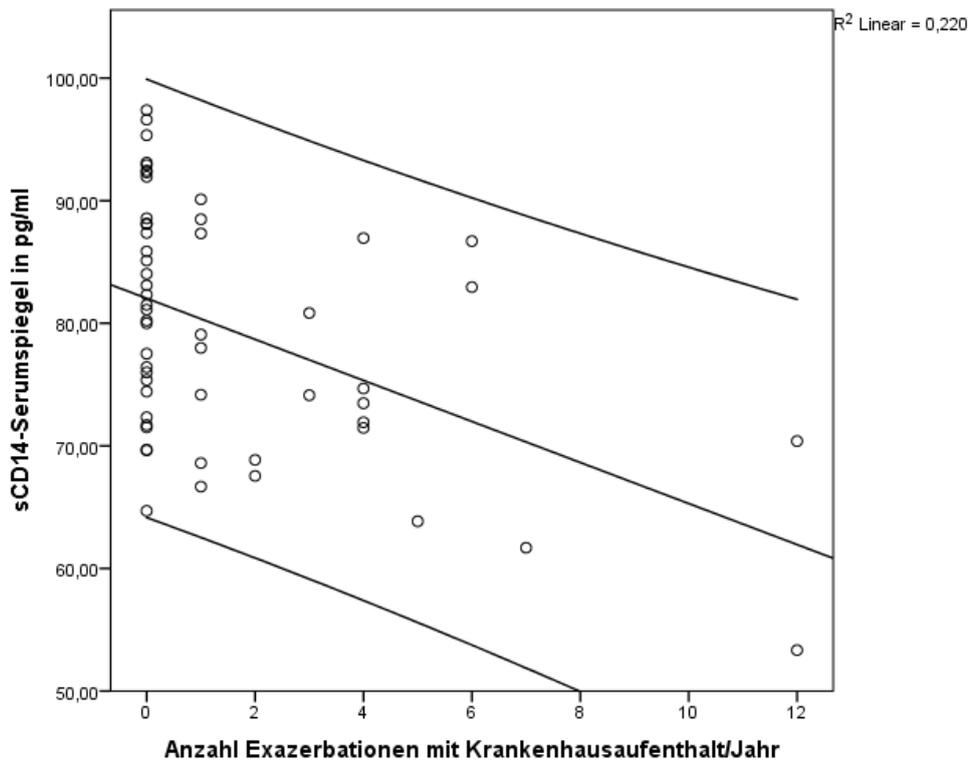


Abb. 12: Korrelation mit Anpassungslinie und Konfidenzintervall zwischen der Anzahl an Exazerbationen pro Jahr mit Krankenhausaufenthalt und dem sCD14-Wert der Probanden in pg/ml ($p < 0.01$)

Unsere Ergebnisse lassen sich also wie folgt zusammenfassen:

- Zunehmendes Lebensalter ist mit einem signifikant höheren sCD14-Spiegel assoziiert.
- Das Rauchverhalten zeigte keinen Einfluss auf den sCD14-Spiegel
- Ein größeres Residualvolumen ist mit geringen sCD14-Serumspiegeln assoziiert.
- Häufige Exazerbationen sind mit einem signifikant niedrigeren sCD14-Spiegel assoziiert.
- Bei Probanden mit fortgeschrittener COPD-Erkrankung in der Gruppe D im Rahmen der ABCD-Klassifikation ist der LPS-Serumspiegel signifikant erhöht im Vergleich zu der zusammengefassten Gruppe ABC.

5 Diskussion

Das Ziel unserer Studie lag darin, sCD14 und LPS als Biomarker im Zusammenhang mit klinischen Parametern bei COPD-Patienten zu untersuchen. Hierbei sollte analysiert werden, durch welche Faktoren der Wert beeinflusst sein könnte. Dabei untersuchten wir Einflüsse wie Personenmerkmale, Komorbiditäten, Rauchverhalten, Schwere der COPD-Erkrankung sowie Anzahl der Exazerbationen in Bezug auf den sCD14-Spiegel.

Im Folgenden sollen nun die verschiedenen Ergebnisse der Studie besprochen werden.

5.1 sCD14-Spiegel steigt im Alter an

Wir konnten zeigen, dass der sCD14-Spiegel signifikant mit dem Alter der Probanden anstieg. Dies steht den Ergebnissen von Sack et al. gegenüber, welche nachwiesen, dass der sCD14 Spiegel im Serum von gesunden Kindern im Alter zwischen drei und 17 Jahren signifikant höher liege, als bei gesunden Erwachsenen und somit eine Abnahme von sCD14 mit dem Lebensalter vermuten lässt (97). Da es sich in unserer Studie jedoch um chronisch erkrankte Patienten handelt, ist hier keine klare Gegenüberstellung möglich.

Generell ist mit Zunahme des Lebensalters im Rahmen der „Immunoseneszenz“ von einer Veränderung beziehungsweise von einer Dysregulation der Immunantwort auszugehen. Zum einen kommt es zu einer Abschwächung des Immunsystems, was sich durch eine erhöhte Morbidität und Mortalität im Alter gegenüber Infekten zeigt (98). Sansoni und Kollegen konnten eine altersbedingte Lymphopenie nachweisen, welche sich in der Abnahme von T- und B-Lymphozyten im peripheren Blut zeigt. Zudem kommt es zu einer Zunahme von unspezifischen Natürlichen Killerzellen (NK-Zellen) (99).

Auf der anderen Seite steht die Zunahme der Anzahl von Makrophagen und Monozyten im Alter (100). Hier konnte durch Seidler et al. nachgewiesen werden, dass in erster Linie eine Veränderung innerhalb der Subtypen der Monozyten stattfand. So stieg der Anteil an den „nicht-klassischen“ CD14+CD16+-Monozyten, welchen im Vergleich zu den „klassischen“ CD14++CD16-, vor allem eine stark proinflammatorische Funktion zugeschrieben wird. Diesem Prozess könnte eine Gegenregulation des Immunsystems zugrunde liegen mit dem Ziel, seine Funktionalität im Alter zu erhalten (101).

Ebenso zeigten Fagiolo und Kollegen, dass in zwei Vergleichsgruppen von gesunden Probanden mit dem Durchschnittsalter von 80,2 Jahren und 26,8 Jahren die Produktion von TNF-alpha, IL6 und IL1- beta nach Stimulation von Monozyten in der Gruppe der Älteren signifikant erhöht wurde. Diese Erhöhung von proinflammatorischen Zytokinen im Alter könne auch eine Rolle bei verschiedenen Erkrankungen, wie Osteoporose, Arteriosklerose und Demenz spielen (102).

Zudem konnten Qu et al. zeigen, dass vor allem bei gebrechlichen Menschen im Alter von 72-94 Jahren, welche Muskelschwäche, verlangsamte Mobilität, Gewichtsverlust und verringerte körperliche Aktivität zeigten, durch LPS-Stimulation von CD14+-Monozyten ex vivo eine verstärkte Hochregulation von sieben Entzündungsgenen beobachtet werden konnte. Diese würden wiederum die Produktion von Zytokinen und Glukokortikoid-Rezeptoren aktivieren (103). Diese Ergebnisse von Fagiolo und Qu unterstützen die Hypothese des „Inflammaging“ (Entzündungsaltern), welches durch einen chronischen pro-inflammatorischen Status im Alter zum Alterungsprozess an sich beitrage sowie chronisch-entzündliche Erkrankungen triggere (104).

Im Gegensatz dazu stehen die Beobachtungen von Metcalf und Kollegen, welche bei Probanden über 65 Jahren im Vergleich zu einer Gruppe von unter 40-Jährigen nach LPS-Stimulation von peripheren Monozyten eine verspätete Immunantwort und dadurch verminderte Produktion von Zytokinen wie TNF α , IL-6 und IL1-beta beschreiben. Diese Widersprüche könnten durch unterschiedliche Messverfahren und Kohorten-Gruppen erklärt werden (105).

Maniar-Hew et al. untersuchten die Wirkung von LPS auf Kulturen bronchialer Epithelzellen von Affen verschiedener Altersstufen in vitro. Hierbei konnten sie zeigen, dass die IL-8 Produktion in den Kulturen der älteren Affen erhöht war im Vergleich zu den jungen Affen, wohingegen die IL-6-Produktion bei den jüngeren Affen erhöht war. Sie gehen von einer Reifung des Immunsystems in der Zytokinausschüttung in den bronchialen Epithelzellen aus, welche von Umweltfaktoren beeinflusst wird und die Anfälligkeit in jungen Lebensjahren gegenüber der Entwicklung von Atemwegserkrankungen wie Asthma bronchiale erklären könnte (106).

Da die Rolle von sCD14 als potenzieller Aktivator oder Regulator der Immunantwort nicht endgültig geklärt ist, könnte sCD14 im Rahmen der chronischen Entzündung bei Älteren als proinflammatorisches Agens die „Inflammaging“-Hypothese stützen. Jedoch könnte seine Rolle als hemmender Faktor auf die Immunantwort im Alter die überschießende Immunkaskade und Entzündungsreaktionen reduzieren und somit ein Gegenspieler mit Benefit für den Organismus bedeuten.

Unsere Studie zeigte als Erste die Zunahme des sCD14-Spiegels mit den Lebensjahren unabhängig von der Schwere der COPD-Erkrankung. Da die Probanden ein Durchschnittsalter von 62,66 ($\pm 9,02$) Jahren hatten, bedarf es weitere Untersuchungen des sCD14-Spiegels zwischen verschiedenen Altersgruppen und gesunden Probanden. Außerdem sollte die Funktion von sCD14 als proinflammatorischer oder hemmender Faktor in der Immunkaskade weiter abgeklärt werden.

5.2 sCD14 bei Probanden mit Diabetes mellitus erhöht

Im Rahmen unserer Studie erfolgte die Auswertung der verschiedenen Komorbiditäten der Studienteilnehmer. Hierbei wollten wir den Einfluss weiterer Erkrankungen auf den sCD14-Spiegel der COPD-Patienten untersuchen. Dabei konnten wir nur bei den Gruppen Diabetes mellitus mit und ohne Insulinbehandlung und kein Diabetes mellitus einen signifikanten Unterschied zwischen den sCD14-Werten darstellen. So war der sCD14-Spiegel in der Gruppe der Patienten mit sCD14 signifikant erhöht ($p < 0,05$). Diese Ergebnisse lassen sich mit bisherigen Studien vereinbaren.

De Courten und Kollegen fanden heraus, dass übergewichtige Personen mit Durchschnitts-BMI von $33.45 \pm 3.2 \text{ kg/m}^2$ eine signifikant höhere sCD14-Konzentration im Serum als nicht-übergewichtige Probanden (BMI $26 \pm 5 \text{ kg/m}^2$) aufwiesen. Dabei korrelierte bei den nicht-übergewichtigen Personen der sCD14-Spiegel negativ mit der Insulin-Sensitivität, wobei bei den stark übergewichtigen Probanden eine positive Korrelation zwischen sCD14-Spiegel und Insulinsensitivität vorlag. Somit könne sCD14 grundsätzlich ein wichtiger Faktor in der Modulation der Insulinsensitivität sein (107).

Ebenso konnten Fernandez-Real und Kollegen zeigen, dass die CD14-Gen Expression in Adipozyten von stark übergewichtigen Probanden (BMI $45.9 \pm 4.1 \text{ kg/m}^2$) erhöht war im Vergleich zu normalgewichtigen Probanden ((BMI $22.3 \pm 1.7 \text{ kg/m}^2$), was einen entscheidenden Einfluss auf inflammatorische Aktivitäten in den Fettzellen und letztendlich auf die erhöhte Insulinresistenz habe (108).

Passend dazu wiesen Mo et al. signifikant erhöhte sCD14-Werte bei neu diagnostizierten Diabetes mellitus-Typ (DM2) - Patienten, insbesondere bei den übergewichtigen Probanden, nach. Dabei habe vor allem sCD14 einen wichtigen Einfluss auf den Serumspiegel des löslichen Adhäsionsmolekül (CAM) sE-Selektin, welches Interaktionen von Leukozyten mit Endothelzellen von Blutgefäßen ermöglicht. Dies sei ein wichtiger Beitrag in der Entstehung von Gefäßschäden und Plaquebildung im Rahmen der Diabetes Komplikationen (109).

Dass sCD14 einen wichtigen Einfluss auf die Pathogenese kardiovaskulärer Komplikationen hat, zeigten auch Overhagen et al. im Rahmen ihrer Untersuchung über den Einfluss von sCD14 auf die kontraktile Funktion von Kardiomyozyten. Das epikardiale Gewebe von Patienten mit Diabetes mellitus Typ2 zeigt eine verstärkte Infiltration von Monozyten und eine erhöhte sCD14-Freisetzung. Sie konnten nachweisen, dass sCD14 ohne Anwesenheit von LPS konzentrationsabhängig die Kontraktilität der Sarkomere und Insulinsensitivität der Kardiomyozyten verringerte und somit vermutlich eine Rolle bei der Entstehung von kardiometabolischen Konsequenzen spiele (110).

Des Weiteren liege die sCD14-Konzentration in der Glaskörper-Flüssigkeit bei Diabetes mellitus-Patienten höher als bei Nicht-Diabetikern. sCD14 verstärke die VEGF-Produktion im Glaskörper, wobei auch hier von einem wichtigen Einfluss von sCD14 auf die Pathogenese von Diabetischer Retinopathie ausgegangen werden kann (111).

Hieraus lässt sich schließen, dass sCD14 eine wichtige Rolle in der Pathogenese des Diabetes mellitus Typ2 und seinen Komplikationen einnimmt. Jedoch nicht nur in der Pathogenese des Diabetes selbst ist sCD14 eine Schlüsselfigur. Es könnte auch eine Verbindung zwischen den Komorbiditäten COPD und DM2 darstellen.

Bisher ist nachgewiesen worden, dass eine Verbindung zwischen dem Auftreten von COPD und DM2 besteht. So tritt Diabetes mellitus gehäuft unter COPD-Patienten auf und insgesamt öfter als in der Allgemeinbevölkerung (112). Lin et. al konnten zeigen, dass die Erkrankung COPD mit oder ohne Exazerbationen sogar ein unabhängiger Risikofaktor für die Entwicklung von DM2 sei (113).

So könne vor allem auch der oxidative Stress durch Reaktive Sauerstoff-Spezies (ROS) als Risikofaktor für Diabetes mellitus gesehen werden. (114)

Als Erklärung für den Zusammenhang zwischen COPD und DM2 wurde bereits die Hypothese der „chronisch systemischen Entzündung“ angenommen, welche als mögliche gemeinsame Pathogenese die Entstehung der beiden Erkrankungen begünstige. Hierbei wurde vor allem die Verbindung von erhöhten Entzündungsmarkern wie TNFa, IL-6 und IL-1 und CRP in den zwei Erkrankungen beobachtet, welche die Krankheitsverläufe gegenseitig modulieren. So würden der Metabolismus und die Insulinresistenz zum einen durch die Entzündungsmarker beeinflusst, zum anderen würde die Hyperglykämie auch Einfluss auf den bronchialen Tonus nehmen (115).

Laut Fabbri und Kollegen könne man die Diagnose des Syndroms der „chronische systemische Entzündung“ stellen, wenn drei der folgenden sechs Kriterien zutreffen würden: Alter > 40 Jahre, Konsum von mehr als 10 Packungen Zigaretten pro Jahr, abnorme zu COPD passende Lungenfunktion, chronische Herzinsuffizienz, metabolisches Syndrom und erhöhtes CRP (116). Diese Kriterien treffen bei einem Hauptteil der Probanden dieser Studie zu. Daher könnte der erhöhte sCD14-Serumwert bei Diabetikern im Rahmen der COPD ein Anzeichen für das Syndrom der chronischen systemischen Entzündungsaktivität des Körpers, unabhängig von der LPS-Einwirkung, sein.

Zusammenfassend zeigt sich ein komplexer Zusammenhang der Pathogenese zwischen den Komorbiditäten COPD und Diabetes. Da die meisten Probanden unserer Studie gleichzeitig unter zahlreichen weiteren Komorbiditäten leiden, könnte der Zusammenhang zwischen dem sCD14-Spiegel und Diabetes verfälscht sein. Uns lagen keine Werte bezüglich der Schwere des Diabetes und der Diabetesmedikation vor. Es bedarf weitere Untersuchungen, um die Aussagekraft des Markers sCD14 in der Verbindung der beiden Erkrankungen und im Rahmen der chronischen systemischen Entzündung zu klären.

Unsere Studie konnte keinen signifikanten Zusammenhang zwischen dem sCD14-Serumwert und dem Vorliegen von Allergien nachweisen. Jedoch wurde in mehreren Studien ein Zusammenhang zwischen Erkrankungen des atopischen Formenkreises und sCD14 beschrieben.

So wiesen Tomita und Kollegen nach, dass sich Monozyten/Makrophagen von Asthma bronchiale-Patienten in einem aktivierten Zustand befanden und vermutlich bei der Koordination der Immunreaktionen bei Asthma eine wichtige Funktion einnehmen (117). Kusunoki et al. konnten zeigen, dass der sCD14-Serumspiegel bei Patienten mit Asthma und Atopischer Dermatitis signifikant erhöht war. Daraus schließen sie ebenfalls auf eine entscheidende Rolle von Makrophagen und Monozyten in Entzündungsgeschehen von allergischen Erkrankungen, was auf eine von infektiösen Geschehen unabhängige Regulation von sCD14 hinweisen könnte (118).

Im Widerspruch dazu stehen die Ergebnisse von Zdolsek und Kollegen, welche bei Kindern mit atopischen Erkrankungen signifikant niedrigere sCD14-Werte als bei gesunden Kindern in der Vergleichsgruppe nachweisen konnten. Sie vermuten, dass der erniedrigte sCD14-Wert seinen Ur-

sprung in der familiären Vererbung von Atopischen Erkrankungen hat, jedoch auch als Zeichen der reduzierten Möglichkeit von Allergikern auf bakterielle Signale adäquat zu reagieren (119).

Die Schwäche unserer Studie im Zusammenhang mit Allergien und sCD14 könnte darin liegen, dass die Diagnose Allergische Erkrankung nur anamnestisch erfragt wurde. Es lagen uns keine Daten zu mittels Haut oder Provokationstestung gesicherten allergischen Reaktionen vor. Außerdem wurde ein Großteil der Patienten im Rahmen ihrer COPD-Therapie mit Glukokortikoiden behandelt, was ebenfalls den Verlauf der allergischen Erkrankung beeinflusst. Somit könnte eine eventuell vorliegende Korrelation zwischen Allergie und sCD14 eventuell maskiert worden sein.

5.3 Zusammenhang zwischen dem Rauchverhalten und dem sCD14-Spiegel

In unserer Studie sollte der Einfluss des Rauchverhaltens auf den sCD14-Serumspiegel der Probanden untersucht werden. Wir konnten dabei keinen signifikanten Unterschied des sCD14-Spiegels zwischen den Gruppen, die in den letzten vier Wochen geraucht hatten, und denjenigen, die in den letzten vier Wochen nicht geraucht hatten, darstellen. Diese Beobachtung ist passend zu den Untersuchungen von Hockertz und Kollegen, welche den kurzfristigen Einfluss auf das Immunsystem von akutem aktiven Zigarettenkonsum und Exposition gegenüber passivem Zigarettenrauch untersuchten. Hierbei konnten sie keine signifikante Veränderung des sCD14-Spiegels vor und nach aktivem und passivem Raucheinfluss detektieren (120). Tabakrauch-Exposition auf kurze Sicht scheint also keinen modulierenden Effekt auf den sCD14-Spiegel zu haben.

Jedoch ist durch zahlreiche Studien bekannt, dass langjähriger Tabakkonsum einen Einfluss auf die angeborene und erworbene Immunantwort nimmt. Qui und Kollegen kommen zu der Schlussfolgerung, dass Tabakrauch die Immunantwort zum einen schwächt, zum anderen autoimmune Prozesse fördert. Dies erklären sie dadurch, dass durch verlängerte Infektionen bei schwacher Immunabwehr eine Kreuzreaktivität zwischen Pathogen und Gewebe ermöglicht wird (121).

Im Zusammenhang mit der angeborenen Immunabwehr zeigte sich, dass Rauchen die Ausschüttung von proinflammatorischen Zytokinen wie IL-8 durch Makrophagen signifikant erhöht (122). Zudem konnte durch Metcalf und Kollegen gezeigt werden, dass Zigarettenrauch die durch TLR-Rezeptoren vermittelte Immunantwort von Alveolarmakrophagen, über welche auch die LPS-Erkennung stattfindet, verminderte (123).

Ein weiterer negativer Effekt des Zigarettenrauchens zeigt sich in der verminderten Fähigkeit zur Phagozytose durch die Makrophagen, wodurch das Überleben von Bakterien begünstigt werde (124). Insgesamt kann also von einer „Downregulation“ der Leistung des Immunsystems durch Zigarettenrauch trotz vermehrter proinflammatorischer Prozesse ausgegangen werden.

Wir konnten allerdings keinen signifikanten Zusammenhang zwischen der Intensität des Tabakkonsums und dem sCD14-Spiegel beziehungsweise der Exazerbationshäufigkeit darstellen. Dies könnte jedoch daran liegen, dass nur noch 7 Probanden zum Studienzeitpunkt aktive Raucher waren und der Hauptteil des Patientenkollektives seit Jahren rauchfrei lebte. Passend dazu konnten Shiels et al. zeigen, dass sich die Werte von Entzündungsmarkern wie CRP und zahlreichen Zytokinen wie IL-15, IL-1 β , IL-1RA nach Jahren der Rauchabstinenz nahezu an die Werte der Nieraucher annäherten. Das Immunsystem erholt sich also nach Jahren ohne Rauchexposition. Sie bestätigten auch unsere Ergebnisse, indem sie keinen signifikanten Zusammenhang zwischen der Intensität, also der Anzahl an gerauchten Zigaretten pro Tag, und der Höhe der Entzündungsmarker nachweisen konnten (125). Jedoch bestand auch ihr wie unser Patientenkollektiv aus Probanden mit langjähriger Raucheranamnese und so kann keine Aussage über die Einwirkung auf das Immunsystem bei

Rauchbeginnern getroffen werden. Folglich bedarf es weiterer Studien, welche die sCD14-Werte gesunder und COPD-erkrankter Patienten vergleicht.

5.4 Schweregrad der COPD korreliert nicht mit sCD14-Serumspiegel

Der Schweregrad der COPD-Erkrankung, welchen man anhand einer höheren GOLD- oder ABCD-Klassifikation zuordnen kann, korreliert nach unseren Ergebnissen nicht mit dem sCD14-Spiegel. Passend dazu korrelierte der sCD14-Spiegel nicht mit den Lungenfunktionsparametern wie FEV1 oder FEV1/VC. Mit zunehmender Überblähung gemessen am Residualvolumen konnten wir jedoch eine Abnahme des sCD14-Spiegels nachweisen. Des Weiteren zeigten Probanden, die nach der ABCD-Klassifikation der Gruppe D zugeordnet wurden, signifikant höhere LPS-Spiegel, als Probanden der Gruppe ABC.

Wir können die Hypothese nicht bestätigen, dass chronisch inflammatorische Prozesse im Rahmen der meist jahrelangen progredienten COPD-Erkrankung eine zunehmende Minderung der Funktionalität der Immunantwort und dadurch erniedrigte sCD14-Spiegel bedeuten. Es liegen aktuell noch wenige Studien vor, welche sCD14 im Zusammenhang mit der COPD untersuchten. Zudem erfolgten die bisherigen sCD14-Messungen häufig in der bronchoalveolären Lavage (BAL) und nicht im Serum.

So zeigten Requero und Kollegen als Erste, dass sCD14 in der BAL von stabilen COPD-Patienten und Rauchern mit normaler Lungenfunktion im Vergleich zu gesunden Probanden signifikant erhöht ist. Zwischen Rauchern und COPD-Patienten fanden sie jedoch keine unterschiedlichen Werte (126). Sie differenzierten zudem nicht nochmal innerhalb der verschiedenen COPD-Klassen und der Lungenfunktion.

Eine Studie von Sahlander et al. untersuchte die Auswirkung von regelmäßiger LPS-Exposition auf den sCD14-Spiegel in der BAL bei gesunden Farmarbeitern, welche häufig zur Entwicklung von chronischer Bronchitis tendieren. Dabei setzten sie Farmer und eine Kontrollgruppe aus Nicht-Farmern einmal einem dreistündigen Aufenthalt in einer Schweinescheune aus und ließen sie außerdem ein LPS-haltiges Aerosol inhalieren. Hierbei konnten sie nachweisen, dass Farmer im Vergleich zu Nicht-Farmern signifikant weniger Makrophagen in der BAL aufwiesen. Insgesamt war auch die sCD14-Konzentration in der BAL der Farmer geringer. Hieraus schließen Sahlander und Kollegen, dass eine chronische LPS-Exposition zu einer Veränderung der Immunantwort führt und ein „Verbrauch“ von sCD14 durch Bindung mit LPS stattfindet, wodurch die erniedrigten gemessenen sCD14-Konzentrationen zustande kommen könnten (127).

Generell ist durch zahlreiche Studien belegt, dass eine reduzierte Lungenfunktion mit erhöhten Entzündungsparametern wie IL-6, CRP und Fibrinogen im Serum einhergeht (37). Eine Untersuchung der Lungenfunktion und dem sCD14- Serumspiegel wurde jedoch erstmals von Levan und Kollegen durchgeführt, welche bei Farmarbeitern mit COPD-Erkrankung eine negative Korrelation dieser Parameter feststellten. So fanden sie bei niedrigen FEV1/VC Werte erhöhte sCD14-Werte im Serum

(128). Diese Ergebnisse konnten wir in unseren Beobachtungen nicht bestätigen, jedoch wurde bei Levan et al. ein eingeschränktes Kollektiv an männlichen Landarbeitern untersucht, welche täglich einer gewissen LPS-Exposition in organischen Stäuben ausgesetzt sind. Es erfolgte keine Messung des aktuellen LPS-Serumwertes. Dies könnte in Ihrem Fall eine akute Hochregulation des sCD14-Spiegels durch mögliche hohe LPS-Spiegel erklären. In unserem Kollektiv waren zum Messzeitpunkt bei 60% der Studienteilnehmer keine und ansonsten sehr geringe LPS-Konzentrationen im Serum nachweisbar. Man kann also davon ausgehen, dass keine aktive Stimulation der CD14-Synthese stattfand.

Bisher wurde der sCD14-Wert zudem hauptsächlich in Bezug auf akute pulmonale Geschehen wie beim *acute-respiratory-distress-syndrom* (ARDS) gemessen, wobei er sich hier in der BAL erhöht zeigte (129). Auch in akuten inflammatorischen Prozessen, wie sie im Rahmen einer Pneumonie auftreten, wurden bei schweren Verläufen höhere sCD14-Werte im Serum beobachtet als bei weniger schweren. Hierbei wurde sCD14 zudem als vielversprechender Marker im Zusammenhang mit der Schwere und dem Outcome von ambulant erworbenen Pneumonien bewertet (130).

Ebenso beschreiben Marcos und Kollegen sCD14 als potenten Biomarker zur Erkennung von bakteriellen Infekten der Lunge. So wiesen sie signifikant höhere sCD14-Werte im Serum bei Kindern mit Pneumonie im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe nach. Zudem zeigten sie, dass Kinder mit Zystischer Fibrose, dessen Lungen häufig chronisch bakteriell besiedelt sind, überraschenderweise vergleichbare sCD14-Werte wie die gesunde Kontrollgruppe aufwiesen (131).

Diese Beobachtung passt wiederum zu unseren Ergebnissen, dass bei langjährigen Krankheitsverläufen und chronischen Entzündungsgeschehen mit einer Abnahme des sCD14-Spiegel zu rechnen ist. Dazu würde passen, dass wir bei erhöhtem Residualvolumen und folglich Überblähung der Lunge im Rahmen der COPD, signifikant niedrigere sCD14-Spiegel fanden. Es konnte bereits nachgewiesen werden, dass chronische LPS-Exposition über apoptotische Prozesse zu Strukturveränderungen des Lungengewebes führen kann, insbesondere zum Emphysem (132). Dieser Weg wird dabei über den TLR4-Rezeptor des Lungengewebes vermittelt, welcher maßgeblich für das Gleichgewicht von Sauerstoffradikalen sowie Antioxidantien als auch Proteasen verantwortlich ist (133).

Ein erhöhter Spiegel an Proteasen wiederum kann ebenso zu niedrigeren sCD14-Spiegeln führen. Der vollständige Mechanismus hinter dieser Annahme ist jedoch bisher ungeklärt, allerdings konnten LeBarillec et al. als Erste zeigen, dass eine durch neutrophile Granulozyten freigesetzte Serin-Protease, die humane Leukozyten Elastase (HLE), mCD14 in vitro proteolytisch zersetzt. Dadurch sei die durch mCD14-vermittelte TNF α -Produktion nach LPS-Exposition verringert. Dies treffe jedoch nur bei niedrigen LPS-Dosen zu. Bei höherer LPS-Konzentration sei die TNF α -Produktion über CD14-unabhängige Wege wie beispielsweise über den Oberflächenrezeptor L-Selektin gesichert. Die abgelösten mCD14-Anteile wiederum seien in derart kleine Fragmente zersetzt, dass sie im extrazellulären Raum nicht durch ELISA-Methoden detektierbar waren (134)

Ein vermehrtes Auftreten von neutrophilen Granulozyten in der Lunge ist auch in der Pathogenese von COPD-Patienten bekannt, somit könnte dies auch eine Erklärung unserer Messergebnisse dar-

stellen. Aufgrund der Zersetzung von mCD14 auf Makrophagen/ Monozyten durch vermehrte Proteasen in kleine Fragmente ist der Freisetzungsweg von sCD14 durch Abspaltung von mCD14 verringert und daher der Wert im Serum vermindert.

Unsere Untersuchungen konnten zeigen, dass Probanden mit fortgeschrittener COPD im Rahmen der ABCD-Klassifikation in Gruppe D erhöhte LPS-Werte aufwiesen im Vergleich zu Probanden der Gruppe ABC. Bisher wurde hauptsächlich der Einfluss von inhalativem LPS auf die Lungenfunktionswerte und als Auslöser für akute Exazerbationen untersucht (135). Nach unserem Wissen liegen zum aktuellen Zeitpunkt keine Studien vor, welche LPS als Biomarker im Serum von COPD-Patienten bewerten. Ob LPS im Serum dauerhaft valide erhöht ist bei fortgeschrittenen Stadien der stabilen COPD, muss Gegenstand zukünftiger Forschungen sein. Hierbei sollte vor allem auf eine ausgeglichene Untersuchungskohorte bezüglich der Krankheitsstadien geachtet werden.

Wir konnten erstaunlicherweise keine signifikante Korrelation zwischen dem sCD14-Wert und der LPS-Konzentration trotz bekannter Interaktion nachweisen, jedoch war bei der Mehrzahl unserer Probanden im stabilen Zustand kein LPS im Serum nachweisbar. Im Rahmen der PULMOHOM-Studie konnte bereits gezeigt werden, dass im Rahmen der akuten Exazerbation der LPS-Spiegel signifikant höher ist, als bei stabilen COPD Patienten.

Insgesamt müssten zur endgültigen Beurteilung zwischen COPD-Grad und sCD14-Spiegel weitere Studien mit einem Patientenkollektiv erfolgen, in welchem eine gleichmäßige Präsenz der GOLD-Stadien vorliegt. Eine Schwäche unserer Studie ist, dass hauptsächlich Probanden der GOLD-Stufe 4 eingeschlossen wurden.

Neben der Messung von sCD14 und LPS im Serum wäre es zudem interessant, die Konzentration von sCD14 und LPS zeitgleich in der BAL zu bestimmen, um zwischen systemischen und lokalen Effekten zu unterscheiden.

5.5 Probanden mit häufiger Exazerbationsrate zeigen verringerte sCD14 Spiegel

Eine der Haupteigenschaften unserer Studie liegt darin, dass COPD-Patienten, die häufiger Exazerbationen in den letzten zwölf Monaten erfahren hatten, signifikant geringere sCD14-Konzentrationen zeigten als COPD-Patienten, die wenige bis keine Exazerbationen hatten.

Eine mögliche Ursache dafür könnte in der Hypothese liegen, dass durch anhaltende LPS Exposition eine so genannte LPS-Toleranz eintritt, welche zu einer geminderten Immunantwort über mCD14 und folglich zu verminderten TNFa-Spiegeln führt.

So konnten Matic und Kollegen bereits 1991 zeigen, dass isolierte Monozyten in vitro nach 24-stündiger LPS-Exposition bei erneuter LPS-Gabe geringere Mengen an TNFa ausschütteten als Monozyten, welche einmalig mit LPS stimuliert wurden (135).

Labeta et al. untersuchten 1993 die Rolle von CD14 bei der Entstehung der LPS-Toleranz. Sie inkubierten Monozyten der Zelllinie Mono-Mac-6 jeweils mit hohen, mittleren und niedrigen LPS-Dosen über 48 Stunden und maßen im Anschluss nach erneuter LPS-Exposition die TNFa-Ausschüttung. Dabei konnten sie zum einen ebenfalls nachweisen, dass nach 48 stündiger LPS-Inkubation von Mono-Mac-6 Zellen eine weitere Stimulation mit LPS insgesamt zu einer verringerten TNFa-Ausschüttung führte. Dabei reagierten jedoch die in niedrigen LPS-Dosen inkubierten Mono-Mac-6-Zellen mit der höchsten TNFa-Ausschüttung im Vergleich zu den Zellen, welche in mittlerer oder hoher LPS-Dosis inkubiert worden waren.

Zum anderen konnten sie in Bezug auf die CD14-Oberflächenexpression der Mono Mac-6-Zellen, welche in den drei verschiedenen LPS-Medien inkubiert worden waren, folgendes nachweisen:

Anfangs stieg die CD14-Oberflächenexpression abhängig vom LPS-Gehalt im Serum proportional an. Dann fielen die Werte nach fünf weiteren Tagen wieder bis auf den Ausgangswert. In allen Medien hätten sich dann für drei weitere Tage die CD-14-Expressionen nicht unterschieden, jedoch zeigte sich am achten Kulturtag eine Umkehrung der Anfangssituation. Mono-Mac-6-Zellen aus dem Medium mit hohem LPS-Gehalt zeigten die niedrigste mCD14-Expression und auch sCD14-Synthese, wohingegen die Zellen aus dem Medium mit niedrigem LPS-Gehalt die höchsten CD14-Expressionen und sCD14-Freisetzung zeigten. Diese „Desensibilisierung“ der Makrophagen auf LPS konnte nur durch CD14-blockierende Antikörper aufgehoben werden, was die entscheidende Rolle von CD14 bei der Entwicklung der Toleranz gegenüber LPS zeige (136).

Unsere Ergebnisse konnten leider keinen signifikanten Zusammenhang zwischen dem LPS-Spiegel und dem sCD14-Spiegel nachweisen, jedoch maßen wir nur einen einzelnen LPS-Wert zu einem Zeitpunkt. Probanden, die anamnestisch häufige Exazerbationen in den letzten 12 Monaten erfahren hatten, könnten durch häufige hohe LPS-Spiegel bei Atemwegsinfektionen ebenfalls eine „Immuntoleranz“ gegenüber LPS entwickelt haben. Dies stellt sich folglich in einer erniedrigten CD14-Exprimierung und einem niedrigerem sCD14-Serumspiegel dar.

Eine weitere Erklärung für den Zusammenhang zwischen Exazerbationsanfälligkeit und sCD14-Spiegel könnte auch die Schlüsselrolle von CD14 im Rahmen der Apoptose geben. CD14 nimmt hierbei verschiedene Funktionen ein, auf der einen Seite als Oberflächenmarker von apoptotischen Zellen, welche durch Downregulation von mCD14 die Apoptose initiieren, auf der anderen Seite in der Erkennung von anderen apoptotischen Zellen und deren Phagozytose. Alveolarmakrophagen von COPD-Patienten exprimieren weniger pro apoptotische Oberflächenrezeptoren wie CD14, wodurch eine gestörte Efferocytose resultiert (137). Dies wiederum könnte zu einer sekundären Nekrose führen, wodurch die Entzündungssituation der COPD-Patienten zusätzlich verschlimmert würde (138). Eine erhöhte Neigung zu Entzündungsgeschehen, auch unabhängig von LPS, wäre die Folge. Hierbei könnte ein erniedrigter sCD14-Serumspiegel die eingeschränkte „Clearance“-Funktion des Organismus anzeigen.

Zudem könnte die Anfälligkeit gegenüber Exazerbation bei niedrigem sCD14-Serumspiegel durch die immunmodulierende Funktion von sCD14 erklärt werden. So kann sCD14 durch Bindung von

LPS an Lipoproteine die LPS-Immunantwort der Monozyten verringern und dadurch einen antiinflammatorischen Effekt bewirken. Ein erniedrigter sCD14-Spiegel auf lokaler Ebene würde laut Kitchens und Kollegen dadurch positiv die Entzündungskaskade begünstigen, systemisch würde ein erhöhter Spiegel von sCD14 den Körper vor einer überschießenden Immunantwort schützen (85).

Es ist hierbei fraglich, ob der niedrige sCD14-Spiegel im Serum auch einen niedrigen sCD14 Spiegel in der Lunge bedeutet oder ob es zu einer Umverteilung während der Infektion kommt. Laut Martin und Kollegen gelangt sCD14 entweder bei erhöhter entzündlicher Membranpermeabilität durch Einstrom aus dem Serum in die Lunge oder durch Abspaltung von der Membran von Alveolarmakrophagen (139). Im Rahmen von Pneumonien bei Kindern konnte bereits nachgewiesen werden, dass die Menge von sCD14 in der BAL mit der im Serum der Kinder im akuten Entzündungsgeschehen korreliert (140). Um dies bei COPD-Patienten zu untersuchen, müsste neben der Serumuntersuchung ebenfalls eine Bronchoskopie mit BAL erfolgen.

Ein weiterer Grund, der die Anfälligkeit gegenüber Infektionen bei manchen COPD-Patienten ebenfalls erklären könnte, wurde bei Kindern mit der chronischen Lungenerkrankung Cystischer Fibrose (CF) durch Martin et al. nachgewiesen. Hierbei infizierten sich solche Kinder, die einen gewissen Polymorphismus im CD14-Promotergen und dadurch niedrigere sCD14-Spiegel aufwiesen, früher mit dem Keim *Pseudomonas aeruginosa*. Sie gehen daher von einem genetisch bedingten erhöhten Risiko gegenüber Infektionen bei Kindern mit CF und Genotyp CD14 -159CC aus (139).

Die nach unserem Wissen bisher einzige Studie, die einen Zusammenhang zwischen dem CD14-Promotergen und COPD untersuchte, wurde durch Haibou und Kollegen durchgeführt. Sie konnte nachweisen, dass der jeweilige CD14- Genotyp der Person Auswirkung auf die Ergebnisse in der Lungenfunktion hat. So war der CD14-159TT-Genotyp bei moderatem Rauchverhalten mit schlechteren Lungenfunktionen assoziiert. Jedoch bestimmten sie weder sCD14 im Serum oder in der BAL (141). Es bedarf folglich zukünftig weiterer Forschungen bei COPD-Patienten, welche die Auswirkungen des Genotyps auf die CD14-Expression und die dadurch entstehende mögliche Anfälligkeit gegenüber Infektionen untersuchen.

Letztendlich könnten sich die durch uns nachgewiesenen niedrigen sCD14-Spiegel bei Probanden mit häufigen Exazerbationen in den letzten 12 Monaten auch durch Verbrauch des Proteins erklären. Jedoch ist dies bisher eher im Rahmen von sehr akuten Geschehnissen wie in den ersten Stunden nach großer abdominaler Chirurgie oder kurz nach erfolgtem Polytrauma gezeigt worden (142,143). Es könnte jedoch auch eine Umverteilung und Translokation des sCD14 aus der Peripherie in die Lunge vorliegen, welches durch invasivere Verfahren wie die BAL bestätigt werden müsste.

Es sollte Gegenstand weiterer Forschung sein, welche Rolle sCD14 genau im Rahmen der Exazerbation spielt. Hierbei müsste auch untersucht werden, ob der sCD14-Spiegel der anfälligen COPD-Patienten in der akuten Exazerbation im Serum angemessen ansteigt. Eine Schwäche unserer Studie ist neben dem kleinen Patientenkollektiv zudem, dass die Exazerbationsanzahl anamnestisch erfragt wurde. Zukünftig sollten eventuell nur sicher dokumentierte Arzt- oder Krankenhauseinwei-

sungen mit Exazerbation berücksichtigt werden, um die Ergebnisse nicht zu verfälschen. Zudem müsste genauer dokumentiert werden, wann das letzte Exazerbationsereignis stattgefunden hat, um besser einschätzen zu können, ob ein kürzlicher „Verbrauch“ als plausible Erklärung dienen kann.

6 Schlusswort

In der von uns durchgeführten PULMOHOM-Studie untersuchten wir unter Einschluss von 56 Patienten mit COPD-Erkrankung zum ersten Mal den Einfluss des sCD14-Serumspiegels von COPD-Patienten auf klinische Parameter. Wir konnten zum einen zeigen, dass der sCD14-Spiegel signifikant positiv mit dem Lebensalter korreliert. Zum anderen konnten wir nachweisen, dass COPD-Patienten mit Diabetes mellitus signifikant höhere sCD14-Spiegel aufwiesen, als COPD-Patienten ohne Diabetes mellitus.

Hierbei bedarf es vor allem weiterer Forschung im Bereich der „chronischen systemischen Entzündung“, bei welcher sCD14 eine Rolle in der Pathogenese zahlreicher Erkrankungen wie Diabetes mellitus und COPD einnehmen könnte. Das metabolische Syndrom wird unabhängig vom Rauchverhalten mit einer Prävalenz von 30% unter COPD-Patienten angegeben (144). Inwiefern ein erhöhter sCD14-Spiegel die gemeinsame Entstehung dieser beiden Erkrankungen triggert sollte Gegenstand weiterer Forschung sein.

Außerdem konnten wir erstmalig nachweisen, dass sCD14 bei Probanden, die häufiger exazerbieren, signifikant erniedrigt ist. sCD14 könnte folglich als vielversprechender Biomarker für die Anfälligkeit eines COPD-Erkrankten gegenüber Exazerbationen dienen. Es ist ratsam die Validität des Biomarkers flächendeckend in weiteren Studien mit longitudinalem Design und größeren Kohorten über mehrere Jahre zu überprüfen. Zudem sollte die Erhebung der Exazerbationsanamnese besser objektiviert werden, indem nur ärztlich dokumentierte Exazerbationen eingeschlossen werden. Ebenfalls wäre es interessant durch ein Sputum oder eine BAL zeitgleich den sCD14 Spiegel in der Lunge zu erheben, um Daten über die lokale Regulation der Immunabwehr zu erfassen und die Pathomechanismen letztendlich besser zu verstehen.

Konkret könnten dann COPD-Patienten, deren CD14-Spiegel erniedrigt sind, engmaschiger überwacht werden, um das Ereignis einer Exazerbation zu verhindern. Es wäre hierbei auch spannend in naher Zukunft eventuelle Therapiemöglichkeiten zu untersuchen, welche beispielweise die Entwicklung der Immuntoleranz gegenüber LPS verhindern und damit eine effektive Immunantwort der Patienten ermöglichen.

7 Literaturverzeichnis

1. Vogelmeier C et al., Leitlinie der Deutschen Atemwegsliga und der Deutschen Gesellschaft für Pneumologie und Beatmungsmedizin zur Diagnostik und Therapie von Patienten mit chronisch obstruktiver Bronchitis und Lungenemphysem (COPD). 2018;61:e1-e40
2. Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention (updated 2015). [Accessed 13 Apr 2015.] Available from URL: <http://www.ginasthma.org/>
3. Report of an expert committee: Definition and diagnosis of pulmonary disease with special reference to chronic bronchitis and emphysema. WHO Techn Rep Ser 1961; 213: 14-19
4. From the *Global Strategy for the Diagnosis, Management and Prevention of COPD*, Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD) 2016. Available from: <http://www.goldcopd.org/>.
5. Casanova C, Oca MM De, Mendez R, Plata VP, Cabral HJ, Ph D. The Body-Mass Index, Air-flow Obstruction, Dyspnea, and Exercise Capacity Index in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. 2006:1005-1012.
6. Boland MRS, Tsiachristas A, Kruis AL, Chavannes NH. Are GOLD ABCD groups better associated with health status and costs than GOLD 1234 grades? A cross-sectional study. *Prim Care Respir J*. 2014; 23(1):30-37.
7. van den Boom G, van Schayck CP, Rutten-van Molken MP, et al. Active detection of chronic obstructive pulmonary disease and asthma in the general population: results and economic consequences of the DIMCA program (Structured abstract). *Am J Respir Crit Care Med*. 1998; (6):1730-1738.
8. Halbert RJ, Natoli JL, Gano A, Badamgarav E, Buist AS, Mannino DM. Global burden of COPD: Systematic review and meta-analysis. *Eur Respir J*. 2006;28(3):523-532.
9. Geldmacher H, Biller H, Herbst A, Urbanski K, Allison M, Buist AS, et al. The prevalence of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) in Germany. Results of the BOLD study. *Dtsch Med Wochenschr*. 2008; 133:2609.
10. Gillissen A., Welte T. (2014): Weißbuch Lunge 2014, Herausforderungen, Zukunftsperspektiven, Forschungsansätze zur Lage und Zukunft der Pneumologie in Deutschland. ISBN: 978-3-933059-49-9
11. Mannino DM, Homa DM, Akinbami LJ, Ford ES, Redd SC. Chronic obstructive pulmonary disease surveillance--United States, 1971-2000. *Respir Care*. 2002;47(10):1184-1199.
12. Nowak D, Dietrich ES, Oberender P, et al. Krankheitskosten von COPD in Deutschland. *Pneumologie*. 2004;58(12):837-844.

13. Wacker, M.E. et al., Direct and indirect costs of COPD and its comorbidities: Results from the German COSYCONET study, *Respiratory Medicine*, Volume 111, 39 - 46
14. Menn P, Heinrich J, Huber RM, et al. Direct medical costs of COPD - An excess cost approach based on two population-based studies. *Respir Med.* 2012;106(4):540-548.
15. Lamprecht B, McBurnie MA, Vollmer WM, et al. COPD in never smokers: Results from the population-based burden of obstructive lung disease study. *Chest.* 2011;139(4):752-763.
16. Kohansal R, Martinez-Camblor P, Agustí A, Sonia Buist A, Mannino DM, Soriano JB. The natural history of chronic airflow obstruction revisited: An analysis of the Framingham Offspring Cohort. *Am J Respir Crit Care Med.* 2009;180(1):3-10.
17. Doll R. Risk from tobacco and potentials for health gain. *Int J Tuberc Lung Dis.* 1999;3(2):90-99.
18. Hagstad S, Bjerg A, Ekerljung L, et al. Passive smoking exposure is associated with increased risk of COPD in never smokers. *Chest.* 2014;145(6):1298-1304. doi:10.1378/chest.13-1349.
19. Eisner MD, Balmes J, Katz PP, Trupin L, Yelin EH, Blanc PD. Lifetime environmental tobacco smoke exposure and the risk of chronic obstructive pulmonary disease. *Environ Health.* 2005;4(1):7.
20. American thoracic society statement: Occupational contribution to the burden of airway disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003;167(5):787-797.
21. Berend N. Contribution of air pollution to COPD and small airway dysfunction. *Respirology.* 2016;21:237-244
22. Andersen ZJ, Hvidberg M, Jensen SS, et al. Chronic obstructive pulmonary disease and long-term exposure to traffic-related air pollution: A cohort study. *Am J Respir Crit Care Med.* 2011;183(4):455-461
23. David E. A, Burchette RJ, Synove F, Kautsen, MacDonnel WFMD, Lebowitz and PNE. Long Term Particulate and Other Air Pollutants and Lung Function in Nonsmokers. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998;158:289-298.
24. Sozioökonomischer Status
25. Prescott E, Lange P, Vestbo J. Socioeconomic status, lung function and admission to hospital for COPD: Results from the Copenhagen City Heart Study. *Eur Respir J.* 1999;13(5):1109-1114.
26. Mannino DM, Homa DM, Akimbami MD, Ford ES, Redd SC. Chronic obstructive pulmonary disease surveillance, United States, 1971–2000. *MMWR Surveill Summary* 2002; 51: 1–16
27. Gold D.R., Wang X., Wypij D., Speizer F.E., Ware J.H., Dockery D.W. Effects of cigarette smoking on lung function in adolescent boys and girls. *N. Engl. J. Med.* 1996;335:931–937

28. Sørheim I-C, Johannessen A, Gulsvik A, Bakke PS, Silverman EK, DeMeo DL. Gender differences in COPD: are women more susceptible to smoking effects than men? *Thorax*. 2010;65(6):480-485.
29. Stoller JK, Aboussouan LS. A review of α 1-antitrypsin deficiency. *Am J Respir Crit Care Med*. 2012; 185(3):246-259.
30. Hunninghake GM, Cho MH, Tesfaigzi Y, et al. MMP12, lung function, and COPD in high-risk populations. *N Engl J Med* 2009;361:2599–608
31. McCloskey SC, Patel BD, Hinchliffe SJ, Reid ED, Wareham NJ, Lomas DA. Siblings of patients with severe chronic obstructive pulmonary disease have a significant risk of airflow obstruction. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001;164(8 I):1419-1424.
32. Barker DJ, Godfrey KM, Fall C, Osmond C, Winter PD, Shaheen SO. Relation of birth weight and childhood respiratory infection to adult lung function and death from chronic obstructive airways disease. *BMJ*. 1991;303(6804):671-675.
33. Svanes C, Sunyer J, Plana E, et al. Early life origins of chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax*. 2010;65(1):14-20. doi:10.1136/thx.2008.112136.
34. Silva GE, Sherrill DL, Guerra S, Barbee RA. Asthma as a risk factor for COPD in a longitudinal study. *Chest*. 2004;126(1):59-65.
35. Barnes P. Mediators of chronic obstructive pulmonary disease. *Pharmacol Rev*. 2004;56(4):515-548.
36. Thompson, Ian M, Lucia MS, Parnes HL, Minasian LM, et al. The Nature of Small-Airway Obstruction in Chronic Obstructive Pulmonary Disease, *New England Journal*. 2009:2239-2246.
37. Gan WQ. Association between chronic obstructive pulmonary disease and systemic inflammation: a systematic review and a meta-analysis. *Thorax*. 2004;59(7):574-580.
38. Ahmad A, Shameem M, Husain Q. Altered oxidant-antioxidant levels in the disease prognosis of chronic obstructive pulmonary disease. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2013;17(8):1104-1109.
39. Sanguinetti CM. N-acetylcysteine in COPD: why, how, and when? *Multidiscip Respir Med*. 2015;11(1):8. doi:10.1186/s40248-016-0039-2.
40. Collet JP, Shapiro P, Ernst P, Renzi T, Ducruet T, Robinson a. Effects of an immunostimulating agent on acute exacerbations and hospitalizations in patients with chronic obstructive pulmonary disease. The PARI-IS Study Steering Committee and Research Group. Prevention of Acute Respiratory Infection by an Immunostimul. *Am J Respir Crit Care Med*. 1997;156:1719-1724.
41. Stoller JK, Panos RJ, Krachman S, Doherty DE, Make B. Oxygen therapy for patients with COPD: current evidence and the long-term oxygen treatment trial. *Chest* 2010;138:179-87

42. National Emphysema Treatment Trial Research Group. A randomised trial comparing lung-volume-reduction surgery with medical therapy for severe emphysema. *N Engl J Med*, 2003;48:2059-73.
43. Sciruba FC, Ernst A, Herth FJ, et al. A randomized study of endobronchial valves for advanced emphysema. *N Engl J Med* 2010;363:1233-44
44. O'Donnell DE. COPD exacerbations {middle dot} 3: Pathophysiology. *Thorax*. 2006;61(4):354-361.
45. A F Connors, Jr, N V Dawson, C Thomas et al., Outcomes following acute exacerbation of severe chronic obstructive lung disease. The SUPPORT investigators (Study to Understand Prognoses and Preferences for Outcomes and Risks of Treatments)" *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, Vol. 154, No. 4 (1996), pp. 959-67
46. Soler-Cataluña JJ, Martínez-García MÁ, Sánchez PR, Salcedo E, Navarro M, Ochando R. Severe acute exacerbations and mortality in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax*. 2005; 60(11):925-931.
47. Donaldson GC, R Seemungal TA, Bhowmik A, Wedzicha JA. Relationship between exacerbation frequency and lung function decline in chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax*. 2002;57:847-852.
48. F Connors, Jr, N V Dawson, C Thomas et al., "Outcomes following acute exacerbation of severe chronic obstructive lung disease. The SUPPORT investigators (Study to Understand Prognoses and Preferences for Outcomes and Risks of Treatments)" *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, Vol. 154, No. 4 (1996), pp. 959-67
49. Locantore N, Ph D, Müllerova H, et al. Susceptibility to Exacerbation in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *new Engl J Med*. 2010:1128-1138
50. Patel IS, Seemungal TAR, Wilks M, Lloyd-Owen SJ, Donaldson GC, Wedzicha JA. Relationship between bacterial colonisation and the frequency, character, and severity of COPD exacerbations. *Thorax*. 2002;57(9):759-764.
51. Bhowmik A, Seemungal TA, Sapsford RJ, Wedzicha JA. Relation of sputum inflammatory markers to symptoms and lung function changes in COPD exacerbations. *Thorax*. 2000;55(2):114-120.
52. Sakae TM, Margaret M, Pizzichini M, et al. Exacerbations of COPD and symptoms of gastroesophageal reflux: a systematic review and meta-analysis. *J Bras Pneumol*. 2013; 39(3):259-271.
53. Müllerová, H., Shukla, A., Hawkins, A., & Quint, J. (2014). Risk factors for acute exacerbations of COPD in a primary care population: A retrospective observational cohort study. *BMJ Open*, 4(12), 1–8. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2014-006171>

54. Hurst, J. R. et al. (2010). Susceptibility to Exacerbation in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *The New England Journal of Medicine*, 363, 1128–1138.
55. Strimbu K, Tavel Ja. What are Biomarkers? *Curr Opin HIV AIDS*. 2011; 5(6):463-466.
56. Brünner N. What is the difference between “predictive and prognostic biomarkers”? Can you give some examples. *Connection*. 2009:
57. Chen Y, Bidwell LC, Norton D. Trait vs. State Markers for Schizophrenia: Identification and Characterization through Visual Processes. *Curr Psychiatry Rev*. 2006;2(4):431-438. doi:10.2174/157340006778699729.
58. Zanoni I, Ostuni R, Marek LR, et al. CD14 controls the LPS-induced endocytosis of Toll-like receptor 4. *NIH Public Access*. 2012;147(4):868-880. doi:10.1016/j.cell.2011.09.051.CD14.
59. DL Simmons, S Tan, DG Tenen, A Nicholson-Weller and B Seed. Monocyte antigen CD14 is a phospholipid anchored membrane protein, *Blood* 1989 73:284-289;
60. Sugawara S, Sugiyama A, Nemoto E, Rikiishi H. Heterogeneous Expression and Release of CD14 by Human Gingival Fibroblasts : Characterization and CD14-Mediated Interleukin-8 Secretion in Response to Lipopolysaccharide. 1998; 66(7):3043-3049.
61. Sylvette Bas, Benoit R. Gauthier, Ursula Spenato, Sybille Stingelin and Cem Gabay, CD14 Is an Acute-Phase Protein, *J Immunol* April 1, 2004, 172 (7) 4470-4479; DOI: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.172.7.4470>
62. Funda, David P. et al. “CD14 Is Expressed and Released as Soluble CD14 by Human Intestinal Epithelial Cells In Vitro: Lipopolysaccharide Activation of Epithelial Cells Revisited.” Ed. R. N. Moore. *Infection and Immunity* 69.6 (2001): 3772–3781.
63. Bufler, P., Stiegler, G., Schuchmann, M., Hess, S., Krüger, C., Stelter, F., Eckerskorn, C., Schütt, C., Engelmann, H. Soluble lipopolysaccharide receptor (CD14) is released via two different mechanisms from human monocytes and CD14 transfectans. *Eur. J. Immunol*. 25: 604-610, 1995
64. Bazil, V., Strominger, J.L. Shedding as a mechanism of down-modulation of CD14 on stimulated human monocytes. *J. Immunol*. 147: 1567-1574, 1991
65. Hiki N, Berger D, Prigl C, et al. Endotoxin Binding and Elimination by Monocytes : Secretion of Soluble CD14 Represents an Inducible Mechanism Counteracting Reduced Expression of Membrane CD14 in Patients with Sepsis and in a Patient with Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria. 1998;66(3):1135-1141.
66. Landmann, R., Link, S., Sansano, S., Rajacic, Z., & Zimmerli, W. (1998). Soluble CD14 Activates Monocytic Cells Independently of Lipopolysaccharide. *Infection and Immunity*, 66(5), 2264–2271.

67. Labéta BMO, Vidal K, Nores JER, et al. Innate Recognition of Bacteria in Human Milk Is Mediated by a Milk-derived Highly Expressed Pattern Recognition Receptor , Soluble CD14. 2000;191(10):0-5.
68. Takeshita, S., Nakatani, K., Tsujimoto, H., Kawamura, Y., Kawase, H., & Sekine, I. (2000). Increased levels of circulating soluble CD14 in Kawasaki disease. *Clinical and Experimental Immunology*, 119(2), 376–381. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2249.2000.01120.x>
69. Wuethrich, B., M. K. Ka "gi, and H. Joller-Jemelka. 1992. Soluble CD14 but not interleukin-6 is a new marker for clinical activity in atopic dermatitis. *Arch. Dermatol. Res.* 284:339–342
70. Krüger, C., Schütt, C., Obertacke, U., Joka, T., Müller, F. E., Knöller, J., ... Schönfeld, W. (1991). Serum CD14 levels in polytraumatized and severely burned patients. *Clinical and Experimental Immunology*, 85(2), 297–301.
71. Kotani, S., Takada, H., Tsujimoto, M., Ogawa, T., Takahashi, I., Ikeda, T., ... Mashimo, J. (1985). Synthetic lipid A with endotoxic and related biological activities comparable to those of a natural lipid A from an Escherichia coli re-mutant. *Infection and Immunity*, 49(1), 225–237.
72. Whitfield C, Trent MS. Biosynthesis and export of bacterial lipopolysaccharides. *Annu Rev Biochem.* 2014;83:99–128.
73. Moore, R. N., Steeg, P. S., Mannel, D. N., & Mergenhagen, S. E. (1980). Role of lipopolysaccharide in regulating colony-stimulating factor-dependent macrophage proliferation in vitro. *Infection and Immunity*, 30(3), 797–804.
74. Zanoni I, Granucci F. Role of CD14 in host protection against infections and in metabolism regulation. 2013;3 (July):1-6. doi:10.3389/fcimb.2013.00032.
75. Fitzgerald KA, Rowe DC, Barnes BJ, et al. LPS-TLR4 Signaling to IRF-3/7 and NF-κB Involves the Toll Adapters TRAM and TRIF. *J Exp Med.* 2003;198(7):1043-1055. doi:10.1084/jem.20031023.
76. Watanabe S, Kumazawa Y, Inoue J. Liposomal Lipopolysaccharide Initiates TRIF-Dependent Signaling Pathway Independent of CD14. 2013;8(4):2-8. doi:10.1371/journal.pone.0060078.
77. Haziot A, Ferrero E, Ko F, et al. Resistance to Endotoxin Shock and Reduced Dissemination of Gram-Negative Bacteria in CD14-Deficient Mice. 1996;4:407-414.
78. Haziot, a, Hijjiya, N., Gangloff, S. C., Silver, J., & Goyert, S. M. (2001). Induction of a novel mechanism of accelerated bacterial clearance by lipopolysaccharide in CD14-deficient and Toll-like receptor 4-deficient mice. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 166(2), 1075–1078. <http://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.166.2.1075>

79. Zanoni I., Ostuni R., Marek L.R., Barresi S., Barbalat R., Barton G.M., Granucci F., Kagan J.C. CD14 controls the LPS-induced endocytosis of toll-like receptor 4. *Cell*. 2011;147:868–880. doi: 10.1016/j.cell.2011.09.051
80. Heidenreich, S. (1999). Monocyte CD14: a multifunctional receptor engaged in apoptosis from both sides. *Journal of Leukocyte Biology*, 65(6), 737–743.
81. Kitchens, R. L., & Thompson, P. A. (2005). Modulatory effects of sCD14 and LBP on LPS-host cell interactions. *Journal of Endotoxin Research*, 11(4), 225–229. <https://doi.org/10.1179/096805105X46565>
82. Hailman E, Vasselon T, Kelley M et al. Stimulation of macrophages and neutrophils by complexes of lipopolysaccharide and soluble CD14. *J Immunol* 1996; 156: 4384–4390
83. Pugin, J., Schürer-Maly, C. C., Leturcq, D., Moriarty, A., Ulevitch, R. J., & Tobias, P. S. (1993). Lipopolysaccharide activation of human endothelial and epithelial cells is mediated by lipopolysaccharide-binding protein and soluble CD14. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 90(7), 2744–2748. <https://doi.org/10.1073/pnas.90.7.2744>
84. Haziot A, Rong G-W, Bazil V, Silver J, Goyert SM. Recombinant soluble CD14 inhibits LPS-induced tumor necrosis factor- α production by cells in whole blood. *J Immunol* 1994; 152:5868–5876.
85. Kitchens RL, Thompson PA, Viriyakosol S, O'Keefe GE, Munford RS. Plasma CD14 decreases monocyte responses to LPS by transferring cell-bound LPS to plasma lipoproteins. *Clin Invest* 2001; 108: 485–493.
86. Gluck, T., Silver, j., Epstein, M., Cao, P., Farber, B., Goyert, S.M. Parameters influencing membrane CD14 expression and soluble CD14 levels in sepsis *Eur. J. Med. Res.* 6(8): 351-358
87. Jacque, B., Stephan, K., Smirnova, I., Kim, B., Gilling, D., & Poltorak, A. (2006). Mice expressing high levels of soluble CD14 retain LPS in the circulation and are resistant to LPS-induced lethality. *European Journal of Immunology*, 36(11), 3007–3016. <https://doi.org/10.1002/eji.200636038>
88. Filipp, D., Alizadeh-Khiavi, K., Richardson, C., Palma, a, Paredes, N., Takeuchi, O., ... Julius, M. (2001). Soluble CD14 enriched in colostrum and milk induces B cell growth and differentiation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(2), 603–608. <https://doi.org/10.1073/pnas.98.2.603>
89. Cauwels, A., et al. 1999. The origin and function of soluble CD14 in experimental bacterial meningitis. *J. Immunol.* 162:4762–4772.

90. Pugin, J., I. D. Heumann, A. Tomasz, V. V. Kravchenko, Y. Akamatsu, M. Nishijima, M. P. Glauser, P. S. Tobias, and R. J. Ulevitch. 1994. CD14 is a pattern recognition receptor. *Immunity* 1:509
91. Jorgensen, P. F., Wang, J. E., Almlof, M., Thiemermann, C., Foster, S. J., Solberg, R., & Aasen, A. O. (2001). Peptidoglycan and Lipoteichoic Acid Modify Monocyte Phenotype in Human Whole Blood. *Clinical and Vaccine Immunology*, 8(3), 515–521. <https://doi.org/10.1128/CDLI.8.3.515-521.2001>
92. Dessing, M. C., Knapp, S., Florquin, S., De Vos, A. F., & Van Der Poll, T. (2007). CD14 facilitates invasive respiratory tract infection by *Streptococcus pneumoniae*. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 175(6), 604–611. <https://doi.org/10.1164/rccm.200606-824OC>
93. Tsiligianni IG, van der Molen T, Moraitaki D, et al. Assessing health status in COPD. A head-to-head comparison between the COPD assessment test (CAT) and the clinical COPD questionnaire (CCQ). *BMC Pulm Med*. 2012;12:20.
94. H JW, Kerstjens H a M, Snijders SL, et al. Health status in routine clinical practice: validity of the clinical COPD questionnaire at the individual patient level. *Health Qual Life Outcomes*. 2010;8:135.
95. C.-P.Criée, X. Baur, D.Berdel, D. B. (2015). Leitlinie 020-017 Spirometrie - Leitlinie der Deutschen Atemwegsliga, der Deutschen Gesellschaft für Pneumologie und Beatmungsmedizin und der Deutschen Gesellschaft für Arbeitsmedizin und Umweltmedizin zur Spirometrie, 34
96. Crapo, R. O., Casaburi, R., Coates, A. L., Enright, P. L., MacIntyre, N. R., McKay, R. T., Mottram, C. (2002). ATS statement: Guidelines for the six-minute walk test. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 166(1), 111–117. <https://doi.org/10.1164/rccm.166/1/111>
97. Sack, U., Burkhardt, U., Borte, M., Schädlich, H., Berg, K., & Emmrich, F. (1998). Age-dependent levels of select immunological mediators in sera of healthy children. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 5(1), 28–32. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9455875>
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC121386>
98. Goodwin JS (1995) Decreased immunity and increased morbidity in the elderly. *Nutr Rev* 53, S41–S46
99. Sansoni, P., Cossarizza, A., Brianti, V., Fagnoni, F., Snelli, G., Monti, D., ... Forti, E. (1993). Lymphocyte subsets and natural killer cell activity in healthy old people and centenarians. *Blood*, 82(9), 2767–2773.

100. Della Bella S, Bierti L, Presicce P, Arienti R, Valenti M, Saresella M, Vergani C, Villa ML. Peripheral blood dendritic cells and monocytes are differently regulated in the elderly. *Clin Immunol.* 2007
101. Seidler, S., Zimmermann, H. W., Bartneck, M., Trautwein, C., & Tacke, F. (2010). Age-dependent alterations of monocyte subsets and monocyte-related chemokine pathways in healthy adults. *BMC Immunology*, 11. <https://doi.org/10.1186/1471-2172-11-30>
102. Fagiolo U, Cossarizza A, et al. Increased cytokine production in mononuclear cells of healthy elderly people. *Eur J Immunol.* 1993;23(9):2375–2378
103. Qu T, Walston JD, Yang H, et al. Upregulated ex vivo expression of stressresponsive inflammatory pathway genes by LPS-challenged CD14(+) monocytes in frail older adults. *Mech Ageing Dev* 2009;130(3):161–6. 9.
104. C. Franceschi et al.: Inflammaging and anti-inflammaging: a systemic perspective on aging and longevity emerged from studies in humans. In: *Mech Ageing Dev* 128, 2007, S. 92–105
105. Metcalf, T. U., Cubas, R. A., Ghneim, K., Cartwright, M. J., Grevenynghe, J. Van, Richner, J. M., ... Haddad, E. K. (2015). Global analyses revealed age-related alterations in innate immune responses after stimulation of pathogen recognition receptors. *Aging Cell*, 14(3), 421–432. <https://doi.org/10.1111/ace1.12320>
106. Maniar-Hew, K., Clay, C. C., Postlethwait, E. M., Evans, M. J., Fontaine, J. H., & Miller, L. A. (2013). Innate immune response to LPS in airway epithelium is dependent on chronological age and antecedent exposures. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 49(5), 710–720. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2012-0321OC>
107. B. de Courten, J.M. Moreno-Navarrete, J. Lyons, G. Soldatos, M. de Courten, et al., Contrasting association of circulating sCD14 with insulin sensitivity in non-obese and morbidly obese subjects, *Mol. Nutr. Food Res.* 60 (2016) 103–109.
108. Fernández-Real, J. M., Del Pulgar, S. P., Luche, E., Moreno-Navarrete, J. M., Waget, A., Serino, M., ... Zorzano, A. (2011). CD14 modulates inflammation-driven insulin resistance. *Diabetes*, 60(8), 2179–2186. <https://doi.org/10.2337/db10-1210>
109. Mo H, Liu S, Zhou Z, et al. Change of serum soluble CD14 level in newly diagnosed type 2 diabetes and its significance. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban* 2010;35(7):699-704
110. Overhagen, S., Blumensatt, M., Fahlbusch, P., Herzfeld de Wiza, D., Müller, H., Maxhera, B., ... Ouwens, D. M. (2017). Soluble CD14 inhibits contractile function and insulin action in primary adult rat cardiomyocytes. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*, 1863(2), 365–374. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2016.11.002>

111. Umazume K, Usui Y, Wakabayashi Y, Okunuki Y, Kezuka T, Goto H. Effects of soluble CD14 and cytokine levels on diabetic macular edema and visual acuity. *Retina*. 2013;33:1020–1025.
112. Rogliani P, Calzetta L, Segreti A, Barrile A, Cazzola M. Diabetes mellitus among outpatients with COPD attending a university hospital. *Acta Diabetologica*. 2014;51(6):933–40. doi:10.1007/s00592-014-0584-0
113. Lin, C.-S., Liu, C.-C., Yeh, C.-C., Chang, Y.-C., Chung, C.-L., Lane, H.-L., Liao, C.-C. (2017). Diabetes risks and outcomes in chronic obstructive pulmonary disease patients: Two nationwide population-based retrospective cohort studies. *Plos One*, 12(8), e0181815. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0181815>
114. Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA, Grodsky GM. Oxidative stress and stress-activated signaling pathways: a unifying hypothesis of type 2 diabetes. *Endocr Rev*. 2002;23(5):599–622. doi:10.1210/er.2001-0039
115. Rogliani, P., Lucà, G., & Lauro, D. (2015). Chronic obstructive pulmonary disease and diabetes. *COPD Research and Practice*, 1(1), 3. <https://doi.org/10.1186/s40749-015-0005-y>
116. Fabbri LM, Rabe KF. From COPD to chronic systemic inflammatory syndrome? *Lancet* 2007;370:797–9.
117. Tomita K, Tanigawa T, Yajima H et al. Identification and characterization of monocyte subpopulations from patients with bronchial asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1995; 96:230–8.
118. Kusunoki, T., Wright, S. D., Inoue, Y., Miyanomae, T., Yoshida, Y., & Yoneda, K. (1998). Serum levels of soluble CD14 in allergic inflammation. *Allergology International*, 47(4), 271–278. <https://doi.org/10.1046/j.1440-1592.1998.00103.x>
119. Zdolsek, H.; Jenmalm, M. Reduced levels of soluble CD14 in atopic children. *Clinical and Experimental Allergy*(2004). 34(4), 532–539. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2004.1921>.
120. Hockertz S, Emmendorffer A, Scherer G, et al. Acute effects of smoking and high experimental exposure to environmental tobacco smoke (ETS) on the immune system. *Cell Biol Toxicol* 1994;10:177–90.
121. Qiu, F., Liang, C.-L., Liu, H., Zeng, Y.-Q., Hou, S., Huang, S., ... Dai, Z. (2017). Impacts of cigarette smoking on immune responsiveness: Up and down or upside down? *Oncotarget*, 8(1), 268–284. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.13613>
122. Ko HK, Lee HF, Lin AH, Liu MH, Liu CI, Lee TS, Kou YR. Regulation of Cigarette Smoke Induction of IL-8 in Macrophages by AMP-activated Protein Kinase Signaling. *J Cell Physiol*. 2015; 230:1781-1793.

123. Metcalfe HJ, Lea S, Hughes D, Khalaf R, Abbott-Banner K, Singh D. Effects of cigarette smoke on Toll-like receptor (TLR) activation of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) macrophages. *Clin Exp Immunol.* 2014; 176:461-472.
124. Ni I, Ji C, Vij N. Second-hand cigarette smoke impairs bacterial phagocytosis in macrophages by modulating CFTR dependent lipid-rafts. *PLoS One.* 2015; 10:e0121200
125. Shiels, M. S., Katki, H. A., Freedman, N. D., Purdue, M. P., Wentzensen, N., Trabert, B., ... Chaturvedi, A. K. (2014). Cigarette smoking and variations in systemic immune and inflammation markers. *Journal of the National Cancer Institute*, 106(11), 1–8. <https://doi.org/10.1093/jnci/dju294>
126. Regueiro, V., Campos, M. A., Morey, P., Sauleda, J., Agustí, A. G. N., Garmendia, J., & Bengoechea, J. A. (2009). Lipopolysaccharide-binding protein and CD14 are increased in the bronchoalveolar lavage fluid of smokers. *European Respiratory Journal*, 33(2), 273–281. <https://doi.org/10.1183/09031936.00087708>
127. Sahlander, K., Larsson, K., & Palmberg, L. (2012). Daily exposure to dust alters innate immunity. *PLoS ONE*, 7(2). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0031646>
128. Levan, T. D., Smith, L. M., Heires, A. J., Mikuls, T. R., Meza, J. L., Weissenburgermoser, L. A., & Romberger, D. J. (2017). Interaction of CD14 haplotypes and soluble CD14 on pulmonary function in agricultural workers, 1–10. <https://doi.org/10.1186/s12931-017-0532-y>
129. Martin TR, Rubenfeld GD, Ruzinski JT, et al. CD14, lipopolysaccharide binding protein, and the alveolar inflammatory response in patients with acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;155:937e44.
130. Liu, B., Yin, Q., Chen, Y., Zhao, Y., & Li, C. (2014). ScienceDirect Role of Presepsin (sCD14-ST) and the CURB65 scoring system in predicting severity and outcome of community-acquired pneumonia in an emergency department. *Respiratory Medicine*, 108(8), 1204–1213. <https://doi.org/10.1016/j.rmed.2014.05.005>
131. Marcos, V., Latzin, P., Hector, A., Sonanini, S., Hoffmann, F., Lacher, M., ... Griese, M. (2010). Expression, regulation and clinical significance of soluble and membrane CD14 receptors in pediatric inflammatory lung diseases, 14, 1–13.
132. Brass, D. M., Hollingsworth, J. W., Cinque, M., Li, Z., Potts, E., Toloza, E., ... Schwartz, D. A. (2008). Chronic LPS inhalation causes emphysema-like changes in mouse lung that are associated with apoptosis. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 39(5), 584–590.
133. Zhang, X., Shan, P., Jiang, G., Cohn, L., & Lee, P. J. (2006). Toll-like receptor 4 deficiency causes pulmonary emphysema. *Journal of Clinical Investigation*, 116(11), 3050–3059. <https://doi.org/10.1172/JCI28139>

134. Le-barillec, K., Si-tahar, M., Balloy, V., & Chignard, M. (1999). Proteolysis of monocyte CD14 by human leukocyte elastase inhibits lipopolysaccharide-mediated cell activation, *103*(7), 1039–1046.
135. MATIC M. & SIMON S.R. (1991) Tumor necrosis factor release from lipopolysaccharide-stimulated human monocytes: lipopolysaccharide tolerance in vitro. *Cytokine*, 3, 576.
136. Labeta, M., Durieux, J., Spagnoli, G., Fernandez, N., Wijdenest, J., & Herrmann, R. (1993). CD14 and tolerance to lipopolysaccharide : biochemical and functional analysis.
137. Pons AR, Noguera A, Blanquer D, Sauleda J, Pons J, Agusti AG. Phenotypic characterisation of alveolar macrophages and peripheral blood monocytes in COPD. *Eur Respir J* 2005; 25: 647–652
138. Vandivier, R. W., Henson, P. M., & Douglas, I. S. (2006). Burying the dead: The impact of failed apoptotic cell removal (efferocytosis) on chronic inflammatory lung disease. *Chest*, *129*(6), 1673–1682. <https://doi.org/10.1378/chest.129.6.1673>
139. Martin AC, Laing IA, Zhang G, Brennan S, Winfield K, Sly PD, Stick SM, Goldblatt J and LeSouef PN. CD14 C-159T and early infection with *Pseudomonas aeruginosa* in children with cystic fibrosis. *Respir Res* 6: 63, 2005
140. Marcos-Nickol, V. (2009). Zelluläre und lösliche Komponenten der angeborenen Immunabwehr bei pädiatrischen Lungenerkrankungen
141. Zhou, H., Alexis, N. E., Almond, M., Donohue, J., Laforce, C., Bromberg, P. A., Hill, C. (2011). Influence of C-159T SNP of the CD14 gene promoter on lungfunction in smokers with chronic bronchitis, *103*(9), 1358-1365.<https://doi.org/10.1016/j.rmed.2009.03.007>.
142. Krüger, C., Schütt, C., Obertacke, U., Joka, T., Müller, F. E., Knöllner, J., ... Schönfeld, W. (1991). Serum CD14 levels in polytraumatized and severely burned patients. *Clinical and Experimental Immunology*, *85*(2), 297–301.
143. Hiki, N., Berger, D., Dentener, M. A., Mimura, Y., Buurman, W. A., Prigl, C., ... Beger, H. G. (1999). Changes in endotoxin-binding proteins during major elective surgery: important role for soluble CD14 in regulation of biological activity of systemic endotoxin. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, *6*(6), 844–850.
144. Cebon Lipovec, N., Beijers, R. J. H. C. G., van den Borst, B., Doehner, W., Lainscak, M., & Schols, A. M. W. J. (2016). The Prevalence of Metabolic Syndrome In Chronic Obstructive Pulmonary Disease: A Systematic Review. *COPD: Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*, *13*(3), 399–406.

8 Publikation

Ein Teil der Ergebnisse der Arbeit wurden bereits als Poster am Internationalen Kongress der European Respiratory Society in Paris im November 2018 als Poster vorgestellt und als publizierter Abstract veröffentlicht:

Eva Papatsanis, Johanna Classen, Julia Demandt, Marilena Patalong-Dahm, Teresa Stegmaier, Christian Herr, Christoph Beißwenger, Giovanna Vella, Felix Ritzmann, Franziska Trudzinski, Thai Dinh, Philipp Lepper, Sebastian Fähndrich, Robert Bals Increased serum endotoxin levels as biomarker in acute exacerbations of COPD. *European Respiratory Journal* 2018 52: PA4073;

9 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich ganz herzlich bei allen bedanken, die zum Entstehen dieser Arbeit beigetragen haben.

An erster Stelle gilt mein besonderer Dank meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Dr. Bals für die Überlassung des Themas und seine engagierte und kompetente Betreuung, die maßgeblich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen hat.

Herrn Dr. Christian Herr und Frau Dipl. Biol. Bettina Weingard danke ich für die Auswertung der Biomarker im Labor der Inneren Medizin V sowie der freundlichen Bereitschaft, jegliche Sachfragen zu beantworten.

Bei allen Krankenschwestern und Mitarbeitern der Pneumologischen Ambulanz des Universitätsklinikums des Saarlandes, insbesondere bei der Studiensekretärin Frau Seibert, möchte ich mich für die kollegiale Zusammenarbeit bedanken.

Meiner Mitdoktorandin Frau Marilena Patalong-Dahm danke ich herzlich für die gute Teamarbeit bei der Patientenrekrutierung und für das immer anhaltende Engagement.

Frau Maria Kortmann für die Hilfe bei der statistischen Auswertung.

Herrn Dr. Manfred Küpfer für seine wertvolle Zeit die Arbeit zu lesen und kompetente Verbesserungsvorschläge anzubringen.

Meinem Verlobten Anselm Glatz ohne dessen Geduld und liebevolles Verständnis meine Dissertation nicht hätte gelingen können.

Mein ganz besonderer Dank gilt meiner Familie; meinem Bruder für die geduldige Unterstützung bei der Formatierung. Meiner Mutter für das Korrekturlesen und ihre konstruktiven Beiträge, meinem Vater für die Motivation wissenschaftlich zu arbeiten. Ich werde euch immer zutiefst dankbar sein für die Ermöglichung des Studiums, die unendliche Unterstützung und den emotionalen Beistand, was mich dahin gebracht hat, wo ich heute sein darf.

