

Aus der Klinik für Innere Medizin V -  
Pneumologie, Allergologie, Beatmungs- und Umweltmedizin  
Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg/Saar  
Leitung: Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Robert Bals

**Untersuchung von Osteopontin und sRAGE als Biomarker für  
Schweregrad, Krankheitsprogression und Komorbiditäten bei  
Patienten mit Chronisch Obstruktiver Lungenerkrankung -  
Ergebnisse der multizentrischen COSYCONET-Kohortenstudie**

Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde  
der Medizinischen Fakultät  
der Universität des Saarlandes  
2022

vorgelegt von  
Julia Selina Adams (geb. Demandt)  
geboren am 09.07.1992 in Deggendorf

Gewidmet meinen Eltern  
in Dankbarkeit für ihre allgegenwärtige Unterstützung

Tag der Promotion: 13.09.2022

Dekan: Prof. Dr. M. D. Menger

1. Berichterstatter: Prof. Dr. Dr. R. Bals

2. Berichterstatter: Prof. Dr. M. Cucchiarini Madry

## **Erklärung gemäß § 7 Abs. 1 Nr. 4**

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Arbeit ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Die aus anderen Quellen direkt oder indirekt übernommenen Daten und Konzepte sind unter Angabe der Quelle gekennzeichnet.

Bei der Auswahl und Auswertung folgenden Materials haben mir die nachstehend aufgeführten Personen in der jeweils beschriebenen Weise unentgeltlich geholfen:

1. Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Robert Bals
2. Dr. Christian Herr
3. Victoria Weinhold

Weitere Personen waren an der inhaltlich-materiellen Erstellung der vorliegenden Arbeit nicht beteiligt. Insbesondere habe ich nicht die entgeltliche Hilfe von Vermittlungs- bzw. Beratungsdiensten (Promotionsberater/innen oder anderer Personen) in Anspruch genommen. Außer den Angegebenen hat niemand von mir unmittelbar oder mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen. Die Arbeit wurde bisher weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form in einem anderen Verfahren zur Erlangung des Doktorgrades einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Ich versichere an Eides statt, dass ich nach bestem Wissen die Wahrheit gesagt und nichts verschwiegen habe.

Vor Aufnahme der vorstehenden Versicherung an Eides Statt wurde ich über die Bedeutung einer eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unrichtigen oder unvollständigen eidesstattlichen Versicherung belehrt.

---

Ort, Datum

---

Unterschrift der Promovierenden

## INHALTSVERZEICHNIS

<b>INHALTSVERZEICHNIS .....</b>	<b>iv</b>
<i>Tabellenverzeichnis.....</i>	<i>vi</i>
<i>Abbildungsverzeichnis.....</i>	<i>viii</i>
<i>Abkürzungsverzeichnis.....</i>	<i>x</i>
<b>1. Zusammenfassung.....</b>	<b>1</b>
1.1. <i>Abstract.....</i>	<i>3</i>
<b>2. Einleitung .....</b>	<b>5</b>
2.1. <i>Die Chronisch obstruktive Lungenerkrankung (COPD).....</i>	<i>7</i>
2.2. <i>Biomarker.....</i>	<i>16</i>
2.2.1. <i>Definition des Begriffs und Einblick in die Studienlage zur bisherigen Rolle von Biomarkern in der Forschung zur COPD.....</i>	<i>16</i>
2.2.2. <i>Hintergründe der untersuchten Biomarker Osteopontin und sRAGE.....</i>	<i>18</i>
2.3. <i>Fragestellung.....</i>	<i>26</i>
<b>3. Material und Methodik .....</b>	<b>27</b>
3.1. <i>Die COSYCONET-Studie .....</i>	<i>27</i>
3.2. <i>Konzentrationsbestimmung der Biomarker Osteopontin und sRAGE.....</i>	<i>29</i>
3.2.1. <i>Hintergrund der Bestimmungsmethode.....</i>	<i>29</i>
3.2.2. <i>Der Magnetic Luminex® Screening Assay.....</i>	<i>32</i>
3.2.3. <i>Methodisches Vorgehen.....</i>	<i>33</i>
3.3. <i>Statistische Auswertung.....</i>	<i>35</i>
<b>4. Ergebnisse .....</b>	<b>37</b>
4.1. <i>Deskription der Studienpopulation.....</i>	<i>37</i>
4.1.1. <i>Allgemeine Charakteristika .....</i>	<i>37</i>
4.1.2. <i>Objektive Krankheitseinstufung, Komorbiditäten und Risikoprofile .....</i>	<i>40</i>
4.1.3. <i>Klinischer Zustand.....</i>	<i>45</i>
4.1.4. <i>Parameter der Lungenfunktion und der Labordiagnostik .....</i>	<i>47</i>
4.2. <i>Deskription der Konzentrationen von Osteopontin und sRAGE in der Kohorte.....</i>	<i>51</i>

4.2.1. Osteopontin .....	51
4.2.2. sRAGE.....	53
4.3. Statistische Analyse von Zusammenhängen der Markerkonzentrationen mit anderen Merkmalen der Patientenpopulation .....	55
4.3.1. Korrelationen von Osteopontin zu anderen Merkmalen.....	55
4.3.2. Korrelationen von sRAGE zu anderen Merkmalen.....	57
4.4. Zusammenfassende Übersichtstabellen .....	62
4.4.1. Zu Osteopontin .....	62
4.4.2. Zu sRAGE .....	64
<b>5. Diskussion .....</b>	<b>70</b>
5.1. Diskussion der Ergebnisse zu Osteopontin.....	71
5.2. Diskussion der Ergebnisse zu sRAGE.....	77
5.3. Abschließende Betrachtung .....	87
<b>6. Literaturverzeichnis .....</b>	<b>88</b>
<b>7. Danksagung.....</b>	<b>99</b>

## **Tabellenverzeichnis**

TABELLE 1: EPIDEMIOLOGISCHE MAßZAHLEN FÜR DIE COPD IM JAHR 2017 IN DEUTSCHLAND UND WELTWEIT .....	5
TABELLE 2: RISIKOFAKTOREN FÜR DIE ENTWICKLUNG EINER COPD .....	7
TABELLE 3: mMRC-SKALA ZUR EINSTUFUNG DER ATEMNOT .....	10
TABELLE 4: BEISPIELHAFT AUFGEFÜHRT WIRKSTOFFE ZU DEN IM TEXT GENANNTEN MEDIKAMENTEN.....	12
TABELLE 5: ZUSAMMENGEFASSTE, NICHTMEDIKAMENTÖSE BEHANDLUNGSOPTIONEN BEI COPD.....	13
TABELLE 6: DIE SIGNIFIKANT MIT EINEM ERHÖHTEM STERBERISIKO KORRELIERENDEN KOMORBIDITÄTEN BEI COPD.....	15
TABELLE 7: EIN- UND AUSSCHLUSSKRITERIEN FÜR DIE PATIENTEN DER COSYCONET-STUDIE.....	27
TABELLE 8: VARIABLEN UND ZUGEHÖRIGE PUNKTEWERTE ZUR BESTIMMUNG DES BODE-INDEX .....	28
TABELLE 9: RECHTS: DEFINITION DER BMI-KATEGORIEN .....	38
TABELLE 10: GENAUERE BESCHREIBUNG DES ZIGARETTENKONSUMVERHALTENS BZW. DER RAUCHERANAMNESE DER POPULATION ..	38
TABELLE 11: VERGLEICHENDE AUFFÜHRUNG DER KENNWERTE ZUR DAUER DES NIKOTINKONSUMS .....	39
TABELLE 12: IN DEN CVI (CARDIOVASCULAR INDEX) UND MCI (MAIN COMORBIDITY INDEX) EINGEHENDE ERKRANKUNGEN .....	41
TABELLE 13: DEFINITION DES METABOLISCHEN SYNDROMS UND VERWENDETE DATEN DER STUDIE .....	42
TABELLE 14: NACH ANDERSON ET AL. BERECHNETES, KARDIOVASKULÄRES 5- UND 10-JAHRESRISIKO DER EINBEZOGENEN PAT. ....	44
TABELLE 15: KENNWERTE DES INTRATHORAKALEN GAS-VOLUMENS SOWIE DER DIFFUSIONSKAPAZITÄT .....	48
TABELLE 16: STATISTISCHE KENNWERTE ZUR KONZENTRATION VON OSTEOPONTIN IN DEN ANALYSIERTEN PROBEN.....	51
TABELLE 17: STATISTISCHE KENNWERTE ZUR KONZENTRATION VON SRAGE IN DEN ANALYSIERTEN PROBEN .....	53
TABELLE 18: KOFFIZIENTEN UND P-WERTE BZGL. DER KORRELATIONEN DER KONZENTRATION AN OSTEOPONTIN MIT DEN AUFGEFÜHRTEN WEITEREN MERKMALEN DER PATIENTEN .....	62
TABELLE 19: STAT. KENNWERTE ZUR KONZENTRATION AN OSTEOPONTIN JE NACH SUBJ. EINSCHÄTZUNG DER VERFASSUNG .....	63
TABELLE 20: STAT. KENNWERTE ZUR KONZENTRATION AN OSTEOPONTIN JE NACH EXAZERBATIONSHÄUFIGKEIT.....	63
TABELLE 21: KOFFIZIENTEN UND P-WERTE BZGL. DER KORRELATIONEN DER KONZENTRATION AN SRAGE MIT DEN AUFGEFÜHRTEN WEITEREN MERKMALEN DER PATIENTEN .....	64
TABELLE 22 UND 23: STAT. KENNWERTE ZUR KONZENTRATION AN SRAGE JE NACH RAUCHERSTATUS SOWIE DATEN DES VERGLEICHS DER MEDIANE DER VERSCHIEDENEN GRUPPEN.....	65
TABELLE 24 UND 25: STAT. KENNWERTE ZUR KONZENTRATION AN SRAGE JE NACH GOLD-STADIUM SOWIE P-WERTE DES VERGLEICHS DER MEDIANE DER VERSCHIEDENEN GRUPPEN.....	65
TABELLE 26 UND 27: STAT. KENNWERTE ZUR KONZENTRATION AN SRAGE JE NACH ABCD-STADIUM SOWIE P-WERTE DES VERGLEICHS DER MEDIANE DER VERSCHIEDENEN GRUPPEN.....	66
TABELLE 28UND 29: STAT. KENNWERTE ZUR KONZENTRATION AN SRAGE JE NACH BODE-RISIKOGRUPPE SOWIE DATEN DES VERGLEICHS DER MEDIANE DER VERSCHIEDENEN GRUPPEN.....	66
TABELLE 30 UND 31: STAT. KENNWERTE ZUR KONZENTRATION AN SRAGE JE NACH ATEMNOT AUF mMRC-SKALA SOWIE P-WERTE DES VERGLEICHS DER MEDIANE DER VERSCHIEDENEN GRUPPEN .....	67
TABELLE 32-34: ZUSAMMENFASSUNG DER KENNWERTE DES MODELLS, ERGEBNISSE DER EINFAKTORIELLEN VARIANZANALYSE SOWIE ERRECHNETE BESTANDTEILE DER MODELLGLEICHUNG .....	68
TABELLE 35: OSTEOPONTIN-KONZENTRATIONEN IN VERSCHIEDENEN GRUPPEN DER JEWEILIGEN VERGLEICHSKOHORTEN.....	72
TABELLE 36: PARAMETER ZUR BESCHREIBUNG DER VERGLEICHENEN KOHORTEN (BZGL. OSTEOPONTIN).....	72

TABELLE 37: WERTE FÜR SRAGE IN DEN VERSCHIEDENEN VERGLEICHSKOHORTEN/SUBGRUPPEN.....	80
TABELLE 38: PARAMETER ZUR BESCHREIBUNG DER VERGlichenEN KOHORTEN (BZGL. SRAGE).....	81
TABELLE 39: MITTELWERTE ± STANDARDABWEICHUNGEN BZW. MEDIANE UND INTERQUARTILSBEREICHE FÜR SRAGE IN DEN PATIENTENGRUPPEN OHNE UND MIT DEN VERSCHIEDENEN KOMORBIDITÄTEN.....	83

## **Abbildungsverzeichnis**

ABBILDUNG 1: GRAPHEN ZU DEN EPIDEMIOLOGISCHEN MAßZAHLEN DER PRÄVALENZ, DEM ANTEIL AN ALLEN TODESFÄLLEN SOWIE DER INZIDENZ DER COPD IM JAHR 2017 FÜR DEUTSCHLAND UND WELTWEIT .....	6
ABBILDUNG 2: COPD-DIAGNOSE UND EINSTUFUNGSPROZESS MIT GOLD-STADIEN I-IV UND ABCD-KLASSIFIKATION .....	10
ABBILDUNG 3: COPD-ASSESSMENT-TEST™ (CAT) .....	11
ABBILDUNG 4: MEDIKAMENTÖSE THERAPIE DER COPD NACH EINTEILUNG IN DIE GRUPPEN A-D .....	12
ABBILDUNG 5: DER AUFBAU VON OSTEOPONTIN (SCHEMATISCH).....	19
ABBILDUNG 6: ZUSAMMENFASSENDE DARSTELLUNG DES EINFLUSSES VON OSTEOPONTIN AUF VERSCHIEDENE ZELLEN DES IMMUNSYSTEMS MIT DEM JEWEILIGEN EFFEKT.....	21
ABBILDUNG 7: RAGE UND DIE BEIDEN VARIANTEN eSRAGE UND sRAGE .....	22
ABBILDUNG 8: EINE ÜBERSICHT ZU AUFBAU, ENTSTEHUNG UND FUNKTION VON RAGE.....	25
ABBILDUNG 9: VERBILDLICHTUNG DER KONZEPTE EINES KOMPETITIVEN UND EINES SANDWICH-IMMUNOASSAYS.....	30
ABBILDUNG 10: SCHEMATISCHE DARSTELLUNG DES FUNKTIONSPRINZIPS DES MAGNETIC LUMINEX® SCREENING ASSAYS .....	32
ABBILDUNG 11: BESETZUNG DER WELLS ZUR MESSUNG .....	34
ABBILDUNG 12: ANTEILE DER GESCHLECHTER UND ALTERSSTRUKTUR IN DER KOHORTE DER COSYCONET-STUDIE .....	37
ABBILDUNG 13: KÖRPERLICHE KONSTITUTION DER PATIENTEN EINGESTUFT NACH BMI.....	38
ABBILDUNG 14: ANGABEN DER PATIENTEN ZU IHREM NIKOTINKONSUM.....	38
ABBILDUNG 15: PACK YEARS DER PATIENTEN. ....	39
ABBILDUNG 16: HÄUFIGKEITEN DER GRUPPEN A-D IN DER STUDIENPOPULATION .....	40
ABBILDUNG 17: HÄUFIGKEITEN DER GOLD-STADIEN IN DER STUDIENPOPULATION. ....	40
ABBILDUNG 18: AUFTEILUNG DER PATIENTEN AUF DIE VIER QUARTILE BZW. RISIKOGRUPPEN DES BODE-INDEX .....	41
ABBILDUNG 19: CVI-SCORE ZUR DARSTELLUNG DER ZAHL AN KARDIOVASKULÄREN KOMORBIDITÄTEN DER PATIENTEN UND MCI-SCORE ZUR DARSTELLUNG DER ZAHL AN ERFRAGTEN KOMORBIDITÄTEN DER PATIENTEN ALLGEMEIN .....	42
ABBILDUNG 20: ABWEICHUNG DER ERREICHTEN STRECKEN IM 6-MIN-GEHTEST VON NORMWERTEN.....	45
ABBILDUNG 21: ATEMNOT DER PATIENTEN NACH MMRC-SKALA.....	45
ABBILDUNG 22: BEEINTRÄCHTIGUNG DER PATIENTEN NACH SGRQ .....	46
ABBILDUNG 23: ANZAHL DER AKUTEN EXAZERBATIONEN DER PATIENTEN IN DEN LETZTEN 12 MONATEN .....	47
ABBILDUNG 24: TIFFENEAU-INDICES DER PATIENTEN .....	47
ABBILDUNG 25: DIE FORCIERTE VITALKAPAZITÄT DER PATIENTEN (FVC) .....	48
ABBILDUNG 26: DIE EINSEKUNDENKAPAZITÄT (FEV <sub>1</sub> ) DER PATIENTEN.....	48
ABBILDUNG 27: LEUKOZYTENZAHLEN IM BLUT DER PATIENTEN .....	49
ABBILDUNG 28: CRP-WERTE IM BLUT DER PATIENTEN.....	49
ABBILDUNG 29: KUMULATIVE AUFTRAGUNG DER LDL-WERTE DER PATIENTEN .....	50
ABBILDUNG 30: AUFTRETENDE KONZENTRATIONEN DES BIOMARKERS OSTEOPONTIN.....	51
ABBILDUNG 31: KONZENTRATIONEN AN OSTEOPONTIN IM HISTOGRAMM MIT NORMALVERTEILUNGSKURVE ZUM VERGLEICH .....	52
ABBILDUNG 32: LOGARITHMIERTE WERTE VON OSTEOPONTIN AUFGETRAGEN GEGEN EINE NORMALVERTEILUNGSKURVE .....	52
ABBILDUNG 33: AUFTRETENDE KONZENTRATIONEN DES BIOMARKERS sRAGE .....	53
ABBILDUNG 34: KONZENTRATIONEN AN sRAGE IM HISTOGRAMM MIT NORMALVERTEILUNGSKURVE ZUM VERGLEICH .....	54



ABBILDUNG 35: LOGARITHMIERTE WERTE VON SRAGE AUFGETRAGEN GEGEN EINE NORMALVERTEILUNGSKURVE .....	54
ABBILDUNG 36: BOX-PLOTS DER WERTE VON SRAGE IN DEN VERSCHIEDENEN GRUPPEN JE NACH RAUCHERSTATUS .....	57
ABBILDUNG 37: BOX-PLOTS DER WERTE VON SRAGE IN DEN GRUPPEN DER VERSCHIEDENEN GOLD-STADIEN .....	58
ABBILDUNG 38: BOX-PLOTS DER WERTE VON SRAGE IN DEN GRUPPEN DER VERSCHIEDENEN BODE-RISIKOQUARTILE .....	58
ABBILDUNG 39: DARSTELLUNG DES ITGV IN ABHÄNGIGKEIT VON SRAGE .....	60
ABBILDUNG 40: DARSTELLUNG DER UNTERSUCHTEN LUNGENFUNKTIONSPARAMETER IN ABHÄNGIGKEIT VON SRAGE.....	61
ABBILDUNG 41: AUFTRAGUNG DER DURCH MODELLGLEICHUNG GESCHÄTZTE GEGEN REALE WERTE AN SRAGE .....	69

## Abkürzungsverzeichnis

<b>Abkürzung</b>	<b>Bedeutung</b>
ACOS	Asthma-COPD-Overlap-Syndrom
AECOPD	Akute Exazerbation einer COPD
AGEs	Advanced Glycation End products
ANGPTL4	Angiopoietin-like 4
AsCoNet	Kompetenznetz Asthma und COPD
BODE	Body-mass-index, Obstruction, Dyspnea, Exercise capacity
BGA	Blutgasanalyse
CAT	COPD-Assessment-Test
CED	Chronisch-entzündliche Darmerkrankung
COPD	Chronic obstructive pulmonary disease (dt.: Chronisch obstruktive Lungenerkrankung)
COSYCONET	COPD and Systemic consequences-Comorbidities Network
COTE	COPD specific comorbidity test
CRP	C-reaktives Protein
CVI	Cardiovascular index
DLCO bzw. TLCO	Diffusion capacity - bzw. Transfer factor of the lung for carbon monoxide dt.: Kohlenmonoxid-Diffusionskapazität bzw. - Transferfaktor
ECLIPSE	Evaluation of COPD Longitudinally to Identify Predictive Surrogate End-points
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EIA	Enzymimmunoassay
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
FIA	Fluoreszenzimmunoassay
FEV <sub>1</sub>	Forcierte Einsekundenkapazität bzw. forciertes expiratorisches Volumen
FVC	Forcierte Vitalkapazität
GDF-15	Growth differentiation factor-15
GLI	Global Lung Initiative
GOLD	Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease
Hb	Hämoglobin
HDL	High Density Lipoprotein
ICS	Inhalative/s Kortikosteroid/e
IL-6, -8	Interleukin-6, -8
INF- $\gamma$	Interferon- $\gamma$
IQR	Interquartilsabstand (interquartile range)
ITGV	Intrathorakales Gasvolumen bzw. intrathoracic gas volume
KHK	Koronare Herzkrankheit
LABA	Long-acting $\beta$ 2-agonist
LAMA	Long-acting muscarinic antagonist
LDL	Low Density Lipoprotein
MCI	Main comorbidity index
MMP-9	Matrix-Metalloproteinase 9
mMRC	modified Medical Research Council Scale
MW	Mittelwert
NIV	Nichtinvasive Beatmung
NK	Natürliche Killerzelle
OPN	Osteopontin

pAVK	Periphere arterielle Verschlusskrankheit
PIA	Partikel-Immunoassay
PE	Phycoerythrin
Py	Pack year(s)
(s)RAGE	(soluble) Receptor for Advanced Glycation End products
RIA	Radioimmunoassay
RV	Residualvolumen
SA	Standardabweichung
SABA	Short-acting $\beta$ 2-agonist
SAMA	Short-acting muscarinic antagonist
SGRQ	St. George's Respiratory Questionnaire
SPIROMICS	Subpopulations and Intermediate Outcome Measures in COPD study
TH	T-Helferzelle
TLCO	s. DLCO
TNF- $\alpha$	Tumornekrosefaktor- $\alpha$
V1	Visite 1
ZNS	Zentrales Nervensystem

## 1. Zusammenfassung

Eine der relevantesten Erkrankungen nicht nur in Deutschland ist angesichts ihrer Prävalenz, Inzidenz und Mortalität die chronisch obstruktive Lungenerkrankung (COPD). Dennoch bestehen immer noch pathophysiologische Unklarheiten bezüglich der Rollen von systemischer Entzündung und von Komorbiditäten ebenso wie ein Mangel an validen Parametern zur frühen Diagnostik, zur Einschätzung der Krankheitsaktivität und zur Therapiesteuerung und –entwicklung. Auch können Phänotypen der Erkrankung nur unzureichend definiert werden. Es wurde viel Forschung im Bereich von Biomarkern, die in ihrer Vielfalt großes Potenzial zur Lösung der Problematik boten, betrieben, jedoch bisher noch nicht mit ausreichend Erfolg. In diesem Kontext ist auch die vorliegende Arbeit einzuordnen. Ihr Ziel ist, die beiden Biomarker Osteopontin und sRAGE (soluble Receptor for Advanced Glycation End products) in ihrer Ausprägung bei COPD-Erkrankung zu charakterisieren, relevante Zusammenhänge mit ätiologischen Faktoren, klinischem Bild, Stadium, diagnostischen und prognostischen Parametern herauszuarbeiten und damit zusammen mit bereits bestehender Literatur zur fundierten Einschätzung einer möglichen klinische Nutzung beizutragen. Beide Marker sind bereits unter anderem für ihre Mitwirkung an entzündlichen Prozessen und ihre Rolle bei verschiedenen anderen Erkrankungen bekannt.

Zu genannten Zwecken wurden im Rahmen der prospektiven, multizentrischen Kohortenstudie COSYCONET (COPD and Systemic consequences-Comorbidities Network) mithilfe eines Multiplex-Partikel-Immunoassays die Biomarkerkonzentrationen in Serumproben von 2481 der insgesamt 2741 Patienten gemessen und eine statistische Querschnittsanalyse zum Zeitpunkt der ersten Visite vorgenommen. Daraus ergeben sich bereits grundsätzliche Einschränkungen der Studie, bei der ohne Verlaufsbeobachtung und gesunde Kontrollen gearbeitet wurde. Daneben ist zu bedenken, dass ein Teil der Daten rein auf anamnestischen Angaben der Patienten beruhte und dadurch Ungenauigkeiten verursacht werden konnten.

Für **Osteopontin** wurde in der Kohorte eine mittlere Konzentration von  $5790,44 \pm 7538,59$  pg/ml (Mittelwert (MW)  $\pm$  Standardabweichung (SA)) bzw. ein Median von 3788,00 pg/ml (Interquartilsabstand (IQR) = 1958,00-6831,00) bestimmt, die Konzentrationen zeigten sich nicht normalverteilt. Korrelationen ergaben sich mit dem Alter ( $r=0,052$ ,  $p=0,010$ ), dem kardiovaskulärem 5- und 10-Jahresrisiko (s. 4.1.2.;  $r=0,052$ ,  $p=0,017$ ), dem St. George's Respiratory Questionnaire (SGRQ;  $r=0,041$ ,  $p=0,044$ ), der Gesamtzahl an akuten Exazerbationen in den vorangegangenen 12 Monaten ( $r=0,057$ ,  $p=0,004$ ) und dadurch nötige Hospitalisierungen ( $r=0,074$ ,  $p=0,000$ ), der Exazerbationshäufigkeit in Gruppen mit 0-1 bzw.  $\geq 2$  Exazerbationen ( $p=0,012$ ), Interleukin-6 (IL-6;  $r=0,068$ ,  $p=0,001$ ), Interleukin-8 (IL-8;  $r=0,069$ ,  $p=0,001$ ), Tumornekrosefaktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ;  $r=0,057$ ,

p=0,005), Diabetes mellitus (p = 0,030), malignen Neoplasien (p-Wert = 0,012), Schlaganfall (p=0,012) und Hirnleistungsstörungen (p = 0,015). Der Biomarker erwies sich damit als teilweise im Einklang mit bestehender Literatur, nutzbare Zusammenhänge ergaben sich in eingeschränktem Maße.

**sRAGE** trat mit einer Konzentration von im Mittel  $856,84 \pm 362,28$  pg/ml bzw. einem Median von 789,08 pg/ml (615,73 - 1022,00) auf, ebenfalls ohne zugrundeliegende Normalverteilung. Korreliert war sie mit Alter ( $r=0,110$ ,  $p=0,000$ ), Raucherstatus ( $p=0,000$ ), Pack years ( $r=-0,044$ ,  $p=0,037$ ), GOLD-Stadium ( $r=-0,161$ ,  $p=0,000$ ), ABCD-Stadium ( $r=-0,139$ ,  $p=0,000$ ), BODE-Quartil (s. 3.1.;  $r=-0,134$ ,  $p=0,000$ ), Cardiovascular index (CVI, s. 4.1.2.;  $r=0,043$ ,  $p=0,032$ ), Main comorbidity index (MCI, s. 4.1.2.;  $r=0,068$ ,  $p=0,001$ ), kardiovaskulärem 5- und 10-Jahresrisiko (jeweils  $r=0,056$ ,  $p=0,010$ ), Atemnot nach modified Medical Research Council Scale (mMRC-Skala;  $r=-0,087$ ,  $p=0,000$ ) und SGRQ ( $r=-0,062$ ,  $p=0,002$ ). Bezüglich Lungenfunktionsparametern (s. 4.1.4.) traten Zusammenhänge mit Tiffeneau-Index ( $r=0,170$ ,  $p=0,000$ ),  $FEV_1$  ( $r=0,178$ ,  $p=0,000$ ), FVC ( $r=0,098$ ,  $p=0,000$ ), ITGV ( $r=-0,106$ ,  $p=0,000$ ), und TLCO ( $r=0,157$ ,  $p=0,000$ ) zutage. Leukozytenzahl ( $r=-0,094$ ,  $p=0,000$ ), IL-8 ( $r=0,081$ ,  $p=0,000$ ), TNF- $\alpha$  ( $r=0,127$ ,  $p=0,000$ ), Hämoglobin-Wert ( $r=-0,077$ ,  $p=0,000$ ), Angina pectoris bzw. Koronare Herzkrankheit ( $p=0,012$ ), Asthma bronchiale ( $p=0,049$ ), chronische Nierenerkrankung ( $p=0,000$ ), Gicht ( $p=0,037$ ), Eisenmangel ( $p=0,042$ ) und maligne Neoplasien ( $p=0,038$ ) erwiesen sich ebenfalls als korrelierend. sRAGE war somit wie erhofft mit einer Reihe von diagnostischen und prognostischen Parametern einer COPD assoziiert. Im Vergleich mit Studien aus der bereits großen Datenbasis zu diesem Biomarker zeigten sich die Ergebnisse aus der COSYCONET-Kohorte in vielem übereinstimmend und konnten auch Fakten zu bisher diskutierten oder weniger bearbeiteten Zusammenhängen liefern, wie z.B. zu sRAGE in Abhängigkeit von Raucherstatus, inflammatorischen Parametern, BODE-Index und verschiedenen Komorbiditäten bei COPD-Patienten. Gerade in Bezug auf letztere wurde, im Gegensatz zu nicht an COPD erkrankten Patienten, interessanterweise eine positive Korrelation des Biomarkers mit dem Vorliegen der genannten Komorbiditäten festgestellt, wozu bisher wenig bekannt war. Jedoch waren die gefundenen Korrelationen insgesamt nicht stark genug, um sRAGE allein als eine realistische klinische Alternative zu bisher genutzten Parametern wie der  $FEV_1$  ansehen zu können. Eine Rolle spielen könnte der Biomarker aber durchaus in Kombination mit anderen vielversprechenden Markern, woran auch bereits geforscht wird.

Zusammenfassend wurden durch diese Arbeit vorbestehende Erkenntnisse zu Osteopontin und sRAGE als Biomarker bei COPD durch die Ergebnisse einer groß angelegten Studie in verschiedener Hinsicht ergänzt. Beide Biomarker schienen nicht ohne weiteres sinnvoll klinisch nutzbar, jedoch wurden mögliche Ansatzpunkte für weiterführende Forschung zur Erreichung dieses Ziels sichtbar.

## 1.1. Abstract

### **Examination of Osteopontin and sRAGE as biomarkers for disease severity, progression and comorbidities in patients with chronic obstructive pulmonary disease – results of the multicenter cohort study COSYCONET**

Due to its prevalence, incidence and mortality, chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is one of the most relevant diseases not only in Germany. But still, there are insecurities about the role of systemic inflammation and comorbidities in its pathophysiology and disease phenotypes can't be defined sufficiently. Also, there is a lack of valid parameters for the early detection, the evaluation of disease activity and the guiding and development of therapeutic methods. With growing possibilities in biotechnology, the wide and very promising field of biomarker research was opening up, but in spite of extensive scientific work, it was not source of many achievements. That's the context of the present thesis. It aims at the characterization of the two biomarkers Osteopontin and sRAGE in its occurrence in COPD patients, at working out relevant associations with aetiological factors, clinical picture, stage, diagnostic and prognostic parameters and, brought together with existing literature, at a contribution to a well-founded assessment of the possible clinical utilization. Both markers are already known to be involved in inflammatory processes and a number of different other diseases. By use of a multiplex particle immunoassay, the concentrations of Osteopontin and sRAGE were measured in 2481 of 2741 serum samples of COPD patients which were enrolled for the prospective multicenter cohort study COSYCONET (COPD and Systemic consequences-Comorbidities Network). A statistical cross-sectional analysis at the time of the first appointment followed, generating some basic limitations by its design without the possibility of follow-up observation and comparison to healthy controls. Furthermore, it is important to consider that part of the data was based on the medical history verbally provided by the patients, which maybe caused some inaccuracies.

**Osteopontin** showed a mean concentration of  $5790,44 \pm 7538,59$  pg/ml (mean value  $\pm$  standard deviation) respectively a median of 3788,00 pg/ml (interquartile range = 1958,00-6831,00), the concentrations didn't appear in a normal distribution. Correlations came up in terms of age ( $r=0,052$ ,  $p=0,010$ ), cardiovascular risk over 5 and 10 years ( $r=0,052$ ,  $p=0,017$ ), SGRQ ( $r=0,041$ ,  $p=0,044$ ), total number of acute exacerbations in the previous 12 months ( $r=0,057$ ,  $p=0,004$ ) and thereby caused hospitalizations ( $r=0,074$ ,  $p=0,000$ ), frequency of exacerbations divided in groups with 0-1 or  $\geq 2$  exacerbations ( $p=0,012$ ), IL-6 ( $r=0,068$ ,  $p=0,001$ ), IL-8 ( $r=0,069$ ,  $p=0,001$ ), TNF- $\alpha$  ( $r=0,057$ ,  $p=0,005$ ), diabetes mellitus ( $p = 0,030$ ), malign neoplasms ( $p$ -Wert = 0,012), stroke ( $p=0,012$ ) and brain disorders ( $p = 0,015$ ). The results could partly be seen in accordance with existing literature, usable correlations were limited.

**sRAGE** was present with a mean concentration of  $856,84 \pm 362,28$  pg/ml respectively a median of 789,08 pg/ml (615,73 - 1022,00). It correlated with age ( $r=0,110$ ,  $p=0,000$ ), smoking status ( $p=0,000$ ), pack years ( $r=-0,044$ ,  $p=0,037$ ), GOLD stage ( $r=-0,161$ ,  $p=0,000$ ), ABCD stage ( $r=-0,139$ ,  $p=0,000$ ), BODE quartile ( $r=-0,134$ ,  $p=0,000$ ), CVI ( $r=0,043$ ,  $p=0,032$ ), MCI ( $r=0,068$ ,  $p=0,001$ ), cardiovascular risk over 5 and 10 years (jewels  $r=0,056$ ,  $p=0,010$ ), dyspnea corresponding to mMRC-scale ( $r=-0,087$ ,  $p=0,000$ ), and SGRQ ( $r=-0,062$ ,  $p=0,002$ ). Concerning parameters of lung function there were associations with FEV<sub>1</sub>/FVC ratio ( $r=0,170$ ,  $p=0,000$ ), FEV<sub>1</sub> ( $r=0,178$ ,  $p=0,000$ ), FVC ( $r=0,098$ ,  $p=0,000$ ), ITGV ( $r=-0,106$ ,  $p=0,000$ ) and TLCO ( $r=0,157$ ,  $p=0,000$ ). Also leucocyte count ( $r=-0,094$ ,  $p=0,000$ ), IL-8 ( $r=0,081$ ,  $p=0,000$ ), TNF- $\alpha$  ( $r=0,127$ ,  $p=0,000$ ), hemoglobin value ( $r=-0,077$ ,  $p=0,000$ ), angina pectoris respectively coronary heart disease ( $p=0,012$ ), asthma ( $p=0,049$ ), chronic kidney disease ( $p=0,000$ ), gout ( $p=0,037$ ), iron deficiency ( $p=0,042$ ) and malign neoplasms ( $p=0,038$ ) showed a correlation with the biomarker.

So sRAGE showed associations with a number of diagnostic and prognostic parameters that describe the COPD. Compared to some of the numerous other studies concerning this biomarker, the results of the COSYCONET cohort were widely consistent and added also some facts to relations which were still discussed or only little treated, like for example sRAGE depending on smoking status, inflammatory parameters, bode index and the different comorbidities of COPD patients. Interestingly and, in contrast to patients not suffering from COPD, the biomarker correlated positively with the presence of the mentioned comorbidities, which was not extensively documented before. The significant correlations, however, were not strong enough to consider sRAGE alone as an alternative clinical marker replacing for example the FEV<sub>1</sub>, which was used until now. But the biomarker could indeed play a role in combination with other promising markers, which is already part of current research.

In summary, this thesis complemented existing literature concerning the biomarkers Osteopontin and sRAGE in COPD patients by the results of a large-scale study. Both biomarkers did not seem to be useful in clinical practice without further efforts, but possible starting points for continuing research appeared.

## **2. Einleitung**

Zum Einstieg in diese Arbeit soll die Aufmerksamkeit zunächst auf ein Zitat gerichtet werden, das einige Probleme und damit den Handlungsbedarf beschreibt, der eine Grundlage für das wissenschaftliche Interesse und das Engagement hinsichtlich der chronisch obstruktiven Lungenerkrankung (COPD) ist.

„Die chronisch-obstruktive Lungenerkrankung (COPD) stellt nach wie vor eine Herausforderung für die medizinische Praxis dar. Die morphologischen und funktionellen Veränderungen bei der COPD gehen vielfach über die Lunge hinaus, und es bestehen klinisch relevante Komorbiditäten. Der Zusammenhang mit diesen Komorbiditäten und die Wechselwirkungen mit der Lungenerkrankung sind möglicherweise über eine systemische Entzündung vermittelt; doch ist diese Frage nicht hinreichend geklärt. Unklar sind auch die praktischen Konsequenzen bezüglich des individuellen Krankheitsverlaufs und möglicher Therapieansätze.“

(Jörres et al. 2010, S. 446)

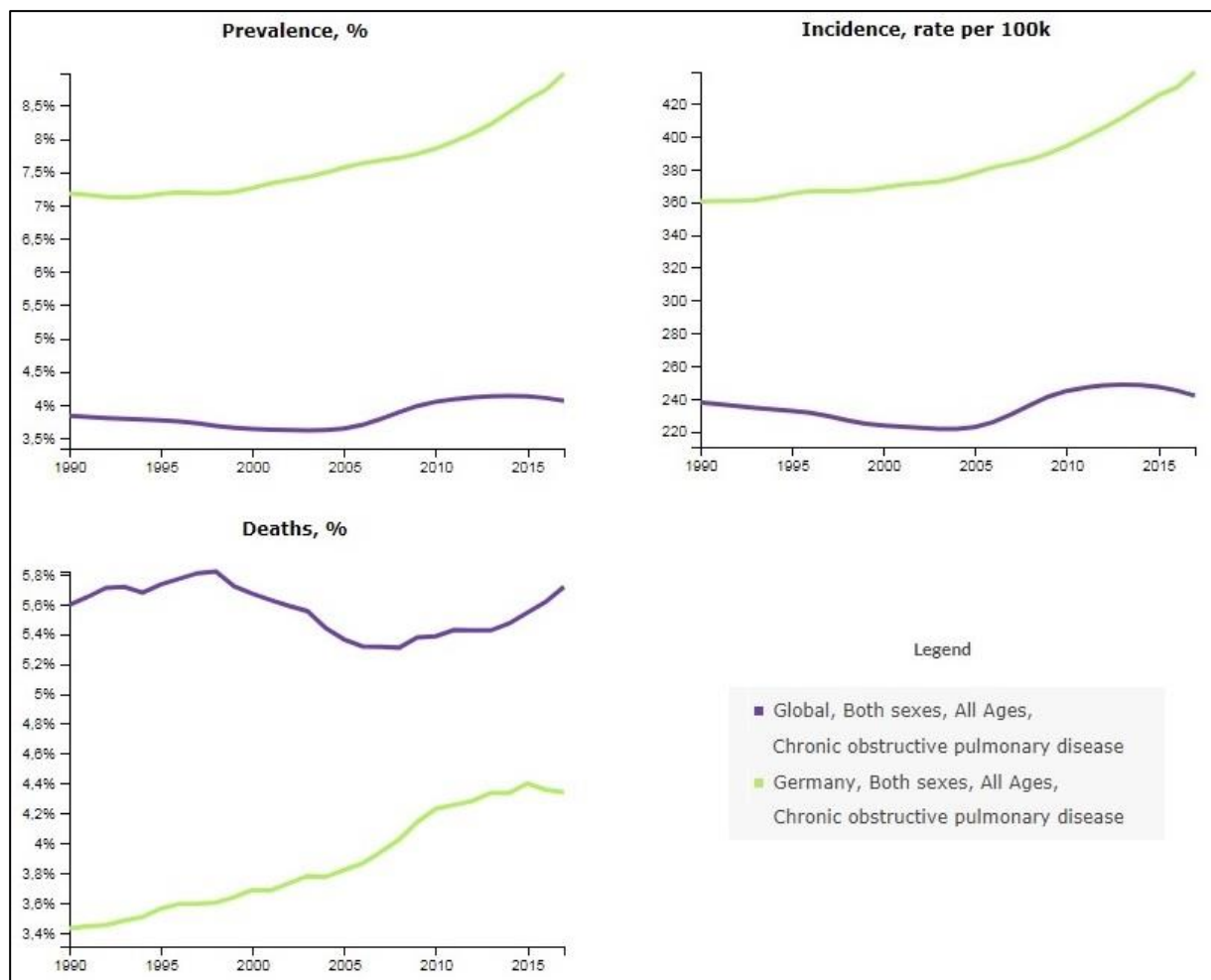
Die Erkrankung, mit der man sich hier auseinandersetzt, ist also komplex und, mit Blick auf epidemiologische Maßzahlen, gleichzeitig aber zweifellos in Deutschland wie weltweit sehr relevant. In Vorgriff auf Abschnitt 2.1. dazu bereits einige illustrierende Eckpunkte:

- Im Jahr 2013 rangierte die COPD bezüglich ihres Anteils an den YLL (years of life lost) weltweit auf Platz 12, in Deutschland war sie sogar auf Platz 6 zu finden. Sie folgte damit auf die koronare Herzkrankheit (KHK), das Bronchialkarzinom, den Schlaganfall, die Alzheimer-Krankheit und das kolorektale Karzinom auf den Rängen 1-5 (vgl. GBD 2013 Mortality and Causes of Death Collaborators 2015).
- Für das Jahr 2017 wurden durch das Global Burden of Disease Collaborative Network 2018 die in Tabelle 1 aufgeführten Prävalenzen und Inzidenzen herausgegeben. Die COPD war demnach in Deutschland für 4,34% aller Todesfälle verantwortlich und betraf mit einer Prävalenz von 8,98% etwas mehr als jeden 11. Einwohner. Damit war sie hierzulande mehr als doppelt so häufig wie global gesehen. Im Vergleich deutlich niedriger angesiedelt, aber dennoch beachtlich, ist die vom Robert-Koch-Institut veröffentlichte Gesamt-12-Monatsprävalenz der COPD für 2017, die bei 5,8% lag (Steppuhn et al. 2017).

Region	Anteil aller Todesfälle [%]			Prävalenz [%]			Inzidenz [pro 100.000]
	Gesamt	M	W	Gesamt	M	W	
Deutschland	4,34	4,59	4,1	8,98	9,07	8,91	439,39
Weltweit	5,72	5,89	5,51	4,06	3,82	4,3	241,81

**Tabelle 1: Epidemiologische Maßzahlen für die COPD im Jahr 2017 in Deutschland und weltweit nach dem Institute for Health Metrics and Evaluation (IHME)**





**Abbildung 1: Graphen zu den epidemiologischen Maßzahlen der Prävalenz, dem Anteil an allen Todesfällen sowie der Inzidenz, die für die COPD im Jahr 2017 für Deutschland und weltweit erhoben wurden**  
**Quelle: Institute for Health Metrics Evaluation. Used with permission. All rights reserved.**  
**(Institute for Health Metrics and Evaluation (IHME) 2015; Global Burden of Disease Collaborative Network 2018)**

Auch in Abbildung 1 wird der absolute Unterschied in den Maßzahlen ebenso wie der Unterschied im Entwicklungstrend deutlich. In Deutschland ist die Tendenz der Prävalenz und der Inzidenz steigend, letztere lag vor 20 Jahren noch bei 7,19 % und vor 10 Jahren bei 7,67% (Institute for Health Metrics and Evaluation (IHME) 2015).

So soll es zuallererst Gelegenheit geben, die Erkrankung der COPD genauer kennen zu lernen. In der Ausformulierung der Fragestellung wird sich dann klären, welchen Beitrag zum Fortschritt im Umgang mit der Krankheit diese Promotionsarbeit anstrebt, gefolgt von Erläuterungen zu den dafür genutzten Instrumenten der beiden Biomarker Osteopontin und sRAGE (soluble Receptor for Advanced Glycation End products). Nach den Kapiteln zu Arbeitsweise und Ergebnissen werden letztere für sich und im Vergleich zu bereits existierender Literatur diskutiert werden, sodass eine Einordnung möglich wird.

## 2.1. Die Chronisch obstruktive Lungenerkrankung (COPD)

Für eine kurze Definition der Krankheit genügt es, an ihren Namen noch einige Begriffe anzufügen: sie ist nicht nur eine langfristige und mit Beeinträchtigung des Atemflusses verbundene, sondern auch eine vermeidbare, meist progrediente, in ihrer die Atemwege obstruierenden Eigenschaft irreversible Lungenerkrankung, die mit Entzündung der Bronchiolen und Zerstörung von Lungenparenchym einhergeht (vgl. Vogelmeier et al. 2018, S. 7; Herold 2019, S. 348).

Nachdem bereits Zahlen dazu genannt wurden, sei hier noch einmal betont, dass auch wenn die Prävalenz der Frauen sich der der Männer zunehmend angleicht, Betroffene derzeit noch mehr männlichen als weiblichen Geschlechts sind. Den Boden für die Erkrankung bereiten verschiedene Risikofaktoren (Tabelle 2), wobei Tabakrauchen mit fast 90% den wichtigsten ätiologischen Faktor darstellt (vgl. Herold 2019, S. 348; Vogelmeier et al. 2018, S. 7–8). Aufgrund der genetischen Prädisposition, die zusätzlich eine Rolle spielt, kommt es umgekehrt gesehen jedoch nur bei 20% der Raucher zur Erkrankung (Herold 2019, S. 348).

Genuine Faktoren	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Genetische Prädisposition (z.B. <math>\alpha_1</math>-Antitrypsin-Mangel)</li> <li>• Bronchiale Hyperreaktivität (Asthma)</li> <li>• Störungen des Lungenwachstums bzw. der Lungenentwicklung</li> </ul>
Exogene Faktoren	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Inhalativer Tabakkonsum (auch passiv)</li> <li>• Berufsbedingte inhalative Noxen (verschiedene anorganische und organische Stäube, irritativ wirkende Gase)*</li> <li>• Umweltnoxen (Biomassenexposition, Luftverunreinigung)</li> <li>• Intrauterine und frühkindliche Einwirkungen</li> <li>• Atemwegsinfektionen (in der Kindheit)</li> <li>• Tuberkulose</li> <li>• Sozioökonomischer Status</li> </ul>
<p>* COPD als anerkannte Berufskrankheit:            → bei ehemaliger Tätigkeit im Bergbau:              Nr. 4111 bei Steinkohleabbau ab kumulativ 100 Feinstaubjahren,              Nr. 4101/4102 bei Pneumokoniose v.a. durch quarzhaltige Stäube            → Nr. 1315 durch Isocyanate            → Nr. 4302 durch chemisch-irritativ oder toxisch wirkende Stoffe</p>	

**Tabelle 2: Risikofaktoren für die Entwicklung einer COPD allgemein, daneben speziell aufgeführt die Noxen, die in Definitionen von Berufskrankheiten Berücksichtigung finden (in Anlehnung an Vogelmeier et al. 2018, 7, 70-72; Herold 2019, S. 349)**

Im Zusammenspiel von verschiedenen der genannten Faktoren beginnt ein pathophysiologischer Prozess. Dabei löst die inhalative Noxe eine chronische Entzündung in den kleinen Atemwegen aus, die zum einen eine vermehrte Schleimsekretion und zum anderen eine Zerstörung von Lungengewebe durch ein Ungleichgewicht zwischen Proteasen und Proteaseinhibitoren bedingt (vgl. Herold 2019, S. 349, Vogelmeier et al. 2006). Letzteres kann bei hereditärem  $\alpha_1$ -Antitrypsin-Mangel auch bereits primär vorliegen. Entzündungsintensität, Schleimproduktion, Zilienfunktion des respiratorischen Epithels und genanntes Gleichgewicht werden dabei negativ beeinflusst von

oxidativem Stress, u.a. ausgehend von in Zigarettenrauch enthaltenen reaktiven Sauerstoffmetaboliten (vgl. Herold 2019, S. 349, Vogelmeier et al. 2006). Infolge der Destruktion des Parenchyms finden Umbaureaktionen in Form von Fibrosierung statt und letztlich bleibt ein Gewebeverlust, der die Lunge in ihrer Stabilität und in ihrer Funktion für den Gasaustausch beeinträchtigt (vgl. Herold 2019, S. 349, Vogelmeier et al. 2006). Es kommt zunehmend, in Synergismus mit der Mukushypersekretion und Dysfunktion des Epithels, zur v.a. expiratorischen Verlegung der Atemwege mit Lungenüberblähung bzw. –emphysem und zu respiratorischer Insuffizienz mit Hyperkapnie und Hypoxämie (vgl. Herold 2019, S. 349, Vogelmeier et al. 2006).

Im Laufe dieses Fortschreitens der Erkrankung bleibt diese jedoch nicht auf die Lunge beschränkt, sondern kann sekundär zur Entwicklung von pulmonaler Hypertonie und Cor pulmonale führen (Herold 2019, S. 349). Daneben, um das Einstiegszitat zu konkretisieren, gibt es eine Reihe an systemischen Erscheinungen bzw. Krankheiten, die sich assoziiert zeigten, dazu gehören z.B. Gewichtsverlust, Muskelabbau, Osteoporose, Atherosklerose, tumoröse Erkrankungen und Depression (Vogelmeier et al. 2006, 893). Wie erwähnt, ist der Zusammenhang der COPD mit den Komorbiditäten und die genaue Rolle der systemischen Inflammation im Krankheitsgeschehen noch unklar (Vogelmeier et al. 2006, 893). Als mögliche ursächliche Faktoren für komorbide Erkrankung können jedoch daneben auch noch das Alter, das Tabakrauchen, chronische Hypoxie mit oder ohne Hyperkapnie und die Nebenwirkungen einer medikamentösen Therapie angesehen werden (Klemmer und Vogelmeier 2015, S. 4–5). Weitere Ausführungen zu den Begleiterkrankungen folgen im Rahmen der Komplikationen zum Ende dieses Kapitels.

Die pathophysiologischen Vorgänge finden ihre Entsprechungen im klinischen Bild der Erkrankung. Es kann vorausgehend wie begleitend eine chronische Bronchitis auffallen. Diese wurde von der World Health Organization (WHO) definiert als produktiver Husten während mindestens drei Monaten in zwei aufeinander folgenden Jahren (Vogelmeier et al. 2018, S. 7), inzwischen jedoch in die Diagnose einer COPD mit eingeschlossen und nicht mehr als eigenständiger Begriff verwendet. Neben diesem länger bestehenden Husten mit Auswurf ist als drittes Hauptsymptom einer COPD die Belastungsdyspnoe zu nennen, die mit den o.g. systemischen Auswirkungen zu schneller Ermüdung und verminderter Belastbarkeit führt (Herold 2019, S. 349). Je nach Erkrankungsdauer kann auch ein typischer Auskultationsbefund mit trockenen Nebengeräuschen und verlängertem Expirium erhoben sowie inspektorisch z.B. ein Fassthorax oder eine Zyanose sichtbar werden (Vogelmeier et al. 2018, S. 9–10; Vogelmeier et al. 2006, 893).

Der progressive Verlauf der Erkrankung ist dazu durchsetzt von mehr oder weniger häufig auftretenden Krankheitsspitzen. Eine akute Exazerbation (AECOPD) ist dabei definiert als „über [das

*normale] [...] Maß der Tagesschwankung hinausgehende (und > 24h anhaltende) Verschlechterung, die der Intensivierung der Therapie bedarf“* (Herold 2019, S. 349–350), meist infektgetriggert und kann bei mindestens zweimaligem Auftreten pro Jahr als rezidivierend bezeichnet werden (Vogelmeier et al. 2018, S. 14).

In der aktuellen Leitlinie von Vogelmeier et al. (2018) finden sich klare Empfehlungen zur Diagnostik bei COPD:

- „E1 Die Diagnose COPD soll anhand der Anamnese (einschließlich Expositionsanamnese), charakteristischer Symptome (Belastungsdyspnoe, Husten, Auswurf) und der Lungenfunktionsprüfung vor und nach Bronchodilatation gestellt werden.
- E2 Die COPD soll durch Ganzkörperplethysmographie (GKP), Blutgasanalyse (BGA), Diffusionskapazität für Kohlenmonoxid (DLCO), Bildgebung und standardisierte Belastungstests weiter charakterisiert werden.“

In der primären, spirometrischen Lungenfunktionsdiagnostik ist dabei vor allem die Erhebung des Tiffeneau-Indexes bzw. seiner beiden Komponenten, der forcierten Einsekundenkapazität (FEV<sub>1</sub>) und der forcierten Vitalkapazität (FVC), als Grundlage für die spätere Einordnung bzgl. des Krankheitsstadiums von Bedeutung. Bezüglich Bildgebung wird mit Blick auf mögliche Differentialdiagnosen und Komorbiditäten eine initiale Röntgen-Thorax-Aufnahme in zwei Ebenen empfohlen. Eine Computertomographie (CT) ist indiziert, falls infolgedessen weitere Abklärung von Befunden nötig oder eine Operation geplant wird (Vogelmeier et al. 2018, 10, 13-14). Als Belastungstest kommen schließlich noch z.B. der 6-Min.-Gehtest sowie Spiroergometrie zum Einsatz (Vogelmeier et al. 2018, S. 13) .

Neben diesen Punkten soll im Rahmen von Laboruntersuchungen aufgrund der therapeutischen Konsequenz bei allen, aber vor allem bei jungen Erkrankten unter 45 Jahren oder bei basalem panlobulärem Emphysem auf die Abklärung von hereditärem  $\alpha_1$ -Antitrypsinmangel geachtet werden (Vogelmeier et al. 2018, S. 14). Elektro- (EKG) und Echokardiogramm sind zur Abklärung von Komorbiditäten bzw. Differentialdiagnosen sowie Folgen der Lungenerkrankung sinnvoll (Vogelmeier et al. 2018, S. 15).

Mit erfolgter Diagnostik kann der Patient verschiedenen Erkrankungsstadien zugeordnet werden (s. Abbildung 2). Nach Diagnosestellung durch passende Anamnese, Symptome und einen Tiffeneau-Index nach Broncholyse von  $<0,7$ , wird der Schweregrad der obstruktiven Ventilationsstörung durch die  $FEV_1$  separat in die GOLD-Stadien I-IV eingeteilt (Arand 2017, S. 18). Seit 2017 wird dann, was

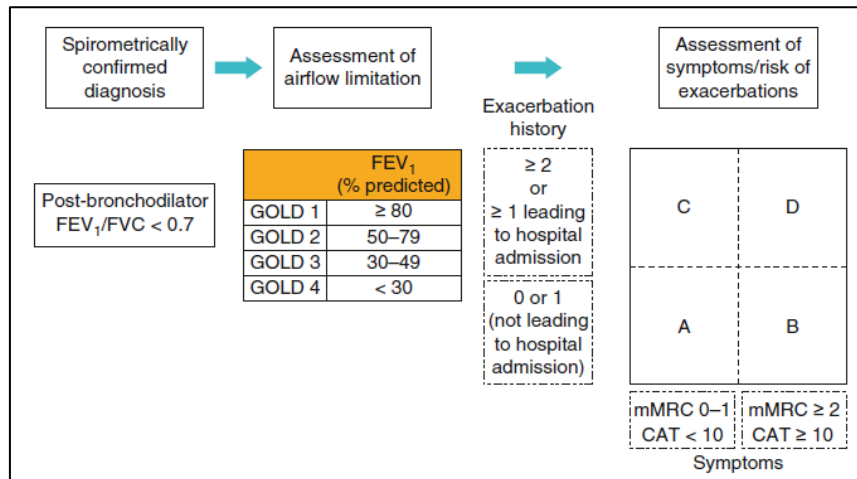


Abbildung 2: Diagnosestellung und Einstufungsprozess einer COPD mit GOLD-Stadien I-IV und ABCD-Klassifikation (aus: Vogelmeier et al. 2017, S. 561)

letztlich über die Therapie entscheidet, die Zugehörigkeit zu einer der vier Gruppen A-D einer Vierfeldertafel bestimmt, die in ihren Achsen über das klinische Bild der Erkrankung definiert wird. Dazu wurden zum einen Scores aufgenommen, die in ihren Punktwerten verschiedene Symptome über den COPD-Assessment-Test (CAT, Abbildung 3) oder den Schweregrad der Atemnot über die mMRC-Skala (modified Medical Research Council – Skala, Tabelle 3) widerspiegeln, zum anderen wird die Exazerbationshäufigkeit mit einbezogen (vgl. Arand 2017, S. 18).

Ebenfalls eine Schweregradeinteilung, aber vor allem auch prognostisch bedeutsam, ist der BODE-Index (Body mass index, Obstruction, Dyspnea, Exercise capacity) (Vogelmeier et al. 2018, S. 18), der in Abschnitt 3.1. genauer behandelt wird.

0	Ich leide nie unter Atemnot, außer bei starker Anstrengung
1	Ich leide unter Atemnot beim schnellen Gehen oder beim Bergaufgehen mit leichter Steigung
2	Ich gehe beim Gehen in der Ebene wegen Atemnot langsamer als Gleichaltrige oder benötige bei selbst gewählter Geschwindigkeit Pausen
3	Ich benötige eine Pause wegen Atemnot beim Gehen in der Ebene nach ca. 100m oder nach einigen Minuten
4	Ich bin zu kurzatmig, um das Haus zu verlassen oder mich an- und ausziehen

Tabelle 3: mMRC-Skala zur Einstufung der Atemnot. Die zu den links aufgeführten Scorewerten gehörigen Beschreibungen sind im Wortlaut der Befragungen im Rahmen der Studie wiedergegeben.

		Punkte						
Ich huste nie	0	1	2	3	4	5	Ich huste ständig	
Ich bin überhaupt nicht verschleimt	0	1	2	3	4	5	Ich bin völlig verschleimt	
Ich spüre keinerlei Engegefühl in der Brust	0	1	2	3	4	5	Ich spüre ein sehr starkes Engegefühl in der Brust	
Wenn ich bergauf oder eine Treppe hinaufgehe, komme ich nicht außer Atem	0	1	2	3	4	5	Wenn ich bergauf oder eine Treppe hinaufgehe, komme ich sehr außer Atem	
Ich bin bei meinen häuslichen Aktivitäten nicht eingeschränkt	0	1	2	3	4	5	Ich bin bei meinen häuslichen Aktivitäten sehr stark eingeschränkt	
Ich habe keine Bedenken, trotz meiner Lungenerkrankung das Haus zu verlassen	0	1	2	3	4	5	Ich habe wegen meiner Lungenerkrankung große Bedenken, das Haus zu verlassen	
Ich schlafe tief und fest	0	1	2	3	4	5	Wegen meiner Lungenerkrankung schlafe ich nicht tief und fest	
Ich bin voller Energie	0	1	2	3	4	5	Ich habe überhaupt keine Energie	
<b>SUMME</b>								

Abbildung 3: COPD-Assessment-Test™ (CAT) (GlaxoSmithKline (GSK) Unternehmensgruppe 2009)

Differentialdiagnostisch gilt es, vor allem gegenüber dem Asthma bronchiale abzuwägen - bei nicht klar zu trennender Symptomatik dieser beiden Krankheitsbilder wird auch von einem Asthma-COPD-Overlap (ACO) gesprochen (Vogelmeier et al. 2018, S. 21–22). Daneben können ähnliche Symptome bei u.a. Bronchiektasen, Bronchiolitis obliterans, Sarkoidose, Bronchialkarzinom oder Tuberkulose möglich sein; extrapulmonal muss hauptsächlich eine chronische Linksherzinsuffizienz, z.B. aber auch ein gastroösophagealer Reflux in Betracht gezogen werden (vgl. Vogelmeier et al. 2018, S. 21–22; Arand 2019, S. 575; Herold 2019, S. 351–352).

Die Therapie der COPD kann primär unterteilt werden in die beiden Bereiche der medikamentösen und nicht-medikamentösen Therapie.

Die Pharmakotherapie dient der

„Linderung der Symptome, [...] Reduktion von Frequenz und Schweregrad der Exazerbationen sowie [...] Verbesserung des Gesundheitsstatus und der Belastbarkeit. Mit keinem der vorhandenen Medikamente konnte bislang eindeutig ein Effekt auf den Verlust an Lungenfunktion über die Zeit nachgewiesen werden, [...]“ (Vogelmeier et al. 2018, S. 24)

Die größte Rolle spielen unterschiedlich lang wirksame Bronchodilatoren in Form von Anticholinergika und  $\beta_2$ -Sympathomimetika, wobei in der Dauertherapie langwirksame (LABAs = long-acting  $\beta_2$ -agonist, LAMAs = long-acting muscarinic antagonist) den kurzwirksamen (SABAs = short-acting  $\beta_2$ -agonist, SAMAs = short-acting muscarinic antagonist) Substanzen und, bezüglich der verschiedenen Darreichungsformen, inhalierbare den oralen Präparaten vorzuziehen sind (vgl.

Vogelmeier et al. 2018, S. 24–26; Herold

2019, S. 352–353). Tabelle 4 führt

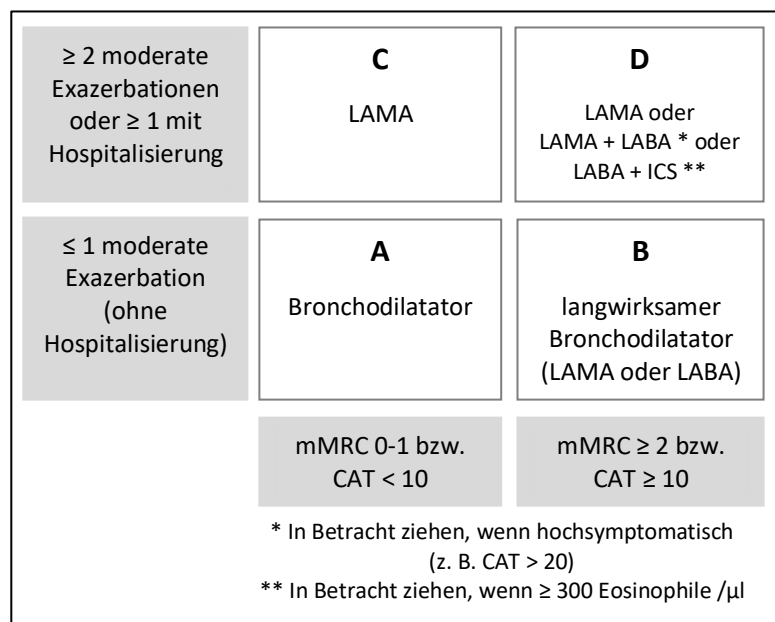
beispielhaft einige Wirkstoffe auf, die auch in verschiedenen, festen Kombinationen angeboten werden.

Damit können in der Dauertherapie von schwer erkrankten Patienten mit häufigen Exazerbationen inhalative Kortikosteroide (ICS) kombiniert werden, Steroide in oraler Form sollten nur bei der Behandlung einer AECOPD verwendet werden (vgl. Arand 2019, S. 578; Vogelmeier et al. 2018, S. 30).

Beispiele verwendeter Medikamente bei COPD		
Medikament	Wirkstoff	Wirkdauer
SABAs	Salbutamol	4-6h
	Fenoterol	4-6h
LABAs	Formoterol	12h
	Salmeterol	12h
	Indacaterol	24h
SAMAs	Ipratropium	6-8h
LAMAs	Aclidinium	12h
	Glycopyrronium	24h
	Tiotropium	24h
	Umeclidinium	24h
ICS	Beclometason, Budesonid, Fluticason	

**Tabelle 4: Beispielhaft aufgeführt einige Wirkstoffe zu den im Text genannten Medikamenten ggf. inkl. Wirkdauer (angelehnt an Vogelmeier et al. 2018, S. 33–34)**

Welches Medikament bzw. welche Kombination zum Einsatz kommt, entscheidet sich für die initiale Therapie wie bereits erwähnt auf der Basis der Einteilung in die Gruppen A-D, dargestellt auf Abbildung 4. Für die Follow-up-Therapie wurden Behandlungsalgorithmen für zwei Szenarien entworfen: je nachdem, ob trotz Initialtherapie unzureichend kontrollierte Symptome oder häufige Exazerbationen in Verbindung mit hohen oder niedrigen Werten an Eosinophilen die zentrale Rolle spielen, werden Empfehlungen für die weitere Behandlung mit Fokus auf verstärkter Bronchodilatation oder auf intensiverer antiinflammatorischer Therapie ausgesprochen (vgl. Arand 2019, S. 576–578). Zusätzliche



**Abbildung 4: Medikamentöse Therapie der COPD nach Einteilung in die Gruppen A-D (angelehnt an Arand 2019, S. 576)**

Substanzen, die dabei im Rahmen von letzterer in bestimmten Fällen verordnet werden können, sind zum einen der antientzündlich wirksame Phosphodiesterase-4-Inhibitor Roflumilast oder das Makrolidantibiotikum Azithromycin, dieses vor allem bei ehemaligen Rauchern (vgl. Arand 2019, S. 578; Vogelmeier et al. 2018, S. 30). Vor allem für nicht (mehr) rauchende Patienten mit  $\alpha_1$ -Antitrypsin-Mangel und einer FEV<sub>1</sub> 30-60% besteht daneben die Möglichkeit einer Substitutionstherapie (Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD), Inc. 2019, S. 61).

Neben der pharmakologischen Therapie ist eine Reihe von nichtmedikamentösen Behandlungsoptionen von Bedeutung, zusammengefasst in Tabelle 5. Die wichtigste, präventive wie das Fortschreiten der Erkrankung verlangsamende Maßnahme ist dabei die Ausschaltung der inhalativen Noxen (Vogelmeier et al. 2018, S. 37). Allem voran soll der Verzicht auf das Tabakrauchen erreicht werden (Vogelmeier et al. 2018, S. 37). Unterstützen kann eine Verhaltenstherapie in Kombination mit Nikotinersatzstoffen oder bzw. und die zur Entwöhnung zugelassenen Präparate Vareniclin und Bupropion, für derartige Programme konnte eine Steigerung der Langzeit-Abstinenzraten gezeigt werden (vgl. Vogelmeier et al. 2018, S. 37–40).

<b>Handlungsfelder:</b>	<b>Maßnahmen:</b>
Prävention	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <u>Vermeidung der inhalativen Noxe</u> - durch Raucherentwöhnung - durch Arbeitsplatzhygiene</li> <li>• Schutzimpfungen (Influenza, Pneumokokken)</li> <li>• Sanierung von Infektherden, Therapie von Komorbiditäten</li> </ul>
Nichtmedikamentöse Optionen	<ul style="list-style-type: none"> <li>• pneumologische Rehabilitation</li> <li>• Körperliches Training</li> <li>• Atemphysiotherapie</li> <li>• Patientenschulung</li> <li>• Ernährungsberatung</li> <li>• Hilfsmittelversorgung</li> <li>• Psychosoziale Therapieangebote</li> </ul>
Apparitive/operative Optionen	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Langzeitsauerstofftherapie</li> <li>• Nichtinvasive Beatmung (NIV)</li> <li>• Lungenvolumenreduktion</li> <li>• Lungentransplantation</li> </ul>
Palliative Therapie	<ul style="list-style-type: none"> <li>• bei weit fortgeschrittener Erkrankung: Kombination aus medikamentösen und nicht-medikamentösen Maßnahmen zur Symptomkontrolle</li> </ul>

**Tabelle 5: Zusammengefasste, nichtmedikamentöse Behandlungsoptionen bei COPD (Tabelle angelehnt an Vogelmeier et al. 2018, S. 38; weiterhin nach Vogelmeier et al. 2018, S. 41–56; Herold 2019, S. 352)**



Langzeitsauerstofftherapie und nichtinvasive Beatmung (NIV) dienen der symptomatischen Therapie einer akuten wie chronischen respiratorischen Insuffizienz im Krankheitsverlauf bei bereits optimaler kausaler Therapie der Grunderkrankung (Vogelmeier et al. 2018, S. 54). Indikation für ersteres wäre die hypoxämische Insuffizienz mit einem PaO<sub>2</sub> von ≤ 55 mmHg in Ruhe bzw. von ≤50–60 mmHg bei Cor pulmonale oder Polyglobulie sowie einer Hypoxämie im Schlaf, appliziert werden sollte der Sauerstoff mindestens 16h pro Tag (Vogelmeier et al. 2018, S. 54). Chronisch hyperkapnisch insuffiziente Patienten können zur Abatmung von CO<sub>2</sub> und Entlastung der Atemmuskulatur von einer außerklinischen Maskenbeatmung in 6-8h Intervallen profitieren (vgl. Vogelmeier et al. 2018, S. 53–57).

Invasive Maßnahmen können, sofern die für sie jeweils notwendigen Voraussetzungen und die Ansprüche an den Gesundheitszustand der Patienten erfüllt sind, die Lungenfunktion und die Symptome verbessern - Möglichkeiten sind dabei die Bullektomie, die operative Lungenvolumenreduktion, die endoskopische Lungenvolumenreduktion mittels endobronchialen Ventilen oder Coils sowie eine Lungentransplantation (vgl. Vogelmeier et al. 2018, S. 48–52). Eingesetzt werden, abgesehen von der Bullektomie, die genannten Verfahren jedoch erst nach vorherigem Ausschöpfen der konservativen Therapiemöglichkeiten (vgl. Vogelmeier et al. 2018, S. 48–52).

Bei dem Auftreten von Komplikationen wie der AECOPD sind diagnostisches und therapeutisches Management noch einmal gesondert zu betrachten.

Die Symptomatik bei akuter Exazerbation kann von einer leichten Zunahme der o.g. Symptome mit oder ohne purulentes Sputum bis zu einer akuten respiratorischen Insuffizienz reichen (Herold 2019, S. 349–350). Je nachdem, auf welcher Stufe Leistungen des Gesundheitssystems gebraucht werden, wird unterschieden zwischen leichter, mittelschwerer, schwerer und sehr schwerer Exazerbation (Vogelmeier et al. 2018, S. 58). Eine leichte Exazerbation kann durch Eigenmedikation mit SABAs oder SAMAs erfolgreich kontrolliert werden, eine mittelschwere erfordert bereits die Verordnung eines systemischen Steroids und eventuell eines Antibiotikums, spielt sich aber auch noch im ambulanten Setting ab (Vogelmeier et al. 2018, S. 58). Schwere Exazerbationen erfordern dagegen die stationäre Aufnahme, sehr schwere sogar auf Intensivstation bzw. Intermediate Care Unit (vgl. Vogelmeier et al. 2018, S. 58). Als wichtige Differential- bzw. zusätzliche Diagnosen gilt es, eine akute kardiale Dekompensation und ein akutes Koronarsyndrom, ebenso wie Pneumonie, Pneumothorax sowie eine Lungenembolie auszuschließen (vgl. Vogelmeier et al. 2018, S. 58).

Therapeutisch setzt man zusätzlich zur Dauertherapie auf den zeitlich limitierten Einsatz von kurzwirksamen Bronchodilatoren, von systemischen Steroiden und, in bestimmten Konstellationen in Bezug auf vor allem Aspekt des Sputums und Schwere der Exazerbation, von Antibiotika (vgl. Vogelmeier et al. 2018, S. 59–62). Im Rahmen der symptomatischen Therapie ist u.a. auf

Sauerstoffgabe zu achten, ggf. auch als High-Flow-Sauerstoff (Vogelmeier et al. 2018, S. 64). V.a. bei hyperkapnischem Atemversagen mit Azidose steht wie bereits genannt die NIV zur Verfügung, in sehr schweren Fällen kann, soweit möglich, auch auf extrakorporale CO<sub>2</sub>-Elimination zurückgegriffen werden (vgl. Vogelmeier et al. 2018, S. 63–66).

Auch eine Art der Komplikation, für Verlauf und Prognose der Erkrankung sehr bedeutsam und leitliniengerecht zu therapieren sind die Komorbiditäten bei COPD, denn: „Die Mehrzahl der Patienten verstirbt nicht an der COPD, sondern an kardiovaskulären Erkrankungen und am Lungenkarzinom.“ (Vogelmeier et al. 2018, S. 67) In Zahlen ausgedrückt, spiegelt sich das in einem 2,5-fach höheren Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen und einem 2- bis 6-fach höheren Risiko für ein Bronchialkarzinom bei COPD-Patienten wider (Vogelmeier et al. 2018, S. 68). Doch wie bereits in den Ausführungen zur Pathophysiologie erwähnt, sind das bei weitem nicht die einzigen assoziierten Erkrankungen. Divo et al. stellten 2012 einen Mittelwert von allg. 6 Begleiterkrankungen pro COPD-Patient fest, und für 12 Krankheitsentitäten konnte im Rahmen dieser Studie eine Erhöhung des Sterberisikos nachgewiesen werden. Das wurde für die Bildung des Komorbiditätsindex COTE (COPD specific comorbidity test) genutzt (s. Tabelle 6), der vor allem ab einer Anwendung über mind. 18 Monate Beobachtungszeit positiv mit dem Sterberisiko korreliert, quantifizierbar auf das 2,2-fache Risiko ab einem Wert von mindestens 4 Punkten (Divo et al. 2012, S. 156). Der COTE-Index kann neben dem BODE-Index (siehe Abschnitt 3.1.), oder noch besser in Kombination mit letzterem (Divo et al. 2012, S. 158), also auch ein Mittel der Prognoseeinschätzung sein und verdeutlicht noch einmal die Rolle der Komorbiditäten.

Comorbidity	Hazard Ratio	Point Assignment
Lung, esophageal, pancreatic, and breast* cancer	>2.00	6
Anxiety*	13.76	6
All other cancers		2
Liver cirrhosis	1.68	2
Atrial fibrillation/flutter	1.56	2
Diabetes with neuropathy	1.54	2
Pulmonary fibrosis	1.51	2
Congestive heart failure	1.33	1
Gastric/duodenal ulcers	1.32	1
Coronary artery disease	1.28	1

Hazard ratio <1.5 = 1, ≥1.5 = 2, and 6 for lung, pancreatic, esophageal, and breast cancer, similar to the value assigned in the Charlson Comorbidity.  
\*Valid on the female population only.

**Tabelle 6: Die signifikant mit einem erhöhtem Sterberisiko korrelierenden Komorbiditäten bei COPD und die Punktwerte, mit denen sie in den COTE-Index eingehen (Divo et al. 2012, S. 159)**

## **2.2. Biomarker**

### **2.2.1. Definition des Begriffs und Einblick in die Studienlage zur bisherigen Rolle von Biomarkern in der Forschung zur COPD**

Nach der Definition der FDA-NIH Biomarker Working Group aus dem Jahr 2016 kann unter einem Biomarker folgendes verstanden werden:

„A defined characteristic that is measured as an indicator of normal biological processes, pathogenic processes, or responses to an exposure or intervention, including therapeutic interventions. Molecular, histologic, radiographic, or physiologic characteristics are types of biomarkers.“

Es handelt sich um einen objektiv und reproduzierbar quantitativ messbaren Parameter, der ohne zwingende Übereinstimmung mit der subjektiven Verfassung oder den Symptomen des Patienten Rückschlüsse auf biologische Abläufe erlaubt (Strimbu und Tavel 2010). Damit finden sich in der Vielfalt der eingeschlossenen Merkmale zum Beispiel Zellzahlen, Proteine, Nukleinsäuren und andere Moleküle in verschiedenen Medien wie Plasma oder Serum, Ausatemluft, Sputum, Flüssigkeit der Bronchioalveolären Lavage oder bioptischem Material (vgl. Stockley 2014, S. 174). Genauso können darunter aber auch ein klinisch erhobener Parameter wie ein Lungenfunktionswert, Scorewerte oder Befunde und Messwerte aus bildgebenden Verfahren verstanden werden (vgl. Stockley 2014, S. 174). Der gewählte Marker sollte daneben eine Reihe von Anforderungen erfüllen – er sollte nicht nur sicher, präzise und unabhängig von Faktoren wie Alter oder Geschlecht, sondern auch ökonomisch und technisch umsetzbar in der Bestimmung sein und mit dem Therapieerfolg korrelieren (Hollander et al. 2017, S. 455–456). Schließlich muss er für den klinischen Einsatz auch einen Mehrwert gegenüber bisherigen Methoden mit sich bringen sein und das Outcome der Patienten verbessern (Hollander et al. 2017, S. 455–456).

Für die COPD, angesichts der genannten Unklarheiten bezüglich der Pathophysiologie und des Zusammenhangs mit Komorbiditäten, den verschiedenen Phänotypen der Erkrankung und dem Mangel an nutzbaren validen Parametern zur frühen Diagnostik, Einschätzung der Krankheitsaktivität und zur Therapiesteuerung und -entwicklung, barg und birgt dieses Konzept Potenzial (Sin et al. 2015, S. 1162–1163). Denn bis dato ist der einzige dafür gebrauchte Biomarker und Angelpunkt der Lungenfunktionswert der FEV<sub>1</sub> (Cherneva und Kostadinov 2018, S. 352). Dieser spiegelt jedoch unter anderem zu wenig den tatsächlichen Zustand des Lungenparenchyms, die Krankheitsaktivität und – progression und die Lebensqualität der Patienten wider und berücksichtigt nicht die Last der

Komorbiditäten (vgl. Cherneva und Kostadinov 2018, S. 352; Stockley et al. 2018). Leider stehen bisher den großen Aufwendungen über die letzten 20 Jahre noch wenige hinzugewonnene, klinisch nutzbare Erkenntnisse gegenüber - trotz der großen Zahl an Forschungsarbeiten hat mit der Eosinophilenzahl im Blut nur ein Marker Eingang in den klinischen Alltag gefunden (vgl. Sin et al. 2015, S. 1162–1163; Stockley et al. 2018, S. 2). Daneben wurde Plasma-Fibrinogen 2015 von der amerikanischen Food & Drug Administration (FDA) bzw. dem COPD Foundation Biomarker Qualification Consortium (CBQC) zu einem sogenannten „Drug Development Tool“ erklärt, einem prognostischen Biomarker zur Entwicklung von neuen Medikamenten für die COPD (Miller et al. 2016). Es folgte die Anerkennung des St. George’s Respiratory Questionnaire (SGRQ, näheres siehe 4.1.3) und des 6-Minuten-Gehtests, für die Qualifikation von sRAGE als Emphysemmarker müssen zunächst noch die technischen Voraussetzungen für standardisierte Tests geschaffen werden (COPD Foundation 10.01.2017). Die European Medicines Agency (EMA) folgte lediglich in der Anerkennung von Fibrinogen als prognostischem Marker (Cherneva und Kostadinov 2018).

Probleme bei der Entwicklung eines neuen Biomarkers stellten unter anderem dar (vgl. Stockley et al. 2018; Sin et al. 2015; Hollander et al. 2017, S. 455):

- Trotz signifikanter Unterschiede kann es zu großen Überschneidungsbereichen bei den Messergebnissen in COPD- und Kontrollgruppen auftreten, was die diagnostische Qualität verschlechtert.
- Wenn auch statistisch signifikante Zusammenhänge mit einzelnen Biomarkern, die oft Teil komplexer biologischer Funktionskreisläufe sind, festgestellt werden, ist möglicherweise ihre Stärke für eine weitergehende Nutzung nicht ausreichend.
- Daneben kann es aufgrund des Studiendesigns an Reproduzierbarkeit der Ergebnisse mangeln, z.B. bei kleinen Kohorten, bei Verwendung von Untersuchungsmaterialien, für die es wenig standardisierte Messmethoden gibt, oder bei der Wahl vielfältig beeinflusster Merkmale als primäre Endpunkte.
- Gegebenenfalls ist der zusätzliche Nutzen im Vergleich zu einfacher erhebbaren Parametern zu gering oder die klinische Anwendbarkeit allgemein nicht gegeben.

Die in Bezug auf die COPD mit am häufigsten untersuchten Biomarker sind nach Stockley et al. Club cell protein 16 (CC-16), Surfactant protein D (SP-D), soluble Receptor for Advanced Glycation End products (sRAGE), C-reaktive Protein (CRP), Fibrinogen und Interleukin 6 (IL-6). Wenn sich auch bisher außer der Eosinophilenzahl kein Biomarker für sich genommen als tauglich für die klinische Praxis erwiesen hat, so sind doch für viele theoretisch nutzbare Zusammenhänge für Diagnostik und

Einschätzung der Krankheitsentwicklung nachgewiesen worden und so sieht Mannino in seiner Übersichtsarbeit 2019 mögliche Erfolge für die Zukunft unter anderem in der Kombination von serologischen Markern. Erprobt wurde das für verschiedene klinische Endpunkte z.B. bereits 2017 von Zemans et al. auf der Basis von zwei großen multizentrischen Kohortenstudien, COPDGene (Genetic Epidemiology of COPD) und ECLIPSE (Evaluation of COPD Longitudinally to Identify Predictive Surrogate End-points). Daneben scheinen Parameter aus dem Bereich der Bildgebung mittels hochauflösender Computertomographie vielversprechend, deren Erhebung jedoch u.a. aufgrund von Strahlenbelastung und Kosten bisher lediglich im wissenschaftlichen Rahmen stattfand. Dabei geht es zum Beispiel um die Erfassung und Charakterisierung früher Veränderungen im Lungenparenchym wie auch des späteren Emphysemtyps, Bronchiektasen und Verkalkungen der Koronarien, oder die Messung von bekannten wie neu konzipierten Werten in Bezug auf die Wanddicke, den Durchmesser oder die Stabilität der Atemwege (Mannino 2019, S. 146–147; Cherneva und Kostadinov 2018, S. 352–353).

## **2.2.2. Hintergründe der untersuchten Biomarker Osteopontin und sRAGE**

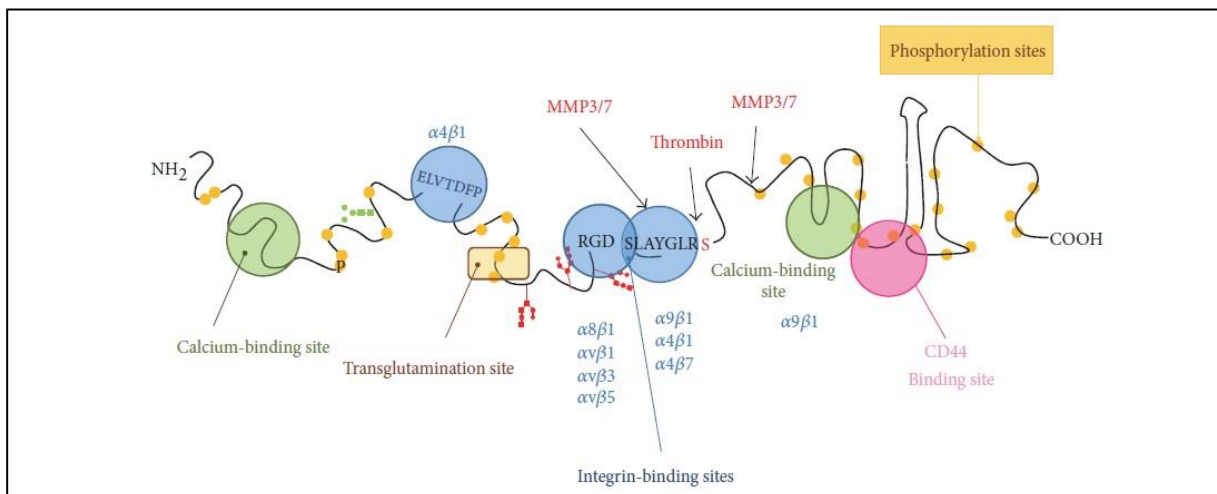
### **2.2.2.1. Osteopontin**

Mit Osteopontin wurde ein Protein ausgewählt, das aufgrund vielfältiger Modifikationsmöglichkeiten in ebenso vielfältigen Formen wie Funktionen auftritt – nach Wolak handelt es sich dabei eher um ein *„compound arrangement of multiple peptides that includes splice variants and several active proteolytic cleavage products, with immune regulatory and other functions“* (Wolak 2014, S. 330).

Osteopontin ist daher auch unter verschiedenen Namen bekannt, unter anderem wird es auch als Early T-lymphocyte activation 1 (ETA-1), Secreted phosphoprotein 1 (SPP-1) oder Bone sialoprotein 1 (BSP-1) bezeichnet (Wolak 2014, S. 328). Grundsätzlich findet sich Osteopontin ubiquitär verteilt und auch in Körperflüssigkeiten, wird jedoch vor allem von Zellen des Knochens (z.B. Osteoblasten, -klasten, -zyten), des Immunsystems (z.B. Makrophagen, T-Zellen, natürlichen Killerzellen (NK)) und Tumorzellen sowie in Fibroblasten, Epithel-, Endothel-, glatten Muskel- und Nervenzellen exprimiert (Gressner und Arndt 2013, S. 1029; Castello et al. 2017, S. 3). Dabei kann es sowohl als lösliches Zytokin, als Teil der extrazellulären Matrix wie auch intrazellulär vorkommen (vgl. Lund et al. 2009, S. 311–313; Wolak 2014, S. 328). Die folgende Darstellung der Struktur des Glykoproteins kann zur besseren Verständlichkeit anhand von Abbildung 5 nachvollzogen werden.

Osteopontin gehört zur auf Chromosom 4 codierten Proteinfamilie der SIBLINGs (Small Integrin-Binding Ligand N-linked Glycoproteins) und erreicht je nach Modifikation eine Größe zwischen 45 und 75kDa (vgl. Lund et al. 2009, S. 312). Daneben kann es den sogenannten Intrinsically disordered proteins (IDPs) zugerechnet werden, deren Organisation maximal das Niveau von Sekundärstruktur

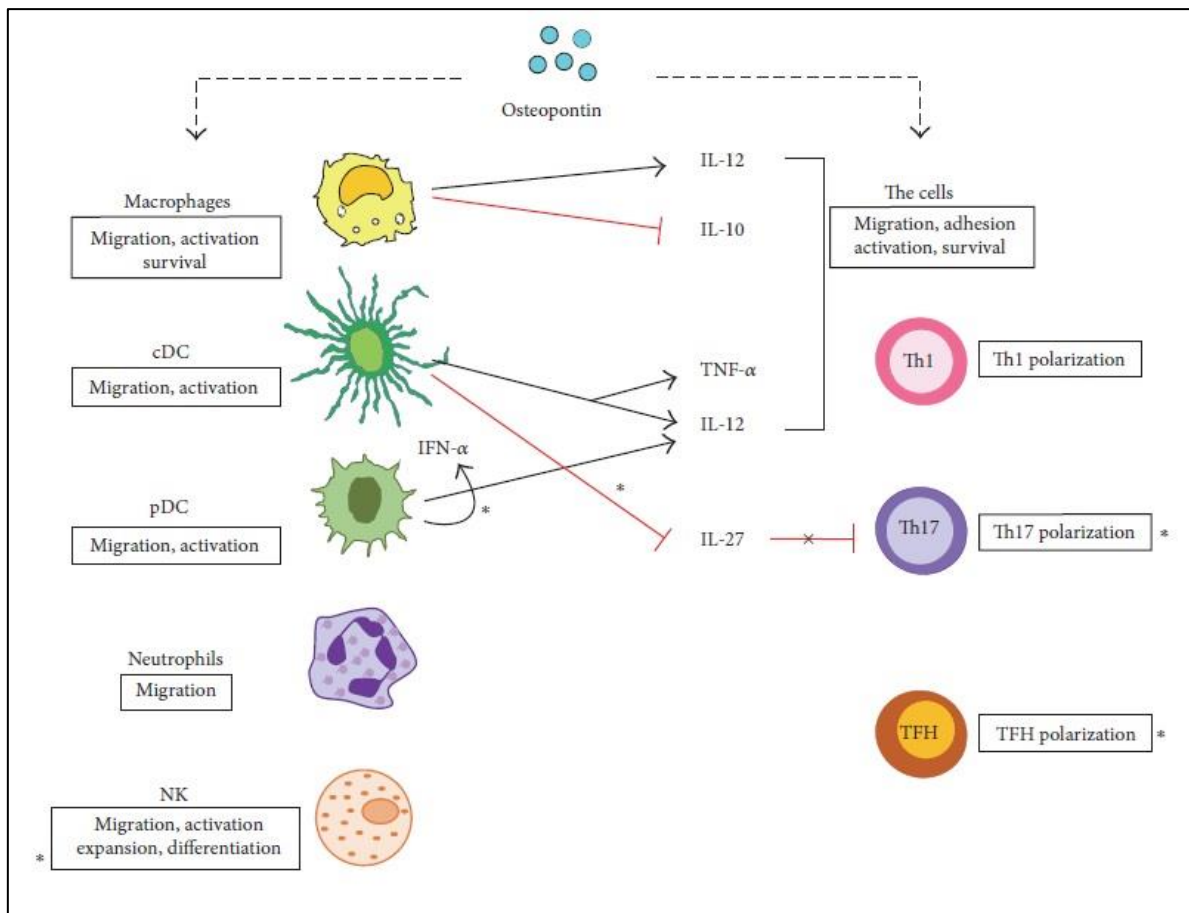
erreicht, und sowohl in flexibler, lang gestreckter, wie auch in stabiler, globulärer Form vorliegen (Kurzbach et al. 2013, S. 5167). Es entsteht mit OPN-a, -b und -c in bereits drei möglichen Splice-Varianten, die dann mit Glykosylierung, Phosphorylierung, Sulfatierung, proteolytischer Spaltung durch z.B. Thrombin oder Matrix-Metalloproteinasen und Crosslinking verschiedene Prozesse posttranslationaler Modifikation durchlaufen können, wodurch die Vielfalt an möglichen Osteopontin-Molekülen mit jeweils unterschiedlichen Aufgaben und Auswirkungen zustande kommt (vgl. Wolak 2014, S. 328; Lund et al. 2009, S. 312). Mögliche Bindungs- bzw. Interaktionspartner sind dann u.a. verschiedene Integrine, CD44-Isoformen, Calcium-Ionen, Heparin, sowie extrazelluläre Matrixproteine wie Fibronektin und Kollagen Typ I (vgl. Wolak 2014, S. 335; Lund et al. 2009, S. 312; Castello et al. 2017, S. 4). Bei den erstgenannten Integrinen, über die sehr viele der Funktionen des Osteopontins vermittelt werden und die auch namensgebend für die SIBLINGS sind, handelt es sich um Transmembranproteine zur Bindung von Zellen untereinander bzw. von Zellen an extrazelluläre Matrix (Gressner und Arndt 2013, S. 728). Ihre Bindungsaffinität ist dabei variabel bzw. über die Zelle steuerbar und durch intrazelluläre Konnexion mit Zytoskelett und Signaltransduktionsketten ermöglichen sie mechanische Verbindung wie auch Beeinflussung zellulärer Prozesse (Gressner und Arndt 2013, S. 728–729). Reguliert wird die Expression von Osteopontin auf genetischer Ebene über Polymorphismen in seiner Promotorsequenz und verschiedene Abschnitte zur Bindung von Transkriptionsfaktoren, Einflussfaktoren sind daneben zahlreiche inflammatorische Zytokine (z.B. IL-1 $\beta$ , IL-5, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ ), Hormone (z.B. Östrogene, Angiotensin II, Glukokortikoide, Cholecalciferol), Platelet-derived growth factor und oxidiertes LDL (vgl. Castello et al. 2017, S. 3; Lund et al. 2009, S. 314).



**Abbildung 5:** Der Aufbau von Osteopontin schematisch dargestellt in einer Grafik von Castello et al. (2017, S.5): zu sehen sind die wichtigsten Bestandteile und Bindungsdomänen des Proteins, blau markierte Bereiche binden Integrine, rosa Bereiche CD44-Antigene, grüne Bereiche Calcium. Pfeile markieren Stellen für proteolytische Spaltung. Als Beispiele für posttranslationale Modifikationen wurden dazu in Gelb Phosphorylierungen sowie in rot und grün Glykosylierungen dargestellt.

Zusammengefasst nimmt Osteopontin „eine wesentliche Rolle im Knochenstoffwechsel, in der Wundheilung, bei Entzündungen, bei der Gewebekalzifizierung, beim Tumorwachstum, der Tumorprogression und –metastasierung“ (Gressner und Arndt 2013, S. 1029) ein. Die jeweilige physiologische oder auch pathologische Aktivität wird, wie bereits angedeutet, bestimmt durch Ort und Modifikationsstatus:

- Osteopontin bindet neben Calcium auch Hydroxylapatit und spielt damit im Knochen, wo es stark exprimiert wird und auch für die Funktion von Osteoblasten und –klasten nötig ist, eine Rolle für Mineralisierung und Knochenumbau, in anderen Geweben entsprechend für ektope bzw. Gefäßkalzifizierung (vgl. Lund et al. 2009, S. 317; Wolak 2014, S. 328). Zusammen mit seiner im nächsten Punkt erläuterten Bedeutung für inflammatorische Prozesse und Remodeling, ergibt sich eine Verbindung zwischen Osteopontin und Atherosklerose bzw. KHK: sein Einfluss auf die Bildung wie auf die Stabilität von Plaques und Korrelationen zu u.a. Vorhandensein und Ausmaß der Erkrankungen waren in verschiedenen Studien nachweisbar (vgl. Wolak 2014).
- Eine wichtige Rolle spielt Osteopontin außerdem in Bezug auf das Immunsystem und wird stark an Orten von Entzündung und Gewebeumbau exprimiert (vgl. Wolak 2014, S. 328; Lund et al. 2009, S. 311). Seine proinflammatorische Wirkung findet ihre Umsetzung über den Einfluss auf zahlreiche Zellarten, wie in Abbildung 6 dargestellt. Als chemotaktisches Molekül bringt es Monozyten bzw. Makrophagen, neutrophile Granulozyten und natürliche Killerzellen zur Migration und zum Verbleib an Schauplätzen von Entzündungsreaktionen und Gewebereparatur (vgl. Castello et al. 2017, S. 2; Lund et al. 2009, S. 313–315). Erstere werden dadurch außerdem in Differenzierung, Zytokinproduktion und Phagozytose gefördert (vgl. Castello et al. 2017, S. 2; Lund et al. 2009, S. 313–315), und nach Induktion durch o.g. Einflussmoleküle wird Osteopontin selbst zu einem ihrer „Hauptprodukte“ (Lund et al. 2009, S. 314). NKs erfahren zusätzliche Aktivierung (Castello et al. 2017, S. 2), und dendritische Zellen werden ebenfalls in Migration, Reifung und Zytokinproduktion beeinflusst (Lund et al. 2009, S. 316). Auch in aktivierten T-Zellen findet eine starke Produktion statt und auch diese werden von Osteopontin geleitet bzw. in Proliferation und Differenzierung unterstützt (vgl. Castello et al. 2017, S. 2; Lund et al. 2009, S. 315–316). Insgesamt wird, unter anderem durch Veränderung des produzierten Zytokinprofils der Immunzellen in Form von vermehrt IL-12, TNF- $\alpha$  und INF- $\gamma$  sowie weniger IL-10, eine Differenzierung von T-Helferzellen (TH) zu TH<sub>1</sub> und damit eine vorwiegend zelluläre Immunantwort gefördert, pathogenetisch wichtig ist für autoimmune bzw. chronisch entzündliche Erkrankungen daneben die ebenso induzierte Entstehung von TH<sub>17</sub> (vgl. Castello et al. 2017, S. 2; Lund et al. 2009, 313, 316). Krankheiten, für die letztgenannter Zusammenhang



**Abbildung 6: Zusammenfassende Darstellung des Einflusses von Osteopontin auf verschiedene Zellen des Immunsystems mit dem jeweiligen Effekt von Castello et al. (2017, S. 3), DC = dendritische Zellen, NK = natürliche Killerzellen, TH = T-Helferzellen**

von Bedeutung ist, sind zum Beispiel Multiple Sklerose, Lupus erythematoses, Psoriasis, rheumatoide Arthritis oder chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (vgl. Lund et al. 2009, S. 311; Rittling und Singh 2015, S. 1639).

- Die letzten in o.g. Zitat genannten Punkte sind dem Thema der Tumorbilogie zuzuordnen, womit pathologische Auswirkungen von Osteopontin zur Sprache kommen. Osteopontin wird in verschiedenen Tumoren stark exprimiert und begünstigt das Überleben der Tumorzellen durch Immunevasion und antiapoptotische Wirkung, ihre Proliferation, außerdem Invasion, Neoangiogenese und Metastasierung (vgl. Gressner und Arndt 2013, S. 1029; Castello et al. 2017, S. 1–2; Lund et al. 2009, S. 317). Grundlage dafür ist unter anderem die Fähigkeit des Osteopontins zur Rekrutierung von Zellen des Immunsystems wie auch von Endothel- oder mesenchymalen Zellen, daneben können durch das Protein Fibroblasten und Makrophagen in tumorassoziierte Zelltypen mit veränderter Funktion umprogrammiert werden (vgl. Castello et al. 2017, S. 8–9).

Auffällig wurde die Rolle des Osteopontins zum Beispiel bereits bei Mamma-, Bronchial-, hepatozellulärem -, Prostata-, und kolorektalem Karzinom sowie beim malignem Melanom



(Castello et al. 2017, S. 3). Verschiedene Arten maligner Tumoren wurden bereits auf nützliche Korrelationen mit Osteopontin untersucht und eine Nutzung als diagnostischer oder prognostischer Biomarker bzw. zur Therapiesteuerung wird in Betracht gezogen (vgl. Castello et al. 2017, 3,6), gerade auch für das Bronchialkarzinom bei COPD-Patienten bieten sich hier interessante Möglichkeiten (vgl. Petta et al. 2018).

Nähere Ausführungen zu ausgewählten Komorbiditäten finden sich auch in Abschnitt 5. An dieser Stelle soll jedoch noch kurz die bisherige Rolle von Osteopontin in Bezug auf die COPD zur Sprache kommen. Die Datenbasis dafür ist gerade im Vergleich zu sRAGE noch deutlich schmaler, jedoch wird das Interesse am Protein aufgrund seiner möglichen Mitwirkung an Entzündungsprozessen im Rahmen einer COPD und aufgrund seiner gesteigerten Expression auch bei anderen Lungenerkrankungen (vgl. O'Regan 2003) deutlich. Bisher wurde unter anderem gezeigt, dass Osteopontin bei COPD-Patienten, wenn auch nicht immer signifikant, in höherer Konzentration vorliegt, als bei nicht-Erkrankten (vgl. Papaportfyriou et al. 2014; Lee et al. 2014) und dass ein Zusammenhang mit akuten Exazerbationen (vgl. Ma et al. 2011; Lee et al. 2014) und Emphyseentwicklung besteht (Shan et al. 2012).

#### 2.2.2.2. **sRAGE**

Das neben Osteopontin im Mittelpunkt stehende Protein sRAGE stellt eine lösliche Form des membranständigen Rezeptors RAGE dar und ist mit ihm funktionell verbunden, daher sollen im Folgenden beide Moleküle gleichermaßen im Fokus stehen.

Der Receptor for Advanced Glycation End products ist ein bereits 1992 von Schmidt et al. erstmals beschriebener und nach einer Gruppe seiner Liganden benannter Rezeptor, der in der Membran zahlreicher Zellarten des Körpers gefunden werden kann. Zum Beispiel kommt er auf der Oberfläche von glatten Muskelzellen, Nervenzellen und Endothelzellen, sowie betreffend das Immunsystem auf u.a. neutrophilen und eosinophilen Granulozyten, Makrophagen, Lymphozyten und Mastzellen vor, daneben auch auf Tumorzellen und, im Zusammenhang mit COPD bedeutsam, in der Lunge vor allem auf Pneumozyten Typ I (vgl. Palanissami und

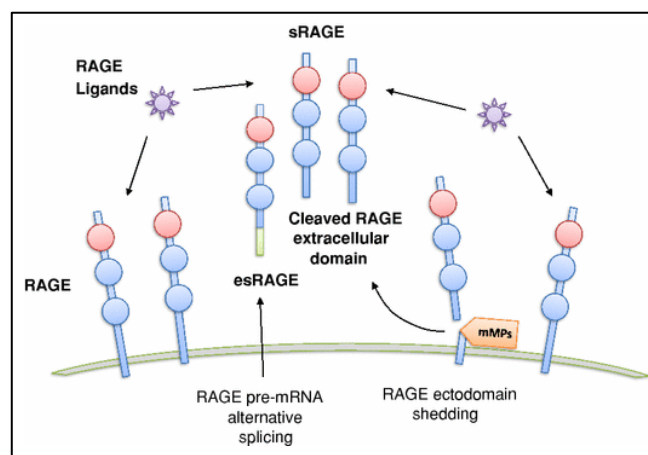


Abbildung 7: RAGE und die beiden Varianten esRAGE und sRAGE mit jeweiligem Entstehungsmechanismus (Vazzana et al. 2009)

Paul 2018, S. 296; Xie et al. 2013, S. 2186; Vazzana et al. 2009, S. 397; Oczypok et al. 2017, S. 41). Zugehörig zur Immunglobulin-Superfamilie und 35kDa schwer, ist seine membrangebundene Form (mRAGE) aufgebaut aus einer variablen Bindungsdomäne, zwei konstanten Domänen, einer Transmembranhelix und einer zytosolischen Domäne zur Signaltransduktion und ist in ihrer Struktur definiert auf Chromosom 6 (vgl. Oczypok et al. 2017, S. 40–41; Xie et al. 2013, S. 2186; Palanissami und Paul 2018, S. 296). Zwei lösliche Varianten entstehen durch alternatives Splicing im Falle des endogenous secretory RAGE (esRAGE), das anstelle von Transmembran- und zytosolischer eine veränderte C-terminale Domäne besitzt, oder durch proteolytische Spaltung des Rezeptors an der Membran durch Matrix-Metalloproteinasen (vgl. Yonchuk et al. 2015, S. 786; Xie et al. 2013, S. 2186; Palanissami und Paul 2018, S. 296; Selvin et al. 2013, S. 2116), wie noch einmal illustriert in Abbildung 7. Da sich Angaben in der Literatur bezüglich der zahlreichen Subtypen von membranständigem wie löslichem RAGE in Beschreibung und Nomenklatur unterschieden, sei an dieser Stelle lediglich auf die bereits 2008 von Hudson et al. dokumentierte Existenz von 20 Splice-Varianten verwiesen und für diese Arbeit sRAGE als zusammenfassender Begriff für die genannten löslichen Formen definiert.

RAGE wird unter physiologischen Bedingungen vermehrt im Zuge der Embryonalentwicklung und im Alter exprimiert (vgl. Yonchuk et al. 2015, S. 786). Im Erwachsenenalter findet normalerweise keine oder gewebsspezifisch nur geringe Produktion statt, außer in der Lunge – dort wird RAGE auch dann noch stark exprimiert (Oczypok et al. 2017, S. 41). Das Vorkommen von sRAGE ist ebenfalls abhängig vom betrachteten Gewebe und steht in einem Verhältnis von 0,59-1,79 zu RAGE (Xie et al. 2013, S. 2186). Bei Bindung von Liganden wird, als ein resultierender Effekt aus der intrazellulären Signaltransduktionskette, die Produktion von RAGE hochreguliert (Xie et al. 2013, S. 2186). Mögliche Bindungspartner sind unter anderem (vgl. Palanissami und Paul 2018, S. 296; Vazzana et al. 2009, S. 390; Yonchuk et al. 2015, S. 786; Xie et al. 2013, S. 2186):

- *Advanced Glycation End Products (AGEs), die „Endprodukte der nicht-enzymatischen Reaktion von reduzierenden Zuckern mit Aminogruppen von Peptiden, Lipiden oder Nukleinsäuren“* (Gressner und Arndt 2013, S. 23). Durch sog. Maillard-Reaktionen werden dabei kurz- wie langlebige organische Verbindungen irreversibel glykiert, also kovalent mit Zuckermolekülen verbunden, wobei auch ihr gesamter Aufbau verändert und ihre ursprüngliche Funktion beeinträchtigt wird (Gressner und Arndt 2013, S. 23). Das kann einem normalen Alterungsprozess entsprechen, bekommt jedoch bei vermehrtem Auftreten pathologische Bedeutung und spielt unter anderem eine große Rolle bei den Komplikationen eines Diabetes mellitus sowie der Entwicklung von Atherosklerose und malignen Tumoren (vgl. Gressner und Arndt 2013, S. 23; Bierhaus und Nawroth 2002; Palanissami und Paul 2018, S. 297). Angesichts nachgewiesenermaßen vermehrter Entstehung von AGEs im hyperglykämischen und unter

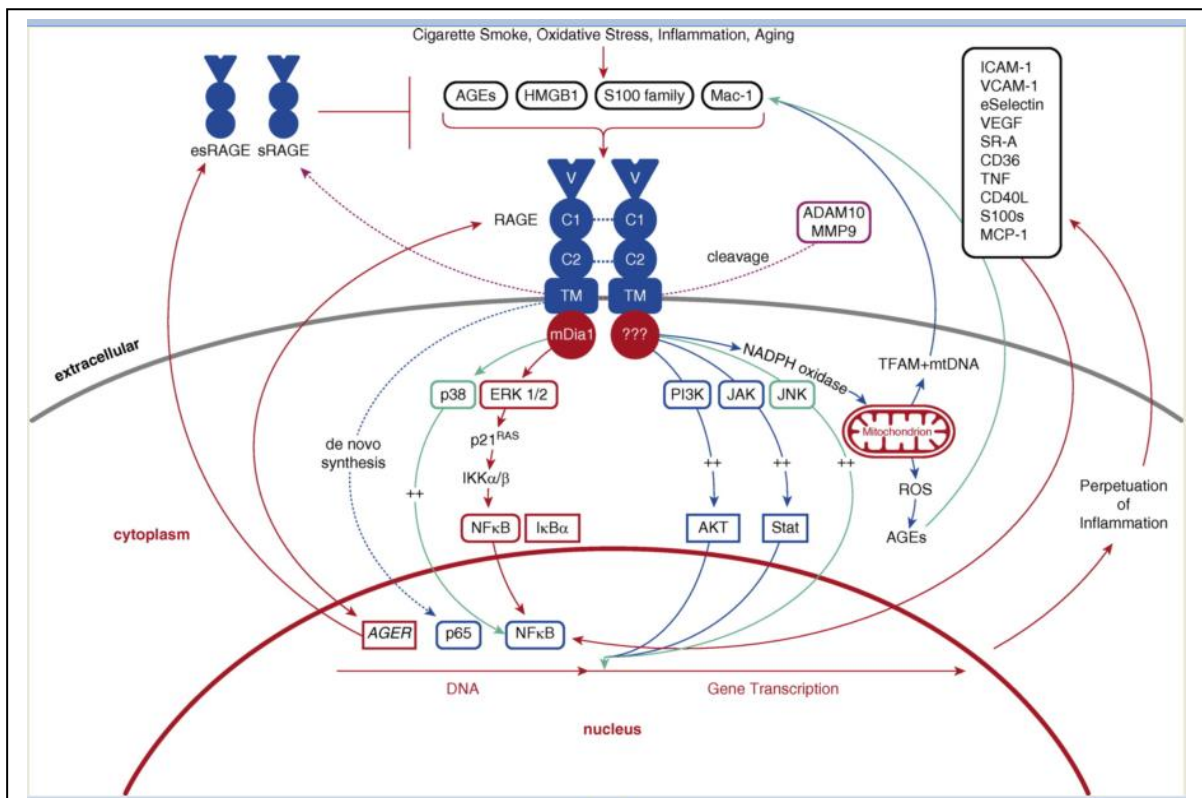
oxidativem Stress stehenden Milieu eines malignen Tumors mit pathogener Wirkung und vermehrter Expression von RAGE bei verschiedenen Krebsarten, wurde von Palanissami und Paul sogar die These aufgestellt, „*that this receptor-ligand axis provides the molecular link between certain pre-existing states [...] and onset of cancers.*“ (Palanissami und Paul 2018, S. 295).

- DAMPs (damage-associated pattern molecules), darunter HMGB-1 (high-mobility group protein 1, Amphoterin) und S100/Calgranulin. Ersteres spielt u.a. eine Rolle in Tumor- und ZNS-Entwicklung, zweiteres bei autoimmunen Erkrankungen wie rheumatoider Arthritis, Multipler Sklerose, chronisch entzündlichen Darmerkrankungen sowie Atherosklerose.
- $\beta$ -Faltblatt-Strukturen, mit Bedeutung bei Amyloidose allgemein oder speziell in Form von  $\beta$ -Amyloid bei der Alzheimer-Erkrankung.
- C3a als Teil des Komplementsystems.
- Advanced oxidation protein products (AOPPs).

Neben der Mitwirkung an zellulären Prozessen wie Proliferation, Apoptose, Autophagie und Zellmigration, spielt RAGE eine wichtige Rolle im Zusammenhang mit Entzündungsreaktionen (Xie et al. 2013, S. 2185) und damit, wie sich auch bereits in der Aufführung der Liganden andeutete, bei einer Reihe an Erkrankungen. Die meisten seiner Liganden entstehen bereits im Rahmen einer Immunreaktion, RAGE vermittelt ihre proinflammatorische Wirkung über verschiedene, komplexe, intrazelluläre Signalwege und kann damit entzündliche Reaktion triggern, unterhalten und verstärken (vgl. Xie et al. 2013, S. 2186; Yonchuk et al. 2015, S. 786). Letztlich wird dabei die Produktion von RAGE selbst, die einiger seiner Bindungspartner sowie die anderer inflammatorischer Zytokine gesteigert (Xie et al. 2013, 2186, 2192). Abbildung 8 bietet einen umfassenden grafischen Überblick dazu. sRAGE bindet seinerseits ebenfalls Liganden, was aber keinerlei weitere Reaktion nach sich zieht – im Gegenteil wird durch dieses Abfangen von Mediatoren eine weitere Aktivierung von RAGE verhindert und die entzündliche Reaktion gedämpft (vgl. Xie et al. 2013, S. 2186; Yonchuk et al. 2015, S. 786). Da nachgewiesen werden konnte, dass eine sehr hohe sRAGE-Konzentration oder eine RAGE-Blockade Entzündungen gegenüber protektive Wirkung haben und ihre Ausbreitung stoppen kann, wurde der Rezeptor als mögliches Ziel therapeutischer Intervention bei verschiedenen chronisch entzündlichen Erkrankungen interessant (vgl. Yonchuk et al. 2015, S. 786; Vazzana et al. 2009, S. 390).

Schließlich wurden RAGE und sRAGE auch bereits ausführlich im Zusammenhang mit der COPD erforscht. Dabei stellte sich heraus, dass sowohl RAGE-Liganden wie auch RAGE selbst bei den Erkrankten in erhöhten Konzentrationen auftreten (vgl. Yonchuk et al. 2015, S. 787). Patienten, die bestimmte Unterschiede in ihren RAGE-kodierenden Gensequenzen aufwiesen, waren auch

verschieden in ihrer Lungenfunktion, ihrer Krankheits- und Emphyseausprägung (vgl. Yonchuk et al. 2015, S. 788). sRAGE zeigte sich signifikant vermindert und dabei vor allem eng verbunden mit dem Ausmaß eines Emphysems (vgl. Yonchuk et al. 2015, S. 789; Cheng et al. 2013, S. 949), weitere Ausführungen dazu in Kapitel 5. Dementsprechend werden dem Rezeptor und seiner löslichen Form große Relevanz bezüglich der Entwicklung einer COPD und der eines Emphysems zugesprochen (vgl. Yonchuk et al. 2015, S. 790).



**Abbildung 8: Eine Übersicht zu Aufbau, Entstehung und Funktion von RAGE von Yonchuk et al.. Leider kann an dieser Stelle nicht weiter auf die einzelnen Signalwege eingegangen werden, daher folgen lediglich die in der genannten Arbeit verwendeten Abkürzungen:**

ADAM10 = a disintegrin and metalloproteinase 10; AGEs = advanced glycation end products; AGER = AGE receptor; C1 and C2 = constant extracellular RAGE domains; CD40L = CD40 ligand; ERK1/2 = extracellular signal-regulated kinase 1/2; eSelectin = endothelium-specific selectin; esRAGE = endogenous secretory RAGE; HMGB1 = high-mobility group box-1; ICAM-1 = intercellular adhesion molecule-1; IKK $\alpha$ / $\beta$  = I $\kappa$ B kinase  $\alpha$ / $\beta$ ; I $\kappa$ B $\alpha$  = inhibitor of nuclear factor- $\kappa$ B,  $\alpha$ ; JAK = Janus kinase; JNK = c-Jun N-terminal kinase; Mac-1 = macrophage antigen-1; MCP-1 = monocyte chemoattractant protein-1; mDia1 = mammalian diaphanous-1; MMP9 = matrix metalloproteinase 9; mtDNA = mitochondrial DNA; NF- $\kappa$ B = nuclear factor- $\kappa$ B; PI3K = phosphatidylinositol 3-kinase; SR-A = macrophage scavenger receptor class A; STAT = signal transducer and activator of transcription; TFAM = mitochondrial transcription factor A; TM = RAGE transmembrane domain; TNF = tumor necrosis factor; V = RAGE variable domain; VCAM = vascular cell adhesion molecule; VEGF = vascular endothelial cell growth factor (Yonchuk et al. 2015)

### **2.3. Fragestellung**

Im Rahmen dieser Arbeit sollte die Bedeutung der Biomarker Osteopontin und sRAGE für das Ziel eines besseren Verständnisses der COPD und einer differenzierteren Einordnung von Patienten hinsichtlich Schweregrad, Krankheitsaktivität, Prognose und Therapiemöglichkeiten geprüft werden. Materialien der COSYCONET-Studie, genauer gesagt anamnestisch und klinisch erhobene Daten sowie gewonnene Blutproben von COPD-Patienten zum Zeitpunkt der ersten Visite, boten dabei eine umfassende Grundlage für eine Querschnittsanalyse der Markerkonzentrationen und möglicher Zusammenhänge mit epidemiologischen, ätiologischen und Risikofaktoren, klinischem Bild, Stadium und diagnostischen Parametern. Insbesondere interessierte dabei die Klärung der folgenden Fragen:

- Bestehen signifikante Korrelationen zwischen der Biomarkerkonzentration und dem Krankheitsstadium, der Exazerbationshäufigkeit und der klinischen Situation, erfasst z.B. über die mMRC-Skala betreffend die Atemnot der Patienten oder über den SGRQ betreffend die alltägliche Einschränkung? Können Zusammenhänge zwischen einem Biomarker und der Lungenfunktion in Form von Parametern wie dem Tiffeneau-Index, FEV1, FVC, ITGV oder TLCO hergestellt werden?
- Stehen Osteopontin und sRAGE mit den Komorbiditäten der Patienten, entzündlicher Aktivität und kardiovaskulärem Risiko in Verbindung?
- Stehen die gefunden Zusammenhänge in Übereinstimmung mit bisherigen Ergebnissen zu den untersuchten Markern und wo liegen gegebenenfalls Differenzen?
- Erscheint eine klinische, patientenorientierte Nutzung der Biomarker in Anbetracht der hier gewonnenen Ergebnisse als sinnvoll?

### 3. Material und Methodik

#### 3.1. Die COSYCONET-Studie

Bezüglich aller anamnestischen und klinischen Daten sowie untersuchten Blutproben liegen dieser Arbeit Erhebungen im Rahmen der Studie COSYCONET (COPD and Systemic consequences-Comorbidities Network) des Kompetenznetz Asthma und COPD (AsCoNet) zugrunde.

Das Fundament des Projektes COSYCONET bildet eine prospektive, multizentrische Kohortenstudie, in die insgesamt 2741 Patienten eingingen. Die Rekrutierung erfolgte von September 2010 bis Dezember 2013 in 31 Studienzentren in Deutschland. (vgl. Karch et al. 2016, S. 29–31). Die Patienten entsprachen folgenden Kriterien:

<u>Einschlusskriterien:</u>	<u>Ausschlusskriterien:</u>
<ul style="list-style-type: none"><li>• männlich oder weiblich</li><li>• Alter 40 Jahre oder mehr</li><li>• Diagnose einer COPD gemäß den GOLD-Richtlinien</li><li>• Schriftliches Einverständnis vor Einschluss</li><li>• Fähigkeit, die Anforderungen des Studienprotokolls physisch und geistig zu erfüllen</li><li>• Voraussichtliche Verfügbarkeit über die Studiendauer von 18 Monaten und Bereitschaft zu insgesamt 3 Visiten</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Zustand nach lungenchirurgischem Eingriff (z.B. Lungenvolumenreduktion, Lungentransplantation)</li><li>• Mittel- bis schwergradige Exazerbation in den letzten 4 Wochen vor Einschluss (orale Kortikosteroide, Antibiotika und/oder Krankenhausaufnahme erforderlich)</li><li>• Nachweis einer Tumorerkrankung der Lunge und diesbezügliche Behandlung</li></ul>

**Tabelle 7: Ein- und Ausschlusskriterien für die Patienten der COSYCONET-Studie (Biertz et al. o.J.a)**

Sie wurden nach dem initialen Einschluss erneut zu den Zeitpunkten 6, 18, 36 und 54 Monate später in umfangreichen Visiten untersucht. Dazu gehörte unter anderem eine ausführliche Anamnese, die wichtige Punkte wie die Exposition gegenüber Risikofaktoren für eine Lungenerkrankung, die klinische Manifestation ihrer COPD, in Anspruch genommene medizinische Beratung und Therapie sowie Komorbiditäten einschloss. Des Weiteren wurden Blut- und Urinproben gewonnen und breit gefächerte Untersuchungen der Lungen- und Herz-Kreislauffunktion durchgeführt (u.a. Spirometrie, Bodyplethysmographie, Elektro- und Echokardiographie, Messung von Knöchel-Arm-Index und Karotiden-Intima-Media-Dicke), es erfolgten anthropometrische und Bioimpedanz-Analysen, Blutgasanalysen und computertomographische Bildgebung. Daneben wurde klinisch und mithilfe von Fragebögen die Belastbarkeit der Patienten geprüft sowie Beeinträchtigung im Alltag auch im Hinblick auf psychische Belastung (Karch et al. 2016, S. 30; Jörres et al. 2010, S. 449).

Mithilfe all dieser erhobenen Daten und gewonnenen Materialien sollten mehrere Ziele erreicht werden. Als primäres Studienziel wurde das „Quantifizieren der Bedeutung extrapulmonaler Organmanifestationen und Störungen für den Verlauf der COPD“ (Jörres et al. 2010, S. 447)

formuliert. Auch in gegenteiliger Richtung ist der Einfluss von progredienter COPD auf die extrapulmonalen Komorbiditäten von Interesse, ebenso inwiefern systemische Entzündungsaktivität einen Mediator zwischen beidem darstellt. Als abbildenden Wert wählte man den Parameter des BODE-Index zur Beschreibung des klinischen Zustands und der Mortalität der Patienten und definierte einen Anstieg um einen Punkt als Krankheitsprogression und primären Endpunkt (vgl. Karch et al. 2016, S. 28–31; Jörres et al. 2010, S. 447). Inwiefern sich der klinische Zustand der Patienten im Index wiederfindet, kann bei Blick auf die eingehenden Variablen mit der jeweiligen Bewertung nachvollzogen werden (siehe Tabelle 8). Die Summe der Punkte erlaubt eine Einstufung in vier Quartile bzw. Risikogruppen von 0-2, 3-4, 5-6 und 7-10 Punkten. Den Einsatz zur Einschätzung der Sterblichkeit rechtfertigt ein Zusammenhang zwischen dem „Aufstieg“ in eine höhere Risikogruppe und einer höheren Mortalität, der von Celli et al. 2004 nachgewiesen werden konnte. Eine Erhöhung des Summenwertes um einen Punkt war außerdem mit einer Hazard Ratio von 1,34 für den Tod gleich welcher Ursache bzw. von 1,62 für einen Tod aus respiratorischen Gründen verbunden (Celli et al. 2004, S. 1009). In Beobachtungen über 3 Jahre mit wiederholten Bestimmungen des BODE-Index konnte auch von Ko et al. 2011 (S.270-271) gezeigt werden, dass vor allem der initial bestimmte Wert positiv mit Sterberisiko und Krankenhausaufnahmen korrelierte.

	PUNKTE			
	0	1	2	3
<b>Body-Mass-Index (BMI) [kg/m<sup>2</sup>]</b>	>21	≤21		
<b>Obstruction: FEV<sub>1</sub> [% Soll]</b>	≥65	50–64	36–49	≤35
<b>Dyspnea: mMRC Dyspnoe</b>	0–1	2	3	4
<b>Exercise capacity: 6-Min-Gehtest [m]</b>	≥350	250–349	150–249	≤149

**Tabelle 8: Variablen und zugehörige Punktwerte zur Bestimmung des BODE-Index (vgl. Vogelmeier et al. 2018, S. 18)**

Als sekundäre Studienziele wurden gesetzt (Jörres et al. 2010, S. 447):

- *„Erfassen des möglichen Einflusses von Geschlecht und Lebensstilfaktoren auf den Verlauf der COPD*
- *Bestimmen der kombinatorischen Muster extrapulmonaler Störungen bei COPD unterschiedlicher Schweregrade*
- *Erfassen des gemeinsamen Effekts der extrapulmonalen Störungen, des Geschlechts und der Lebensstilfaktoren auf die Krankheitsausprägung und Sterblichkeit von Patienten mit COPD*
- *Analyse der Beziehung zwischen dem Schweregrad einer COPD und dem Auftreten sowie zeitlichen Verlauf extrapulmonaler Störungen. Gibt es typische Sequenzen des Auftretens der verschiedenen Organstörungen?*
- *Erlaubt es die Kombination funktioneller Indizes, systemischer Marker und klinischer Diagnosen, bislang unbekannte Phänotypen der COPD zu definieren, die evtl. einer unterschiedlichen Verlaufskontrolle und Therapie bedürfen?“*

In insgesamt 13 Teilprojekten bilden sich noch weitere, umfassende Untersuchungen im Rahmen der COSYCONET-Studie ab (vgl. Karch et al. 2016, S. 28; Jörres et al. 2010, S. 447).

Die Leitung des Projekts liegt bei einem zentralen Komitee unter Prof. Dr. med. Claus Vogelmeier, Abteilung für Innere Medizin mit Schwerpunkt Pneumologie an der Philipps-Universität Marburg. Die zentrale Datenbank befindet sich an der Medizinischen Hochschule Hannover, deren Institut für Biometrie auch die referenzgebende statistische Auswertung zur Visite 1 und 3 vornahm. Die auch für die vorliegende Arbeit genutzte Biobank wurde an der Universität des Saarlandes in Homburg (Saar) angesiedelt, die Bilddatenbank an der Universität Heidelberg (vgl. Biertz et al. o.J.b, o.J.c). Die Studie COSYCONET wurde unter Clinical-Trials.gov (ID: NCT01245933) und GermanCTR.de (ID: DRKS00000284) registriert und von den zuständigen Ethikkommissionen der beteiligten Zentren genehmigt. Eine Förderung erfolgte durch das Bundesministerium für Bildung und Forschung (Förderkennzeichen 01 GI 0881) sowie durch nicht zweckgebundene Zuschüsse vonseiten der AstraZeneca GmbH, Bayer Schering Pharma AG, Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG, Chiesi GmbH, GlaxoSmithKline, Grifols Deutschland GmbH, MSD Sharp & Dohme GmbH, Mundipharma GmbH, Novartis Deutschland GmbH, Pfizer Pharma GmbH sowie der Takeda Pharma Vertrieb GmbH & Co. KG (vgl. Karch et al. 2016, 28, 35).

## **3.2. Konzentrationsbestimmung der Biomarker Osteopontin und sRAGE**

Zur Konzentrationsbestimmung der Biomarker Osteopontin und sRAGE in den Serumproben der Patienten wurde für diese Arbeit der Magnetic Luminex<sup>®</sup> Screening Assay verwendet. Dabei handelt es sich um einen Multiplex-Partikel-Immunoassay. Die Hintergründe dieses Messverfahrens sollen im Folgenden genauer erläutert werden.

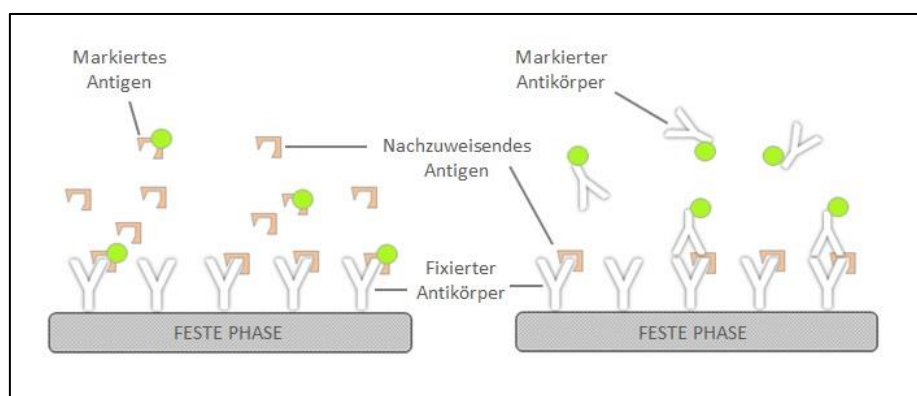
### **3.2.1. Hintergrund der Bestimmungsmethode**

Ein Immunoassay bezeichnet allgemein

„Bestimmungsmethoden [...], die unter Einsatz von Antigen-Antikörper-Reaktionen zur Bildung von Immunkomplexen führen, die entweder als Trübung [...] oder Lichtstreuung [...] direkt gemessen werden, oder die wegen der zusätzlichen Bindung von radioaktiven, fluoreszierenden, lumineszierenden Substanzen oder Enzymen (die lumineszierende Substanzen aktivieren oder aus Substraten Farbstoffe bilden) indirekt durch Detektion von radioaktiver oder Lichtstrahlung gemessen werden“ (Gressner und Arndt 2013, S. 709)



Diesem Nachweisverfahren liegt dementsprechend die immunologische Reaktion der Bindung eines Antikörpers mit der Region des Paratops an das qualitativ oder quantitativ nachzuweisende Antigen an der Struktur des Epitops und der Nachweis des daraus entstehenden Komplexes zugrunde (Gressner und Arndt 2013, S. 452). Je nachdem, ob nach Bindung eine Trennung von markierten und nicht-markierten Antigenen erfolgen muss, kann in homogene und heterogene Immunoassays unterschieden werden (Luttmann et al. 2014, S. 117; Gressner und Arndt 2013, S. 711). Auf letztgenannte soll hier näher eingegangen werden. Sie können auch als Festphasen-Immunoassays bezeichnet werden, da ein Komplexpartner, oft der antigenspezifische Antikörper, an eine feste Phase wie z.B. eine Röhrenwand, eine Mikrotiterplatte oder Mikropartikel (sog. Beads) fixiert vorliegt und damit im Ablauf des Messverfahrens Waschschritte zur Abtrennung von überschüssigen markierten oder unmarkierten Molekülen ermöglicht werden (vgl. Luttmann et al. 2014, S. 104–107; Gressner und Arndt 2013, S. 709–712). Zu diesem Antikörper werden in fester Konzentration markiertes Antigen und in zu bestimmender Konzentration unmarkiertes Antigen gegeben, welche um die Bindung am Antikörper konkurrieren- dann handelt es sich um einen sogenannten kompetitiven Assay, bei dem abnehmende Detektion der Markierung auf steigende Menge des Analyten in der Probe schließen lässt (vgl. Luttmann et al. 2014, S. 104–107; Gressner und Arndt 2013, S. 709–712). Alternativ kann in immunometrischen, auch sogenannten Two-site- oder Sandwich-Assays, das Antigen am fixierten Antikörper gebunden und über einen zweiten, markierten Antikörper an einer weiteren Bindungsstelle nachgewiesen werden (vgl. Luttmann et al. 2014, S. 104–107; Gressner und Arndt 2013, S. 709–712). Hierbei korrelieren Nachweissignal und Konzentration des Analyten in der Probe positiv miteinander (vgl. Luttmann et al. 2014, S. 104–107; Gressner und Arndt 2013, S. 709–712). Zur grafischen Verdeutlichung der verschiedenen Konzepte siehe Abbildung 9.



**Abbildung 9: Verbildlichung der Konzepte eines kompetitiven (links) und eines Sandwich-Immunoassays (rechts) (in Anlehnung an Gressner und Arndt 2013, S. 709)**

Wie oben bereits angesprochen, kann auf verschiedene Möglichkeiten zurückgegriffen werden, die Stoffkonzentration in eine ihr proportionale, messbare Variable zu übersetzen. Bei Markierung eines

Bindungspartners mit einem radioaktiven Isotop wie zum Beispiel dem  $\gamma$ -Strahler  $^{125}\text{I}$  wird die vorhandene Radioaktivität gemessen und es handelt sich um einen Radioimmunoassay (RIA) (vgl. Gressner und Arndt 2013, S. 1155).

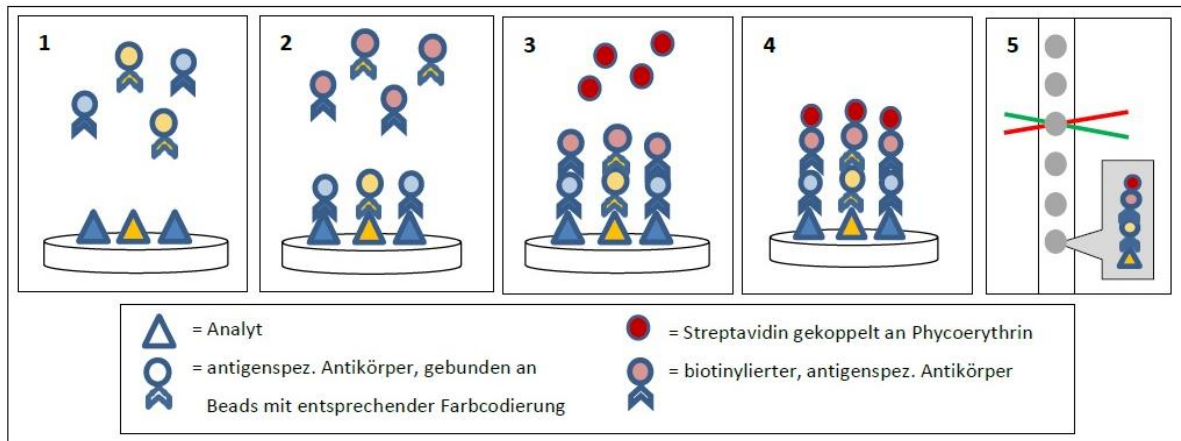
Bei Kopplung mit einem Enzym werden solche genutzt, deren katalysierte Reaktion mit dem Umsatz von optisch messbaren Farbstoffmolekülen verbunden ist (EIA, Enzymimmunoassay; als heterogener Immunoassay ELISA, Enzyme-linked Immunosorbent Assay) (Gressner und Arndt 2013, S. 449). Zur Markierung verwendet werden außerdem z.B. Fluorophore als Moleküle, die auf verschiedene Weisen zugeführte Energie in Form von Licht wieder emittieren (FIA, Fluoreszenzimmunoassay) (Gressner und Arndt 2013, S. 505–507; Luttmann et al. 2014, S. 74–78). Dessen Messung kann unter anderem mittels Fluoreszenzspektrometrie oder Durchflusszytometrie erfolgen. (vgl. Gressner und Arndt 2013, S. 1241–1242; Luttmann et al. 2014, S. 74–78).

Bei letzterer werden Zellen einzeln durch einen Laserstrahl geführt und dabei Streuung des Lichts bzw. emittierte Strahlung detektiert (vgl. Gressner und Arndt 2013, S. 419; Luttmann et al. 2014, S. 74–78). Dadurch werden Zählung, Beschreibung bzgl. Größe und Granularität und Charakterisierung von Oberflächen- oder auch intrazellulären Antigenen ermöglicht (vgl. Gressner und Arndt 2013, S. 419; Luttmann et al. 2014, S. 74–78).

Im Falle der Immunoassays ist die Durchflusszytometrie vor allem für den Partikel-Immunoassay (PIA) bedeutsam. Diese Bezeichnung steht für den bereits oben genannten Immunoassay, bei dem Antikörper auf Mikropartikeln verankert sind. Das hebt den PIA insofern von den Immunoassays mit anderen festen Phasen ab, da die Beads aus verschiedenen Materialien bestehen und mit vielfältigen Eigenschaften versehen werden können wie verschiedenen Größen, Farbstoffen und an die Oberfläche gekoppelten Molekülen- das erlaubt zum Beispiel nicht nur Singleplex-, sondern auch Multiplex-Analysen (vgl. Luttmann et al. 2014, S. 120–124; Reslova et al. 2017, S. 1–2). Darunter versteht man die Konzentrationsbestimmung mehrerer Antigene in einem Reaktionsansatz (auch: Luminex® xMAP technology, wobei x für den Analyten, MAP für Multi-Analyte Profiling steht) (Luttmann et al. 2014, S. 121). Fluoreszenzbasierte Nachweismethoden spielen hierbei eine entscheidende Rolle: es können in einer Messung sowohl die verschiedenen Färbungen der Mikropartikel unterschieden werden, als auch die Emissionen der zur Markierung des Analyten verwendeten Fluorophore (vgl. Luttmann et al. 2014, S. 120–124; Reslova et al. 2017, S. 1–2).

Der genannte homogene Immunoassay läuft ebenfalls nach einem kompetitiven Prinzip ab, markiertes und zu messendes, nicht-markiertes Antigen konkurrieren dabei um einen Antikörper (vgl. Gressner und Arndt 2013, S. 711). Durch die Bindung stellt sich eine Veränderung im Verhalten des Signalmoleküls ein - bei Enzymen wäre das z.B. deren Aktivität, bei fluoreszierenden Farbstoffen deren Emission (vgl. Gressner und Arndt 2013, S. 711). Für den Nachweis müssen ungebundene

Antigene hier nicht abgetrennt werden. Der homogene Immunoassay wurde für diese Arbeit nicht verwendet und wird hier daher auch nicht weiter ausgeführt.



**Abbildung 10:** Schematische Darstellung des Funktionsprinzips des Magnetic Luminex® Screening Assay (angelehnt an Bio-Techne, R&D Systems, Inc. 2019b): Im ersten Schritt werden verschiedenfarbige, mit antgenspezifischen Antikörpern beladene Beads zu den unterschiedlichen Molekülen gegeben, die detektiert werden sollen. Nach Bindung werden erneut passende Antikörper, diesmal gekoppelt an Biotin, hinzugefügt (2). Schließlich bindet als drittes Streptavidin mit angehängtem Phycoerythrin (PE) an Biotin (3-4). Der Nachweis des jeweiligen Analyten, codiert durch die Farbe des Beads, sowie dessen Menge, codiert durch die Stärke an PE-Signal, erfolgt nach Anregung durch zwei verschiedene Laser im Analysegerät anhand der darauf folgenden Lichtemission (5).

### 3.2.2. Der Magnetic Luminex® Screening Assay

Der Magnetic Luminex® Screening Assay arbeitet nach dem Prinzip eines Multiplex-Partikel-Immunoassays. In Abbildung 10 kann der Prozess visuell nachverfolgt werden.

Als feste Phase dienen Polystyrol-Mikropartikel (MagPlex®, 6,5 µm), die durch Einfärbung mit verschiedenen Fluoreszenzfarbstoffen als Messinstrumente jeweils eigenständiger

Nachweisreaktionen unterscheidbar gemacht und auf denen Antikörper gegen die quantitativ nachzuweisende Substanz fixiert werden (Reslova et al. 2017, S. 2–3). Für den Ansatz, auf dem diese

Arbeit basiert, wurden Bead-Populationen mit Antikörpern gegen Angiopoietin-like-4 (ANGPTL4), dem Growth differentiation factor-15 (GDF-15), Osteopontin und dem soluble Receptor for Advanced

Glycation End products (sRAGE) verwendet. Zusätzlich sind die Mikropartikel zur Abtrennung der festen Phase während den Waschschrinen und für den finalen Messvorgang mit magnetischen

Eigenschaften versehen, was durch den Einbau einer Magnetit-Schicht erreicht wird (Reslova et al.

2017, S. 2–3). Nach Zugabe von Probenmaterial, Bindungsprozess von gesuchtem Molekül an

immobilisierten Antikörper und ersten Waschschrinen folgt die Zugabe und Bindung der zweiten, mit

Biotin gekoppelten Antikörper. Nach weiteren Waschschrinen und dem Hinzufügen von Streptavidin,

welches mit dem Nachweisfarbstoff Phycoerythrin (PE) gekoppelt ist, bindet Biotin den Streptavidin-

PE-Komplex (Reslova et al. 2017, S. 2–3; Bio-Techne, R&D Systems, Inc. 2019b; USA & Canada | R&D Systems, Inc. und UK & Europe | R&D Systems Europe, Ltd 2014, S. 1). Das Streptavidin-Biotin-System dient letztlich zur Erhöhung der Sensitivität des Nachweisverfahrens: durch vier Bindungsstellen des Streptavidins für Biotin und eine hochaffine Bindung zwischen den beiden Molekülen lässt sich eine Signalverstärkung bewirken (Gressner und Arndt 2013, S. 261; Luttmann et al. 2014, S. 125; Bio-Techne, R&D Systems, Inc. 2019a).

Nach letzten Waschschritten und Suspendierung in Pufferlösung kann nun der Messvorgang im Luminex MAGPIX® Analyzer erfolgen. Bei der Verwendung magnetischer Beads und dem MAGPIX®-Gerät handelt es sich nicht um ein durchflusszytometrisches Verfahren, bei dem die Mikropartikel einzeln nacheinander analysiert werden. Sie werden stattdessen durch einen Magneten in eine Schicht gebracht und gleichzeitig ausgewertet (Reslova et al. 2017, S. 2). Durch Anregung mit einem roten Laser (635nm) und Registrierung des infolgedessen emittierten Lichtspektrums werden die Bead-Populationen identifiziert, nach Anregung mit einem grünen Laser (525–532 nm) kann das Emissionssignal des Markerfarbstoffs aufgezeichnet werden (bei PE mit einem Peak bei 578nm) und ist der Stoffkonzentration des Analyten in die Probe proportional (vgl. Bio-Techne, R&D Systems, Inc. 2019a; Reslova et al. 2017, S. 2; Gressner und Arndt 2013, S. 1186).

### **3.2.3. Methodisches Vorgehen**

In einer vorbereitenden Phase wurden Serumproben von Patienten, deren Entnahme zum Zeitpunkt der ersten Visite erfolgte, aus der Biobank entnommen und in jeweils drei Anteile aliquotiert. Davon diente ein Teil für die Messungen im Rahmen dieser Arbeit. Die Proben wurden vorher wie nachher stets bei -80°C gelagert.

Die Messung wurde mit folgenden Materialien und entsprechend den Vorgaben aus den Datasheets der Test-Kits der Firma R&D Systems® (Bio-Techne®) durchgeführt (USA & Canada | R&D Systems, Inc. und UK & Europe | R&D Systems Europe, Ltd 2014):

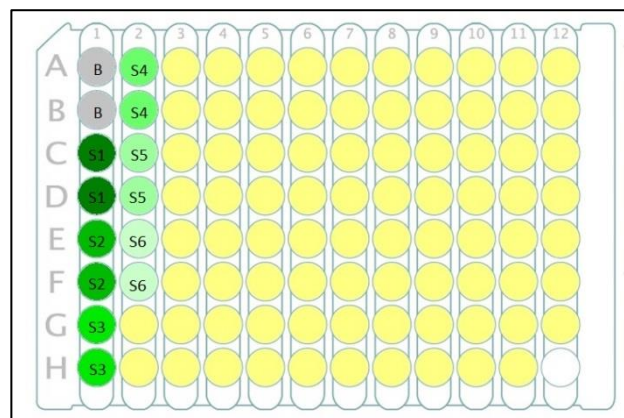
- Im Kit enthalten: vorgemischter Mikropartikel-Cocktail, vorgemischter Antikörper-Cocktail, Streptavidin-PE-Konzentrat, Standard-Cocktails C, D, H, und J, Diluent RD2-1 und Calibrator Diluent RD6-52, Waschpuffer, Mikrotiterplatte, Abklebefolie, Mischgefäße
- Daneben benötigte Materialien: destilliertes Wasser, Mischgefäße, manuelle und elektronische Einkanal- bzw. Mehrkanalpipetten sowie u.g. Geräte

Der Versuchsablauf begann mit dem Auftauen der zu messenden Proben in einem Inkubationsschüttler. Eine Messung ermöglichte die simultane Bearbeitung von 81 Proben. Bis sich letztere in den Mikroreaktionsgefäßen wieder vollständig verflüssigt hatten, konnten die Komponenten aus dem vorschriftsmäßig kühl gelagerten Kit vorbereitet werden.

Zur Vorbereitung des Waschpuffers wurden 20ml des Konzentrats zu 480ml destilliertem Wasser gegeben.

Für die Standardreihe wurden Standard C, D, und H jeweils mit 250µl, Standard J mit 200µl Calibrator Diluent RD6-52 versetzt und durchmischt. In sechs Mikroreaktionsgefäßen wurden weiterhin einmal 600µl und fünfmal 200µl Calibrator Diluent vorgelegt. In das erste Gefäß mit 600µl wurden nun je 100µl der Standardlösungen zugegeben, sodass ein Gesamtvolumen von 1000µl vorlag. Nach Durchmischung wurden 100µl entnommen und in das zweite Gefäß gegeben, es wurden wiederum durchmischt und 100µl in den dritten transferiert. Diese Schritte wurden wiederholt bis zu Gefäß 6. Für die Aufbereitung der Mikropartikel und der Antikörper wurden in zwei mitgelieferte Mischbehälter jeweils 5µl Diluent RD2-1 pipettiert. Nach kurzem Aufmischen wurden in einen Behälter 500µl Bead-Cocktail gegeben, in den zweiten 500µl Antikörper-Cocktail. In beiden Fläschchen wurde wiederum durchmischt. Für den markierenden Farbstoff wurden 5,35 ml Waschpuffer in ein zum Schutz vor Licht mit Alufolie umwickeltes Falcon-Zentrifugenröhrchen gegeben. Dazu kamen 220µl Streptavidin-PE, es folgte wiederum Durchmischung. Die aufgetauten Proben konnten nun aus dem Schüttler entnommen werden und wurden auf Eis gelagert. In einer 96-Well Mikrotiterplatte wurden in jeden Probenplatz 50µl Calibrator Diluent vorgelegt. Nach kurzem Aufmischen folgten manuell je 50µl Probe je Well entsprechend der späteren Anordnung in der Mess-Mikroplatte.

In letztere, ebenfalls mitgelieferte 96-Well Platte wurden nun wiederum nach Aufmischen mittels elektronischer Mehrkanal-Pipette 50µl der Mikropartikel-Lösung in jedes Well pipettiert. In die Felder A1 und B1 wurden lediglich 50µl Calibrator Diluent zugegeben (Blank-Messung), für die Felder D1-H1 sowie A2-F2 folgten jeweils 50µl in zwei Wells für jeden der sechs Standardansätze. In den restlichen Wells kamen nun 50µl der vorbereiteten 81 Patientenproben hinzu. Well 96 blieb frei. Zur Visualisierung der Anordnung siehe auch Abbildung 11. Die Platte wurde nun mit Folie abgeklebt und bei ca. 700 rpm zwei Stunden auf einem Schüttler belassen. In dieser Phase erfolgte die Bindung der Biomarker an die Antikörper auf den Mikropartikeln.



**Abbildung 11: Besetzung der Wells zur Messung. B bzw. grau hinterlegtes Feld = Blank, S bzw. grün = Standard, gelb = Patientenproben, weiß = leer (in Anlehnung an USA & Canada | R&D Systems, Inc. und UK & Europe | R&D Systems Europe, Ltd 2014, S. 10)**

Als nächstes folgte im Protokoll ein Waschzyklus, welcher aus folgenden Schritten bestand: die Mikroplatte wurde vom Schüttler auf eine Magnetplatte montiert. Nach einer Minute wurden Folie und Überstand entfernt. Es wurden 100µl Waschpuffer in jedes Well pipettiert und unter Abdeckung wurde erneut eine Minute aufgeschüttelt.

Nun konnte nach Aufmischen 50µl des vorbereiteten Antikörper-Cocktails in jedes Well gegeben werden. Erneut wurde die Platte mit Folie abgeklebt. Für die Bindung der biotinylierten Antikörper wurde sie eine Stunde auf den Schüttler gestellt.

Vor der dritten Bindungsetappe durchliefen die Proben erneut den oben beschriebenen Waschzyklus. Nach Aufmischen wurden 50µl Streptavidin-PE in die Wells pipettiert. Unter Folie wurde erneut 30 Minuten auf dem Schüttler durchmischt, in dieser Phase erfolgte die Bindung des Farbstoffs an Biotin. Zum Abschluss wurde erneut der Waschzyklus durchgeführt, anschließend wurden mit 100µl Waschpuffer in jedem Well zwei Minuten aufgeschüttelt. Nun konnte die Platte in den während der Pausen bereits vorbereiteten MAGPIX® 4.2. gestellt und die Messung gestartet werden. Die Vorbereitung des Geräts umfasste neben Wartungs- und Kalibrationsschritten die Einstellung der Software xPONENT® auf die aktuelle Messung, dazu wurden eine neue Messdatei angelegt und die Informationen zu den einzelnen Wells darin hinterlegt, sodass die Messergebnisse direkt der Patienten-ID der jeweiligen Probe zugeordnet werden konnten. Die Messung selbst dauerte ca. 90 Minuten, im Anschluss folgte lediglich noch die fachgerechte Entsorgung aller im Ablauf gebrauchter Komponenten und erneute Wartungsschritte des MAGPIX®. Die Messwerte, als absolute Konzentrationen der Biomarker, wurden aus der Messdatei exportiert und konnten für den nächsten Schritt der statistischen Auswertung zu den anderen, bereits vorliegenden Daten aus Visite 1 hinzugefügt werden.

### **3.3. Statistische Auswertung**

Die klinisch und experimentell erhobenen Daten wurden mit IBM® SPSS® Statistics Version 24.0.0.0 (© Copyright IBM Corporation and its licensors 1989, 2016) für Windows ausgewertet. Tabellen und Grafiken wurden ebenfalls mit IBM® SPSS® Statistics oder Microsoft Word 2010 erstellt, sofern nicht im Abbildungs- bzw. Tabellenverzeichnis oder in Beschriftungstexten anderweitig angegeben.

Im Rahmen der deskriptiven Statistik (v.a. Abschnitte 4.1. und 4.2.) wurden dabei absolute und relative Häufigkeiten sowie statistischen Kennzahlen zu den Merkmalen und ihren Verteilungen berechnet (u.a. Mittelwerte, deren Konfidenzintervalle, Mediane, Standardabweichungen, Varianzen, Minima, Maxima, Spannweiten, Schiefe, Kurtosis; Signifikanzen nach Kolmogorov-Smirnov- und Shapiro-Wilk-Test) und an passender Stelle Visualisierungen der entsprechenden

Sachverhalte eingefügt (Balken- und Kreisdiagramme, Box-Plots, Histogramme, Q-Q-Plots).

Weiterführende Analysen (v.a. Abschnitt 4.3.) erfolgten je nach Skalenniveau der betreffenden Variablen:

- Der Vergleich der Ausprägung der metrischen Variable einer Biomarkerkonzentration in verschiedenen Gruppen einer kategorial oder ordinal skalierten Variable erfolgte initial zur Übersicht z.B. mithilfe von Box-Plots und statistischen Kennzahlen der Subgruppen, dann wurde über Mann-Whitney-U- und Kruskal-Wallis-Test je nach Gruppenzahl auf eine mögliche Differenz der Mediane und die dazugehörige Signifikanz geprüft. Bei signifikantem Ergebnis im Kruskal-Wallis-Test wurden paarweise Vergleiche mit Bonferroni-Korrektur der Signifikanzen angeschlossen. Bei ordinal skalierten Variablen konnte zur Überprüfung der Richtung und Stärke eines monotonen Zusammenhangs auch der Korrelationskoeffizient nach Spearman-Rho angewendet werden.
- Zur Untersuchung und Quantifizierung von Zusammenhängen einer Markerkonzentration mit einem weiteren quantitativen Merkmal wurde zunächst optisch mit Streudiagrammen ein Überblick geschaffen, dann wurde der Korrelationskoeffizient nach Spearman-Rho wiederum zur Feststellung von Richtung und Stärke einer Korrelation genutzt sowie mit dem dazugehörigen p-Wert die Signifikanz des Ergebnisses geprüft.

Bei den genannten statistischen Testverfahren handelt es sich um nicht-parametrische Tests, auf die aufgrund von nicht normalverteilten Daten zurückgegriffen wurde. Da parametrische Testverfahren, die eine Normalverteilung voraussetzen, gegebenenfalls umfassender den in den Datensätzen vorhandenen Informationsgehalt ausnutzen sowie auch mehr Informationen daraus ziehen können (vgl. Weiss und Rzany 2008, S. 219–221), wurde, wie in Abschnitt 4.2. ausgeführt, eine logarithmische Transformation versucht. Die Transformation erfolgte durch Anwendung des natürlichen Logarithmus auf jeden Konzentrationswert  $x$  (1), dementsprechend würde die Rücktransformation (2) durch Setzen des logarithmischen Wertes  $y$  als Exponent der Euler'schen Zahl erfolgen (Weiss und Rzany 2008, S. 153):

$$(1) y = \ln(x)$$

$$(2) x = e^y$$

Letztlich konnten jedoch dadurch die Werte der Markerkonzentrationen nicht in die erhoffte Normalverteilung überführt werden.

Für Zusammenhänge, die sich bis zu diesem Punkt der Auswertung herausgestellt hatten, wurde mittels Regressionsanalysen nach sie beschreibenden, linearen Modellen gesucht. Dazu wurden Konstante und Koeffizienten für eine Regressionsgleichung berechnet und anschließend die Güte des Modells mittels des Bestimmtheitsmaßes  $R^2$  bewertet.

## 4. Ergebnisse

### 4.1. Deskription der Studienpopulation

Zunächst soll die Kohorte der COSYCONET-Studie näher beschrieben werden, um einen Rahmen zur Einordnung der Ergebnisse bezüglich der Biomarker zu schaffen.

#### 4.1.1. Allgemeine Charakteristika

Wie in 3.1. aufgeführt, wurden COPD-Patienten männlichen und weiblichen Geschlechts mit einem Alter von mindestens 40 Jahren in die Studie aufgenommen. Bezüglich der Geschlechterverteilung konnte festgestellt werden, dass mit 59,07% etwas mehr Männer als Frauen eingeschlossen wurden (siehe Abbildung 12, links).

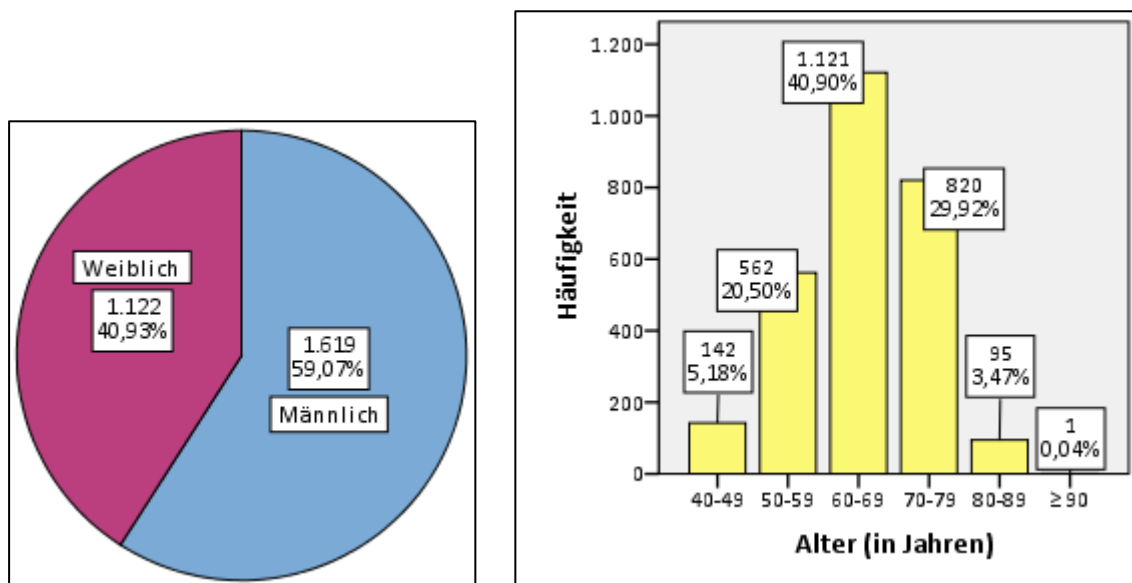


Abbildung 12: Anteile der Geschlechter (links) und Altersstruktur in der Kohorte der COSYCONET-Studie (rechts)

Bezüglich des Alters zum Zeitpunkt der ersten Visite stellte die Altersklasse der Patienten zwischen 60 und 69 Jahren mit 40,90% den größten Anteil, gefolgt von den angrenzenden Jahrzehnten der 70-79-Jährigen mit knapp 30% und den 50-59-Jährigen mit 20,50% (siehe Abbildung 12, rechts).

Die körperliche Konstitution der Patienten wird in Abbildung 13 deutlich. Nur etwas mehr als ein Drittel der Erfassten ist normalgewichtig. Zahlenmäßig am größten ist mit 36,58% die Gruppe der präadipösen Patienten, insgesamt ein Viertel der Patienten kann als adipös bezeichnet werden. Mit 3,25% wiesen im Vergleich nur sehr wenige Beteiligte zu wenig Gewicht auf.



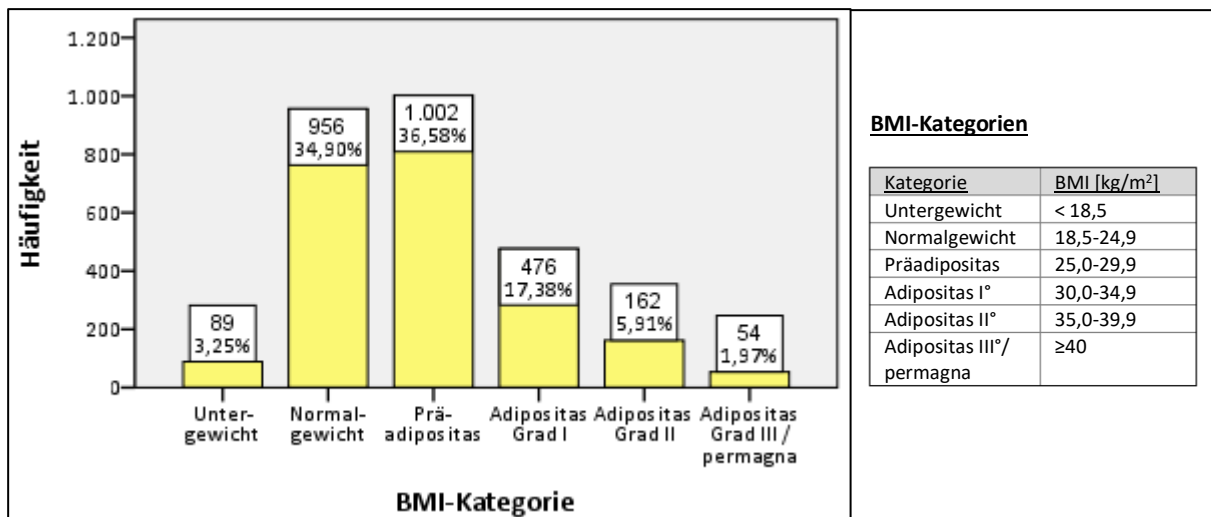


Abbildung 13, links: Körperliche Konstitution der Patienten zum Zeitpunkt von V1 eingestuft nach BMI. Zur Definition der Kategorien siehe rechts Tabelle 9 (in Anlehnung an Herold 2019, S. 717)

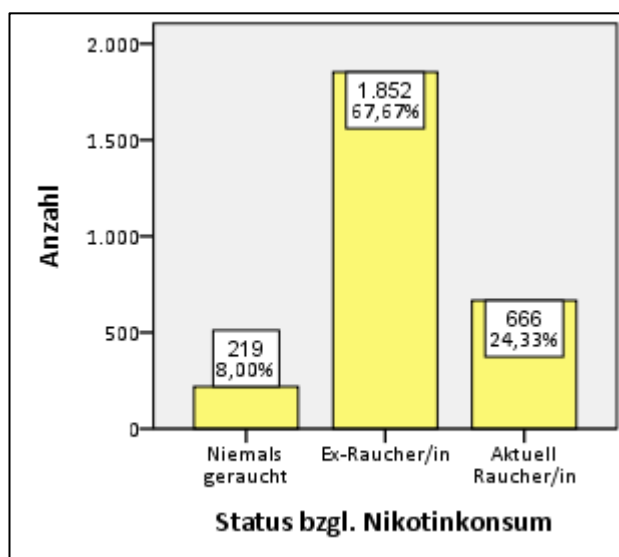


Abbildung 14: Angaben der Patienten zu ihrem Nikotinkonsum zum Zeitpunkt von V1

Zur Klärung möglicher Ätiologien ihrer Erkrankung wurden die Patienten unter anderem zu ihrem Nikotinkonsum befragt, da „in Deutschland und Österreich (...) aktives Tabakrauchen der wichtigste Risikofaktor für die Entwicklung einer COPD“ (Vogelmeier et al. 2018) ist. Die Ergebnisse zeigen Abbildung 14 sowie Tabelle 10. Es stellte sich heraus, dass zum Zeitpunkt der Visite 1 der größte Anteil der eingeschlossenen Patienten von aktuellen Nicht-, aber ehemaligen Zigarettenrauchern gebildet wurde. Unter

den 75,67% der momentanen Nichtraucher hatten nur 8,00% niemals geraucht. Mit 24,31% noch knapp ein Viertel der befragten Patienten rauchte weiterhin Zigaretten, darunter bezeichnete sich die absolute Mehrheit von 91,74% als regelmäßig rauchend.

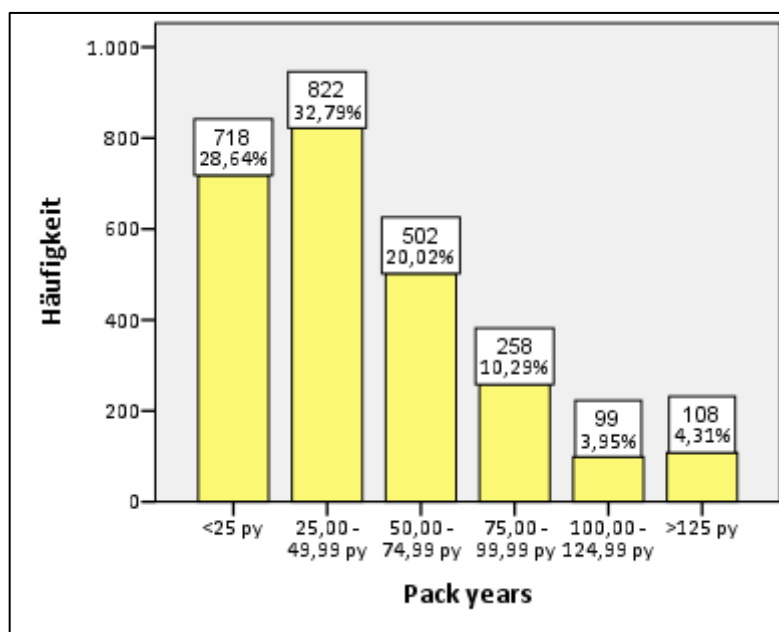
Aktuell Raucher/in = Zigarettenkonsum in den letzten 4 Wochen							
NEIN [n = 2.074; 75,69%]				JA [n = 666; 24,31%]			
Früherer Zigarettenkonsum				Art des aktuellen Zigarettenkonsums			
Niemals geraucht		Ehemaliger Raucher		Gelegentlich (< 1 Zig./Tag)		Regelmäßig	
Anzahl	Anteil in %	Anzahl	Anteil in %	Anzahl	Anteil in %	Anzahl	Anteil in %
219	10,57	1852	89,43	55	8,26	611	91,74

Tabelle 10: Genauere Beschreibung der aktuellen Raucher bzgl. ihres Zigarettenkonsumverhaltens und der aktuellen Nichtraucher bzgl. ihrer Raucheranamnese

Einen Überblick über die Dauer des schädlichen Konsums bieten zum einen die Kennzahlen der beiden Fallgruppen der aktuellen und ehemaligen Raucher (siehe Tabelle 11). Darin wird unter anderem sichtbar, dass die Patienten im Mittel rund 44 Jahre (aktuelle Raucher) bzw. 35 Jahre (ehemalige Raucher) geraucht hatten. Im Maximum von 67 Konsumjahren unterschieden sich die beiden Gruppen nicht, die Minima lagen bei 12 Jahren bzw. 1 Jahr. Zum anderen können die Pack years (py) betrachtet werden (Abbildung 15), deren Wert bekannterweise nicht nur der Dauer, sondern auch der Menge der konsumierten Noxe Rechnung trägt. Zwischen den extremsten Werten von 0 bis 270 py konnte ein Mittelwert von rund 48 py bestimmt werden.

		Dauer des Zigarettenkonsums bei aktuellen Rauchern	Dauer des Zigarettenkonsums bei ehemaligen Rauchern
N	Gültig	666	1839
	Fehlend	2075	902
Mittelwert		44,16	35,10
Median		44,00	37,00
Standardabweichung		7,79	12,29
Minimum		12,00	1,00
Maximum		67,00	67,00

**Tabelle 11: Vergleichende Aufführung der Kennwerte zur Dauer des Nikotinkonsums bei aktuellen und ehemaligen Rauchern.**



**Abbildung 15: Pack years der 91,5% bzw. 2507 Patienten, bei denen die Berechnung möglich war. Zu den 28,64% der Patienten mit <25 py kann ergänzt werden, dass davon 11,77% <10 py vorwiesen.**

#### 4.1.2. Objektive Krankheitseinstufung, Komorbiditäten und Risikoprofile

Ein erster objektiver Überblick über die Erkrankungsschwere der Patienten kann durch die Betrachtung der Häufigkeiten nach Eingruppierung in die verschiedenen Stadien gewonnen werden.

In Abbildung 17 wird sichtbar, dass mit nur 3,23% Unterschied die GOLD-Stadien II und III führend waren, darin wurden jeweils etwas mehr bzw. etwas weniger als ein Drittel der Patienten eingestuft. Einer Gruppe von 13,01% konnte aufgrund eines Tiffeneau-Indexes von > 70% kein GOLD-Stadium I-IV zugeordnet werden, bei diesen Patienten lag jedoch

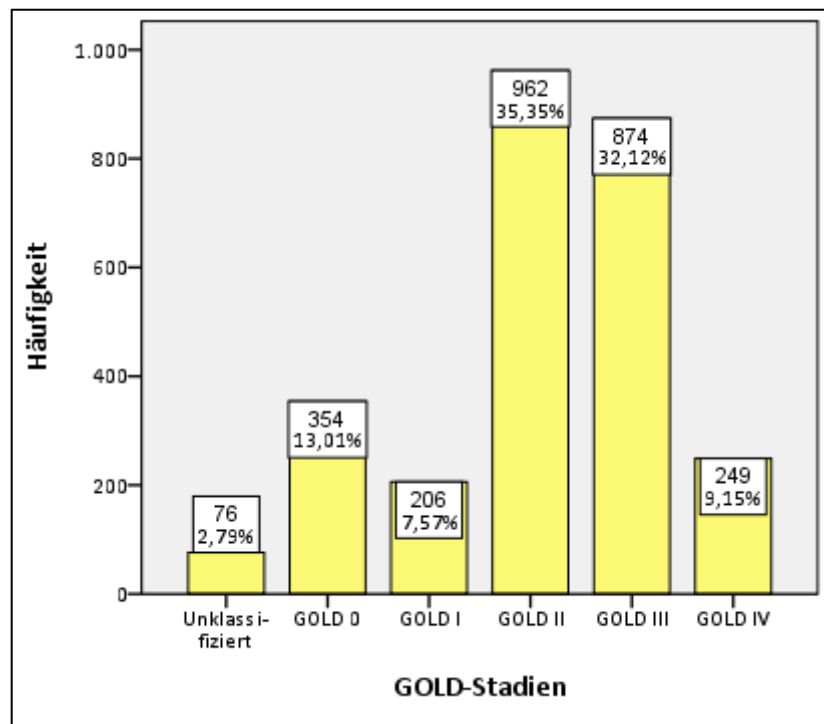


Abbildung 17: Häufigkeiten der GOLD-Stadien in der Studienpopulation zum Zeitpunkt von V1, zur Definition der einzelnen Stadien siehe Text.

entweder die ärztliche Diagnose einer chronischen Bronchitis vor, oder sie erreichten mindestens 3 Punkte bezüglich ihres Hustens oder bezüglich ihrer Schleimproduktion im COPD-Assessment-Test (CAT). Diese Patienten wurden als Risikopatienten für die Entwicklung einer COPD unter GOLD 0 zusammengefasst und eingeschlossen (Karch et al. 2016, S. 31–32). Weitere 2,79% der Patienten waren jedoch bei Folgeuntersuchungen selbst GOLD 0 nicht mehr zuzuordnen bzw. konnten aufgrund fehlender Untersuchungsparameter nicht eingestuft werden, sie verblieben als unklassifizierte Gruppe unter den Patienten. (Karch et al. 2016, S. 31–32)

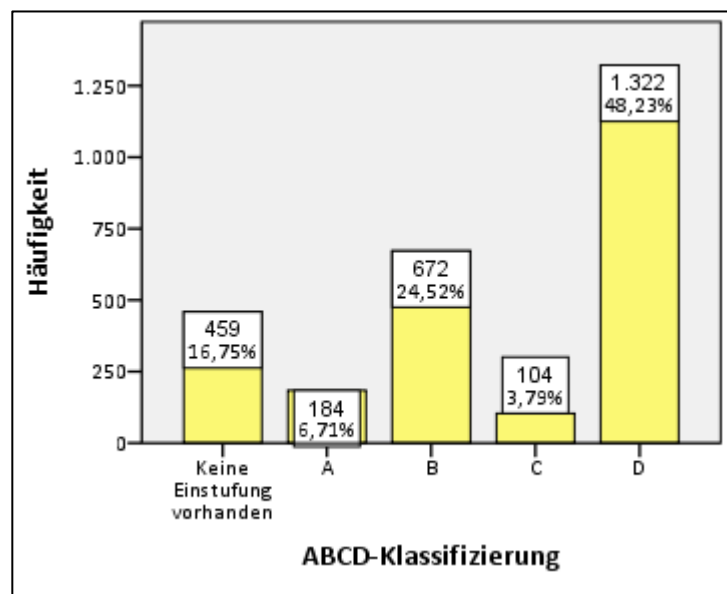


Abbildung 16: Häufigkeiten der Gruppen A-D in der Studienpopulation zum Zeitpunkt der Visite 1

Abbildung 16 zeigt die Aufteilung der Patienten auf die vier Gruppen der ABCD-Klassifikation, wobei

mit fast der Hälfte der Patienten der größte Anteil von Gruppe D gestellt wird.

Zur Einschätzung des klinischen Zustands und des Mortalitätsrisikos der Patienten bediente man sich unter anderem dem BODE-Index als aussagekräftigem Parameter, wie in 3.1. dargelegt. Die Patienten der Studie konnten mit einem großen Anteil von 61,09% noch in die Risikogruppe von 0-2 Punkten eingeordnet werden. Knapp ein Viertel erreichte 3-4 Punkte. In die Bereiche mit noch höherem Mortalitätsrisiko fielen 10,71% bzw. 3,73% der Patienten (s. Abbildung 18).

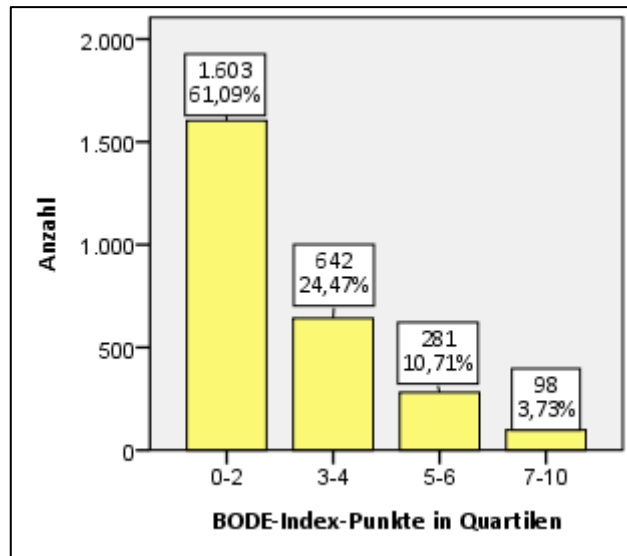


Abbildung 18: Aufteilung der Patienten auf die vier Quartile bzw. Risikogruppen des BODE-Index je nach

Daneben können zum Überblick über Komorbiditäten zwei Indices geschaffen werden: ein CVI (Cardiovascular index), bei dem Patienten zwischen einen bis fünf Punkte erreichen konnten. Weitere 29 häufige Begleiterkrankungen, sodass insgesamt 34 Punkte möglich waren, wurden ebenfalls erfragt und wurden im MCI (Main comorbidity index) abgebildet. Eine Auflistung der aufgenommenen Erkrankungen in die Indices zeigt Tabelle 12.

Erkrankungen	
<b>CVI</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Herzrhythmusstörungen, arterielle Hypertonie, koronare Herzkrankheit (KHK), Myokardinfarkt, Apoplex</li> </ul>
<b>MCI</b>	CVI (5) + <ul style="list-style-type: none"> <li><u>weitere kardiologische bzw. vaskuläre</u> Erkrankungen (3): Herzinsuffizienz, venöse Thrombosen, periphere arterielle Verschlusskrankheit (pAVK)</li> <li><u>weitere internistische</u> Erkrankungen (17): insulinunabhängiger Diabetes mellitus, insulinabhängiger Diabetes mellitus, Leberzirrhose, Hepatitis, gastroösophagealer Reflux (GERD), Gastritis, gastroduodenale Ulcera, Hypo-/ Hyperthyreose, Hyperparathyreoidismus, Gicht, Nierenkolik/Nephrolithiasis, allergische Erkrankungen, Asthma bronchiale, chronische Bronchitis, Lungenfibrose, Sarkoidose, obstruktives Schlafapnoe-Syndrom (OSAS)</li> <li><u>Neurologische oder psychische</u> Erkrankungen (5): Epilepsie, Multiple Sklerose, Parkinson, periphere Polyneuropathie (PNP), psychische Erkrankungen</li> <li>Erkrankungen des <u>Bewegungsapparats</u> (3): Arthrose, Arthritis, Osteoporose</li> <li><u>Maligne Neoplasien</u> allgemein (1)</li> </ul>

Tabelle 12: In den CVI (Cardiovascular index) und MCI (Main comorbidity index) eingehende Erkrankungen

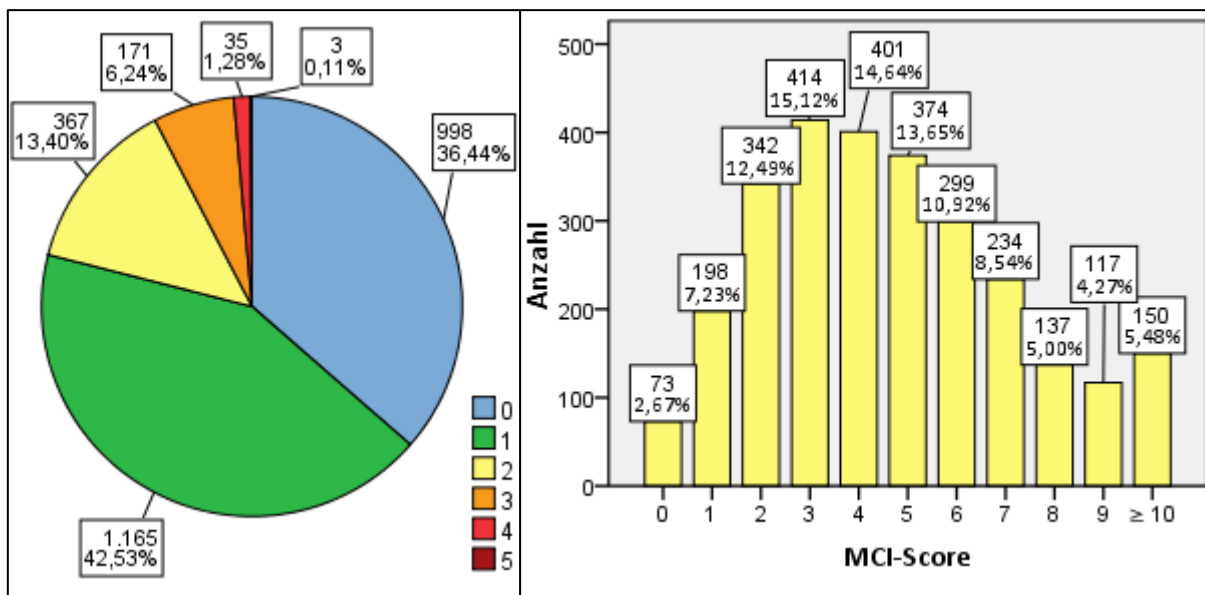


Abbildung 19, Links: CVI-Score zur Darstellung der Zahl an kardiovaskulären Komorbiditäten der Patienten, Rechts: MCI-Score zur Darstellung der Zahl an erfragten Komorbiditäten der Patienten allgemein

Wie in Abbildung 19 sichtbar, waren in den Gruppen ohne bzw. mit einer kardiovaskulären Komorbidität schon mehr als drei Viertel der Patienten zu finden. Bezüglich des MCI verteilten sich die Patienten in Anteilen von jeweils rund 11-15% vor allem im Bereich von 2-6 Komorbiditäten. Bei dem genannten, relevanten Anteil an adipösen Patienten in der Kohorte, wurde außerdem das Auftreten des Komorbiditäten- bzw. Faktorenkomplexes des metabolischen Syndroms untersucht. Dabei wurde die Definition der International Diabetes Foundation (IDF, 2005) verwendet, soweit die erhobenen Daten dafür vorhanden waren. Den verwendeten Kriterien (s. Tabelle 13) entsprachen auf die ganze Kohorte gesehen 9,12% der Männer und 4,49% der Frauen, insgesamt waren also 13,61% der Patienten auf diese Weise multipel erkrankt.

Definition des metabolischen Syndroms der IDF (2005)	Vorhandene, verwendete Kriterien in erhobenen Daten
<b>Immer:</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>Abdominelle Adipositas mit Taillenumfang <math>\geq 94</math> cm (m) bzw. <math>\geq 80</math> cm (w) oder BMI <math>\geq 30</math> kg/m<sup>2</sup></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>BMI <math>\geq 30</math> kg/m<sup>2</sup></li> </ul>
<b>Plus zwei der folgenden Faktoren:</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>Triglyceride <math>&gt; 150</math> mg/dl</li> <li>HDL-Cholesterin <math>&lt; 40</math> mg/dl (m) bzw. <math>&lt; 50</math> mg/dl (w)</li> <li>Blutdruck <math>&gt; 130/85</math></li> <li>Nüchtern-Plasmaglukose <math>&gt; 100</math> mg/dl oder Typ-2-Diabetes</li> <li>oder Therapie einer der genannten Faktoren</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Triglyceride <math>&gt; 150</math> mg/dl</li> <li>HDL-Cholesterin <math>&lt; 40</math> mg/dl (m) bzw. <math>&lt; 50</math> mg/dl (w)</li> <li>Angabe von Bluthochdruck als Komorbidität</li> <li>Angabe von Diabetes als Komorbidität</li> </ul>

Tabelle 13: Definition des metabolischen Syndroms nach IDF(2005) (Herold 2019, S. 723) und entsprechend verwendete Daten der Studie zur Einstufung der Patienten

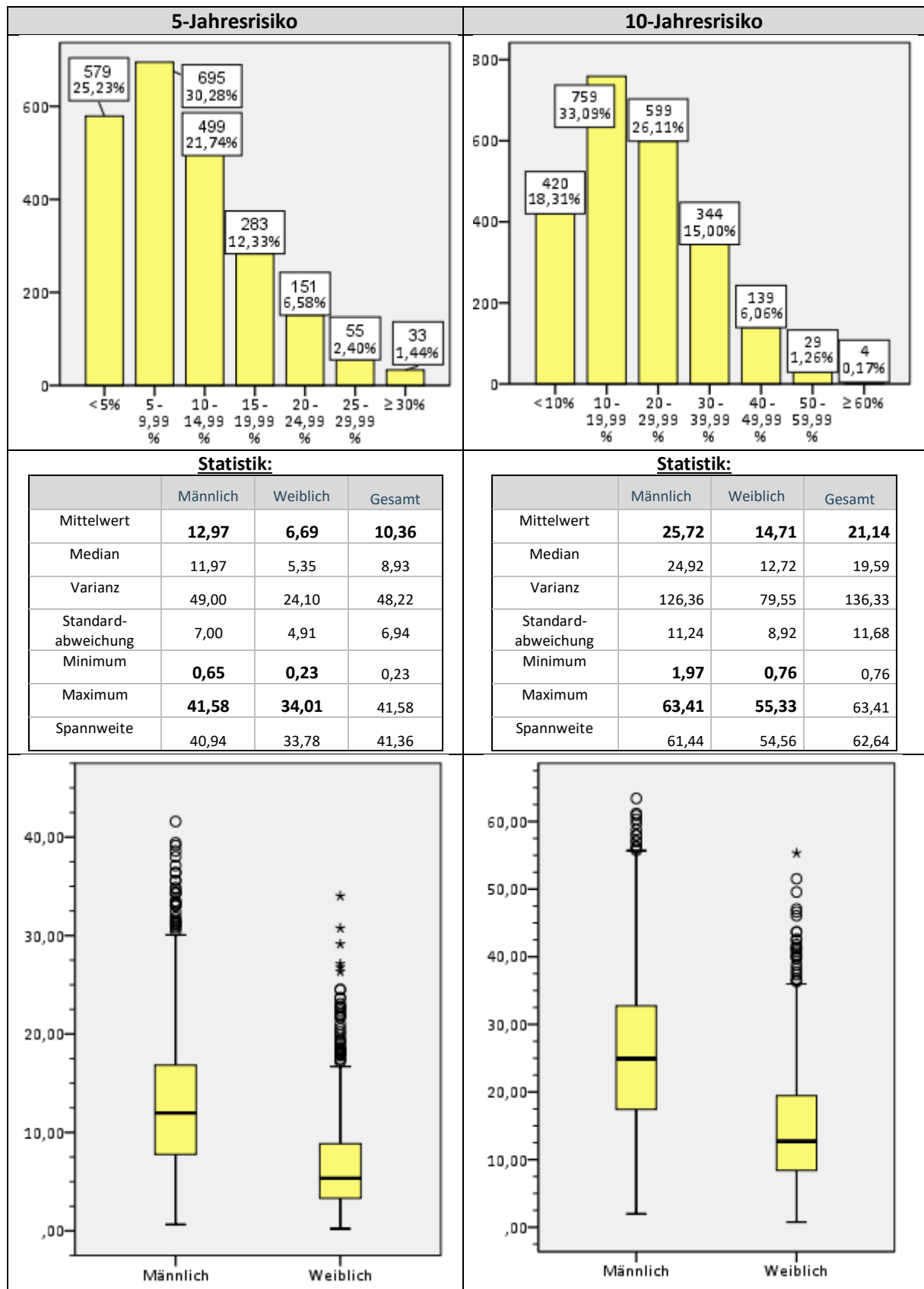
Einzel gesehen, wurden von Karch et al. (2016, S. 33) die chronische Bronchitis (62,4%), die arterielle Hypertonie (56,4%), die Arthrose (40,1%), ein erhöhter Gesamtcholesterinspiegel (39,1%)

und Allergien allgemein (33,5%) als die häufigsten fünf von den Patienten angegebenen Komorbiditäten ermittelt.

Mithilfe von mathematischen Modellgleichungen, die von Anderson et al. 1991 auf der Grundlage der Auswertung von Daten von 5573 Patienten der Framingham Heart Study aufgestellt wurden, konnte für 2299 der hier eingeschlossenen Patienten (83,87%) das kardiovaskuläre Risiko für verschiedene Zeiträume berechnet werden. Eingehende Variablen waren dabei Geschlecht, Alter (bis 74 J.), systolischer Blutdruck (zwischen 95-185mmHg), Lipidprofil (Gesamtcholesterin und HDL, zwischen 135-330 mg/dl bzw. 25-99 mg/dl), aktueller Raucherstatus und Erkrankung an Diabetes mellitus. Das Outcome „CVD“, auf das sich unten aufgeführte Werte beziehen, wurde folgendermaßen definiert:

„Equations were developed for the following outcomes: myocardial infarction (MI, including silent and unrecognized MI); death from CHD [coronary heart disease] (sudden or nonsudden); CHD (consisting of MI and CHD death plus angina pectoris and coronary insufficiency); stroke, including transient ischemia; CVD [cardiovascular disease] (including all the above plus congestive heart failure and peripheral vascular disease); and death from CVD (CVD death).“ (Anderson et al. 1991, S. 293)

Damit können die bestimmten Risikowerte als 5- bzw. 10-Jahresrisiko für das Auftreten von Angina pectoris, KHK, Myokardinfarkt, durch letztere Erkrankungen verursachten Herztod, Schlaganfall, Herzinsuffizienz und pAVK interpretiert werden. In Tabelle 14 kann ein Überblick über die Risikosituation der Kohorte gewonnen werden: etwas mehr als jeden 10. der o.g. Patientengruppe würde demnach nach 5 Jahren eine der genannten Erkrankungen betreffen, nach 10 Jahren wäre mehr als jeder 5. Patient Betroffener. Interessant sind die großen Unterschiede zwischen Männern und Frauen – ein 5-Jahresrisiko von im Mittel rund 13% für Männer steht knapp 7% für Frauen gegenüber, bzgl. 10 Jahren sind es rund 26% im Vergleich zu rund 15%. Auch in den Maximae werden die geringeren Risikowerte der Patientinnen sichtbar.



**Tabelle 14:** Nach Anderson et al. berechnetes, kardiovaskuläres 5- und 10-Jahresrisiko der 2299 Patienten (83,87%), deren Einbeziehung möglich war (sofern im Text genannte Variablen vorhanden und in Größenordnung den Vorgaben entsprechend). Aufführung im Gesamtüberblick sowie, wenn gekennzeichnet, nach Geschlechtern getrennt. Auf markierte Kennwerte der Statistik wird im Text Bezug genommen.

#### 4.1.3. Klinischer Zustand

Durch die folgenden Punkte soll ein grobes Bild davon entstehen, in welcher klinischen Verfassung sich die Patienten präsentierten und durch was ein durchschnittlicher Phänotyp ausgemacht wurde.

- Nur etwa ein Drittel der Patienten bezeichnete seinen Zustand als „gut“ und, zu einem sehr geringen Anteil, als „sehr gut“. Mehr als die Hälfte ordnete sich unter „weniger gut“ ein, knapp 15% unter „schlecht“. Fast die Hälfte der Patienten gab jedoch an, dass sie bei alltäglichen Tätigkeiten betreffend (z.B. Erwerbstätigkeit, Hausarbeit, Familien- und Freizeitleben) keine Probleme habe. Einige Probleme bereitete genanntes einer fast genauso großen Gruppe. Nur 2,27% konnten ihren Tätigkeiten nicht nachgehen.
- Die körperliche Leistungsfähigkeit wurde u.a. mithilfe des 6-Min-Gehtests untersucht. Zur Erleichterung der Einstufung der erhaltenen Strecken, wurde die Differenz zu geschlechts-, alters-, größen- und gewichtsabhängigen Normwerten, die nach Troosters et al. (1999) berechnet werden können, bestimmt. In Abbildung 20 wird sichtbar, dass mit 45,28% der größte Anteil der Patienten bis zu 149m, weitere knapp 40% 150-299m weniger laufen konnten, als in o.g. Parametern vergleichbare, gesunde Individuen.
- Die subjektive Atemnot nach mMRC – Skala zeigt Abbildung 21. Daneben wurden die Patienten gebeten, die Ausprägung der Symptome Husten und Schleim in ihrem Fall auf einer Skala zwischen 0 und 5 einzuordnen. Zwischen den Extremen von „0 - Ich huste nie“ bzw. „0 - Ich bin überhaupt nicht verschleimt“ und „5 - Ich huste ständig“ bzw. „5 - Ich bin völlig verschleimt“ positionierten sie sich glockenförmig vor allem im Bereich

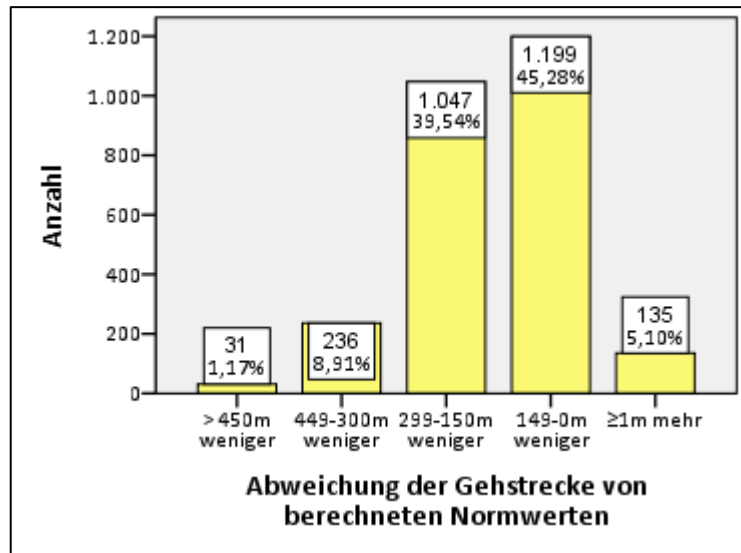


Abbildung 20: Abweichung der erreichten Strecken im 6-Min-Gehtest von individuell berechneten Normwerten zum Zeitpunkt von V1.

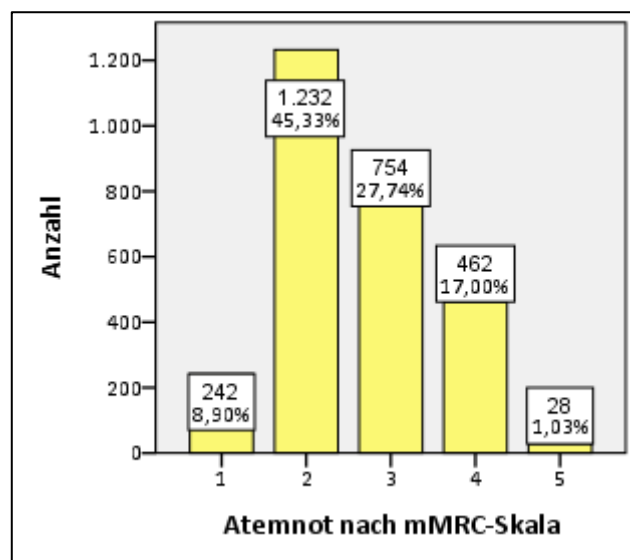


Abbildung 21: Atemnot der Patienten nach mMRC-Skala



der unscharfen mittelmäßigen Symptomausprägung.

- Zur Einschätzung der gesundheitsbezogenen Lebensqualität (health-related life quality, HRLQ) wurde der St. George's Respiratory Questionnaire (SGRQ) verwendet, der als Ergebnis mit einem Prozentwert einer Skala von 0-100 die Beeinträchtigung der Patienten angibt und über Perzentilenkurven einen Vergleich mit der Allgemeinbevölkerung erlaubt (vgl. Ferrer et al. 2002). Interessant ist der SGRQ in Bezug auf die COPD auch deshalb, weil eine Assoziation zu Exazerbationen, dadurch bedingte Krankenhausaufnahmen und allgemeine Mortalität (vgl. Müllerova et al. 2017) bzw. BODE-Index nachgewiesen werden konnte (vgl. Nonato et al. 2015). Für die Erhebungen im Rahmen von COSYCONET kam eine für COPD-Patienten angepasste und verbesserte Version (SGRQ-C) zum Einsatz, die sich in den Ergebnissen als mit dem Original vergleichbar erwiesen hat (vgl. Meguro et al. 2007). Dabei ergab sich im Mittel eine gesamte Beeinträchtigung der Patienten von im Mittel 42,68%. Mit einem Minimum von 0,00% und einem Maximum von 98,74% traten glockenförmig verteilt Werte der nahezu kompletten Skala auf (s. Abbildung 22).

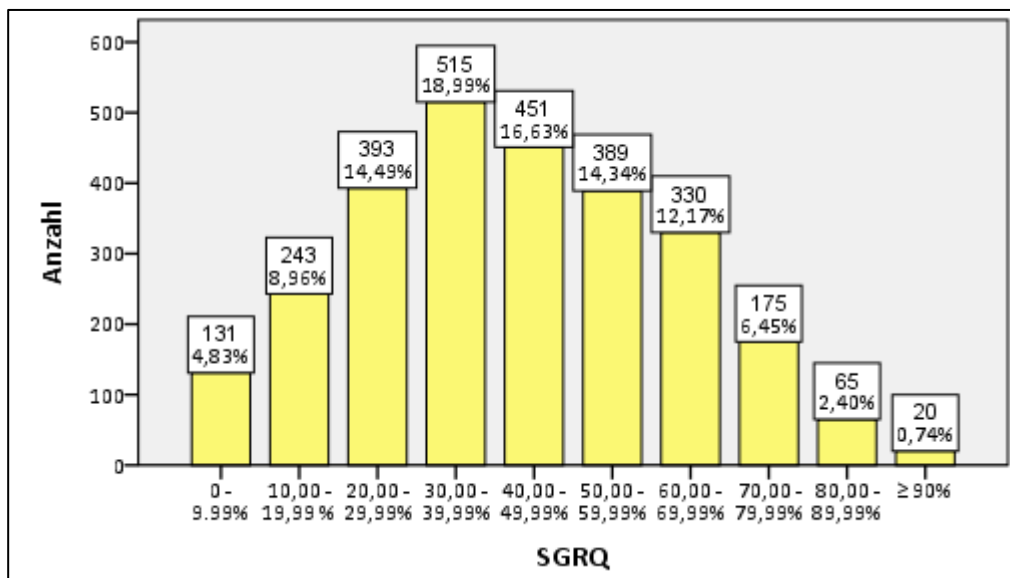


Abbildung 22: Beeinträchtigung der Patienten in % nach Erhebung und Berechnung mittels des SGRQ.

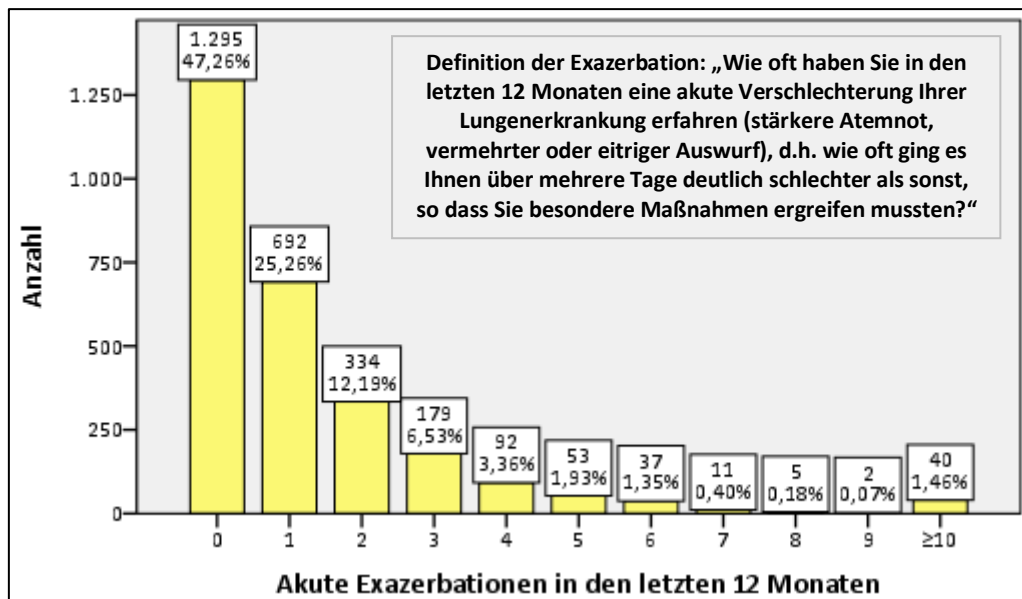


Abbildung 23: Anzahl der akuten Exazerbationen in den letzten 12 Monaten vor Visite 1

- Auf in Abbildung 23 gestellte Frage verneinte fast die Hälfte der Patienten, in den letzten 12 Monaten vor Visite 1 eine akute Exazerbation gehabt zu haben, rund ein Viertel gab eine Exazerbation an. Bei 18,77% der Patienten war im Rahmen dieser Zustandsverschlechterungen mindestens einmal die Aufnahme in ein Krankenhaus nötig, in 40% der Fälle erfolgte eine antibiotische Behandlung.

#### 4.1.4. Parameter der Lungenfunktion und der Labordiagnostik

Mithilfe von u.a. Lungenfunktions- und Laborparametern konnte auch eine objektivierte, apparative Charakterisierung des Zustands der Patienten vorgenommen werden. Um einen direkten Bezug zu gültigen Normwerten zu bekommen, werden die Ergebnisse der Lungenfunktion hier in Sollprozentwerten aufgeführt. Wenn nicht gesondert angegeben, beziehen sich letztere auf Normen der Global Lung Initiative (GLI) (Quanjer et al. 2012). Bezüglich der Laborparameter wurde mit Normwerten nach Herold (2019) gearbeitet.

Da für die Einstufung in GOLD-Stadien erforderlich, sind einige Werte in 4.1.2. bereits indirekt miteingeflossen. Am Beginn steht die Registrierung eines Tiffeneau-Indexes von <70% nach Broncholyse, die meisten Patienten der Kohorte teilen sich darunter mit ihrem Ergebnis auf den Bereich von 50-69% bzw. in geringerem Maße von 30-49% auf (s. Abbildung 24).

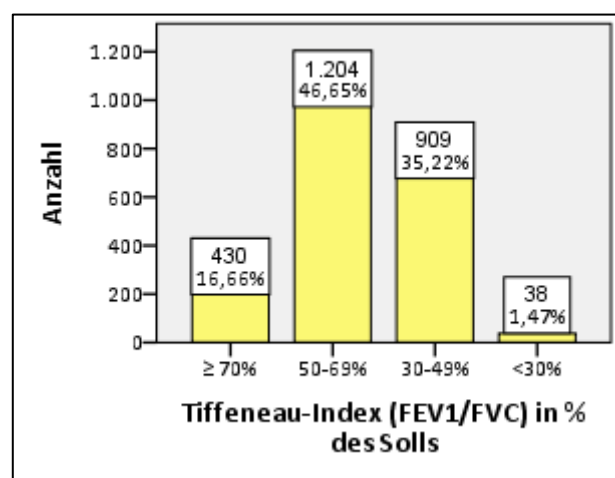


Abbildung 24: Tiffeneau-Indices der Patienten in % des Sollwertes

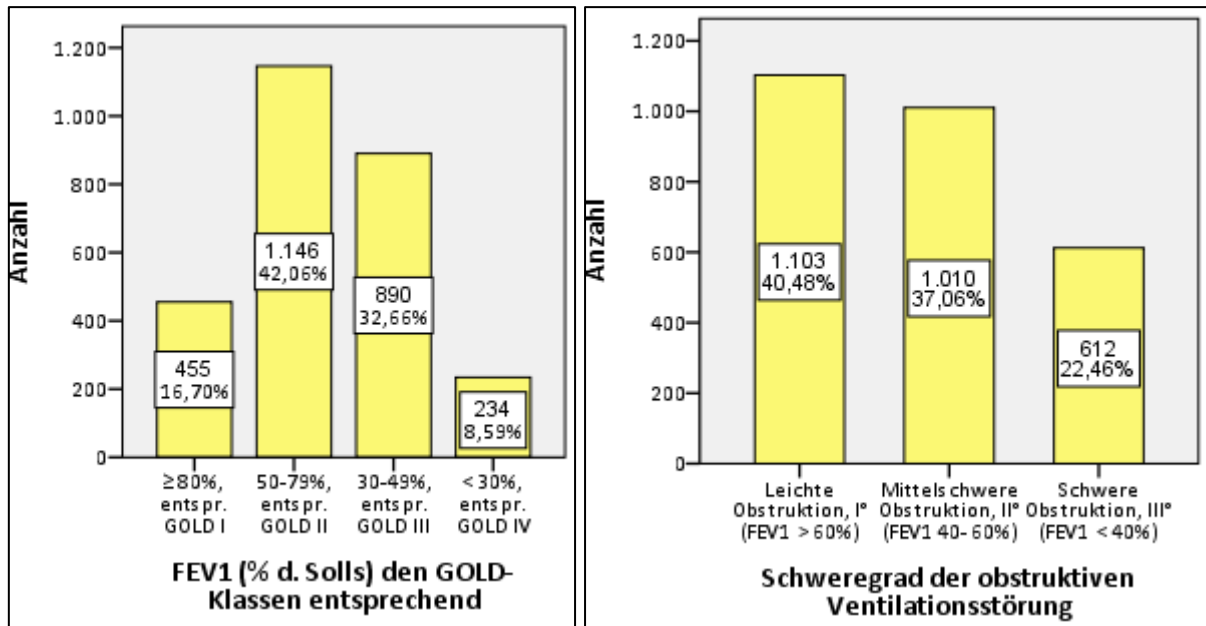


Abbildung 26: Die Einsekundenkapazität (FEV<sub>1</sub>) in % des Solls klassifiziert nach GOLD-Stadien und allg. Schweregrad der obstruktiven Ventilationsstörung in der untersuchten Kohorte zum Zeitpunkt der Visite 1

Bezüglich der beiden Komponenten des Indexes können zum einen die Werte der Einsekundenkapazität FEV<sub>1</sub> (forciertes expiratorisches Volumen) konkretisiert werden, die die GOLD-Klassifizierung im nächsten Schritt bestimmen. Darauf wurde unter 4.1.2. bereits eingegangen. Genauso bilden sie auch die Grundlage für die Definition des allgemeinen Schweregrads einer obstruktiven Ventilationsstörung (siehe oben, Abbildung 26). Zum anderen kann bei der gesonderten Betrachtung der FVC in Abbildung 25 (s. unten) festgestellt werden, dass noch fast die Hälfte der Patienten darin der Norm entspricht und sich mehr als ein weiteres Drittel in der nächstschlechteren Gruppe mit 60,00-79,99% des Solls befindet.

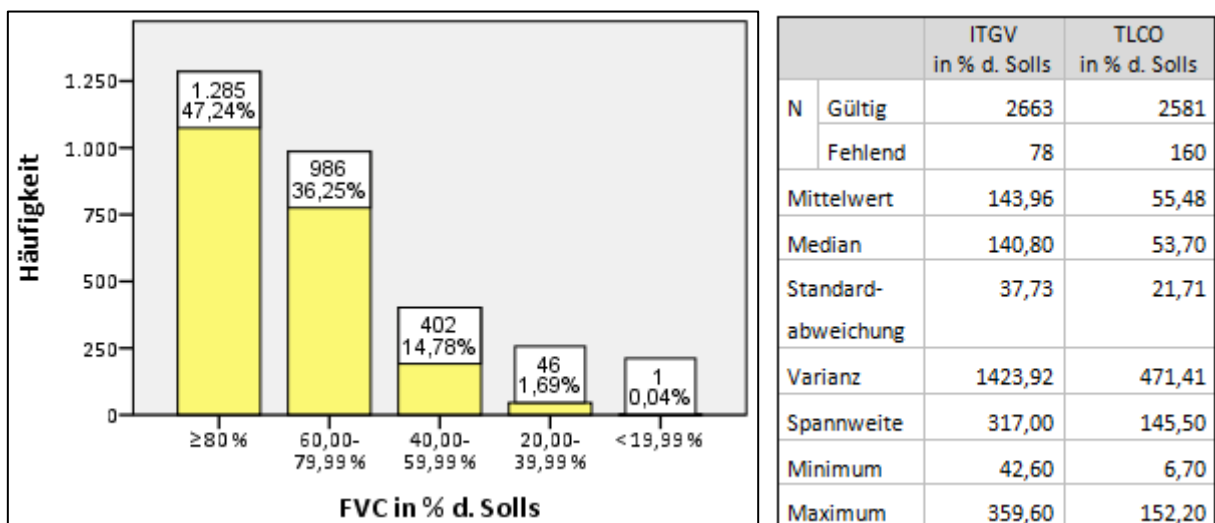


Abbildung 25: Die Forcierte Vitalkapazität (FVC) in % d. Solls zum Zeitpunkt der Visite 1

Tabelle 15: Kennwerte des intrathorakalen Gasvolumens (ITGV) sowie der Diffusionskapazität für Kohlenmonoxid (TLCO bzw. DLCO) zum Zeitpunkt von Visite 1

Tabelle 15 zeigt zum einen anhand des intrathorakalen Gasvolumens (ITGV), dass nach normaler Ausatmung in der Lunge der Patienten im Mittel 140% des normalen restlichen Volumens an Gas verbleibt. Die, angesichts der Vergleichbarkeit von Mittelwert und Median als weitestgehend symmetrisch verteilt angenommene, Spannweite von 317% um diesen Wert ist jedoch groß. Neben dem erwarteten Anteil an emphysematischen Patienten mit einer Überblähung von bis zu rund maximal 360% an ITGV, gibt es auch einen relevanten Anteil von 11% der Patienten, deren verbleibendes Gasvolumen reduziert ist und bis zu weniger als die Hälfte des Normwerts ausmacht. Zur Diffusionskapazität als Maß der Funktionalität des Lungengewebes in seiner Aufgabe des Gasaustauschs kann zusammenfassend gesagt werden, dass sie im Mittel auf rund 55% erniedrigt ist (siehe Tabelle 15) und dass sich drei Viertel der Patienten in einem Bereich bis knapp 70% wiederfinden.

Eine oberflächliche Einschätzung der entzündlichen Aktivität kann schließlich noch durch Betrachtung der Werte für Leukozyten und C-reaktives Protein (CRP) erfolgen (siehe Abbildungen 27 und 28). Bezüglich ersterem befanden sich mit 87,31% die meisten Patienten im Normbereich, 12,29% wiesen erhöhte Leukozytenwerte auf. Ein normwertiges CRP zeigten dagegen mit 51,24% weniger Patienten. Der Mittelwert lag bei einer leichten Erhöhung von 1,04 mg/dl, der Median dagegen mit 0,46 mg/dl noch im Normbereich, was durch wenige extreme Werte am oberen Ende der Skala erklärt werden kann. Bezüglich tieferen Einblicken in das entzündliche Geschehen anhand von Zytokinen wie Interleukin-6 (IL-6), Interleukin-8 (IL-8),

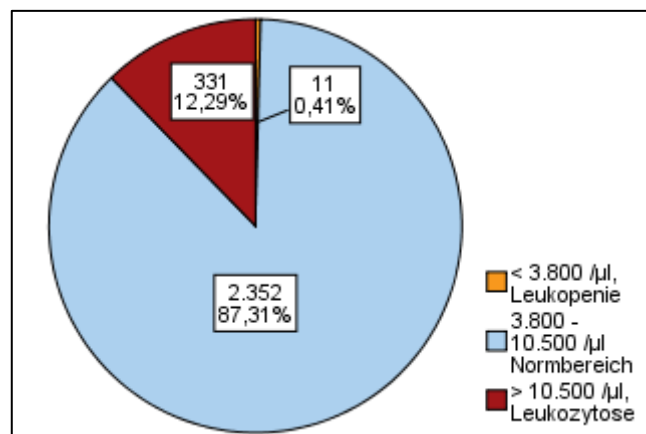


Abbildung 27: Leukozytenzahlen im Blut der Patienten zum Zeitpunkt der Visite 1

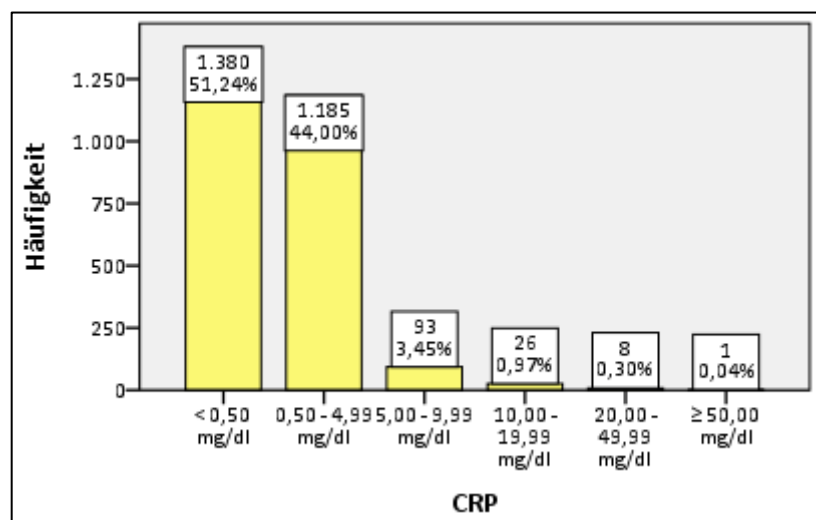


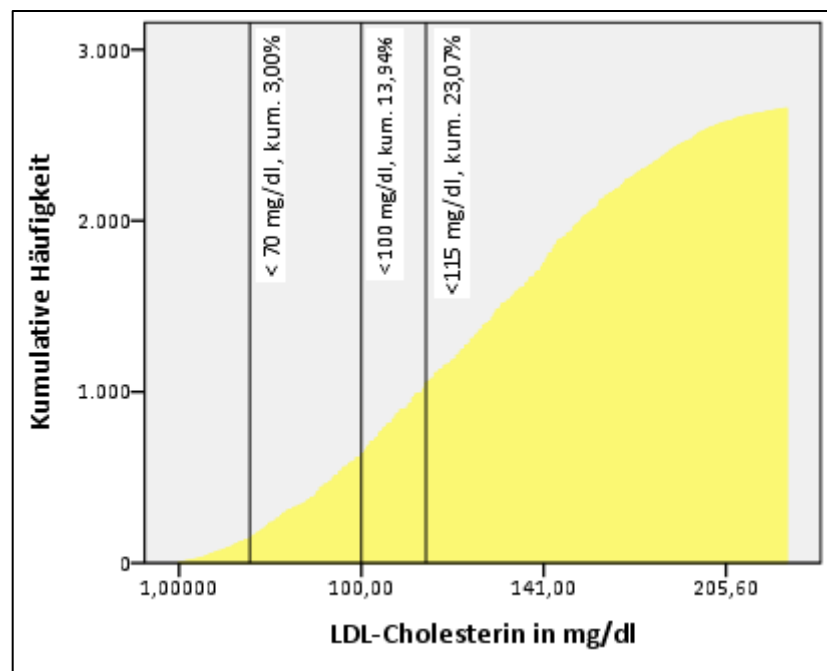
Abbildung 28: CRP-Werte im Blut der Patienten zum Zeitpunkt der Visite 1, eine Konzentration von <0,5 mg/dl entspricht dem Normwert.

Tumornekrosefaktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) und Fibrinogen sei zusammengefasst gesagt, dass bei knapp 30% ein erhöhtes IL-6 und 50,50% ein erhöhter TNF- $\alpha$  gemessen werden konnte. Fibrinogenspiegel erwiesen sich in ca. 20% als erniedrigt und ca. 10% als erhöht (bezogen auf zugrundegelegte Normwerte von IL-6 < 7,0 pg/ml, IL-8 < 62 pg/ml, TNF- $\alpha$  < 8,1 pg/ml, Fibrinogen 170 – 420 mg/dl wie z.B. im Leistungsverzeichnis der Labor Augsburg MVZ GmbH (2018) aufgeführt).

In ihrer Versorgung mit Hämoglobin waren die männlichen Patienten mit 15,01 mg/dl im Mittel an der oberen Grenze des Normwerts angesiedelt, die Werte bewegten sich zwischen 8,80 und 21,75 mg/dl. Bei Frauen lag der mittlere Hb-Wert mit 14,04 mg/dl in der unteren Hälfte des Normbereichs und zeigte Ausprägungen in einem Rahmen von 9,6 bis 19,18 mg/dl.

Was das durchschnittliche Lipidprofil der Kohorte anging, so zeigte sich im Mittel ein auf 216,24 mg/dl erhöhter Wert des Gesamtcholesterins, insgesamt wiesen mit knapp 63% fast zwei Drittel der Patienten eine Erhöhung bis zu einem Maximum von 413,00 mg/dl auf. Das LDL machte dabei einen mittleren Anteil von 128,01 mg/dl aus, maximal war ein Wert von 305 mg/dl. Da ein großer Teil der Patienten jedoch mindestens eine kardiovaskuläre Komorbidität gezeigt hatte und die Höhe des LDLs gerade in Bezug auf das

kardiovaskuläre Risiko von Bedeutung ist, ist zusätzlich die Verteilung bezogen auf die LDL-Zielwerte der aktuellen „2016 ESC/EAS Guidelines for the Management of Dyslipidaemias“ (Catapano et al. 2016, S. 3019) interessant (siehe Abbildung 29). Demnach befinden sich kumulativ nur 23,07% unterhalb des auch für niedriges Risiko gesetzten Grenzwertes von 115 mg/dl.



**Abbildung 29: Kumulative Auftragung der LDL-Werte der Patienten. Die Bezugslinien markieren die genannten LDL-Zielwerte abhängig vom kardiovaskulären Risiko: <70 mg/dl für sehr hohes, <100 mg/dl für hohes und <115 mg/dl für moderates bzw. niedriges kardiovaskuläres Risiko (Catapano et al. 2016, S. 3019)**

## 4.2. Deskription der Konzentrationen von Osteopontin und sRAGE in der Kohorte

### 4.2.1. Osteopontin

In die Auswertung gingen letztlich 2481 Fälle, entsprechend 90,51% der Patienten, ein. Tabelle 16 zeigt zusammengefasst deskriptive statistische Kennwerte zur Konzentration des Biomarkers, visualisiert sind diese z.T. in Abbildung 30.

Osteopontin nahm im Serum der Patienten Werte zwischen 410,37 und 167312,00 pg/ml an. Der Mittelwert lag bei 5790,44 pg/ml, der Median mit 3788,00 pg/ml niedriger. Dieser Abstand sowie Schiefe und Kurtosis lassen im Vergleich zur Normalverteilung auf eine asymmetrisch rechtsschiefe und relativ steile Verteilung der Werte schließen.

Die grafische Bestätigung dazu liefert die Auftragung der Konzentrationen im Histogramm gegen eine Normalverteilungskurve (Abbildung 31), Q-Q-Plots zeigten ebenfalls wenig Übereinstimmung mit einer Normalverteilung und auch bei Kolmogorov-Smirnov- sowie Shapiro-Wilk-Test konnte kein signifikantes Ergebnis im Vergleich festgestellt werden. Nach Anwendung des natürlichen Logarithmus auf die Werte zeigten Mittelwert und Median bessere Übereinstimmung, Schiefe und Kurtosis bewegten sich deutlich mehr gegen 0 und grafisch war in Q-Q-Plots und Histogramm (Abbildung 32) eine Normalverteilung von  $\ln(\text{Osteopontin})$  eher anzunehmen. Da jedoch

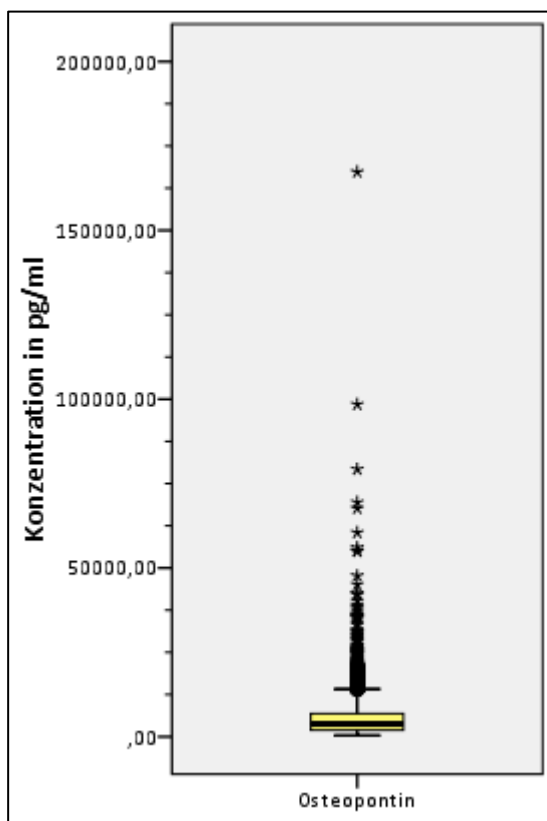


Abbildung 30: Auftretende Konzentrationen des Biomarkers Osteopontin in pg/ml im Serum der Patienten zum Zeitpunkt von V1

Kolmogorov-Smirnov- sowie Shapiro-Wilk-Test weiterhin eine Signifikanz von 0,000 ergaben, wurden im Folgenden die nicht-logarithmierte Daten und nicht-parametrische Testverfahren verwendet.

Osteopontin [pg/ml]		Statistik	Standardfehler
Mittelwert		5790,44	151,35
95% Konfidenzintervall des Mittelwerts	Untergrenze	5493,66	
	Obergrenze	6087,22	
Median		3788,00	
Varianz		56830359,22	
Standardabweichung		7538,59	
Minimum		410,37	
Maximum		167312,00	
Spannweite		166901,63	
Interquartilbereich		4873,00	
Schiefe		7,24	0,05
Kurtosis		106,80	0,10

Tabelle 16: Statistische Kennwerte zur Konzentration von Osteopontin in pg/ml zum Zeitpunkt von V1

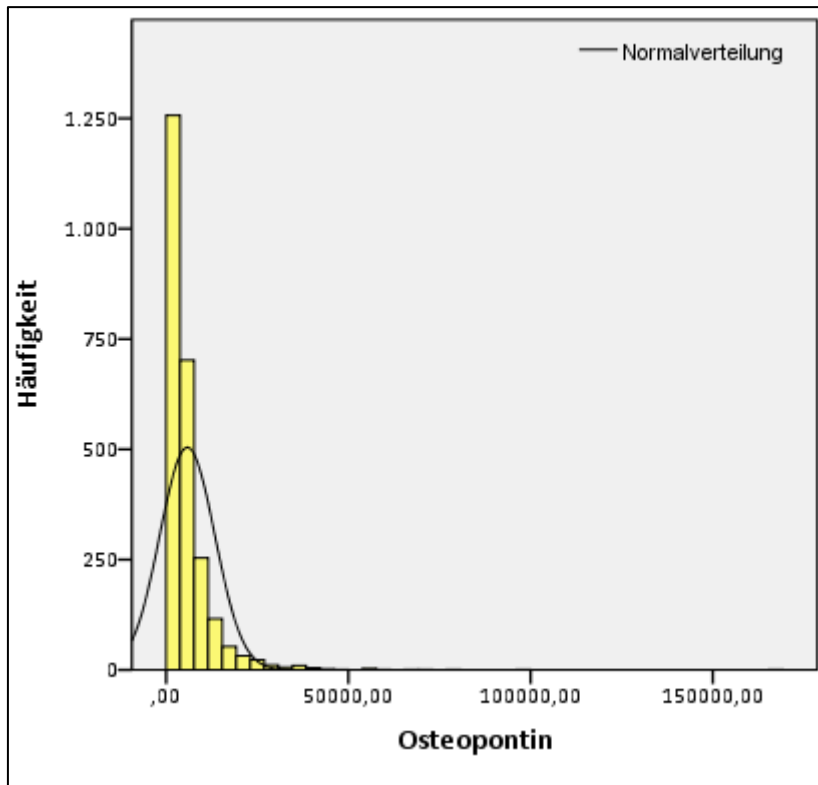


Abbildung 31: Konzentrationen des Biomarkers Osteopontin in pg/ml zum Zeitpunkt von V1, aufgetragen im Histogramm mit Normalverteilungskurve zum Vergleich

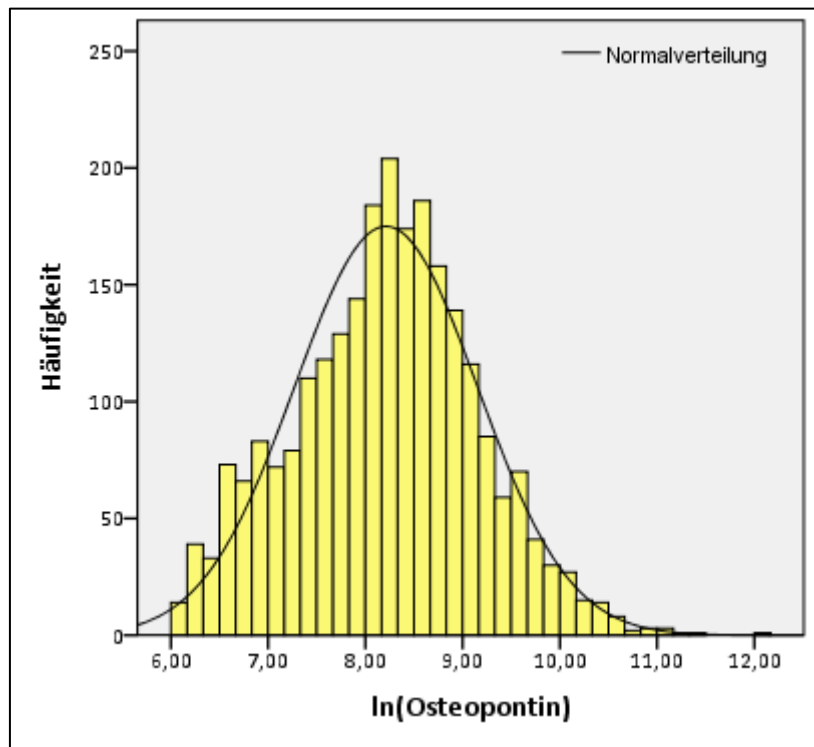


Abbildung 32: Logarithmierte Werte von Osteopontin aufgetragen gegen eine Normalverteilungskurve: für  $\ln(\text{Osteopontin})$  kann optisch eher eine Normalverteilung angenommen werden

#### 4.2.2. sRAGE

In die Auswertung konnten ebenfalls letztlich 2481 Fälle, entsprechend 90,51% der Patienten, aufgenommen werden. In Tabelle 17 sind zusammengefasst deskriptive statistische Kennwerte zur Konzentration des Biomarkers in den Serumproben aufgeführt, Abbildung 33 bietet einen grafischen Überblick.

Insgesamt traten sRAGE-Werte zwischen 47,81 und 4752 pg/ml auf, mit einer Standardabweichung von 362,28 pg/ml war im Mittel eine Serumkonzentration von 856,84 pg/ml bei den Patienten messbar. Der Median lag mit 789,08 pg/ml etwas darunter und weist in Zusammenschau mit positiver Schiefe und Kurtosis auch hier darauf hin, dass die Konzentration im Vergleich zur Normalverteilung asymmetrisch rechtsschief und steiler verteilt ist.

sRAGE [pg/ml]		Statistik	Standardfehler
Mittelwert		856,84	7,27
95% Konfidenzintervall des Mittelwerts	Untergrenze	842,58	
	Obergrenze	871,11	
Median		789,08	
Varianz		131249,75	
Standardabweichung		362,28	
Minimum		47,81	
Maximum		4752,00	
Spannweite		4704,19	
Interquartilbereich		406,28	
Schiefe		1,91	0,05
Kurtosis		9,03	0,10

Tabelle 17: Statistische Kennwerte zur Konzentration von sRAGE in pg/ml zum Zeitpunkt von V1

Im Histogramm gegen die Normalverteilung aufgetragen (Abbildung 34), bestätigt sich die vermutete Verteilung. Gegen eine Normalverteilung sprachen auch Q-Q-Plots und eine Signifikanz von 0,000 im Kolmogorov-Smirnov- sowie Shapiro-Wilk-Test. Nach Anwendung des natürlichen Logarithmus zeigten sich die neu berechneten Werte von  $\ln(sRAGE)$  in Kennwerten ebenso wie optisch lognormalverteilt (Abbildung 35), die Signifikanz nach Kolmogorov-Smirnov lag jedoch weiterhin nur bei 0,033. Bei nicht ausreichender normaler Verteilung wurden dementsprechend zur weiteren statistischen Analyse, analog zu Osteopontin, also auch hier nicht-logarithmierte Daten und nicht-parametrische Testverfahren verwendet.

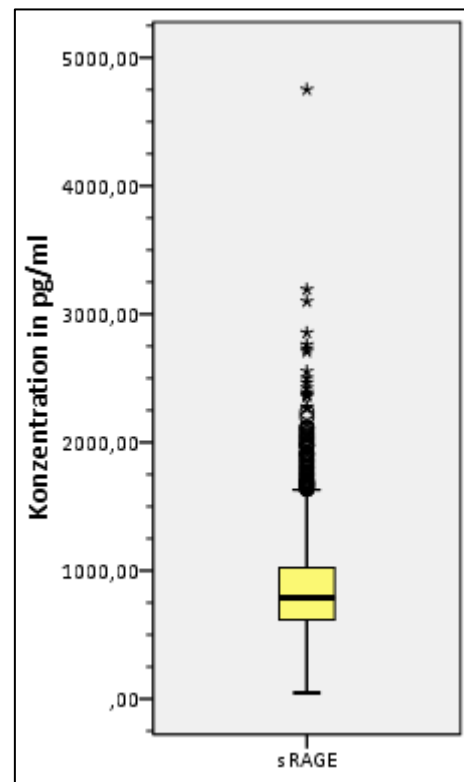


Abbildung 33: Auftretende Konzentrationen des Biomarkers sRAGE in pg/ml im Serum der Patienten zum Zeitpunkt von V1



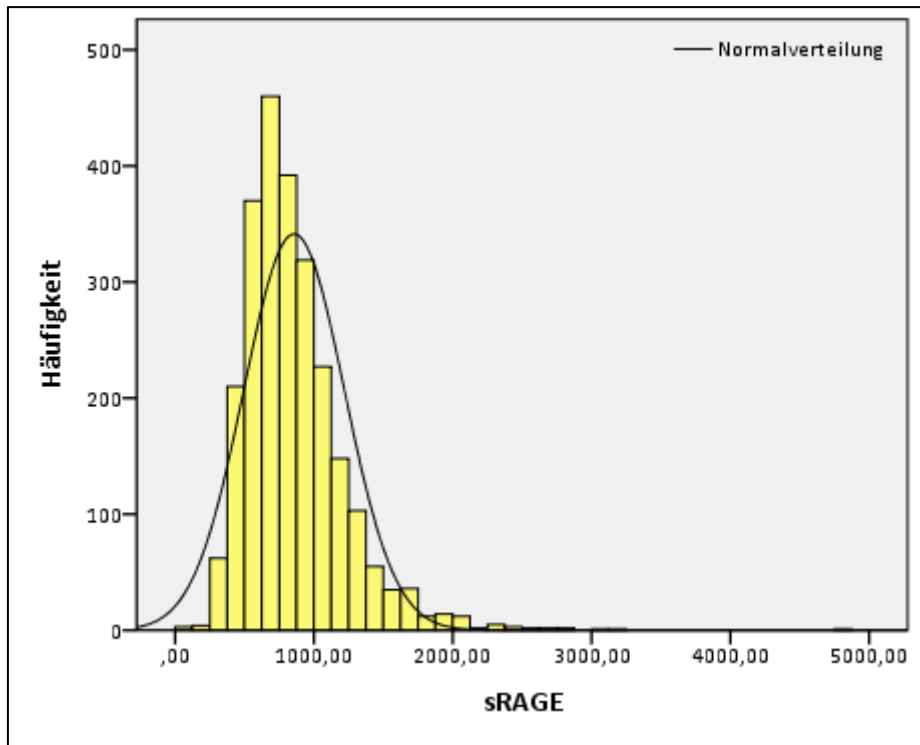


Abbildung 34: Konzentrationen des Biomarkers sRAGE in pg/ml zum Zeitpunkt von V1, aufgetragen im Histogramm mit Normalverteilungskurve zum Vergleich

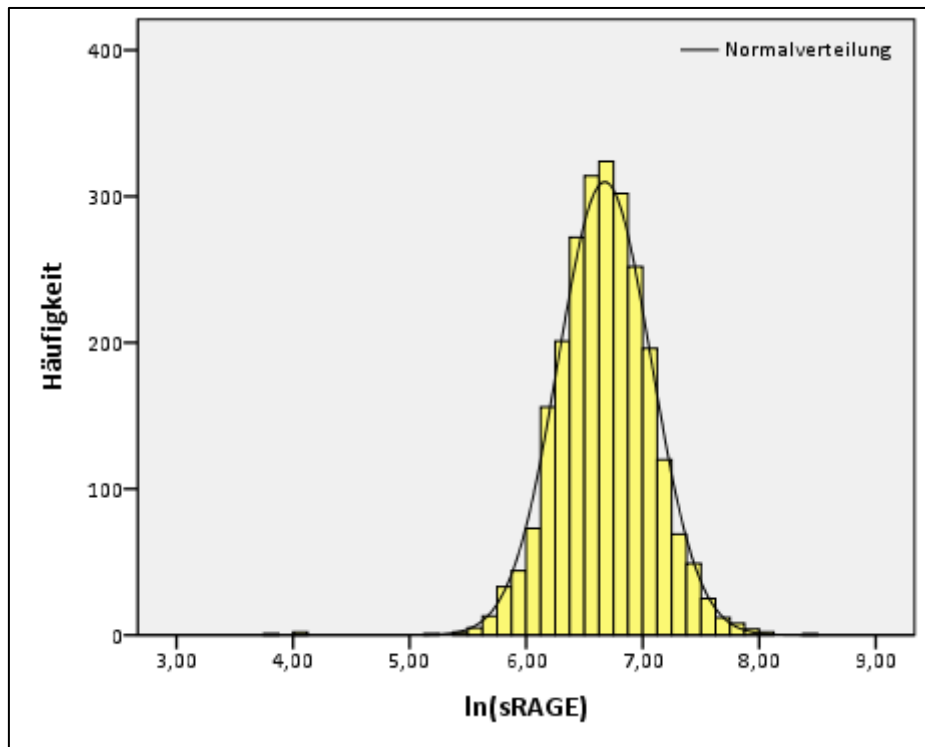


Abbildung 35: Logarithmierte Werte von sRAGE aufgetragen gegen eine Normalverteilungskurve:  $\ln(\text{sRAGE})$  zeigt sich hier letzterer besser entsprechend als sRAGE.

### **4.3. Statistische Analyse von Zusammenhängen der Markerkonzentrationen mit anderen Merkmalen der Patientenpopulation**

#### **4.3.1. Korrelationen von Osteopontin zu anderen Merkmalen**

Analog gegliedert zu den Themengebieten der Deskription der Kohorte in 4.1. folgt hier die Darstellung der Beziehungen, in denen die Konzentration des Biomarkers Osteopontin zu anderen Merkmalen der Patienten zum Zeitpunkt der Visite 1 stand. Die Verwendung der statistischen Tests entspricht den Erläuterungen in Abschnitt 3.3., die Einschätzung der Signifikanz bezieht sich, soweit nicht anderweitig angegeben, auf ein Signifikanzniveau von  $\alpha = 5\%$ . Eine Übersicht der errechneten statistischen Werte kann unter 4.4. eingesehen werden.

Zu den allgemeinen Charakteristika konnte festgestellt werden:

- Beim Vergleich der medianen Konzentrationen an Osteopontin in den Gruppen der beiden Geschlechter gab es keine signifikanten Differenzen.
- Bezüglich des Alters bestand ein signifikanter Zusammenhang mit einem Spearman-Rho – Korrelationskoeffizienten  $r$  von  $<0,1$ .
- Der BMI zeigte keinerlei Korrelation zur Konzentration an Osteopontin.
- Osteopontin unterschied sich in seiner Konzentration weder bezüglich Raucherstatus beim Vergleich der Gruppen der aktuellen Raucher, der Ex-Raucher und der Patienten, die niemals geraucht hatten, noch konnten Korrelationen zur Dauer des Zigarettenkonsums bzw. den Pack years über entsprechende Koeffizienten gefunden werden.

Zum Abschnitt der objektiven Krankheitseinstufung, der Komorbiditäten und der Risikoprofile wurde erhoben:

- Der Biomarker zeigte keine Korrelation zur Stadienzugehörigkeit, betreffend die Einteilung nach GOLD ebenso wie in die Gruppen A-D.
- Ebenso bestand kein Zusammenhang zwischen Marker und Zugehörigkeit zu einem BODE-Risikoquartil.
- Auch die Zahl an kardiovaskulären oder anderen Komorbiditäten im CVI bzw. MCI sowie das Auftreten eines metabolischen Syndroms allgemein war nicht mit der Konzentration an Osteopontin korreliert.

An einzelnen Komorbiditäten zeigten sich Diabetes mellitus (N=340, p-Wert = 0,030), maligne Neoplasien (N=278, p-Wert = 0,012), Schlaganfall (N=105, p-Wert 0,012) und

Hirnleistungsstörungen (Frage nach z.B. Gedächtnisschwäche, Unruhe, Orientierungslosigkeit, Verwirrtheit; N = 134, p-Wert = 0,015) als signifikant korrelierend mit jeweils höheren Osteopontinkonzentrationen im Erkrankungsfall.

- Bezüglich der berechneten Werte für das **kardiovaskuläre Risiko** der Patienten in 5 bzw. 10 Jahren ergaben sich signifikante Zusammenhänge mit einem Korrelationskoeffizienten von jeweils  $<0,1$  mit einem p-Wert von 0,017.

Zu den Ergebnissen bei Betrachtung des klinischen Zustands der Patienten in Verbindung mit der Markerkonzentration wurde festgehalten:

- Für die subjektive Wahrnehmung der eigenen Verfassung zeigte sich der Kruskal-Wallis-Test zunächst mit einem p-Wert von 0,003 auffällig, nach paarweisem Vergleich mit Bonferroni-Korrektur stellte sich jedoch mit einem p-Wert von 0,011 lediglich ein Unterschied der Mediane zwischen den Befindlichkeiten „Gut“ und „Weniger gut“ heraus, es konnte kein umfassenderer Zusammenhang zwischen Marker und dem Krankheitsgefühl der Patienten gefunden werden. Für die Einschränkung der alltäglichen Aktivität konnte eine primär signifikante Korrelation ( $r < 0,1$ , p-Wert = 0,031) mit dem Kruskal-Wallis-Test nicht bestätigt und auch für die Atemnot der Patienten keine Korrelation mit Osteopontin nachgewiesen werden. Der **St. George's Respiratory Questionnaire (SGRQ)** war dagegen mit einem Korrelationskoeffizienten von  $r < 0,1$  bei einem p-Wert von 0,044 signifikant mit der Biomarkerkonzentration verbunden.
- Die **Anzahl an akuten Exazerbationen** in den letzten 12 Monaten zeigte eine positive Korrelation mit Osteopontin ( $r < 0,1$ , p-Wert = 0,004), auch bei Einteilung in Patienten ohne und mit häufigen Exazerbationen (0-1 bzw.  $\geq 2$  Exazerbationen in den letzten 12 Monaten, nach Lee et al., näheres dazu s. Abschnitt 5.1.) war Osteopontin in diesen beiden Gruppen signifikant unterschiedlich (p-Wert = 0,012). Höhere Konzentrationen fanden sich bei häufigen Zustandsverschlechterungen. Ähnlich verhielt es sich mit den **Krankenhausaufnahmen** im Rahmen dieser Exazerbationen, die Anzahl korrelierte positiv mit dem Biomarker ( $r < 0,1$ , p-Wert = 0,000).

Zuletzt wurden noch die Lungenfunktions- sowie Laborwerte auf Zusammenhänge mit der Konzentration an Osteopontin untersucht:

- Zum Tiffeneau-Index sowie isoliert zu den ihn zusammensetzenden Messwerten der FEV<sub>1</sub> und der FVC konnte keine Korrelation nachgewiesen werden. Auch bezüglich ITGV und TLCO wurden keine Zusammenhänge mit der Markerkonzentration gefunden.
- In der Reihe der Laborwerte zeigten die Leukozytenzahl, der CRP-Wert und Fibrinogen ebenfalls keine Korrelation zum Wert an Osteopontin. Mit einem p-Wert von 0,001 als signifikant damit

zusammenhängend erwiesen sich jedoch **IL-6** und **IL-8**, auch zu **TNF $\alpha$**  (p-Wert = 0,005) bestand eine signifikante Beziehung. Der Korrelationskoeffizient lag jeweils bei  $<0,1$ .

Für den **Hb-Wert** sowie für Lipidprofil mit **Gesamt- und LDL-Cholesterin** konnte wiederum kein Zusammenhang gefunden werden.

#### 4.3.2. **Korrelationen von sRAGE zu anderen Merkmalen**

Ebenfalls in vergleichbarer Reihenfolge zur Deskription der Kohorte in 4.1. sollen hier die Zusammenhänge zwischen der Konzentration des Biomarkers sRAGE und anderen Merkmalen der Patienten zum Zeitpunkt der Visite 1 dargestellt werden. Für die theoretisch-statistische Grundlage sowie eine Zusammenfassung der errechneten Werte sei erneut auf die Abschnitte 3.3. bzw. 4.4. verwiesen. Auch hier wurde zur Einschätzung der Signifikanz, soweit nicht gesondert angegeben, mit einem Signifikanzniveau von  $\alpha = 5\%$  gearbeitet.

Bezüglich der allgemeinen Charakteristika stellten sich folgende Sachverhalte heraus:

- Der Biomarker sRAGE zeigte beim Vergleich der Mediane in den beiden Gruppen keine signifikanten Unterschiede betreffend das **Geschlecht**.
- Das **Alter** der Patienten war mit einem Korrelationskoeffizienten von 0,110 (p-Wert 0,000) mit der Konzentration an sRAGE korreliert.
- Bezüglich des **BMI** war keinerlei Korrelation mit der Konzentration an sRAGE festzustellen.
- Beim Kruskal-Wallis-Test in Bezug auf den **Raucherstatus** stellte sich für die Subgruppen der aktuellen Raucher, Ex-Raucher und grundsätzlichen Nichtraucher mit einem p-Wert von 0,000 ein Unterschied bzgl. der Mediane heraus. Nach paarweisem Vergleich mit Bonferroni-Korrektur zeigte sich, dass eine signifikante Differenz zwischen den medianen sRAGE-Konzentrationen der Nichtraucher verglichen mit sowohl der Gruppe der aktuellen wie auch der ehemaligen Raucher bestand. Die Nichtraucher hatten mit einem p-Wert von 0,000 einen signifikant höheren Wert an

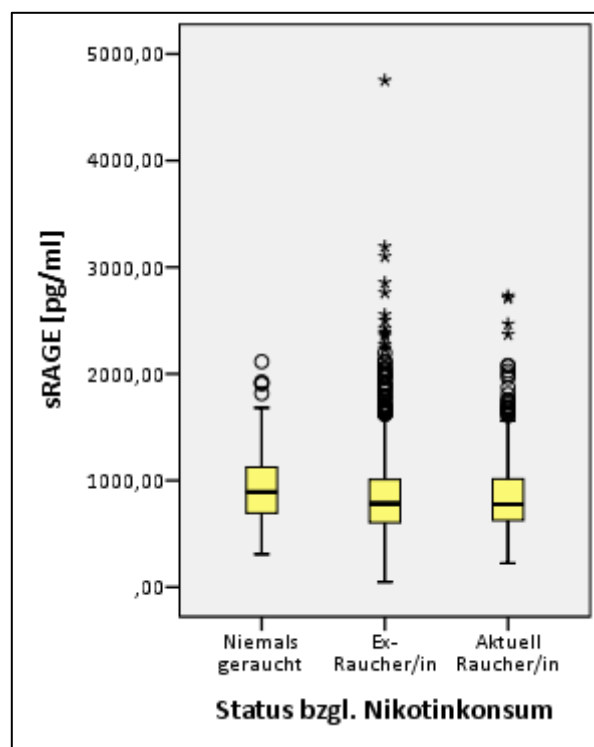


Abbildung 36: Box-Plots der Werte von sRAGE in den verschiedenen Gruppen je nach Raucherstatus

sRAGE als die Ex-Raucher bzw. mit einem p-Wert von 0,002 als die aktuellen Raucher.

Abbildung 36 erlaubt die grafische Einschätzung des Effekts.

Bezüglich der Dauer des Zigarettenkonsums war keine, für die Pack years mit  $r < -0,1$  ( $p$ -Wert = 0,037) eine Korrelation zur Biomarkerkonzentration feststellbar.

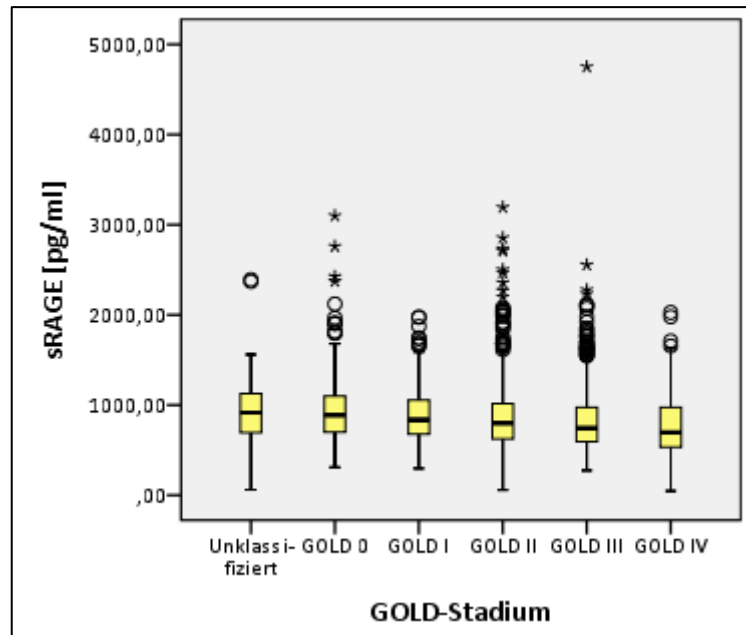


Abbildung 37: Box-Plots der Werte von sRAGE in den Gruppen der verschiedenen GOLD-Stadien

Zum Abschnitt der objektiven

Krankheitseinstufung, Komorbiditäten und Risikoprofile konnte festgehalten werden:

- Optisch und anhand der statistischen Kennwerte ergab sich der Eindruck, die Konzentration an sRAGE würde in einem negativen linearen Zusammenhang mit den GOLD-Stadien stehen (siehe Abbildung 37), bestätigt durch einen Korrelationskoeffizienten von  $-0,161$  ( $p$ -Wert = 0,000). Der Kruskal-Wallis-Test zeigte mit derselben Signifikanz ebenfalls einen Unterschied der Mediane an, im paarweisen Vergleich der Gruppen mit

Bonferroni-Korrektur wurde offengelegt, dass dieser immer ab dem Abstand eines Stadiums bestand. Dabei wurde mit steigendem Abstand zwischen den verglichenen Stadien auch die Signifikanz deutlicher. Auszunehmen ist hierbei die kleine Gruppe der unklassifizierten Patienten ( $n=60$  von gesamt  $n=2474$ ), diese wies nur einen signifikant unterschiedlichen Median bei Vergleich mit Stadium GOLD III und IV auf.

Bezüglich der Einstufung in die Stadien A-D war gleichermaßen eine Korrelation mit dem Biomarker zu finden ( $r=-0,139$ ,  $p$ -Wert 0,000), der Kruskal-Wallis-Test ergab ebenso

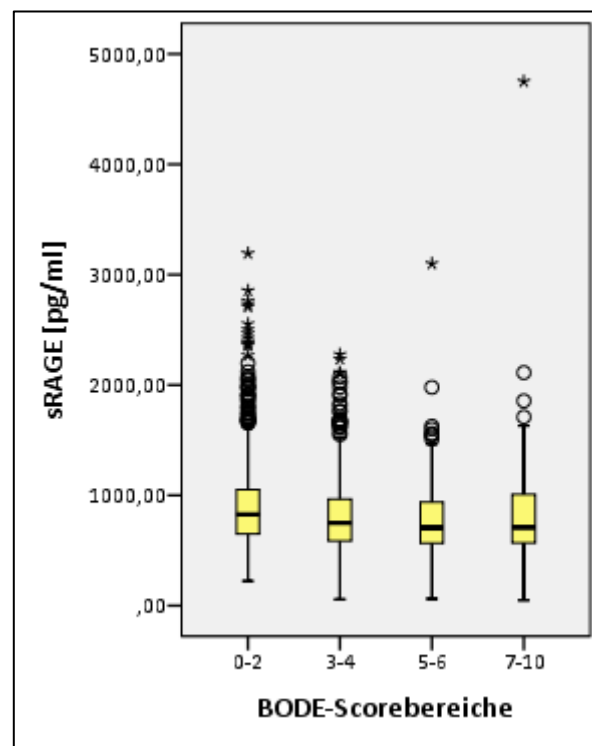


Abbildung 38: Box-Plots der Werte von sRAGE in den Gruppen der verschiedenen BODE-Risikoquartile

signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen. Nach paarweisen Vergleichen mit Bonferroni-Korrektur wurde sichtbar, dass diese zwischen den Gruppen der Patienten ohne Einstufung, dem Stadium B und dem Stadium D bestanden.

- Bei der Betrachtung des **BODE-Index** in Bezug auf die Konzentration an sRAGE verhielt es sich ähnlich wie bei den GOLD-Stadien. Ausgehend vom optischen Eindruck eines negativen, linearen Zusammenhangs (siehe Abbildung 38) wurde ein Korrelationskoeffizient von  $-0,134$  ( $p$ -Wert =  $0,000$ ) bestimmt. Eine ebenso signifikante Bestätigung unterschiedlicher Mediane zwischen den verschiedenen Quartilsgruppen erbrachte der Kruskal-Wallis-Test. Nach paarweisem Vergleich mit Bonferroni-Korrektur wurde deutlich, dass eine signifikante Differenz mit einem  $p$ -Wert von jeweils  $0,000$  zwischen erstem und zweitem bzw. erstem und drittem Quartil und, mit einem  $p$ -Wert von  $0,040$ , auch zwischen erstem und viertem Quartil bestand. Ausgehend vom niedrigsten Risikobereich schien ein Aufstieg also verbunden mit einem signifikant niedrigeren Wert an sRAGE.
- Für die im **CVI** zusammengefasste Zahl an kardiovaskulären Komorbiditäten ( $p$ -Wert =  $0,032$ ) ergab sich ebenso wie für die Zahl an Komorbiditäten allgemein im **MCI** ( $p$ -Wert von  $0,001$ ) eine positive Korrelation mit sRAGE, in beiden Fällen mit einem Korrelationskoeffizienten von  $r < 0,1$ . Das Auftreten eines metabolischen Syndroms zeigte keinen Zusammenhang mit der Konzentration an sRAGE. Bei der separaten Betrachtung der erfragten **Komorbiditäten**, waren Korrelationen mit Angina pectoris bzw. KHK ( $N = 394$ ,  $p$ -Wert =  $0,012$ ), Asthma bronchiale ( $N = 454$ ,  $p$ -Wert =  $0,049$ ), chronischer Nierenerkrankung ( $N = 247$ ,  $p$ -Wert =  $0,000$ ), Gicht ( $N = 408$ ,  $p$ -Wert =  $0,037$ ), Eisenmangel ( $N = 180$ ,  $p$ -Wert =  $0,042$ ) und auch hier mit malignen Neoplasien ( $N = 278$ ,  $p$ -Wert =  $0,038$ ) zu finden. Dabei war die Konzentration an sRAGE in der komorbide erkrankten Patientengruppe höher als in der Patientengruppe ohne die jeweilige Erkrankung.
- Das **kardiovaskuläre 5- bzw. 10-Jahresrisiko** zeigte Korrelationen mit einem Spearman-Rho-Koeffizienten von  $r < 0,1$  ( $p$ -Wert des 5-Jahresrisikos bei  $0,010$ ,  $p$ -Wert des 10-Jahresrisikos bei  $0,005$ ).

Die Untersuchung der Merkmale, die unter dem Aspekt des klinischen Bildes der Patienten eingeordnet wurden, erbrachte folgende Ergebnisse:

- Zwischen der subjektiven Wahrnehmung der Verfassung bzw. der alltäglichen Einschränkung und der Konzentration an sRAGE konnte kein Zusammenhang festgestellt werden. In Bezug auf die **Atemnot** nach mMRC zeigte sich Korrelation ( $r < -0,1$ ,  $p$ -Wert  $0,000$ ) sowie Signifikanz beim Kruskal-Wallis-Test ( $p$ -Wert =  $0,000$ ). Nach paarweisem Vergleich mit Bonferroni-Korrektur wurden mit  $p$ -Werten von  $0,001$  bzw.  $0,028$  Zusammenhänge zwischen mittleren Gruppen

sichtbar, die für niedrigere sRAGE-Werte bei einer Verschlechterung im Sinne von Einschränkungen bereits beim Gehen in der Ebene sprachen. Mit dem **SGRQ** war die Biomarkerkonzentration signifikant negativ korreliert ( $r < -0,1$ , p-Wert = 0,002)

- Bezüglich der Zahl der akuten Exazerbationen in den vorangegangenen 12 Monaten und der dadurch nötigen Krankenhausaufnahmen war keinerlei Korrelation zur Biomarkerkonzentration nachweisbar.

Zuletzt soll noch auf Korrelationen zwischen der Biomarkerkonzentration und Parametern der Lungenfunktion sowie der Labordiagnostik eingegangen werden:

- Der **Tiffeneau-Index** zeigte sich mit einem Korrelationskoeffizienten von  $r=0,170$  (p-Wert=0,000) signifikant mit sRAGE korrelierend. Seine Komponenten der **FEV<sub>1</sub>** und der **FVC** genauer betrachtet, kann der größere Teil dabei auf den Einfluss von ersterer zurückgeführt werden ( $r=0,178$  bei einem p-Wert von 0,000), geringer im Anteil auf zweitere ( $r=0,098$  bei einem p-Wert von 0,000). Ebenfalls eine positive Korrelation auf demselben Signifikanzniveau bestand zwischen sRAGE und der **TLCO** ( $r=0,157$ ). Negativ korreliert war dagegen das **ITGV** mit  $r=-0,106$ , wiederum mit einem p-Wert von 0,000. In Abbildung 39 und 40 wurden die Zusammenhänge bildlich dargestellt, wobei die Konzentration an sRAGE zur Verdeutlichung in 25%-Quartilen zusammengefasst gegen den jeweiligen Lungenfunktionsparameter aufgetragen wurde.
- Bezüglich der Entzündungsaktivität konnte für die **Leukozytenzahl** eine negative Korrelation mit sRAGE gefunden werden, es ergab sich ein Spearman-Rho-Koeffizient von  $<-0,1$  (p-Wert = 0,000). Der **CRP**-Wert zeigte sich wie auch **IL-6** und **Fibrinogen** nicht mit der Markerkonzentration verbunden. **IL-8** und **TNF $\alpha$**  dagegen standen in Zusammenhang mit sRAGE, der Korrelationskoeffizient betrug 0,081 bzw. 0,127 bei einem p-Wert von jeweils 0,000. Desweiteren wurde der **Hb-Wert** betrachtet, hier war ebenfalls eine negative Korrelation von  $<-0,1$  zu sehen (p-Wert = 0,000). Das Lipidprofil mit Gesamt- und LDL-Cholesterin konnte mit der Konzentration an sRAGE nicht in Verbindung gebracht werden.

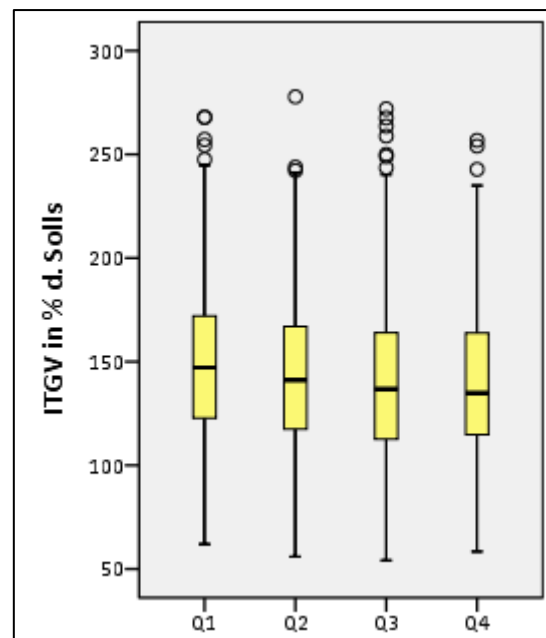
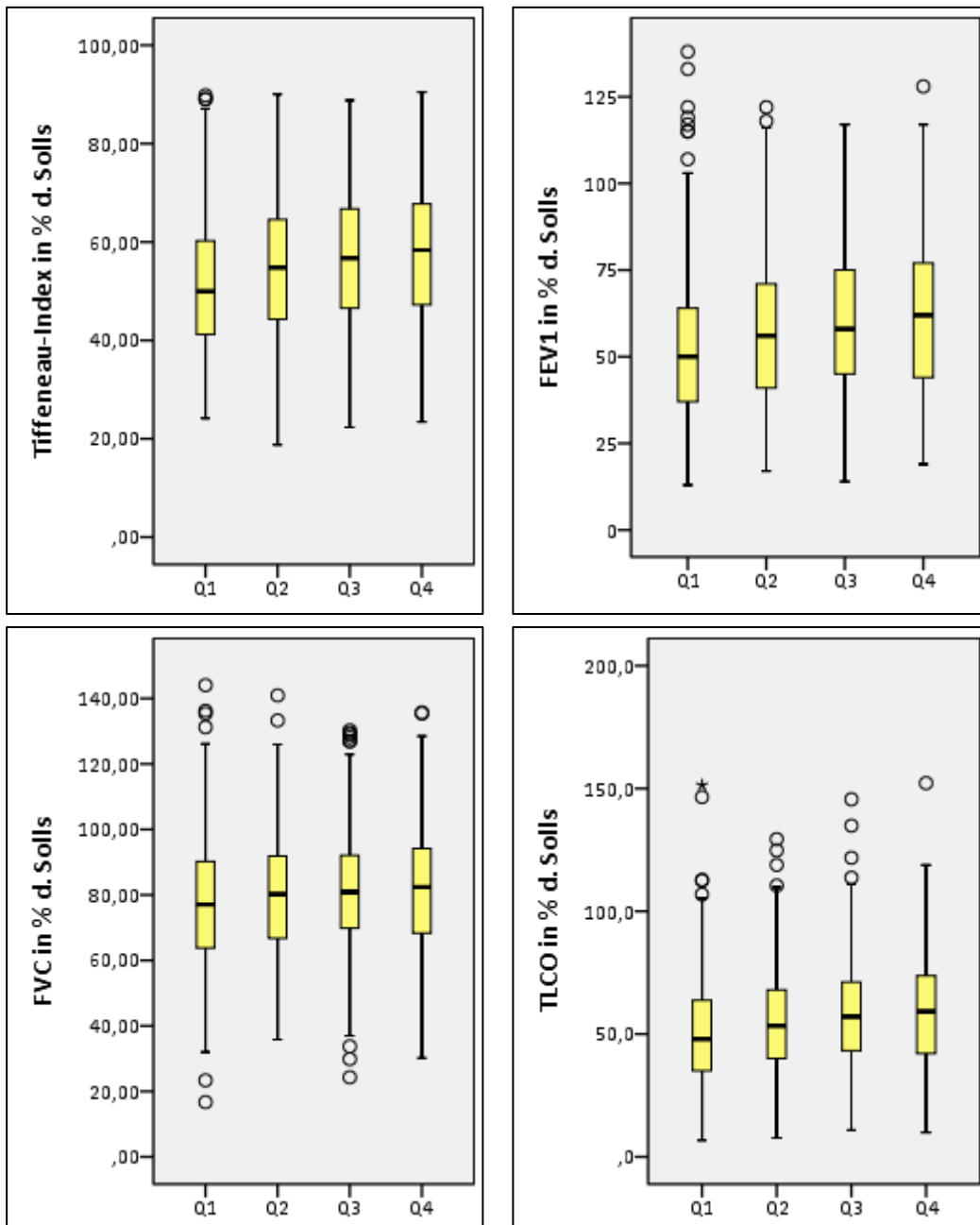


Abbildung 39: Darstellung des ITGV in Abhängigkeit von sRAGE unterteilt in vier Quartile. Dabei wurden die Werte von sRAGE in steigender Anordnung in Gruppen von jeweils 25% aller Werte zusammengefasst. Q1 enthält somit die niedrigsten 25% der Werte, Q2 die nächsthöheren 25%, usw. Hierbei wird die detektierte, im Text erläuterte negative Korrelation zu sRAGE sichtbar.



**Abbildung 40:** Darstellung der untersuchten Lungenfunktionsparameter in Abhängigkeit von sRAGE unterteilt in vier Quartile. Dabei wurden die Werte von sRAGE in steigender Anordnung in Gruppen von jeweils 25% aller Werte zusammengefasst. Q1 enthält somit die niedrigsten 25% der Werte, Q2 die nächsthöheren 25%, usw. Hierbei wird die detektierte, im Text erläuterte positive Korrelation zwischen sRAGE und den Lungenfunktionswerten grafisch sichtbar.



## 4.4. Zusammenfassende Übersichtstabellen

### 4.4.1. Zu Osteopontin

Merkmal/e	p-Wert d. stat. Tests	Spearman-Rho-Korrelationskoeffizient	
		Koeffizient	p-Wert
Geschlecht	0,089	-	-
<b>Alter</b>	-	0,052	<b>0,010</b>
BMI	-	-0,012	0,547
Raucherstatus	0,722	-	-
Konsumdauer	-	0,012	0,557
Pack years	-	-0,016	0,445
GOLD-Stadium	0,342	0,000	0,999
ABCD-Stadium	0,542	0,013	0,519
BODE-Quartil	0,219	0,004	0,861
CVI	-	0,026	0,192
MCI	-	0,031	0,121
Metabolisches Syndrom	0,380	-	-
<b>5-J.-Risiko CVD</b>	-	0,052	<b>0,017</b>
<b>10-J. Risiko CVD</b>	-	0,052	<b>0,017</b>
Allg. Verfassung	<b>0,003</b> <sup>1)</sup>	0,057	<b>0,005</b>
Alltägliche Tätigkeiten	0,098	0,043	<b>0,031</b>
Atemnot nach mMRC-Skala	0,283	0,031	0,127
<b>SGRQ</b>	-	0,041	<b>0,044</b>
Anzahl an akuten Exazerbationen in den letzten 12 Monaten	-	0,057	<b>0,004</b>
Anzahl an Krankenhausaufnahmen bei genannten Exazerbationen	-	0,074	<b>0,000</b>
Exazerbationshäufigkeit nach Gruppierung*	<b>0,012</b> <sup>2)</sup>	-	-
Tiffeneau-Index	-	-0,019	0,355
FEV <sub>1</sub>	-	0,013	0,520
FVC	-	0,035	0,086
ITGV	-	0,006	0,760
TLCO	-	-0,010	0,622
Leukozytenzahl	-	0,039	0,051
CRP	-	0,033	0,105
<b>IL-6</b>	-	0,068	<b>0,001</b>
<b>IL-8</b>	-	0,069	<b>0,001</b>
<b>TNF<math>\alpha</math></b>	-	0,057	<b>0,005</b>
Fibrinogen	-	0,022	0,286
Hb	-	-0,018	0,379
Gesamtcholesterin	-	-0,027	0,174
LDL-Cholesterin	-	-0,014	0,497
<b>Signifikant korrelierende Komorbiditäten:</b>			
Diabetes mellitus	0,030	-	-
Maligne Neoplasien	0,012	-	-
Schlaganfall	0,012	-	-
Hirnleistungsstörungen	0,015	-	-

Tabelle 18: Koeffizienten und p-Werte der statistischen Berechnungen zu den Korrelationen der Konzentration an Osteopontin mit den aufgeführten weiteren Merkmalen der Patienten. Als statistischer Tests der zweiten Spalte wurde je nach Subgruppenanzahl der Mann-Whitney-U- bzw. der Kruskal-Wallis-Test verwendet, bei signifikantem Ergebnis folgte der paarweise Vergleich mit Anpassung der Signifikanz durch Bonferroni-Korrektur.

\* Gruppierung: Einteilung in Patienten ohne und mit häufigen Exazerbationen (0-1 bzw.  $\geq 2$  AECOPD in den letzten 12 Monaten), weiterführende Erklärungen s. Abschnitt 5.1.

- 1) Im paarweisen Vergleich war mit einem p-Wert von 0,011 lediglich ein Unterschied der Mediane bei den Zustandsbeschreibungen „Gut“ und „Weniger gut“ nachweisbar.

**Tabelle 19: Statistische Kennwerte zur Konzentration an Osteopontin in den verschiedenen Gruppen je nach subjektiver Einschätzung der Verfassung**

		Osteopontin [pg/ml]				
		nach gegenwärtiger körperlicher Verfassung				
		Sehr gut	Gut	Weniger gut	Schlecht	Weiß nicht
Mittelwert	Statistik	4457,35	5310,45	5937,81	6431,85	6334,80
	Standardfehler	1197,06	239,20	188,86	585,63	1756,59
95% Konfidenzintervall des Mittelwerts	Untergrenze	2012,61	4840,91	5567,31	5280,20	2590,71
	Obergrenze	6902,08	5779,99	6308,32	7583,50	10078,89
Median		2641,00	3561,00	4056,85	3815,00	3738,50
Varianz		44421893,47	45200857,40	45226015,32	124837879,70	49369904,24
Standardabweichung		6664,98	6723,16	6725,03	11173,09	7026,37
Minimum		537,87	455,74	452,96	455,74	537,87
Maximum		36162,00	79253,00	98454,00	167312,00	27045,00
Spannweite		35624,13	78797,26	98001,04	166856,26	26507,13
Interquartilbereich		4635,70	4310,25	5047,50	5145,25	2184,25

- 2) **Tabelle 20: Statistische Kennwerte zur Konzentration an Osteopontin in den verschiedenen Gruppen je nach Exazerbationshäufigkeit**

		Osteopontin [pg/ml]	
		Nach Exazerbationshäufigkeit	
		0-1	≥2
Mittelwert	Statistik	5660,65	6130,93
	Standardfehler	184,48	258,79
95% Konfidenzintervall des Mittelwerts	Untergrenze	5298,83	5622,82
	Obergrenze	6022,46	6639,05
Median		3715,50	4085,50
Varianz		60917956,73	46212002,33
Standardabweichung		7805,00	6797,94
Minimum		410,37	455,74
Maximum		167312,00	69470,00
Spannweite		166901,63	69014,26
Interquartilbereich		4756,00	5241,68

#### 4.4.2. Zu sRAGE

Merkmal/e	p-Wert d. stat. Tests	Spearman-Rho-Korrelationskoeffizient	
		Koeffizient	p-Wert
Geschlecht	0,120	-	-
<b>Alter*</b>	-	0,110	<b>0,000</b>
BMI	-	0,006	0,768
<b>Raucherstatus</b>	<b>0,000</b> <sup>1)</sup>	-	-
Konsumdauer	-	-0,021	0,327
<b>Pack years*</b>	-	-0,044	<b>0,037</b>
<b>GOLD-Stadium*</b>	<b>0,000</b> <sup>2)</sup>	-0,161	<b>0,000</b>
<b>ABCD-Stadium</b>	<b>0,000</b> <sup>3)</sup>	-0,139	<b>0,000</b>
<b>BODE-Quartil</b>	<b>0,000</b> <sup>4)</sup>	-0,134	<b>0,000</b>
<b>CVI*</b>	-	0,043	<b>0,032</b>
<b>MCI</b>	-	0,068	<b>0,001</b>
Metabolisches Syndrom	0,474	-	-
<b>5-J.-Risiko CVD</b>	-	0,056	<b>0,010</b>
<b>10-J. Risiko CVD</b>	-	0,056	<b>0,010</b>
Allg. Verfassung	0,554	-0,031	0,126
Alltägliche Tätigkeiten	0,524	-0,022	0,266
<b>Atemnot nach mMRC-Skala</b>	<b>0,000</b> <sup>5)</sup>	-0,087	<b>0,000</b>
<b>SGRQ</b>	-	-0,062	<b>0,002</b>
Anzahl an akuten Exazerbationen in den letzten 12 Monaten	-	-0,026	0,202
Anzahl an Krankenhausaufnahmen bei genannten Exazerbationen	-	-0,032	0,108
<b>Tiffeneau-Index</b>	-	0,170	<b>0,000</b>
<b>FEV<sub>1</sub>*</b>	-	0,178	<b>0,000</b>
<b>FVC</b>	-	0,098	<b>0,000</b>
<b>ITGV</b>	-	-0,106	<b>0,000</b>
<b>TLCO*</b>	-	0,157	<b>0,000</b>
<b>Leukozytenzahl</b>	-	-0,094	<b>0,000</b>
CRP	-	-0,003	0,882
IL-6	-	0,037	0,069
<b>IL-8*</b>	-	0,081	<b>0,000</b>
<b>TNF<math>\alpha</math>*</b>	-	0,127	<b>0,000</b>
Fibrinogen	-	-0,011	0,605
<b>Hb*</b>	-	-0,077	<b>0,000</b>
Gesamtcholesterin	-	-0,021	0,301
LDL-Cholesterin	-	-0,007	0,738
<b>Signifikant korrelierende Komorbiditäten:</b>			
Angina pectoris/KHK	0,012		
Asthma bronchiale	0,049		
Chronische Nierenerkrankung	0,000		
Gicht	0,037		
Eisenmangel	0,042		
Maligne Neoplasien	0,038		

**Tabelle 21: Koeffizienten und p-Werte der statistischen Berechnungen zu den Korrelationen der Konzentration an sRAGE mit den aufgeführten weiteren Merkmalen der Patienten. Als statistischer Tests der zweiten Spalte wurde je nach Subgruppenanzahl der Mann-Whitney-U- bzw. der Kruskal-Wallis-Test verwendet, bei signifikantem Ergebnis folgte der paarweise Vergleich mit Anpassung der Signifikanz durch Bonferroni-Korrektur.**

- 1) **Tabelle 22, oben:** Statistische Kennwerte zur Konzentration an sRAGE in den verschiedenen Gruppen je nach Raucherstatus  
**Tabelle 23, unten:** Daten des Vergleichs der Mediane der verschiedenen Gruppen je nach Raucherstatus (dunkle Hinterlegung der signifikanten p-Werte)

		sRAGE [pg/ml]		
		nach Status bzgl. Nikotinkonsum		
		Niemals geraucht	Ex-Raucher/in	Aktuell Raucher/in
Mittelwert	Statistik	935,84	849,24	853,11
	Standardfehler	24,46	9,06	13,91
95% Konfidenzintervall des Mittelwerts	Untergrenze	887,58	831,48	825,79
	Obergrenze	984,10	867,00	880,44
Median		891,51	783,64	776,74
Varianz		112510,10	136713,36	120393,85
Standardabweichung		335,43	369,75	346,98
Minimum		309,52	47,81	223,99
Maximum		2114,00	4752,00	2732,00
Spannweite		1804,48	4704,19	2508,01
Interquartilbereich		435,39	406,21	390,75

Stichprobe1-Stichprobe2	Test-statistik	Std. Fehler	Standard Test-statistik	Sig.	Angep. Sig.
Ex-Raucher/in-Aktuell Raucher/in	-20,234	33,603	-,602	,547	1,000
Ex-Raucher/in-Niemals geraucht	225,770	55,023	4,103	,000	,000
Aktuell Raucher/in-Niemals geraucht	205,536	59,524	3,453	,001	,002

- 2) **Tabelle 24, oben:** Statistische Kennwerte zur Konzentration an sRAGE in den verschiedenen Gruppen je nach GOLD-Stadium  
**Tabelle 25, unten:** p-Werte des Vergleichs der Mediane der verschiedenen Gruppen je nach GOLD-Stadium (angegeben sind nur die signifikant unterschiedlichen Vergleichspaare)

		sRAGE [pg/ml]					
		nach GOLD-Stadium nach GLI-Referenzwerten					
		Unklassifiziert	GOLD 0	GOLD I	GOLD II	GOLD III	GOLD IV
Mittelwert	Statistik	952,59	951,80	892,02	862,82	823,40	769,20
	Standardfehler	50,64	21,60	22,80	12,16	12,81	22,30
95% Konfidenzintervall des Mittelwerts	Untergrenze	851,27	909,29	847,05	838,96	798,25	725,25
	Obergrenze	1053,92	994,31	937,00	886,69	848,55	813,15
Median		916,99	888,07	834,67	799,47	743,43	696,79
Varianz		153852,12	144224,21	101927,85	131416,78	130298,23	112416,94
Standardabweichung		392,24	379,77	319,26	362,51	360,97	335,29
Minimum		61,69	309,52	296,65	57,59	275,41	47,81
Maximum		2391,00	3100,00	1975,00	3193,00	4752,00	2027,00
Spannweite		2329,31	2790,48	1678,35	3135,41	4476,59	1979,19
Interquartilbereich		439,81	399,59	378,36	391,57	382,63	440,79

GOLD-Stadium	GOLD-Stadium (Vergleichspartner)	p-Wert
Unklassifiziert	GOLD III	0,017
	GOLD IV	0,001
GOLD 0	GOLD II	0,001
	GOLD III	0,000
	GOLD IV	0,000
GOLD I	GOLD III	0,009
	GOLD IV	0,000
GOLD II	GOLD 0	0,001
	GOLD IV	0,001
GOLD III	Unklassifiziert	0,017
	GOLD 0	0,000
	GOLD I	0,009
GOLD IV	Unklassifiziert	0,001
	GOLD 0	0,000
	GOLD I	0,000
	GOLD II	0,001

- 3) **Tabelle 26, oben:** Statistische Kennwerte zur Konzentration an sRAGE in den verschiedenen Gruppen je nach ABCD-Stadium  
**Tabelle 27, unten:** p-Werte des Vergleichs der Mediane der verschiedenen Gruppen je nach ABCD-Stadium (angegeben sind nur die signifikant unterschiedlichen Vergleichspaare)

		sRAGE [pg/ml]				
		nach ABCD-Krankheitsstadium				
		Keine Einstufung	A	B	C	D
Mittelwert	Statistik	945,48	871,34	878,07	848,75	816,32
	Standardfehler	19,40	27,38	14,64	36,07	10,08
95% Konfidenzintervall des Mittelwerts	Untergrenze	907,33	817,30	849,32	777,10	796,53
	Obergrenze	983,62	925,38	906,83	920,41	836,10
Median		885,37	790,84	809,47	793,67	748,34
Varianz		144538,33	128910,80	133821,04	118376,81	123032,05
Standardabweichung		380,18	359,04	365,82	344,06	350,76
Minimum		61,69	295,77	236,74	223,99	47,81
Maximum		3100,00	2357,00	3193,00	1767,00	4752,00
Spannweite		3038,31	2061,23	2956,26	1543,01	4704,19
Interquartilbereich		407,82	364,10	406,65	440,60	389,07

Verglichene Gruppen	p-Wert
Keine Einstufung – Stadium B	0,014
Keine Einstufung – Stadium D	0,000
Stadium B – Stadium D	0,001

- 4) **Tabelle 28, oben:** Statistische Kennwerte zur Konzentration an sRAGE in den verschiedenen BODE-Risikogruppen  
**Tabelle 29, unten:** Daten des Vergleichs der Mediane der verschiedenen BODE-Risikogruppen (dunkle Hinterlegung der signifikanten p-Werte)

		sRAGE [pg/ml]			
		nach BODE-Scorebereichen			
		0-2	3-4	5-6	7-10
Mittelwert	Statistik	888,12	821,89	776,69	845,92
	Standardfehler	9,42	14,50	20,40	56,92
95% Konfidenzintervall des Mittelwerts	Untergrenze	869,65	793,42	736,53	732,88
	Obergrenze	906,59	850,36	816,86	958,97
Median		826,19	749,76	706,54	707,90
Varianz		129116,38	121036,78	106904,15	301311,52
Standardabweichung		359,33	347,90	326,96	548,92
Minimum		223,99	57,59	61,69	47,81
Maximum		3193,00	2277,00	3100,00	4752,00
Spannweite		2969,01	2219,41	3038,31	4704,19
Interquartilbereich		403,29	379,63	372,22	465,45

Stichprobe1-Stichprobe2	Test-statistik	Std. Fehler	Standard Test-statistik	Sig.	Angep. Sig.
5-6-7-10	-41,825	83,228	-,503	,615	1,000
5-6-3-4	83,777	51,593	1,624	,104	,626
5-6-0-2	241,454	46,534	5,189	,000	,000
7-10-3-4	41,953	76,860	,546	,585	1,000
7-10-0-2	199,629	73,561	2,714	,007	,040
3-4-0-2	157,677	33,854	4,658	,000	,000

- 5) **Tabelle 30, oben:** Statistische Kennwerte zur Konzentration an sRAGE in den verschiedenen Gruppen je nach Atemnot (eingestuft nach mMRC-Skala)
- Tabelle 31, unten:** p-Werte des Vergleichs der Mediane der verschiedenen Gruppen je nach Atemnot (angegeben sind nur die signifikant unterschiedlichen Vergleichspaare)

		sRAGE [pg/ml]				
		nach Atemnot nach mMRC-Skala (Legende s.u.)				
		1	2	3	4	5
Mittelwert	Statistik	873,08	877,94	838,58	812,93	1008,15
	Standardfehler	22,52	10,68	13,83	16,61	176,42
95% Konfidenzintervall des Mittelwerts	Untergrenze	828,68	856,98	811,43	780,29	644,03
	Obergrenze	917,48	898,91	865,73	845,57	1372,27
Median		829,92	811,97	764,34	744,45	716,25
Varianz		108572,59	126134,68	130442,23	119397,49	778120,10
Standardabweichung		329,50	355,15	361,17	345,54	882,11
Minimum		223,99	236,74	57,59	47,81	247,00
Maximum		2374,00	3193,00	2855,00	3100,00	4752,00
Spannweite		2150,01	2956,26	2797,41	3052,19	4505,00
Interquartilbereich		362,25	408,42	399,98	384,75	633,73
<b>Atemnot nach mMRC-Skala:</b>						
1		Nur bei starker Anstrengung				
2		Bei schnellem Gehen oder leichter Steigung				
3		Gehen in der Ebene langsamer als Gleichaltrige, bei selbstgewählter Geschwindigkeit Pausen nötig				
4		Bei Gehen in der Ebene nach 100m oder wenigen Minuten Pause nötig				
5		Zu kurzatmig, um das Haus zu verlassen oder sich an-/auszuziehen				

Verglichene Gruppen	p-Wert
„Bei schnellem Gehen oder leichter Steigung“ und „Gehen in der Ebene langsamer als Gleichaltrige, bei selbstgewählter Geschwindigkeit Pausen nötig“	0,028
„Bei schnellem Gehen oder leichter Steigung“ und „Bei Gehen in der Ebene nach 100m oder wenigen Minuten Pause nötig“	0,001

\* Parameter, die bei der Erstellung eines linearen Modells für die Konzentration an sRAGE berücksichtigt wurden.

**Tabelle 32:** Zusammenfassung der Kennwerte des Modells

**Tabelle 33:** Ergebnisse der einfaktoriellen Varianzanalyse des Modells

**Tabelle 34:** Errechnete Bestandteile der Modellgleichung

Modell	R	R-Quadrat	Korrigiertes R-Quadrat	Standardfehler des Schätzers
1	0,203	0,041	0,037	359,90730

Einfaktorielle Varianzanalyse					
Modell	Quadratsumme	df	Mittel der Quadrate	F	Sig.
Regression	11622059,490	9	1291339,943	9,969	0,000
Nicht standardisierte Residuen	270854054,000	2091	129533,264		
Gesamt	282476113,500	2100			

Modell für sRAGE	Nicht standardisierte Koeffizienten		Standardisierte Koeffizienten	T	Sig.
	Regressionskoeffizient B	Standardfehler	Beta		
Konstante	791,673	122,668		6,454	0,000
Alter [Jahre]	2,449	0,973	0,056	2,516	0,012
Pack years [Jahre]	-0,326	0,221	-0,032	-1,478	0,140
GOLD-Stadium	-7,161	11,949	-0,023	-0,599	0,549
CVI - Score	19,580	8,714	0,050	2,247	0,025
FEV <sub>1</sub> [% d. Solls]	1,958	0,715	0,110	2,740	0,006
TLCO [% d. Solls]	0,550	0,448	0,032	1,229	0,219
IL-8 [pg/ml]	0,877	0,391	0,048	2,240	0,025
TNFα [pg/ml]	0,942	0,433	0,047	2,178	0,029
Hb [g/dl]	-16,783	5,829	-0,062	-2,879	0,004

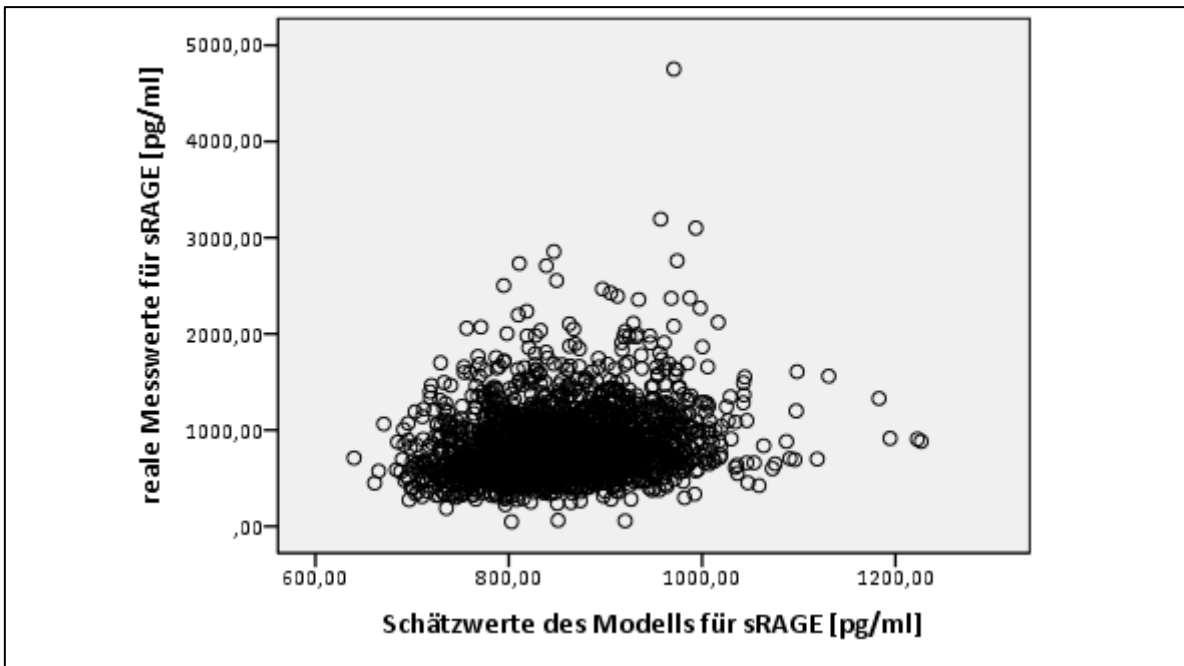


Abbildung 41: Auftragung der durch die Modellgleichung geschätzten gegen die real gemessenen Werte von sRAGE [pg/ml]. In das Modell einbezogen wurden Alter, Pack years, GOLD-Stadium, CVI, FEV<sub>1</sub>, TLCO, IL-8, TNF $\alpha$  und Hb-Wert.



## **5. Diskussion**

Das Ziel dieser Arbeit war, signifikante Korrelationen zwischen den Biomarkerkonzentrationen an Osteopontin und sRAGE und auf der anderen Seite epidemiologischen, ätiologischen und Risikofaktoren, klinischem Bild, Stadium und diagnostischen Parametern herauszuarbeiten, diese in den Kontext bestehender wissenschaftlicher Erkenntnisse einzuordnen und hinsichtlich klinischer Nutzbarkeit zu analysieren.

In Kürze ist nach Betrachtung der genannten Ergebnisse festzuhalten, dass Osteopontin die mit der Fragestellung verknüpften Erwartungen in Hinblick auf Zusammenhänge mit verschiedenen Parametern und eine Nutzung als Biomarker für die COPD eingeschränkt erfüllen konnte. Die Korrelation zur Exazerbationshäufigkeit, auch bestätigt durch bereits bestehende Literatur, bot einen möglichen Ansatz mit Entwicklungspotenzial für eine klinische Anwendung. Daneben wurden für verschiedene Komorbiditäten Korrelationen sichtbar, die für diese separat betrachtet neue diagnostische oder therapeutische Wege eröffnen könnten, z.B. bzgl. des Bronchialkarzinoms bzw. maligner Neoplasien allgemein, Schlaganfällen oder Diabetes mellitus. Ansonsten zeigten sich, unter dem Vorbehalt von methodischen Differenzen, z.T. deutliche Unterschiede zu bekannten Studien bezüglich absoluter Messwerte und weiteren Komorbiditäten.

sRAGE erwies sich im daneben deutlicher mit verschiedenen diagnostischen und prognostischen Parametern einer COPD assoziiert. Im Vergleich zu Studien aus einer bereits relativ umfassenden Datenbasis konnten in vielem eine Konsistenz der Ergebnisse festgestellt und teilweise neue Fakten zu bisher diskutierten oder weniger bearbeiteten Zusammenhängen beigetragen werden, z.B. betreffend der sRAGE-Konzentration in Abhängigkeit von Raucherstatus, inflammatorischen Parametern, kardiovaskulärem Risiko, BODE-Index und verschiedenen Komorbiditäten.

Perspektivisch erscheint eine alleinige Nutzung als neuer Biomarker alternativ zu bisher genutzten Parametern wie der FEV1 jedoch aufgrund der nicht ausreichenden Stärke der Korrelationen trotzdem als unwahrscheinlich.

## 5.1. Diskussion der Ergebnisse zu Osteopontin

Zusammenfassend gesagt, konnten unter allen untersuchten Merkmalen für Osteopontin schwache, positive Korrelation mit dem Alter, dem kardiovaskulären Risiko, dem SGRQ und den inflammatorischen Zytokinen IL-6, IL-8 und TNF- $\alpha$  ausgemacht werden. Ebenso verhielt es sich mit der Anzahl an akuten Exazerbationen in letzten 12 Monaten, die Zahl der dadurch notwendigen Hospitalisierungen und auch nach für Vergleiche vorgenommener Gruppierung (s.u.) zeigte sich ein signifikanter Unterschied in der Biomarkerkonzentration bei häufigen oder weniger häufigen Exazerbationen. Bezüglich der Komorbiditäten zeigten sich Korrelationen zum Auftreten von Diabetes mellitus, malignen Neoplasien, Apoplex und Hirnleistungsstörungen. Mit diesem Überblick kann also zumindest ein Teil der gestellten Fragen für diese Arbeit bejaht werden - zwischen Krankheitsstadium und Lungenfunktion auf der einen und Osteopontin auf der anderen Seite ließ sich jedoch kein Zusammenhang herstellen. Bei der Suche nach einem linearen Modell wies außerdem keine der getesteten Gleichung einen Determinationskoeffizienten von  $R^2 > 0,003$  auf. Insgesamt stellt sich die Bedeutung des Biomarkers für die COPD im Rahmen dieser Arbeit als beschränkt dar.

Interessant ist trotz allem die Verortung der Ergebnisse aus der COSYCONET-Kohorte im Vergleich mit bestehender Literatur, z.B. mit den thematisch entsprechenden Arbeiten von Petta et al. (2018), Lee et al. (2014) und Ma et al. (2011). Details zu gemessenen Osteopontin-Werten bzw. der Zusammensetzung der Kohorten können in Tabelle 35 und 36 eingesehen werden. Angesichts der Tatsache, dass die drei genannten Arbeiten ihre Ergebnisse lediglich an zweistelligen Patientenzahlen festmachen können und Unterschiede bezüglich Untersuchungsmaterial, verwendetem Messverfahren, Produktionsfirmen der Messkits und in den meisten Punkten auch bezüglich der grundsätzlichen Eigenschaften der Kohorte vorliegen, besteht jedoch von vornherein eingeschränkte Vergleichsfähigkeit. Auffällig ist in jedem Fall, dass deutlich niedrigere mittlere bzw. mediane Konzentration an Osteopontin bei den Patienten der COSYCONET-Kohorte gemessen wurden als in den anderen angegebenen Studien, und dass sich, wenn überhaupt, nur Überschneidungsbereiche unter Einbezug der Standardabweichung beider Vergleichswerte ergaben. Die Konzentration der COSYCONET-COPD-Patienten bewegte sich eher im Rahmen der gesunden Kontrollen von Lee et al., deren mittlere Plasmakonzentration mit  $8.4 \pm 6.1$  ng/mL angegeben wurde. Zum Vergleich mit einer Studie, bei der mit Serum und einem Luminex Multiplex-Assay gearbeitet und damit dieselbe Methodik wie für die COSYCONET-Analyse verwendet wurde, kann die Arbeit von Barchetta et al. (2016) zu Osteopontin bei Diabetes mellitus Typ 1 betrachtet werden – auch hier liegt die mittlere bzw. mediane Osteopontin-Konzentration der COPD-Patienten aus COSYCONET eher im Bereich

derer der gesunden Kontrollpersonen ( $10,5 \pm 11,6$  ng/ml bzw.  $5,7$  ( $0,2-76,89$ ) ng/ml). Grundsätzlich stellten Lee et al. wie auch Ma et al. höhere Werte für den Biomarker bei COPD-Patienten im Vergleich mit gesunden Kontrollpersonen fest, bei beiden war der Unterschied jedoch nicht signifikant. Von letzteren festgestellte negative Korrelationen mit der FEV<sub>1</sub> und dem Tiffeneau-Index, ebenso wie die positiven Korrelationen mit Raucherstatus und GOLD-Stadium ließen sich durch die COSYCONET-Analyse nicht bestätigen. Die Einteilung in GOLD A-D war bei Lee et al. wie in dieser Arbeit nicht signifikant mit Osteopontin verbunden, ihr eindeutiger Trend fand jedoch bei COSYCONET wiederum keine Entsprechung.

Osteopontin Bestimmungsgruppe		COSYCONET 2019, N = 2481, R&D Systems <u>Luminex, Serum</u>	Petta et al. 2018 <sup>1</sup> N = 280 R&D Systems <u>ELISA, Serum</u>	Lee et al. 2014 <sup>2</sup> N = 162 IBL ELISA, Plasma	Ma et al. 2011 <sup>3</sup> N = 55 k.A. <u>ELISA, Serum</u>
COPD-Patienten der Kohorte allg.		(N = 2481) $5,8 \pm 7,5$ 3,8 (2,0 – 6,8)	(N = 28) 32 (19 - 36,5)	(N = 68) $17,6 \pm 11,1$	(N = 18) $36,9 \pm 11,1$
Nie / ehemalige / aktuelle Raucher		$6,6 \pm 10,1$ $5,6 \pm 6,3$ $6,1 \pm 9,5$	-	-	$23 \pm 5,7$ $35,5 \pm 17,6$ $58,6 \pm 47,8$
„Frequent/ infrequent exacerbators“		$6,1 \pm 6,8$ / $5,7 \pm 7,8$	-	$22,5 \pm 12,0$ / $15,0 \pm 9,8$	-
GOLD I	A	$5,9 \pm 8,5$	5,4	-	$34,4 \pm 11,2$
GOLD II	B		6,3	-	(„mild to moderate“)
GOLD III	C	$5,8 \pm 6,5$	5,8	-	$43,3 \pm 8,4$
GOLD IV	D		5,7	-	(„severe“)

**Tabelle 35: Zum Vergleich Osteopontin-Konzentrationen in ng/ml in verschiedenen Gruppen der jeweiligen Kohorten. Angabe des Werts der COSYCONET-Studie entsprechend dem Vergleichswert anderer Studien und dessen Genauigkeit, allgemein Angabe der Werte in der Form ‚MW ± SA‘ bzw. ‚Median (IQR)‘. Zur jeweiligen Kohorte bzw. Studie werden Erscheinungsjahr der zitierten Publikation, Kohortengröße, Messverfahren und Untersuchungsmaterial aufgeführt.**

<sup>1</sup> Petta et al. 2018, <sup>2</sup> Lee et al. 2014, <sup>3</sup> Ma et al. 2011

Merkmal	COSYCONET 2019, N = 2481, R&D Systems <u>Luminex, Serum</u>	Petta et al. 2018 <sup>1</sup> N = 280 R&D Systems <u>ELISA, Serum</u>	Lee et al. 2014 <sup>2</sup> N = 162 IBL ELISA, Plasma	Ma et al. 2011 <sup>3</sup> N = 55 k.A. <u>ELISA, Serum</u>
Alter [Jahre]	$65,1 \pm 8,6$ 66,0 (59,0 - 71,0)	$65 \pm 7$	$70,3 \pm 6,3$	$69,7 \pm 6,8$
Geschlecht: Männer [%]	59,1	70	94,1	94,4
BMI [kg/m <sup>2</sup> ]	$27,0 \pm 5,4$	$28 \pm 3$	$21,9 \pm 3,5$	-
Pack years [Jahre]	$47,9 \pm 35,7$ 42,0 (22,0 - 64,5)	47 (36–73)	$38,1 \pm 13,3$	-
Raucher [%] Nie / ehem. / akt.	8,1 / 67,7 / 24,3	0,0 / 35,7 / 64,3	0 / 75 / 25	aktuelle Raucher: 27,8
GOLD [%] I / II / III / IV	7,6/35,3/32,1/9,2	-	14,7/45,6/38,2/1,5	27,8/38,9/33,3/0
Tiffeneau-Index [% d. Solls]	$55,4 \pm 13,9$ 55,0 (44,7 – 65,6)	64 (52–70)	$48,3 \pm 10,9$	$62,9 \pm 21$
FEV <sub>1</sub> [% d. Solls]	$57,0 \pm 21,2$ 55 (41,0 – 71,0)	$57 \pm 7$	$58,8 \pm 20,7$	$55,8 \pm 9,7$
Anzahl an akuten Exazerbationen im vergangenen Jahr	$1,3 \pm 2,6$	-	$1,6 \pm 2,5$	-

**Tabelle 36: Einige Parameter zur Beschreibung der verglichenen Kohorten. Die Werte stammen aus den jeweiligen Arbeiten zur Messung der Biomarkerkonzentrationen bei COPD-Patienten und beziehen sich daher auf Teile der ursprünglichen Kohorte (Werte für N siehe Tabelle 36). Die Angaben finden sich zur jeweils angegebenen Einheit in der Form ‚MW ± SA‘ bzw. ‚Median (IQR)‘. <sup>1</sup> Petta et al. 2018, <sup>2</sup> Lee et al. 2014, <sup>3</sup> Ma et al. 2011**

Übereinstimmend findet sich jedoch in diesen Arbeiten wie auch bei COSYCONET ein Zusammenhang mit akuten Exazerbationen. Ma et al. berichteten von einer signifikanten Erhöhung der Konzentration an Osteopontin während einer akuten Exazerbation und, wenn auch nicht signifikant, abnehmenden Werten während der Rekonvaleszenz. Diese beiden Sachverhalte bestätigten sich bei Lee et al., dazu teilten sie die Patienten nach ihrer Exazerbationshäufigkeit in die zwei Gruppen „*frequent exacerbator and infrequent exacerbator*“ (Lee et al. 2014, S. 306) ein, wobei für erstere mindestens 2 Exazerbationen im vergangenen Jahr Voraussetzung waren. Interessanterweise entspricht diese Einteilung damit bereits derjenigen, wie sie in Bezug auf Exazerbationen auch für die ABDC-Stadien gewählt wurde (s. 2.1.). Osteopontin zeigte bezüglich dieser beiden Gruppen einen signifikanten Unterschied, der nach entsprechender Vorgehensweise auch in der COSYCONET-Kohorte sichtbar wurde (p-Wert = 0,012). Auf einen Zusammenhang mit der Zahl an akuten Exazerbationen in den vorangegangenen 12 Monaten und die dadurch notwendigen Hospitalisierungen, der sich außerdem für COSYCONET herausstellen ließ, wurde in den genannten Vergleichsarbeiten nicht geprüft. Lee et al. und Ma et al. sahen aufgrund ihrer Ergebnisse beide eine mögliche Zukunft für Osteopontin als Marker für akute Exazerbationen – das kann bezüglich einer Nutzung zur frühen Detektion durch die vorliegende Arbeit aufgrund des Studiendesigns nicht beurteilt werden, und der genannte lineare Zusammenhang zu Anzahl und Schwere der Exazerbationen erwies sich als schwach. Nachvollzogen werden kann der Gedanke aus der Sicht der COSYCONET-Ergebnisse aber für die Einteilung nach Exazerbationshäufigkeit, diese könnte bei klinisch auffallenden hohen Konzentrationen eine größere Aufmerksamkeit für Patienten der „Risikogruppe“ mit sich bringen. Dazu sollte jedoch zunächst noch einmal der Schwellenwert von „häufig“ zu „nicht-häufig“ separat geprüft und anschließend ein valider Cut-off für die Konzentration an Osteopontin erarbeitet werden, ab der ein relevant erhöhtes Exazerbationsrisiko für einen Patienten anzunehmen wäre.

Die Erkenntnisse von Petta et al. weisen bereits mehr in die Richtung der Zusammenhänge mit Komorbiditäten. Sie wiesen eine von COPD-Erkrankung, Typ (kleinzelliges (SCLC) bzw. nicht-kleinzelliges Bronchialkarzinom (NSCLC)) und Stadium unabhängige, signifikante Erhöhung der Konzentration an Osteopontin bei Patienten mit Bronchialkarzinom nach. Daneben errechneten sie Schwellenwerte, ab denen mit einer Sensitivität von 56,6% und einer Spezifität von 75% das Vorliegen eines Karzinoms vorhergesagt werden könnte bzw. ab denen die Konzentration mit einer signifikant höheren 1-Jahresmortalität verbunden wäre (Petta et al. 2018, S. 743–744). Ihre Erkenntnisse sahen sie als möglicherweise nutzbar für Osteopontin als allgemeinen prognostischen oder als diagnostischen Biomarker bei der Detektion von Bronchialkarzinomen bei COPD-Patienten (Petta et al. 2018, S. 740). Ebenfalls als prognostisch bedeutsam stufte Yan et al. (2015) die Osteopontin-Konzentration bei NSCLC ein – sie wiesen eine Überexpression im Tumorgewebe und

eine Assoziation zu schlechterer Prognose nach, gerade in frühen Krankheitsstadien waren Überlebensraten bei Expression signifikant niedriger. Ergänzend können die Erkenntnisse von Liu et al. (2017) betrachtet werden, die für SCLC ebenfalls eine Überexpression und damit verbunden schlechtere Überlebensraten nachwiesen, noch dazu entdeckten sie auch positive Korrelationen zum Krankheitsstadium. Die Analyse der COSYCONET-Kohorte konnte bezüglich dieser Thematik lediglich den allgemeinen Zusammenhang von Biomarker-Konzentration mit malignen Neoplasien beitragen, der bereits in 2.2.2.1. erläutert wurde und den Castello et al. (2017, S. 6) auch außerhalb von Bronchialkarzinomen mit Osteopontin in verschiedenen Funktionen zu nutzen vorschlugen.

Bezüglich der Betrachtung weiterer Komorbiditäten muss zunächst darauf hingewiesen werden, dass den Patienten der Vergleichskohorten anderer Studien die Grunderkrankung einer COPD fehlte. Zur Sprache kamen bereits die autoimmunen- und Lungenerkrankungen, mit denen sich eine Assoziation des Biomarkers zeigte. Im Rahmen dieser Arbeit konnte diese zumindest für die untersuchten Krankheiten Lungenfibrose, Sarkoidose, rheumatoide Arthritis und Multiple Sklerose nicht bestätigt werden. Die von Rosenberg et al. (2008) gezeigten Korrelationen zur Herzinsuffizienz fanden ebenfalls keine Entsprechung. Abgesehen vom kardiovaskulären Risiko an sich und in Richtung von vaskulärer Demenz interpretierten, von Patienten angegebenen Hirnleistungsstörungen, die sich mit Osteopontin in Verbindung bringen ließen, konnte auch zu atherosklerotischen Erkrankungen wie z.B. KHK und Herzinfarkt oder pAVK keine direkte Korrelation gefunden werden. Dass und welche Rolle das Protein im atherosklerotischen Prozess spielt, wurde jedoch schon unter 2.2.2.1. erwähnt, ausführlich von Wolak (2014) dargestellt und die Analyse der COSYCONET-Kohorte zeigt sich damit inkohärent mit den Ergebnissen aus zahlreichen Studien, die u.a. Vorliegen und Schweregrad einer KHK sowie daraus folgende kardiovaskuläre Ereignisse mit Osteopontin positiv korreliert fanden (vgl. Wolak 2014, 327, 332) und aus denen auch die Möglichkeit einer diagnostischen oder therapeutischen Nutzung abgeleitet wurde (Wolak 2014, S. 334). Nicht weit vom Thema der Atherosklerose entfernt, liegt die Komorbidität eines Diabetes mellitus, die hier auch Baustein in der Berechnung des kardiovaskulären Risikos und damit, neben dem Faktor des Alters, mit ihrer Korrelation zum Biomarker vermutlich ursächlich für die gefundene Verbindung zum kardiovaskulären Risiko war. Hier stimmen die Ergebnisse der COSYCONET-Analyse mit denen anderer Arbeiten überein. Auch bei Yan et al. zeigten sich 2010 bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 signifikant erhöhte Konzentrationen an Osteopontin im Vergleich zu Nicht-Diabetikern, und diese spiegelten auch das Ausmaß an diabetischer Angiopathie in Form von KHK und diabetischer Nephropathie wieder. Berezin und Kremzer stellten 2013 neben Zusammenhängen zwischen Osteopontin und Koronarsklerose unter Patienten mit asymptomatischer KHK ebenfalls die Erhöhung des Biomarkers bei Typ-2-Diabetikern fest. Dabei wird Osteopontin in der Pathophysiologie des

Diabetes mit Übergewicht bzw. Adipositas, der daraus folgenden chronisch gesteigerten Entzündungsaktivität (Heredia et al. 2012) und der Insulinresistenz eine aktive Rolle zugeschrieben (Kahles et al. 2014, S. 386–387) und mehrere Studien zeigten eine Erhöhung der Konzentration auch bereits durch Adipositas an (Kahles et al. 2014, S. 388). Letzteres konnte in der COSYCONET-Analyse wiederum keine Bestätigung finden, der BMI allgemein oder das Vorliegen einer Adipositas mit einem BMI  $\geq 4$  war nicht mit einer signifikanten Änderung der Biomarkerkonzentration verbunden. Kurz sei noch erwähnt, dass auch mit Diabetes Typ 1 ein Zusammenhang besteht – hier wurden von Barchetta et al. (2016) ebenfalls signifikant erhöhte Werte für Osteopontin nachgewiesen, und zwar unabhängig von HbA1c, endokriner Restfunktion des Pankreas, Dauer und bestehenden Komplikationen des Diabetes. Im Einklang mit anderen Studien wurde auf eine mögliche Bedeutung von Osteopontin zur Einschätzung der Prognose der Diabetiker und zur Vorhersage von mikro- und makroangiopathischen Komplikationen hingewiesen (vgl. Barchetta et al. 2016, S. 190–191). Als letzte Komorbidität soll noch der Schlaganfall zur Sprache kommen, der sich im Rahmen dieser Arbeit allgemein als mit der Konzentration an Osteopontin assoziiert zeigte. Dabei wurde nicht nach hämorrhagischen und ischämischen Infarkten unterschieden, letztere treten jedoch mit 85% statistisch gesehen wesentlich häufiger auf (Zhu et al. 2017, S. 766). Zu diesem Thema arbeiteten Ganz et al. mit Material aus der Interventionsstudie SPARCL (Stroke Prevention by Aggressive Reduction in Cholesterol Levels), bei der 4731 Patienten ohne bestimmte Komorbiditäten wie u.a. KHK, aber mit vorhergegangener transitorischer ischämischer Attacke bzw. Apoplex 1-6 Monate vor Einschluss zur Reduktion des Risikos eines erneuten Schlaganfalls mit hochdosiertem Atorvastatin behandelt wurden. Auf der Basis von 2176 dieser Patienten zeigte sich für Osteopontin eine signifikante Korrelation mit dem Risiko eines erneuten Apoplexes gleich welcher Art, sowohl für die Patienten mit Atorvastatin-, als auch für die Patienten mit Placebo-Einnahme (vgl. Ganz et al. 2017, S. 3225–3226). In der Beobachtung von Patienten 90 Tage nach ischämischem Schlaganfall arbeiteten Carbone et al. 2015 eine signifikante Konzentrationserhöhung für Osteopontin mit Peak an Tag 7 heraus, die positiv mit Größe der ischämischen Läsion, NIHSS-Scorewert und bleibender neurologischer Beeinträchtigung zumindest bis zum letzten Tag des Follow-ups korrelierte. Schon 2011 hatten Mendioroz et al. ähnliche Ergebnisse präsentiert – in ihrer Studie waren die Werte für Osteopontin gemessen bei Schlaganfallpatienten innerhalb von 3 Stunden nach Symptombeginn nicht signifikant unterschiedlich zu denen der gesunden Kontrollpersonen, jedoch waren sie positiv mit schlechterem Outcome zum Zeitpunkt von drei Monaten nach dem Apoplex assoziiert. Interessant dabei ist, dass Osteopontin eine auf verschiedene Arten neuroprotektive Rolle zugeschrieben und eine mögliche therapeutische Nutzung bei Schlaganfällen bereits untersucht wird (vgl. Zhu et al. 2017, S. 770).

Schlussendlich zeigte sich Osteopontin in der Analyse der COSYCONET-Kohorte also zum Teil übereinstimmend mit bestehender Literatur, was zum Beispiel die Komorbiditäten eines Diabetes mellitus, eines Schlaganfalls oder maligne Neoplasien angeht, ebenso wie die Betrachtung der akuten Exazerbationen. Zu einem großen Teil ergaben sich jedoch auch abweichende Ergebnisse wie zum Beispiel in Bezug auf die allgemeine Größenordnung der Konzentrationen, Adipositas, komorbide Lungen- und gerade auch kardiovaskuläre Erkrankungen. Inwiefern die Unterschiede letztlich auf die genannten methodischen Differenzen zwischen den Studien, auf die zusätzliche Komorbidität einer COPD oder andere Ursachen zurückzuführen sind, ist schwer zu klären. Gerade aufgrund der Ambivalenz im Vergleich und der im selben Zuge erfolgten Messung der valide scheinenden sRAGE-Konzentrationen (s.u.), würden rein verfahrenstechnische Bedenken vermutlich zu kurz greifen. Als den Interpretationsspielraum eingrenzend müssen auch grundsätzliche Beschränkungen dieser Arbeit bedacht werden: als Querschnittsstudie ohne Kontrollkohorte erlaubte sie weder die Analyse der Biomarkerkonzentrationen zu mehreren Zeitpunkten und die Beobachtung einer eventuellen Dynamik, noch waren Vergleiche der COPD-Patienten mit gesunden Kontrollpersonen möglich. Daneben basierten u.a. die Daten zum Auftreten der verschiedenen Komorbiditäten und der Exazerbationen rein auf anamnestischen Angaben der Patienten, weswegen in diesen Bereichen Ungenauigkeiten auftreten können. In jedem Fall erscheint eine klinische Nutzung von Osteopontin für die COPD basierend auf den Ergebnissen dieser Arbeit als in vielerlei Hinsicht wenig plausibel, da sich die Krankheit u.a. in Bezug auf Schweregrad, Krankheitsprogression und Prognose zu wenig im Biomarker abbildet. Gegenstand weiterer Überlegungen bzw. Studien könnte jedoch die Abschätzung des Exazerbationsrisiko aus der Biomarkerkonzentration sein – diese läge, wie bereits erläutert, im Rahmen des Möglichen und könnte gerade für die Patienten mit häufigen Zustandsverschlechterungen Vorteile bringen. Ansonsten zeigten sich für Osteopontin Perspektiven in der Nutzung in anderen Kontexten auf, wie zum Beispiel bei kardiovaskulären Erkrankungen, Diabetes mellitus oder malignen Neoplasien – wobei das bezüglich Bronchialkarzinomen, wie bereits ausgeführt, auch für COPD-Patienten von großer Bedeutung sein könnte.

## 5.2. Diskussion der Ergebnisse zu sRAGE

Der Biomarker sRAGE korrelierte schwach negativ mit den Pack years, der Atemnot, dem SGRQ, der Leukozytenzahl und dem Hb-Wert, schwache positive Korrelationen ergaben sich mit dem kardiovaskulären Risiko, dem CVI, dem MCI und dem Faktor des Alters. Daneben wurde ein Zusammenhang mit dem Raucherstatus sichtbar, bei dem die Patienten ohne Zigarettenkonsum in der Vergangenheit höhere sRAGE-Werte aufwiesen als aktuelle und Ex-Raucher. Etwas deutlichere, negative Korrelation war außerdem mit GOLD-Stadium und BODE-Risikoquartil festzustellen, dementsprechend lagen mit fortgeschritteneren Stadien bzw. Risikoprofilen geringere sRAGE-Konzentrationen vor. Bezüglich der negativen Korrelation zu den ABCD-Stadien erwies sich nur der Vergleich zwischen den Gruppen B und D als relevant – daraus ließ sich ablesen, dass nur bei Patienten mit hoher Symptomlast signifikante Unterschiede abhängig von der Zahl ihrer Exazerbationen bestanden. In der Lungenfunktion wurden die stärksten Korrelationen festgestellt, hier zeigte sich der Biomarker positiv zusammenhängend mit Tiffeneau-Index bzw. FEV<sub>1</sub> und FVC, ebenso mit der TLCO. Negativ war die Beziehung zum ITGV. Also hingen auch hier schlechtere Werte, dementsprechend fortgeschrittene Erkrankung, in Form von weniger Prozenten des Solls bzw. mehr Überblähung mit geringerer Konzentration an sRAGE zusammen. sRAGE schien also insgesamt negativ mit der Krankheitsprogression zu korrelieren. Dem scheint, in Form der Zytokine IL-8 und TNF $\alpha$ , ein positiver Zusammenhang der entzündlichen Aktivität mit der Biomarkerkonzentration entgegenzustehen. Bei Prüfung der Zusammenhänge mit einzelnen Komorbiditäten waren Korrelationen mit Angina pectoris bzw. KHK, Asthma bronchiale, chronischer Nierenerkrankung, Gicht, Eisenmangel und malignen Neoplasien festzustellen.

Die eingangs gestellte Frage, ob signifikante Korrelationen zwischen der Biomarkerkonzentration und dem Krankheitsstadium, der Lungenfunktion, dem kardiovaskulären Risiko und verschiedenen Komorbiditäten vorlägen, kann für sRAGE also bejaht werden, wenn auch die Korrelationskoeffizienten als Maß der Stärke der Zusammenhänge keine Werte größer als - 0,2 bzw. 0,2 erreichen konnten. Lediglich die Zahl an akuten Exazerbationen der letzten 12 Monate wies keinerlei Verbindung zur Markerkonzentration auf. Der Versuch, ein lineares Regressionsmodell für sRAGE als abhängige Variable von Parametern zu erstellen, für die oben genannte Korrelationen nachgewiesen werden konnten, erbrachte jedoch kein wegweisendes Ergebnis. Auch ein bezüglich des Bestimmtheitsmaßes R<sup>2</sup> noch mit am besten abschneidendes, getestetes Modell erreichte nur ein R<sup>2</sup> von 0,041 (R = 0,203, korrigiertes R<sup>2</sup> = 0,037) und auch wenn mit einer Signifikanz von 0,000 des Gesamtmodells der grundsätzliche Zusammenhang der einbezogenen Parameter mit sRAGE noch einmal unterstrichen wurde, so waren dadurch keine zufriedenstellenden, quantitativen Rückschlüsse auf die Konzentration des Biomarkers möglich (ausführlicheres siehe 4.4., \*, Abb. 41).



Da für den Biomarker sRAGE in verschiedenen Studien bereits eine breite Datenbasis geschaffen wurde, kann eine Gegenüberstellung von Ergebnissen vorgenommen werden. Tabelle 37 bietet dazu zunächst eine Übersicht an quantitativen Messwerten zum Biomarker sRAGE. Darin wird sichtbar, dass sich die Ergebnisse aus der COSYCONET-Kohorte in ihrer Größenordnung am ehesten auf einer Linie mit den Ergebnissen von Iwamoto et al. befinden. Sie liegen deutlich unter den Werten der ECLIPSE-Kohorte, die von Cheng et al. bestimmt wurden, und der Grosshansdorf-Kohorte in der Analyse von Cockayne et al.. Bezüglich ersterer ergeben sich auch aufgrund deren großer Standardabweichung aber dennoch relevante Überschneidungsbereiche. Auf der Messskala unterhalb der COSYCONET-Kohorte angesiedelt findet man die Werte von Miniati et al. und Smith et al., auch hier können bei Betrachtung der Standardabweichungen Überschneidungsbereiche in den Konzentrationen angenommen werden. Der Varianz der Messergebnisse können verschiedene Faktoren zugrundeliegen, an dieser Stelle sei an die methodischen Unterschiede in der Erhebung erinnert. Die Assays wurden zwar in allen genannten Studien von derselben Firma zur Verfügung gestellt, jedoch kamen verschiedene Messmethoden und mit Plasma und Serum auch verschiedene Untersuchungsmaterialien zum Einsatz. Bei keiner anderen Studie wurde mit der Kombination aus Luminex und Serum gearbeitet wie im Rahmen der Messungen für COSYCONET. Zur Thematik der Methodik kann interessanterweise die Arbeit von O'Neal et al. aus dem Jahr 2014 betrachtet werden, im Rahmen derer in einer kleinen Stichprobe von n=24 COPD-Patienten die Ergebnisse von Luminex-Multiplex-Assays in der Arbeit mit Serum, EDTA-Plasma und EDTA-P100-Plasma mit zusätzlichen Proteinaseinhibitoren nebeneinander gestellt wurden. Dabei zeigte sich für zwar für sRAGE (mittels HMPC35 Assay der Myriad RBM, Inc.) eine verlässlichere, genauere Messbarkeit in EDTA-Plasma, relevante Unterschiede in den mittleren Konzentrationen wurden jedoch verneint (O'Neal et al. 2014, S. 5). Außerhalb des Bereichs der Methodik gibt es Unterschiede bezüglich der untersuchten Kohorten, angefangen mit ihrer Größe. Die COSYCONET-Kohorte bietet in diesem Vergleich die größte Anzahl an eingeschlossenen COPD-Patienten, eine zumindest ebenfalls vierstellige Patientenzahl liegt nur in der ECLIPSE-Studie vor (Cheng et al. 2013). In allen anderen genannten Arbeiten blieb N im niedrigen drei- oder auch zweistelligen Bereich. Daneben ist für eine Vergleichbarkeit der Werte auch eine ähnliche Zusammensetzung der Kohorte von Bedeutung, ein grober Überblick bezüglich einiger epidemiologischer und lungenfunktioneller Parameter der Patientenpopulationen kann in Tabelle 38 gewonnen werden. Die größten Unterschiede zeigen sich im Geschlechterverhältnis, im Anteil an aktuellen Rauchern und in der Lungenfunktion. Im Vergleich mit der ECLIPSE-Studie befinden sich in der COSYCONET-Kohorte 6,5% weniger Männer und die Mittelwerte für Tiffeneau-Index bzw. FEV<sub>1</sub> liegen 8,1-10,4 Prozentpunkte über denen der ECLIPSE-Kohorte (Cheng et al. 2013). Aus der Baseline-Auswertung von Agusti et al. (2010) ist zudem zu entnehmen, dass, geltend für die Gesamtheit der COPD-Patienten der Kohorte, letztere mehr

Beeinträchtigung in Form eines 7,4% höheren SGRQ-Scores angaben, im Mittel  $0,9 \pm 1,2$  Exazerbationen erlitten und einen BODE -Index von  $3,2 \pm 2,1$  aufwiesen. Damit liegen sie unter den  $1,3 \pm 2,6$  Zustandsverschlechterungen der letzten 12 Monate der COSYCONET-Patienten, trotzdem zeigten diese mit einem BODE-Index von  $2,3 \pm 2,0$  eine Zugehörigkeit zum niedrigeren Risikoquartil. Was neben den grundsätzlichen Unterschieden der Kohorten zuletzt noch quantitative Vergleiche zwischen den verschiedenen Studien erschwert, ist die Erhebung bzw. Angabe von Werten in diversen Subgruppen. Immerhin für drei Studien konnte ein Median respektive Mittelwert für die gesamte COPD-Population gefunden werden, ansonsten erfolgten z.T. auch in sich noch variierende Unterteilungen nach Raucherstatus und GOLD-Stadium.

Abgesehen von absoluten quantitativen Messwerten können jedoch auch die gefundenen Korrelationen des Biomarkers zu verschiedenen anderen Merkmalen verglichen werden. Übereinstimmend wurde von Gopal et al., Cheng et al., Cockayne et al., Miniati et al. und Smith et al. festgestellt, dass eine COPD-Erkrankung an sich mit einer niedrigeren sRAGE- Konzentration verbunden ist. Zudem ist man sich einig, dass es eine negative Korrelation zu Lungenemphysem (vgl. Carolan et al. 2014; Cheng et al. 2013; Miniati et al. 2011) und eine positive zur Lungenfunktion, z.B.

sRAGE Bestimmungsgruppe	COSYCONET	COPDGene <sup>1</sup>	Iwamoto et al. <sup>2</sup>	ECLIPSE <sup>3</sup>	Grosshansdorf <sup>4</sup>	Miniati et al. <sup>5</sup>	Smith et al. <sup>6</sup>
COPD-Patienten der Kohorte allg.	2019, N = 2481, R&D Systems Luminex, Serum (n = 2481) 856,8 ± 362,3 789,1 (616 – 1.022)	2014, N = 588, R&D Systems Luminex, Plasma (n = 341)	2014, N = 295, R&D Systems ELISA, Plasma (n = 51)	2013, N = 2349, R&D Systems ELISA, Serum (n = 1.847) 1.351,1 ± 627,3	2012, N = 185, R&D Systems Luminex, Serum (n = 140)	2011, N = 401, R&D Systems ELISA, Plasma (n = 200) 652 (484 – 1.076)	2011, N = 103 R&D Systems ELISA, Plasma (n = 61) 400,2
COPD + ehemalig / aktuell Raucher	853,1 ± 347,0		969,1 ± 406,0				
Abhängig von GOLD-Stadium:							
GOLD I	892,0 ± 319,3						
GOLD II	862,8 ± 362,5			1.442,1 ± 630,4			
GOLD I/II	805 (847 - 889)				2.700 (1.500 – 3.500) (n = 75)		
GOLD III	823,4 ± 361,0			1.311,2 ± 629,0			
GOLD IV	769,2 ± 335,3			1.157,7 ± 551,6			
GOLD III/IV	731 (790 - 833)				2.200 (1.500 – 3.000) (n = 65)		
Abhängig von Emphysem:							
Kein		3.2536 ± 2.288					
Mildes		2.6446 ± 1.663		1.485,66 ± 650,5		715 (532 – 1,174)	
Moderates		2.2006 ± 1.574				644 (482 – 1,041)	
Schweres		1.7256 ± 1.086		1.136,3 ± 523,2		465 (243 – 644)	

Tabelle 37: Werte für sRAGE in [pg/ml] in verschiedenen Subgruppen der jeweiligen Kohorte. Angabe des Werts der COSYCONET-Studie entsprechend dem Vergleichswert anderer Studien und dessen Genauigkeit, allgemein Angabe der Werte in der Form „MW ± SA“ bzw. „Median (IQR)“, ggf. auch ohne IQR. Zur jeweiligen Kohorte bzw. Studie werden Erscheinungsjahr der zitierten Publikation, Kohortengröße, Messverfahren und Untersuchungsmaterial aufgeführt. Da im Rahmen dieser Arbeit keine sRAGE-Konzentrationen abhängig von Emphysemausmaß in der Bildgebung erhoben wurden, sind die Messwerte der entsprechenden anderen Studien lediglich zur weiteren Einschätzung der auftretenden Größenordnungen des Biomarkers aufgeführt.

(Quellen: vgl. Yonchuk et al. 2015, <sup>1</sup> Carolan et al. 2014, <sup>2</sup> Iwamoto et al. 2014, <sup>3</sup> Cheng et al. 2013, <sup>4</sup> Cockayne et al. 2012, <sup>5</sup> Miniati et al. 2011, <sup>6</sup> Smith et al. 2011, Agusti et al. 2010)

Merkmal	COSYCONET	COPDGene <sup>1</sup>	Iwamoto et al. <sup>2</sup>	ECLIPSE <sup>3</sup>	Grosshansdorf <sup>4</sup> **	Miniati et al. <sup>5</sup>	Smith et al. <sup>6</sup>
Alter [Jahre]	2019, N = 2481, R&D Systems Luminex, Serum 65,1 ± 8,6 66,0 (59,0 - 71,0)	2014, N = 588, R&D Systems Luminex, Plasma 65 ± 0,5	2014, N = 295, R&D Systems ELISA, Plasma 58,9 ± 9,0	2013, N = 2349, R&D Systems ELISA, Serum 63,6 ± 6,9 (59 - 69)	2012, N = 185, R&D Systems Luminex, Serum 66,6	2011, N = 401, R&D Systems ELISA, Plasma 66 (61-70)	2011, N = 103, R&D Systems ELISA, Plasma 70,0 (63,0-74,3)
Geschlecht: Männer [%]	59,1	52,2	82,4	65,6	73,6	89	61
BMI [kg/m <sup>2</sup> ]	27,0 ± 5,4 26,4 (23,4 - 30,0)	27,8 ± 0,3	27,3 ± 3,9	26,5 ± 5,6 (22,7 - 29,4)	25,8	27 (24-31)	25,7 (21,8-29,9)
Pack years [Jahre]	47,9 ± 35,7 42,0 (22,0 - 64,5)	54 ± 2	37,6 ± 14,1	48,4 ± 27,1 (30 - 58)	55,4	48 (39-60)	52,5 (36-75)
Raucher [%] Nie / ehem. / akt.	8,1 / 67,7 / 24,3	- / - / 23	- / 23 / 77	- / - / 36 *	- / - / 35	- / - / 49	- / 100 / 28
SGRQ [%]	42,7 ± 20,0	39 ± 1,1	-	50,1 ± 20,3 *	-	-	-
GOLD [%] I / II / III / IV Bzw. I+II / III+IV	7,6 / 35,3 / 32,1 / 9,2 (- / 46,1 / 41,9 / 12,0) (51,0 / 49,0)	-	-	- / 45,7 / 41,4 / 12,9	53,9 / 46,1	-	-
Tiffeneau-Index [% d. Solls]	55,4 ± 13,9 55,0 (44,7 - 65,6)	47 ± 1	62,9 ± 7,7	45 ± 12 (36 - 54)	49,7	-	-
FEV <sub>1</sub> [% d. Solls]	57,0 ± 21,2 55 (41,0 - 71,0)	47 ± 1	74,3 ± 14,8	48,9 ± 15,7 (36,5 - 61,8)	55,5	54 (42-65)	37 (23-49)
TLCO [% d. Solls]	55,5, ± 21,7 53,7 (40,0 - 69,7)	-	-	-	46,3	76 (58-86)	-

T Tabelle 38: Einige Parameter zur Beschreibung der verglichenen Kohorten. Die Werte stammen aus den jeweiligen Arbeiten zur Messung der Biomarkerkonzentrationen bei COPD-Patienten und beziehen sich daher auf Teile der ursprünglichen Kohorte (Werte für N siehe Tabelle 36), mit \* gekennzeichnete Werte stammen aus Baseline-Auswertungen der gesamten COPD-Kohorte der Studie, die nicht komplett teilgenommen hatte. Die Angaben finden sich in der Form ‚MW ± SA‘ bzw. ‚Median (IQR)‘, in einigen Fällen letzteres auch getrennt voneinander.

\*\* Für die Grosshansdorf-Kohorte wurden aus den Mittelwert- und Prozentangaben für die Gruppen GOLD I/II und GOLD III/IV Gesamtmittelwerte berechnet, bzgl. der Lungenfunktion mittlere Mediane.

(Quellen: vgl. Yonchuk et al. 2015, <sup>1</sup> Carolan et al. 2014, <sup>2</sup> Iwamoto et al. 2014, <sup>3</sup> Cheng et al. 2013, <sup>4</sup> Cockayne et al. 2012, <sup>5</sup> Miniati et al. 2011, <sup>6</sup> Smith et al. 2011, Agusti et al. 2010)

in Form des FEV<sub>1</sub>-Wertes bzw. des GOLD-Stadiums oder der DLCO, gibt (vgl. Iwamoto et al. 2014; Cheng et al. 2013; Miniati et al. 2011; Gopal et al. 2014). Letztere zeigt sich auch in den konkreten Zahlen durchaus entsprechend den Ergebnissen aus COSYCONET: z.B. lagen die von Cheng et al. angegebenen Pearson-Korrelationskoeffizienten für den Zusammenhang zwischen logarithmiertem RAGE-Wert und FEV<sub>1</sub>, Tiffeneau-Index und TLCO bei 0,17, 0,21 (p-Wert jeweils < 0,0001) und 0,24 (p-Wert < 0,001). Dem gegenüber stehen für COSYCONET Koeffizienten von 0,17, 0,15 und 0,13 (p-Wert jeweils noch deutlich <0,0001). Im Gegensatz dazu konnten in anderen Studien keine Assoziationen in Bezug auf Entzündungsparameter festgestellt werden (vgl. Cheng et al. 2013) und der Zusammenhang mit Raucherstatus bzw. Pack years ist umstritten, in der Literatur findet sich dazu sowohl Bestätigung (vgl. Gopal et al. 2014; Iwamoto et al. 2014) wie Infragestellung (vgl. Cheng et al. 2013; Miniati et al. 2011; Pouwels et al. 2018). In der Analyse der COSYCONET-Kohorte erwiesen sich mit IL-8 und TNF- $\alpha$  immerhin zwei Entzündungsparameter als signifikant korrelierend. In der Frage nach der Bedeutung der Raucheranamnese sprechen die Ergebnisse für eine Assoziation mit der Biomarkerkonzentration, da bei Ex- und aktuellen Rauchern verglichen mit Nichtrauchern, wie auch mit steigender Zahl an Pack years signifikant niedrigere Konzentrationen an sRAGE nachweisbar waren.

Ebenfalls Thema zahlreicher Untersuchungen waren die Assoziationen von sRAGE mit verschiedenen Erkrankungen. In ihrer Review bereits aus dem Jahre 2009 fassten Vazzana et al. für sRAGE allgemein, also nicht speziell in der Situation einer COPD, zusammen:

- Ein erniedrigtes Plasmalevel und damit fraglich eine Spiegelung der RAGE-Aktivität festgestellt wurde für Makro- bzw. Mikroangiopathie, besonders in Form von KHK (vgl. auch Falcone et al. 2013; Selvin et al. 2013), pAVK und ischämischem, thrombotischem Schlaganfall, für Diabetes mellitus Typ II, für das metabolische Syndrom, für autoimmune Erkrankungen wie Rheumatoide Arthritis und chronisch entzündliche Darmerkrankungen (CEDs), für neurodegenerative Erkrankungen wie Morbus Alzheimer, Multiple Sklerose und Amyotrophe Lateralsklerose (AML) sowie für maligne Tumoren.
- Zu einer Erhöhung von sRAGE kam es bei fortschreitender Niereninsuffizienz und bei Schäden am Lungengewebe in Form von Acute Lung Injury (ALI) bzw. Acute respiratory distress syndrome (ARDS).

Ausgenommen CEDs, M. Alzheimer und AML, die auf der Datenbasis von COSYCONET nicht genauer betrachtet werden konnten, waren aus den aufgelisteten Erkrankungen lediglich die KHK, maligne Neoplasien und die chronische Nierenerkrankung mit einer signifikanten Änderung der Biomarkerkonzentration verbunden, das heißt für ein Auftreten als Komorbidität einer COPD bestätigte sich nur für diese Erkrankungen ein signifikanter Zusammenhang. Jedoch zeigte sRAGE hier

zum Teil interessanterweise ein anderes Verhalten als zunächst gedacht – mit steigender Zahl an Komorbiditäten allgemein (siehe MCI), kardiovaskulären Komorbiditäten (siehe CVI) oder mit dem Vorliegen einer der genannten Erkrankungen war die Konzentration des Markers im Vergleich zu den in dieser Hinsicht gesunden bzw. gesünderen Patienten nicht erniedrigt, sondern signifikant erhöht. Demnach folgte sie nur bei der chronischen Nierenerkrankung der Annahme, die sRAGE-Konzentration zeige bei COPD-Erkrankten eine ähnliche Dynamik wie bei Patienten ohne die Lungenerkrankung. Tabelle 39 zeigt die Mittelwerte bzw. Mediane in den Gruppen der Patienten ohne bzw. mit der jeweiligen Komorbidität, daneben auch in Bezug auf Asthma bronchiale, Gicht und Eisenmangel, die ihm Rahmen dieser Arbeit wie bereits erwähnt ebenfalls als signifikante Einflussfaktoren auf sRAGE auffielen.

Komorbidität	sRAGE [pg/ml] Nicht erkrankte Patienten			sRAGE [pg/ml] Erkrankte Patienten		
	N	MW ± SA	Median (IQR)	N	MW ± SA	Median (IQR)
KHK (p-Wert = 0,012)	2084	844,34 ± 340,22	784,33 (399,64)	392	920,17 ± 456,14	824,56 (468,42)
Maligne Neoplasien (p-Wert = 0,038)	2198	853,25 ± 365,12	784,56 (403,85)	278	880,81 ± 336,08	837,52 (380,98)
Chronische Nierenerkrankung (p-Wert = 0,000)	2179	840,97 ± 337,80	781,80 (387,37)	247	993,58 ± 504,01	906,10 (540,47)
Asthma bronchiale (p-Wert = 0,049)	2023	851,51 ± 364,59	784,78 (403,69)	453	877,93 ± 349,84	801,57 (407,79)
Gicht (p-Wert = 0,037)	2069	848,44 ± 348,65	783,00 (398,21)	407	896,51 ± 421,67	818,92 (448,47)
Eisenmangel (p-Wert = 0,042)	2269	850,34 ± 350,70	786,24 (401,50)	180	932,90 ± 478,34	824,48 (457,58)

**Tabelle 39: Mittelwerte ± SA bzw. Mediane und Interquartilsbereiche für sRAGE in pg/ml in den Patientengruppen ohne und mit den verschiedenen Komorbiditäten, für die sich mit dem in der ersten Spalte angegebenen p-Wert signifikante Unterschiede herausgestellt hatten.**

Die bereits bestehende Datenbasis für sRAGE-Konzentrationen bei Erkrankungen, wenn diese speziell als Komorbidität bei COPD auftreten, bietet noch relativ wenig Vergleichsmöglichkeit. Eine Bestätigung für signifikant erhöhte sRAGE-Werte bei COPD-Patienten mit KHK findet sich bei John et al. (2016), eine nicht-signifikante Erhöhung in Verbindung mit kardiovaskulärer Erkrankung konstatierten daneben auch Miniati et al. sowie Smith et al. Ansonsten wurden für Patienten mit sowohl COPD wie auch Asthma bronchiale, dem sogenannten Asthma-COPD-Overlap-Syndrom (ACOS), von Papi et al. 2016 ebenfalls signifikant erhöhte sRAGE-Konzentrationen erhoben, nachdem Sukkar et al. 2012 für alleiniges Asthma bronchiale mit neutrophiler Entzündungsreaktion Gegenteiliges festgestellt hatten. Die Situation, dass es bei einem gemeinsamen Auftreten von Erkrankungen, die jeweils für sich mit vermehrten RAGE-Liganden, vermehrter RAGE-Expression und

erniedrigten sRAGE-Leveln verbunden sind (Ausführungen dazu in diesem Kapitel und unter 2.2.2.2.), zu höheren sRAGE-Konzentrationen kommen kann, lässt viele Fragen offen. Abgesehen von der Komponente der Gewebespezifität, in deren Kontext auch die häufig nachgewiesenen Erniedrigung bei COPD bzw. Emphysem unter anderem auf Untergang von Pneumozyten mit ihrer RAGE-Expression zurückgeführt werden könnte (vgl. Gopal et al. 2014), ist das Zustandekommen unterschiedlicher sRAGE-Konzentrationen an sich jedoch noch nicht vollständig geklärt. Aus diesem Grund, und da der Regulation auch die komplexen Zusammenhänge rund um den membranständigen RAGE und die von ihm angestoßenen Signaltransduktionsketten zugrunde liegen, können zu den ursächlichen Faktoren an dieser Stelle nur Vermutungen angestellt werden. Die Information der Koexistenz der Erkrankungen könnte zum Beispiel über Konzentration oder Art bestimmter Liganden oder Co-Mediatoren auf den Rezeptor übertragen werden, dann gegebenenfalls Veränderungen in der Nutzung der möglichen Signalwege verursachen, sodass vermehrt Splice-Varianten wie esRAGE produziert werden. esRAGE stellt einen wichtigen Teil der Gesamtkonzentration an sRAGE und korreliert damit positiv (vgl. Sukkar et al. 2012, S. 726, Gopal et al. 2014), wenn es auch isoliert wie bei Gopal et al. gezeigt nicht unbedingt in derselben signifikanten Beziehung mit Parametern wie Raucherstatus, GOLD-Stadium oder FEV<sub>1</sub> gesehen werden kann und auch zumindest mit den von ihnen gemessenen AGEs nicht signifikant korrelierte. Eine Rolle könnte auch spielen, dass RAGE-Liganden auch die Expression der RAGE zu sRAGE spaltenden Proteinasen steigern können (Cockayne et al. 2012, 8). Diese Aufgabe wird zum Beispiel von der Matrix-Metalloproteinase 9 (MMP-9) erfüllt (vgl. Yonchuk et al. 2015, S. 787; Vazzana et al. 2009, S. 391), die daneben auch für „*pulmonary inflammation through extracellular matrix degradation, neutrophil chemotaxis, and augmentation of inflammation*“ (Wells et al. 2018, S. 1) verantwortlich gemacht wird und nach Wells et al. selbst als prognostischer Biomarker und therapeutisches Ziel in Betracht käme. Denn auf der Basis der SPIROMICS- und der COPDGene-Kohorte stellte sich unter anderem heraus, dass erhöhte Konzentrationen an MMP-9, unabhängig von der Atemwegsobstruktion in Form des GOLD-Stadiums, mit dem Risiko für und der Frequenz von akuten Exazerbationen verbunden sind (vgl. Wells et al. 2018). Möglicherweise existieren auch noch Signalübertragungswege, die bisher noch nicht beschrieben wurden und die genetische Komponente in der Konzentrationsregelung muss noch weiter beleuchtet werden (vgl. Sukkar et al. 2012, S. 727; Gopal et al. 2014). Ein wichtiger Punkt könnte außerdem der von Sukkar et al. (2012) nachgewiesene Zusammenhang von sRAGE mit neutrophiler Entzündung sein – als eine mögliche Interpretation wurde geäußert, dass sRAGE durch übergeordnete Kontrollmechanismen in seiner Konzentration herunterreguliert werden könnte, um ein Überschießen dieser Entzündungsreaktion zu verhindern. Cockayne et al. (2012, S.8) trugen dazu ihren Nachweis einer Assoziation von Markern neutrophiler Aktivität mit COPD, Schweregrad und

FEV<sub>1</sub>-Verminderung bei. Hier wird sichtbar - im Feld der Regulation der sRAGE-Konzentration bieten sich in jedem Fall noch viele Ansätze zur weiteren Forschung.

Ausgehend vom Thema Komorbidität soll, zur Beleuchtung prognostischer Faktoren, auch der Bezug von sRAGE zu Exazerbations- und kardiovaskulärem Risiko sowie zu einer Einschätzung der Mortalität noch einmal zur Sprache kommen.

Die bei kleiner Fallzahl von Miłkowska-Dymanowska et al. 2018 festgestellte, signifikante negative Korrelation von sRAGE zur Zahl an Hospitalisierungen, die durch eine Exazerbation verursacht wurden, fand in der Analyse der COSYCONET-Kohorte keine Bestätigung und auch mit der Zahl dieser Zustandsverschlechterungen allgemein bestand kein Zusammenhang. Demnach erscheint die vorgeschlagene Nutzung des Biomarkers zur „identification of frequent exacerbator phenotype“ (Miłkowska-Dymanowska et al. 2018) an dieser Stelle nicht sinnvoll. In der Arbeit von Keene et al. (2017, S. 476–477) fand sich auf der Basis von COPDGenen und SPIROMICS (Subpopulations and Intermediate Outcome Measures in COPD study) ebenso keine Korrelation von sRAGE zur Gesamtzahl an bereits erlittenen Exazerbationen. Nur für COPDGenen ließ sich ein signifikanter Zusammenhang des Biomarkers mit vorhergegangenen schweren Exazerbationen (definiert als akute Exazerbationen mit dem Besuch einer Notaufnahme und/oder Krankenhausaufnahme) bei Patienten in den GOLD-Stadien II-IV sowie eine Korrelation mit vorhergesagten Exazerbationen nachweisen, diese Ergebnisse konnten Keene et al. in der größeren SPIROMICS-Kohorte (n=1544) jedoch nicht reproduzieren. Nach ihrer Schlussfolgerung wären auf der Basis von klinischen Parametern nach wie vor die besten Voraussagen bzgl. Exazerbationen möglich und die von ihnen geprüften Biomarker trügen nur wenig dazu bei. Zur Diskussion, ob sRAGE während einer akuten Exazerbation signifikant erniedrigt sei, konnte auf der Basis von COSYCONET leider kein Beitrag geleistet werden – im Rahmen kleiner Studien war dieser Zusammenhang bei der Arbeit von Pouwels et al. im Jahr 2015 zunächst nicht nachweisbar gewesen, zeigte sich dann aber bei Pouwels et al. (2017) allgemein bzw. bei Smith et al. (2011) und Zhang et al. (2014) im Vergleich zur Konzentration in der Rekonvaleszenzphase.

In Bezug auf das kardiovaskuläre Risiko wurde für die COSYCONET-Kohorte wie beschrieben ein Zusammenhang mit 5- und 10-Jahresrisiko sichtbar. Vergleichend kann dazu die Studie von John et al. betrachtet werden - allerdings mit der Einschränkung, dass mit dem NHLBI- (National Heart, Lung, and Blood Institute) und dem ACC/AHA-Score (American College of Cardiology/American Heart Association) dafür andere Berechnungsgrundlagen verwendet wurden und Patienten mit bereits bestehender KHK ausgeschlossen waren (John et al. 2016, S. 249). Der Wert des ACC/AHA-Scores zeigte sich von der Größenordnung her mit im Mittel 20,2% den für diese Arbeit errechneten 21,1%



zwar durchaus ähnlich, John et al. konnten jedoch keine signifikante Korrelation zum 10-Jahresrisiko nachweisen. Auch bislang noch wenig Information findet sich in der Literatur zum Zusammenhang von sRAGE mit der Mortalität bei COPD-Patienten bzw. mit dem BODE-Index als Surrogatparameter. Letzterer erwies sich für die COSYCONET-Kohorte als signifikant negativ mit dem Biomarker korrelierend. Entsprechung findet dieses Ergebnis lediglich bei Selvin et al., die für Patienten mit anderen Erkrankungen als einer COPD eine Verbindung zwischen niedrigem sRAGE-Ausgangswert und höherer Mortalität nachweisen konnten.

Zusammenfassend gesehen korreliert sRAGE nach den Ergebnissen aus der Analyse der COSYCONET-Kohorte mit wichtigen Parametern, die die Erkrankung und das Stadium bzw. das Fortschreiten der COPD beschreiben und ist in vielem konsistent mit den Erkenntnissen aus anderen Studien, z.B. was den Zusammenhang mit der COPD allgemein, mit Lungenemphysem und –funktion betrifft. Als ein Beitrag zur Diskussion bisher unterschiedlich ausgefallener Ergebnisse in der Literatur oder wenig bearbeiteter Themengebiete können z.B. die Erkenntnisse zu sRAGE und Raucherstatus, inflammatorischen Parametern, kardiovaskulärem Risiko, BODE-Index sowie diejenigen zum Thema der Komorbiditäten gesehen werden. Aus dem Blickwinkel der erfolgten Querschnittsanalyse zum Zeitpunkt der ersten Visite sind die gefundenen Korrelationen jedoch schwach ausgeprägt und im Vergleich zu der bisher mangels Alternative ubiquitär zur Einschätzung genutzten FEV<sub>1</sub> keine Verbesserung. Beispielsweise in Bezug auf die tatsächliche Verfassung der Patienten bzw. ihre Einschränkung in Form des SGRQ (Spearman-Rho-Koeffizient von -0,411, p-Wert = 0,000) oder die Zahl an Exazerbationen in den letzten 12 Monaten (-0,218, p-Wert = 0,000) und dadurch bedingte Hospitalisierungen (-0,238, p-Wert = 0,000) schneidet die FEV<sub>1</sub> sogar deutlich besser ab. Eine Nutzung von sRAGE als Ersatz bzw. als solitärer Biomarker bei COPD ohne Einbeziehung anderer Parameter erscheint daher nicht sinnvoll. Wie in 2.2.1. näher ausgeführt, verspräche eine Verwendung im Modell mit z.B. weiteren Biomarkern oder überhaupt eine Hinwendung zu anderen vielversprechenden, aber noch auf dem Prüfstand stehenden Biomarkern mutmaßlich größere Erfolge und damit auch eine realistischere Chance auf tatsächliche klinische Nutzung. Zu bedenken sind bei aller Interpretation der Ergebnisse jedoch auch die bereits unter 5.1. erläuterten grundsätzlichen Einschränkungen dieser Arbeit, die sich aus dem Design als Querschnittsstudie ohne Kontrollkohorte ergeben und in der sich z.T. rein auf anamnestische Angaben verlassen werden muss.

### **5.3. Abschließende Betrachtung**

Zusammenfassend wurden durch diese Arbeit vorbestehende Erkenntnisse zu Osteopontin und sRAGE als Biomarker bei COPD in verschiedener Hinsicht ergänzt. Mit der Auswertung des im Rahmen von COSYCONET erhobenen Materials konnte auf eine große Datenbasis zurückgegriffen werden, was eine gewisse Aussagekraft impliziert. Als einschränkend muss jedoch das Konzept als Querschnittsanalyse ohne Kontrollkohorte oder mögliche Beobachtung von Sachverhalten im zeitlichen Verlauf gesehen werden. Gleichfalls konnte aufgrund methodischer Differenzen und eine unterschiedlich breite, vorbestehende Datenbasis eine externe Validierung durch Vergleiche mit existierender Literatur nur begrenzt erfolgen. Daneben ergaben sich durch die teilweise Verwendung von rein anamnestisch durch Patienten angegebene Daten Unschärfen in den betroffenen Bereichen wie z.B. bzgl. des Auftretens der verschiedenen Komorbiditäten und der Exazerbationen. Letztlich erschienen beide Biomarker nicht ohne weiteres sinnvoll klinisch nutzbar, jedoch wurden mögliche Ansatzpunkte für weiterführende Forschung zur Erreichung dieses Ziels sichtbar. Dazu werden auch Studien zu vielen anderen Biomarkern mit großem Potenzial durchgeführt und es ist anzunehmen, dass für die Erkrankung der COPD daraus noch Vielfältiges zu lernen sein wird.

## 6. Literaturverzeichnis

- 1) Agusti, Alvar; Calverley, Peter M. A.; Celli, Bartolome; Coxson, Harvey O.; Edwards, Lisa D.; Lomas, David A. et al. (2010): Characterisation of COPD heterogeneity in the ECLIPSE cohort. In: *Respiratory research* 11, S. 122. DOI: 10.1186/1465-9921-11-122.
- 2) Anderson, K. M.; Odell, P. M.; Wilson, P. W.; Kannel, W. B. (1991): Cardiovascular disease risk profiles. In: *American heart journal* 121 (1 Pt 2), S. 293–298.
- 3) Arand, Manuela (2017): Chronisch-obstruktive Lungenerkrankung (COPD): Klassifikation geändert. In: *Perspektiven der Pneumologie und Allergologie, Deutsches Ärzteblatt* (1), S. 18–20.
- 4) Arand, Manuela (2019): Management der COPD: Die wichtigsten Änderungen im aktuellen GOLD-Update. In: *Deutsches Ärzteblatt* 116 (12), S. 575–578.
- 5) Barchetta, I.; Alessandri, C.; Bertocchini, L.; Cimini, F. A.; Taverniti, L.; Di Franco, M. et al. (2016): Increased circulating osteopontin levels in adult patients with type 1 diabetes mellitus and association with dysmetabolic profile. In: *European journal of endocrinology* 174 (2), S. 187–192. DOI: 10.1530/EJE-15-0791.
- 6) Berezin, A. E.; Kremzer, A. A. (2013): Circulating osteopontin as a marker of early coronary vascular calcification in type two diabetes mellitus patients with known asymptomatic coronary artery disease. In: *Atherosclerosis* 229 (2), S. 475–481. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2013.06.003.
- 7) Bierhaus, Angelika; Nawroth, Peter (2002): Schlüssel zum Verständnis chronischer Erkrankungen. In: *Ruperto Carola* (3). Online verfügbar unter [https://www.uni-heidelberg.de/presse/ruca/ruca3\\_2002/bierhaus.html](https://www.uni-heidelberg.de/presse/ruca/ruca3_2002/bierhaus.html), zuletzt geprüft am 28.04.2019.
- 8) Biertz, Frank; Burmester, Kerstin; Kokot, Inge; Söhler, Sandra; Vogelmeier, Claus (o.J.a): Ein/Ausschlusskriterien. Unter Mitarbeit von 2mt Software GmbH. Hg. v. Kompetenznetz Asthma und COPD und Katharina Krause. Online verfügbar unter <http://www.asconet.net/html/cosyconet/teilprojekt1/eakriterien>, zuletzt geprüft am 12.02.2019.
- 9) Biertz, Frank; Burmester, Kerstin; Kokot, Inge; Söhler, Sandra; Vogelmeier, Claus (o.J.b): Publikationsordnung. Unter Mitarbeit von 2mt Software GmbH. Hg. v. Kompetenznetz Asthma und COPD und Katharina Krause. Online verfügbar unter <http://www.asconet.net/html/cosyconet/projects/pubord>, zuletzt geprüft am 12.02.2019.
- 10) Biertz, Frank; Burmester, Kerstin; Kokot, Inge; Söhler, Sandra; Vogelmeier, Claus (o.J.c): Teilprojekt 1. Unter Mitarbeit von 2mt Software GmbH. Hg. v. Kompetenznetz Asthma und COPD und Katharina Krause. Online verfügbar unter

[http://www.asconet.net/html/cosyconet/teilprojekt1?clps91\\_1747263335=1](http://www.asconet.net/html/cosyconet/teilprojekt1?clps91_1747263335=1), zuletzt aktualisiert am 12.02.2019.

- 11) Bio-Techne, R&D Systems, Inc. (Hg.) (2019a): Detection & Visualization of Antibody Binding. Online verfügbar unter <https://www.rndsystems.com/resources/protocols/detection-visualization-antibody-binding>, zuletzt geprüft am 14.02.2019.
- 12) Bio-Techne, R&D Systems, Inc. (Hg.) (2019b): Luminex Bead-based Multiplex Assay Principle. Online verfügbar unter <https://www.rndsystems.com/resources/technical/luminex-bead-based-assay-principle>, zuletzt geprüft am 20.02.2019.
- 13) Carbone, Federico; Vuilleumier, Nicolas; Burger, Fabienne; Roversi, Gloria; Tamborino, Carmine; Casetta, Ilaria et al. (2015): Serum osteopontin levels are upregulated and predict disability after an ischaemic stroke. In: *European journal of clinical investigation* 45 (6), S. 579–586. DOI: 10.1111/eci.12446.
- 14) Carolan, Brendan J.; Hughes, Grant; Morrow, Jarrett; Hersh, Craig P.; O'Neal, Wanda K.; Rennard, Stephen et al. (2014): The association of plasma biomarkers with computed tomography-assessed emphysema phenotypes. In: *Respiratory research* 15, S. 127. DOI: 10.1186/s12931-014-0127-9.
- 15) Castello, Luigi Mario; Raineri, Davide; Salmi, Livia; Clemente, Nausicaa; Vaschetto, Rosanna; Quaglia, Marco et al. (2017): Osteopontin at the Crossroads of Inflammation and Tumor Progression. In: *Mediators of inflammation* 2017, S. 4049098. DOI: 10.1155/2017/4049098.
- 16) Catapano, Alberico L.; Graham, Ian; Backer, Guy de; Wiklund, Olov; Chapman, M. John; Drexel, Heinz et al. (2016): 2016 ESC/EAS Guidelines for the Management of Dyslipidaemias. In: *European heart journal* 37 (39), S. 2999–3058. DOI: 10.1093/eurheartj/ehw272.
- 17) Celli, Bartolome R.; Cote, Claudia G.; Marin, Jose M.; Casanova, Ciro; Montes de Oca, Maria; Mendez, Reina A. et al. (2004): The body-mass index, airflow obstruction, dyspnea, and exercise capacity index in chronic obstructive pulmonary disease. In: *The New England journal of medicine* 350 (10), S. 1005–1012. DOI: 10.1056/NEJMoa021322.
- 18) Cheng, Donovan T.; Kim, Deog Kyeom; Cockayne, Debra A.; Belousov, Anton; Bitter, Hans; Cho, Michael H. et al. (2013): Systemic soluble receptor for advanced glycation endproducts is a biomarker of emphysema and associated with AGER genetic variants in patients with chronic obstructive pulmonary disease. In: *American journal of respiratory and critical care medicine* 188 (8), S. 948–957. DOI: 10.1164/rccm.201302-0247OC.
- 19) Cherneva, Radostina V.; Kostadinov, Dimitar T. (2018): Biomarkers in COPD - Challenging, Real or Illusive. In: *Folia medica* 60 (3), S. 351–363. DOI: 10.2478/folmed-2018-0018.
- 20) Cockayne, Debra A.; Cheng, Donovan T.; Waschki, Benjamin; Sridhar, Sriram; Ravindran, Palanikumar; Hilton, Holly et al. (2012): Systemic biomarkers of neutrophilic inflammation,

- tissue injury and repair in COPD patients with differing levels of disease severity. In: *PLoS one* 7 (6), e38629. DOI: 10.1371/journal.pone.0038629.
- 21) COPD Foundation (10.01.2017): COPD Biomarker Qualification Consortium Partners with Bio-Techne to Identify COPD Indicator. Washington, D.C./Minneapolis. Online verfügbar unter <https://www.copdfoundation.org/About-Us/Press-Room/Press-Releases/Article/971/COPD-Biomarker-Qualification-Consortium-Partners-with-Bio-Techne-to-Identify-CO.aspx>, zuletzt geprüft am 27.04.2019.
  - 22) Divo, Miguel; Cote, Claudia; Torres, Juan P. de; Casanova, Ciro; Marin, Jose M.; Pinto-Plata, Victor et al. (2012): Comorbidities and risk of mortality in patients with chronic obstructive pulmonary disease. In: *American journal of respiratory and critical care medicine* 186 (2), S. 155–161. DOI: 10.1164/rccm.201201-0034OC.
  - 23) Falcone, Colomba; Bozzini, Sara; Guasti, Luigina; D'Angelo, Angela; Capettini, Anna Clizia; Paganini, Edoardo Maria et al. (2013): Soluble RAGE plasma levels in patients with coronary artery disease and peripheral artery disease. In: *TheScientificWorldJournal* 2013, S. 584504. DOI: 10.1155/2013/584504.
  - 24) FDA-NIH Biomarker Working Group (2016): BEST (Biomarkers, EndpointS, and other Tools) Resource. Silver Spring (MD).
  - 25) Ferrer, M.; Villasante, C.; Alonso, J.; Sobradillo, V.; Gabriel, R.; Vilagut, G. et al. (2002): Interpretation of quality of life scores from the St George's Respiratory Questionnaire. In: *The European respiratory journal* 19 (3), S. 405–413. DOI: 10.1183/09031936.02.00213202.
  - 26) Ganz, Peter; Amarenco, Pierre; Goldstein, Larry B.; Silleesen, Henrik; Bao, Weihang; Preston, Gregory M.; Welch, K. Michael A. (2017): Association of Osteopontin, Neopterin, and Myeloperoxidase With Stroke Risk in Patients With Prior Stroke or Transient Ischemic Attacks: Results of an Analysis of 13 Biomarkers From the Stroke Prevention by Aggressive Reduction in Cholesterol Levels Trial. In: *Stroke* 48 (12), S. 3223–3231. DOI: 10.1161/STROKEAHA.117.017965.
  - 27) GBD 2013 Mortality and Causes of Death Collaborators (2015): Global, regional, and national age–sex specific all-cause and cause-specific mortality for 240 causes of death, 1990–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. In: *The Lancet* 385 (9963), S. 117–171. DOI: 10.1016/S0140-6736(14)61682-2.
  - 28) GlaxoSmithKline (GSK) Unternehmensgruppe (Hg.) (2009): COPD Assessment Test. Online verfügbar unter <https://www.catestonline.org/patient-site-test-page-german-germany.html>, zuletzt geprüft am 25.03.2019.
  - 29) Global Burden of Disease Collaborative Network (2018): Global Burden of Disease Study 2017 (GBD 2017) Results. Hg. v. Institute for Health Metrics and Evaluation (IHME). Seattle, United

- States. Online verfügbar unter <http://ghdx.healthdata.org/gbd-results-tool>, zuletzt geprüft am 21.03.2019.
- 30) Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD), Inc. (Hg.) (2019): Global Strategy for the Diagnosis, Management, and Prevention of Chronic Obstructive Lung Disease. Report 2019, zuletzt geprüft am 25.03.2019.
  - 31) Gopal, Poornima; Reynaert, Niki L.; Scheijen, Jean L. J. M.; Schalkwijk, Casper G.; Franssen, Frits M. E.; Wouters, Emiel F. M.; Rutten, Erica P. A. (2014): Association of plasma sRAGE, but not esRAGE with lung function impairment in COPD. In: *Respiratory research* 15, S. 24. DOI: 10.1186/1465-9921-15-24.
  - 32) Gressner, Axel M.; Arndt, Torsten (2013): Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
  - 33) Heredia, Fátima Pérez de; Gómez-Martínez, Sonia; Marcos, Ascensión (2012): Obesity, inflammation and the immune system. In: *The Proceedings of the Nutrition Society* 71 (2), S. 332–338. DOI: 10.1017/S0029665112000092.
  - 34) Herold, Gerd (2019): Innere Medizin. Eine vorlesungsorientierte Darstellung, unter Berücksichtigung des Gegenstandskataloges für die Ärztliche Prüfung, mit ICD 10-Schlüssel im Text und Stichwortverzeichnis. Köln: Herold, Gerd.
  - 35) Hollander, Zsuzsanna; DeMarco, Mari L.; Sadatsafavi, Mohsen; McManus, Bruce M.; Ng, Raymond T.; Sin, Don D. (2017): Biomarker Development in COPD: Moving From P Values to Products to Impact Patient Care. In: *Chest* 151 (2), S. 455–467. DOI: 10.1016/j.chest.2016.09.012.
  - 36) Hudson, Barry I.; Carter, Angela M.; Harja, Evis; Kalea, Anastasia Z.; Arriero, Maria; Yang, Hojin et al. (2008): Identification, classification, and expression of RAGE gene splice variants. In: *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 22 (5), S. 1572–1580. DOI: 10.1096/fj.07-9909com.
  - 37) Institute for Health Metrics and Evaluation (IHME) (2015): GBD Compare. Hg. v. University of Washington IHME. Seattle, WA, United States. Online verfügbar unter <https://vizhub.healthdata.org/gbd-compare/>, zuletzt geprüft am 21.03.2019.
  - 38) Iwamoto, Hiroshi; Gao, Jing; Pulkkinen, Ville; Toljamo, Tuula; Nieminen, Pentti; Mazur, Witold (2014): Soluble receptor for advanced glycation end-products and progression of airway disease. In: *BMC pulmonary medicine* 14, S. 68. DOI: 10.1186/1471-2466-14-68.
  - 39) John, Michelle; McKeever, Tricia M.; Haddad, Maath Al; Hall, Ian P.; Sayers, Ian; Cockcroft, John R.; Bolton, Charlotte E. (2016): Traditional and emerging indicators of cardiovascular risk in chronic obstructive pulmonary disease. In: *Chronic respiratory disease* 13 (3), S. 247–255. DOI: 10.1177/1479972316636995.

- 40) Jörres, R. A.; Welte, T.; Bals, R.; Koch, A.; Schnoor, M.; Vogelmeier, C. (2010): Einfluss systemischer Manifestationen und Komorbiditäten auf den klinischen Zustand und den Verlauf bei COPD. Eine Übersicht über die Kohortenstudie COSYCONET. In: *Deutsche medizinische Wochenschrift (1946)* 135 (10), S. 446–449. DOI: 10.1055/s-0030-1249185.
- 41) Kahles, Florian; Findeisen, Hannes M.; Bruemmer, Dennis (2014): Osteopontin: A novel regulator at the cross roads of inflammation, obesity and diabetes. In: *Molecular metabolism* 3 (4), S. 384–393. DOI: 10.1016/j.molmet.2014.03.004.
- 42) Karch, Annika; Vogelmeier, Claus; Welte, Tobias; Bals, Robert; Kauczor, Hans-Ulrich; Biederer, Jürgen et al. (2016): The German COPD cohort COSYCONET: Aims, methods and descriptive analysis of the study population at baseline. In: *Respiratory medicine* 114, S. 27–37. DOI: 10.1016/j.rmed.2016.03.008.
- 43) Keene, Jason D.; Jacobson, Sean; Kechris, Katerina; Kinney, Gregory L.; Foreman, Marilyn G.; Doerschuk, Claire M. et al. (2017): Biomarkers Predictive of Exacerbations in the SPIROMICS and COPD Gene Cohorts. In: *American journal of respiratory and critical care medicine* 195 (4), S. 473–481. DOI: 10.1164/rccm.201607-1330OC.
- 44) Klemmer, Andreas; Vogelmeier, Claus Franz (2015): COPD: Nicht nur eine Lungenerkrankung. In: *Deutsches Ärzteblatt* 112 (9).
- 45) Ko, Fanny W. S.; Tam, Wilson; Tung, Alvin H. M.; Ngai, Jenny; Ng, Susanna S. S.; Lai, Kenneth et al. (2011): A longitudinal study of serial BODE indices in predicting mortality and readmissions for COPD. In: *Respiratory medicine* 105 (2), S. 266–273. DOI: 10.1016/j.rmed.2010.06.022.
- 46) Kurzbach, Dennis; Platzer, Gerald; Schwarz, Thomas C.; Henen, Morkos A.; Konrat, Robert; Hinderberger, Dariush (2013): Cooperative unfolding of compact conformations of the intrinsically disordered protein osteopontin. In: *Biochemistry* 52 (31), S. 5167–5175. DOI: 10.1021/bi400502c.
- 47) Labor Augsburg MVZ GmbH (Hg.) (2018): Leistungsverzeichnis. Online verfügbar unter <http://www.labor-augsburg-mvz.de/de/leistungsverzeichnis>, zuletzt geprüft am 28.03.2019.
- 48) Lee, Seung Jun; Kim, Sung Hwan; Kim, Wanchul; Lim, Sujin; Lee, Seung Hun; Kim, Yu Eun et al. (2014): Increased plasma osteopontin in frequent exacerbator and acute exacerbation of COPD. In: *The clinical respiratory journal* 8 (3), S. 305–311. DOI: 10.1111/crj.12072.
- 49) Liu, Fanglei; Bai, Chunxue; Guo, Zhongliang (2017): The prognostic value of osteopontin in limited-stage small cell lung cancer patients and its mechanism. In: *Oncotarget* 8 (41), S. 70084–70096. DOI: 10.18632/oncotarget.19589.

- 50) Lund, Susan Amanda; Giachelli, Cecilia M.; Scatena, Marta (2009): The role of osteopontin in inflammatory processes. In: *Journal of cell communication and signaling* 3 (3-4), S. 311–322. DOI: 10.1007/s12079-009-0068-0.
- 51) Luttmann, Werner; Bratke, Kai; Küpper, Michael; Myrtek, Daniel (Hg.) (2014): *Der Experimentator: Immunologie*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- 52) Ma, Jeong Eun; Lee, Seung Hun; Kim, Yu Eun; Lim, Su Jin; Lee, Seung Jun; Jeong, Yi Yeong et al. (2011): Comparison of Serum Osteopontin Levels in Patients with Stable and Chronic Obstructive Pulmonary Disease and Exacerbation. In: *Tuberc Respir Dis* 71 (3), S. 195. DOI: 10.4046/trd.2011.71.3.195.
- 53) Mannino, David M. (2019): Biomarkers for chronic obstructive pulmonary disease diagnosis and progression: insights, disappointments and promise. In: *Current opinion in pulmonary medicine* 25 (2), S. 144–149. DOI: 10.1097/MCP.0000000000000549.
- 54) Meguro, Makiko; Barley, Elizabeth A.; Spencer, Sally; Jones, Paul W. (2007): Development and Validation of an Improved, COPD-Specific Version of the St. George Respiratory Questionnaire. In: *Chest* 132 (2), S. 456–463. DOI: 10.1378/chest.06-0702.
- 55) Mendioroz, M.; Fernández-Cadenas, I.; Rosell, A.; Delgado, P.; Domingues-Montanari, S.; Ribó, M. et al. (2011): Osteopontin predicts long-term functional outcome among ischemic stroke patients. In: *Journal of neurology* 258 (3), S. 486–493. DOI: 10.1007/s00415-010-5785-z.
- 56) Miłkowska-Dymanowska, Joanna; Białas, Adam J.; Szewczyk, Karolina; Kurmanowska, Zofia; Górski, Paweł; Piotrowski, Wojciech J. (2018): The usefulness of soluble receptor for advanced glycation end-products in the identification of COPD frequent exacerbator phenotype. In: *International journal of chronic obstructive pulmonary disease* 13, S. 3879–3884. DOI: 10.2147/COPD.S186170.
- 57) Miller, Bruce E.; Tal-Singer, Ruth; Rennard, Stephen I.; Furtwaengler, Armin; Leidy, Nancy; Lowings, Michael et al. (2016): Plasma Fibrinogen Qualification as a Drug Development Tool in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. Perspective of the Chronic Obstructive Pulmonary Disease Biomarker Qualification Consortium. In: *American journal of respiratory and critical care medicine* 193 (6), S. 607–613. DOI: 10.1164/rccm.201509-1722PP.
- 58) Miniati, Massimo; Monti, Simonetta; Basta, Giuseppina; Cocci, Franca; Fornai, Edo; Bottai, Matteo (2011): Soluble receptor for advanced glycation end products in COPD: relationship with emphysema and chronic cor pulmonale: a case-control study. In: *Respiratory research* 12, S. 37. DOI: 10.1186/1465-9921-12-37.
- 59) Müllerova, Hana; Gelhorn, Heather; Wilson, Hilary; Benson, Victoria S.; Karlsson, Niklas; Menjoge, Shailendra et al. (2017): St George's Respiratory Questionnaire Score Predicts



- Outcomes in Patients with COPD: Analysis of Individual Patient Data in the COPD Biomarkers Qualification Consortium Database. In: *Chronic obstructive pulmonary diseases (Miami, Fla.)* 4 (2), S. 141–149. DOI: 10.15326/jcopdf.4.2.2017.0131.
- 60) Nonato, Nívia L.; Díaz, Orlando; Nascimento, Oliver A.; Dreyse, Jorge; Jardim, José R.; Lisboa, Carmen (2015): Behavior of Quality of Life (SGRQ) in COPD Patients According to BODE Scores. In: *Archivos de bronconeumologia* 51 (7), S. 315–321. DOI: 10.1016/j.arbres.2014.02.017.
- 61) O'Regan, Anthony (2003): The Role of osteopontin in lung disease. In: *Cytokine & Growth Factor Reviews* 14 (6), S. 479–488. DOI: 10.1016/S1359-6101(03)00055-8.
- 62) Oczypok, Elizabeth A.; Perkins, Timothy N.; Oury, Tim D. (2017): All the "RAGE" in lung disease: The receptor for advanced glycation endproducts (RAGE) is a major mediator of pulmonary inflammatory responses. In: *Paediatric respiratory reviews* 23, S. 40–49. DOI: 10.1016/j.prrv.2017.03.012.
- 63) O'Neal, Wanda K.; Anderson, Wayne; Basta, Patricia V.; Carretta, Elizabeth E.; Doerschuk, Claire M.; Barr, R. Graham et al. (2014): Comparison of serum, EDTA plasma and P100 plasma for luminex-based biomarker multiplex assays in patients with chronic obstructive pulmonary disease in the SPIROMICS study. In: *Journal of translational medicine* 12, S. 9. DOI: 10.1186/1479-5876-12-9.
- 64) Palanissami, Gowri; Paul, Solomon F. D. (2018): RAGE and Its Ligands: Molecular Interplay Between Glycation, Inflammation, and Hallmarks of Cancer-a Review. In: *Hormones & cancer* 9 (5), S. 295–325. DOI: 10.1007/s12672-018-0342-9.
- 65) Papaporfyriou, Anastasia; Loukides, Stelios; Kostikas, Konstantinos; Simoes, Davina C. M.; Papatheodorou, Georgios; Konstantellou, Elissavet et al. (2014): Increased levels of osteopontin in sputum supernatant in patients with COPD. In: *Chest* 146 (4), S. 951–958. DOI: 10.1378/chest.13-2440.
- 66) Papi, Alberto; Magnoni, Maria Sandra; Muzzio, Carmelo Caio; Benso, Gianmarco; Rizzi, Andrea (2016): Phenomenology of COPD: interpreting phenotypes with the ECLIPSE study. In: *Monaldi archives for chest disease = Archivio Monaldi per le malattie del torace* 83 (1-2), S. 721. DOI: 10.4081/monaldi.2016.721.
- 67) Petta, Vasiliki; Loukides, Stelios; Kostikas, Konstantinos; Papaioannou, Andriana I.; Papatheodorou, Georgios; Cholidou, Kyriaki et al. (2018): Serum osteopontin in patients with lung cancer and chronic obstructive pulmonary disease: does the co-existence make the difference? In: *Journal of thoracic disease* 10 (2), S. 740–748. DOI: 10.21037/jtd.2018.01.45.
- 68) Pouwels, Simon D.; Klont, Frank; Kwiatkowski, Marcel; Wiersma, Valerie R.; Faiz, Alen; van den Berge, Maarten et al. (2018): Cigarette Smoking Acutely Decreases Serum Levels of the

- Chronic Obstructive Pulmonary Disease Biomarker sRAGE. In: *American journal of respiratory and critical care medicine* 198 (11), S. 1456–1458. DOI: 10.1164/rccm.201807-1249LE.
- 69) Pouwels, Simon D.; Nawijn, Martijn C.; Bathoorn, Erik; Riezebos-Brilman, Annelies; van Oosterhout, Antoon J. M.; Kerstjens, Huib A. M.; Heijink, Irene H. (2015): Increased serum levels of LL37, HMGB1 and S100A9 during exacerbation in COPD patients. In: *The European respiratory journal* 45 (5), S. 1482–1485. DOI: 10.1183/09031936.00158414.
- 70) Pouwels, Simon D.; van Geffen, Wouter H.; Jonker, Marnix R.; Kerstjens, Huib A. M.; Nawijn, Martijn C.; Heijink, Irene H. (2017): Increased neutrophil expression of pattern recognition receptors during COPD exacerbations. In: *Respirology (Carlton, Vic.)* 22 (2), S. 401–404. DOI: 10.1111/resp.12912.
- 71) Quanjer, Philip H.; Stanojevic, Sanja; Cole, Tim J.; Baur, Xaver; Hall, Graham L.; Culver, Bruce H. et al. (2012): Multi-ethnic reference values for spirometry for the 3-95-yr age range: the global lung function 2012 equations. In: *The European respiratory journal* 40 (6), S. 1324–1343. DOI: 10.1183/09031936.00080312.
- 72) Reslova, Nikol; Michna, Veronika; Kasny, Martin; Mikel, Pavel; Kralik, Petr (2017): xMAP Technology: Applications in Detection of Pathogens. In: *Frontiers in microbiology* 8, S. 55. DOI: 10.3389/fmicb.2017.00055.
- 73) Rittling, S. R.; Singh, R. (2015): Osteopontin in Immune-mediated Diseases. In: *Journal of dental research* 94 (12), S. 1638–1645. DOI: 10.1177/0022034515605270.
- 74) Rosenberg, Mark; Zugck, Christian; Nelles, Manfred; Juenger, Claus; Frank, Derk; Remppis, Andrew et al. (2008): Osteopontin, a new prognostic biomarker in patients with chronic heart failure. In: *Circulation. Heart failure* 1 (1), S. 43–49. DOI: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.107.746172.
- 75) Schmidt, A. M.; Vianna, M.; Gerlach, M.; Brett, J.; Ryan, J.; Kao, J. et al. (1992): Isolation and characterization of two binding proteins for advanced glycosylation end products from bovine lung which are present on the endothelial cell surface. In: *The Journal of biological chemistry* 267 (21), S. 14987–14997.
- 76) Selvin, Elizabeth; Halushka, Marc K.; Rawlings, Andreea M.; Hoogeveen, Ron C.; Ballantyne, Christie M.; Coresh, Josef; Astor, Brad C. (2013): sRAGE and risk of diabetes, cardiovascular disease, and death. In: *Diabetes* 62 (6), S. 2116–2121. DOI: 10.2337/db12-1528.
- 77) Shan, Ming; Yuan, Xiaoyi; Song, Li-Zhen; Roberts, Luz; Zarinkamar, Nazanin; Seryshev, Alexander et al. (2012): Cigarette smoke induction of osteopontin (SPP1) mediates T(H)17 inflammation in human and experimental emphysema. In: *Science translational medicine* 4 (117), 117ra9. DOI: 10.1126/scitranslmed.3003041.

- 78) Sin, Don D.; Hollander, Zsuzsanna; DeMarco, Mari L.; McManus, Bruce M.; Ng, Raymond T. (2015): Biomarker Development for Chronic Obstructive Pulmonary Disease. From Discovery to Clinical Implementation. In: *American journal of respiratory and critical care medicine* 192 (10), S. 1162–1170. DOI: 10.1164/rccm.201505-0871PP.
- 79) Smith, D. J.; Yerkovich, S. T.; Towers, M. A.; Carroll, M. L.; Thomas, R.; Upham, J. W. (2011): Reduced soluble receptor for advanced glycation end-products in COPD. In: *The European respiratory journal* 37 (3), S. 516–522. DOI: 10.1183/09031936.00029310.
- 80) Steppuhn, Henriette; Kuhnert, Ronny; Scheidt-Nave, Christa (2017): 12-Monats-Prävalenz der bekannten chronisch obstruktiven Lungenerkrankung (COPD) in Deutschland. In: *Journal of Health Monitoring* (2). DOI: 10.17886/RKI-GBE-2017-053.
- 81) Stockley, Robert A. (2014): Biomarkers in chronic obstructive pulmonary disease: confusing or useful? In: *International journal of chronic obstructive pulmonary disease* 9, S. 163–177. DOI: 10.2147/COPD.S42362.
- 82) Stockley, Robert A.; Halpin, David M. G.; Celli, Bartolome R.; Singh, Dave (2018): COPD Biomarkers and their Interpretation. In: *American journal of respiratory and critical care medicine*. DOI: 10.1164/rccm.201810-1860SO.
- 83) Strimbu, Kyle; Tavel, Jorge A. (2010): What are biomarkers? In: *Current opinion in HIV and AIDS* 5 (6), S. 463–466. DOI: 10.1097/COH.0b013e32833ed177.
- 84) Sukkar, M. B.; Wood, L. G.; Tooze, M.; Simpson, J. L.; McDonald, V. M.; Gibson, P. G.; Wark, P. A. B. (2012): Soluble RAGE is deficient in neutrophilic asthma and COPD. In: *The European respiratory journal* 39 (3), S. 721–729. DOI: 10.1183/09031936.00022011.
- 85) Troosters, T.; Gosselink, R.; Decramer, M. (1999): Six minute walking distance in healthy elderly subjects. In: *The European respiratory journal* 14 (2), S. 270–274.
- 86) USA & Canada | R&D Systems, Inc.; UK & Europe | R&D Systems Europe, Ltd (2014): Magnetic Luminex® Screening Assay. Human Premixed Multi-Analyte Kit. Datasheet (Catalog Number LXSAHM).
- 87) Vazzana, Natale; Santilli, Francesca; Cuccurullo, Chiara; Davì, Giovanni (2009): Soluble forms of RAGE in internal medicine. In: *Internal and emergency medicine* 4 (5), S. 389–401. DOI: 10.1007/s11739-009-0300-1.
- 88) Vogelmeier, C.; Buhl, R.; Burghuber, O.; Criée, C.-P.; Ewig, S.; Godnic-Cvar, J. et al. (2018): S2k-Leitlinie zur Diagnostik und Therapie von Patienten mit chronisch obstruktiver Bronchitis und Lungenemphysem (COPD). Hg. v. Deutsche Gesellschaft für Pneumologie und Beatmungsmedizin e.V., Deutsche Atemwegsliga e.V. und Österreichische Gesellschaft für Pneumologie (AWMF-Register Nr. 020/006). Online verfügbar unter <https://www.awmf.org/leitlinien/detail/II/020-006.html>.

- 89) Vogelmeier, C.; Koczulla, R.; Fehrenbach, H.; Bals, R. (2006): Pathogenese der COPD. In: *Der Internist* 47 (9), 885-6, 888-90, 892-4. DOI: 10.1007/s00108-006-1691-y.
- 90) Weiss, Christel; Rzany, Berthold (2008): Basiswissen Medizinische Statistik. 4., überarbeitete Auflage. Heidelberg: Springer (Springer-Lehrbuch).
- 91) Wells, J. Michael; Parker, Margaret M.; Oster, Robert A.; Bowler, Russ P.; Dransfield, Mark T.; Bhatt, Surya P. et al. (2018): Elevated circulating MMP-9 is linked to increased COPD exacerbation risk in SPIROMICS and COPDGene. In: *JCI insight* 3 (22). DOI: 10.1172/jci.insight.123614.
- 92) Wolak, Talya (2014): Osteopontin - a multi-modal marker and mediator in atherosclerotic vascular disease. In: *Atherosclerosis* 236 (2), S. 327–337. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2014.07.004.
- 93) World Health Organization (WHO) (Hg.): Chronic respiratory diseases - COPD: Definition. Online verfügbar unter <https://www.who.int/respiratory/copd/definition/en/>, zuletzt geprüft am 23.03.2019.
- 94) Xie, Jianling; Méndez, José D.; Méndez-Valenzuela, Verna; Aguilar-Hernández, María Montserrat (2013): Cellular signalling of the receptor for advanced glycation end products (RAGE). In: *Cellular signalling* 25 (11), S. 2185–2197. DOI: 10.1016/j.cellsig.2013.06.013.
- 95) Yan, Ci Hui; Lv, Mengguo; Li, Hui; Song, Xinmiao; Yan, Fan; Cao, Shui; Ren, Xiubao (2015): Osteopontin is a novel prognostic biomarker in early-stage non-small cell lung cancer after surgical resection. In: *Journal of cancer research and clinical oncology* 141 (8), S. 1371–1378. DOI: 10.1007/s00432-014-1902-1.
- 96) Yan, Xiaoxiang; Sano, Motoaki; Lu, Lin; Wang, Wei; Zhang, Qi; Zhang, Ruiyan et al. (2010): Plasma concentrations of osteopontin, but not thrombin-cleaved osteopontin, are associated with the presence and severity of nephropathy and coronary artery disease in patients with type 2 diabetes mellitus. In: *Cardiovascular diabetology* 9, S. 70. DOI: 10.1186/1475-2840-9-70.
- 97) Yonchuk, John G.; Silverman, Edwin K.; Bowler, Russell P.; Agustí, Alvar; Lomas, David A.; Miller, Bruce E. et al. (2015): Circulating soluble receptor for advanced glycation end products (sRAGE) as a biomarker of emphysema and the RAGE axis in the lung. In: *American journal of respiratory and critical care medicine* 192 (7), S. 785–792. DOI: 10.1164/rccm.201501-0137PP.
- 98) Zemans, Rachel L.; Jacobson, Sean; Keene, Jason; Kechris, Katerina; Miller, Bruce E.; Tal-Singer, Ruth; Bowler, Russell P. (2017): Multiple biomarkers predict disease severity, progression and mortality in COPD. In: *Respiratory research* 18 (1), S. 117. DOI: 10.1186/s12931-017-0597-7.

- 99) Zhang, Yonghong; Li, Shaojun; Wang, Guizuo; Han, Dong; Xie, Xinming; Wu, Yuanyuan et al. (2014): Changes of HMGB1 and sRAGE during the recovery of COPD exacerbation. In: *Journal of thoracic disease* 6 (6), S. 734–741. DOI: 10.3978/j.issn.2072-1439.2014.04.31.
- 100) Zhu, Qiquan; Luo, Xu; Zhang, Jie; Liu, Yun; Luo, Hansheng; Huang, Qin et al. (2017): Osteopontin as a Potential Therapeutic Target for Ischemic Stroke. In: *Current drug delivery* 14 (6), S. 766–772. DOI: 10.2174/1567201814666161116162148.

## **7. Danksagung**

Ich möchte mich bei Herrn Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Robert Bals für die Überlassung des Themas, alle Unterstützung in der Vorbereitung und im Entstehungsprozess der Arbeit und vor allem auch für die Motivation zur steten Fortführung bedanken, die ihren Anteil daran hatte, dass diese Promotion auch zu ihrem Abschluss gelangt ist.

Für die Einführung in und die Betreuung der Laborarbeit danke ich Herrn Dr. Christian Herr und allen anderen dortigen Mitarbeitern, die stets ein offenes Ohr für Anliegen jeder Art hatten. Ganz besonders Frau Victoria Weinhold gebührt großer Dank für ihre Unterstützung!

Frau Johanna Classen und Frau Leyla Mohammad danke ich für die gute Zusammenarbeit und den Austausch, der durch die Ähnlichkeit der Thematik in den Arbeiten möglich und sehr hilfreich war.

Auch möchte ich mich bei allen bedanken, die in vielfältiger Weise an der praktischen und theoretischen Basis der Arbeit beteiligt waren. Angefangen bei der COSYCONET Study Group und den unter 3.1. genannten Förderern der Studie, über alle Mitarbeiter in der Erhebung und Erstellung von Daten(bänken) bis zum Management der Biobank in Homburg - durch sie wurde der Rahmen für diese Promotion geschaffen.

Dem Institut für Medizinische Biometrie, Epidemiologie und Medizinische Informatik (IMBEI) des Universitätsklinikums des Saarlandes unter der Leitung von Herrn Univ.-Prof. Dr. Stefan Wagenpfeil gilt ebenfalls mein Dank für die Ausgabe des Statistikprogramms SPSS und ihre Offenheit für alle Fragen. Frau Dipl.-Stat. Gudrun Wagenpfeil möchte ich gesondert für ihre Beratung danken.

Zuletzt, in Hinweis auf die Widmung dieser Arbeit, ist der größte Dank meinen Eltern auszusprechen, die mir meinen gesamten Werdegang überhaupt erst ermöglicht, mir die Zeit zum Abschluss der Arbeit geschenkt und die mich immer uneingeschränkt unterstützt haben.