

Aus der Medizinischen Klinik V Innenstadt
Sektion Pneumologie Innenstadt und Thorakale Onkologie
Klinik der Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. J. Behr

Pleurale und systemische Zytokinexpressionsprofile bei Patienten mit Lungenkarzinom

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

David Betz

aus

München

2021

**Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München**

Berichterstatter: Prof. Dr. Rudolf Maria Huber

Mitberichterstatter: PD Dr. med. Thomas Duell, M.P.H
apl. Prof. Dr. med. Dominik Rüttinger

Betreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: PD Dr. Amanda Tufman

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Tag der mündlichen Prüfung: 25.03.2021

Gewidmet meiner Familie und meiner Freundin

Inhaltsverzeichnis

I.	Abkürzungsverzeichnis	III
II.	Abbildungsverzeichnis	V
III.	Tabellenverzeichnis	VII
1	Einleitung	1
1.1	Epidemiologie und Ätiologie des Lungenkarzinoms	1
1.2	Histologische Klassifikation	2
1.3	Pleuraerguss	4
1.4	Diagnostik und Prognose	5
1.5	Problematik der Diagnostik und Früherkennung	8
1.6	Therapie	10
2	Immunologische Grundlagen	13
2.1	Einführung	13
2.2	Untersuchte Zytokine	14
3	Zielsetzung	19
4	Material und Methoden	20
4.1	Patienten	20
4.2	Material	20
4.3	Methoden	21
4.3.1	Allgemein	21
4.3.2	Zytokine	22
4.4	Statistik	31
5	Ergebnisse	33
5.1	Histologie	33
5.2	Altersverteilung	34

5.3	Klassifizierung Pleuraerguss.....	34
5.4	Laborparameter	35
5.4.1	Wertlagen der Zytokine	35
5.4.2	Korrelation mit systemischer Inflammation	51
5.4.3	Differenzierung des Pleurapunktats	59
5.4.4	Differenzierung der Kontrollgruppe.....	60
6	Diskussion	61
6.1	Zytokine	61
6.2	Differenzierung des Pleuraergusses	74
6.3	Methodische Schwierigkeiten.....	74
7	Zusammenfassung.....	76
8	Literaturverzeichnis	78
9	Danksagung.....	98
10	Curriculum Vitae..... Fehler! Textmarke nicht definiert.	

I. Abkürzungsverzeichnis

AKT *Protein Kinase B*

BAL *Bronchoalveoläre Lavage*

BCL2 *B-cell lymphoma 2*

COPD *Chronic obstructive pulmonary disease*

CRP *C-reaktives Protein*

CT *Computertomographie*

CXCL5 *c-x-c motif chemokine 5*

CXCR *c-x-c chemokine receptor*

dl *Deziliter*

EBUS *Endobronchialer Ultraschall*

EGF-R *Epidermal Growth Factor - Receptor*

ELISA *Enzyme Linked Immunosorbent Assay*

ERK *Extracellular-signal Regulated Kinase*

ERK 1/2 *Extracellular signal-regulated kinases 1 and 2*

G *Giga*

GH *Growth hormone*

IGF-1 *Insulin-like growth factor - 1*

IGFBP-3 *Insulin-like growth factor-binding protein 3*

IL *Interleukin*

ILK *Integrin linked kinase*

l *Liter*

LACE *Lung Adjuvant Cisplatin Evaluation*

LDH *Lactatdehydrogenase*

MAPK *Mitogen-activated protein kinase*

mg *Milligramm*

ml *Milliliter*

MMP-9 *Matrix Metalloproteinase 9*

mRNA *Messenger Ribonukleinsäure*

ng *Nanogramm*

NSCLC *Non Small Cell Lung Cancer*

PD-1-Inhibitor *Programmed death - 1- Inhibitor*

PET *Positronen-Emissions-Tomographie*

pg *Pikogramm*

PIK3 *Phosphoinositid-3-Kinasen*

rRNA *Ribosomale Ribonukleinsäure*

SCLC *Small Cell Lung Cancer*

STAT3 *Signal transducer and activator of transcription 3*

TFF3 *Trefoil factor 3*

TGF- β *Transforming growth factor - β*

VEGF *Vascular Endothelial Growth Factor*

II. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 Voraussichtliche Inzidenz und Mortalität der zehn führenden Krebsarten in den USA, 2017 (Siegel et al. 2017).....	1
Abbildung 2 Algorithmus zum diagnostischen Vorgehen bei nichtkleinzelligem Lungenkarzinom (Tumorzentrum München und Huber 2017)	6
Abbildung 3 Häufigkeit der klinischen Symptome und Zeichen (Ost et al. 2013).....	8
Abbildung 4 Altersverteilung des Patientenkollektivs.....	34
Abbildung 5 A) CXCL5 Konzentration im Pleuraerguss; B) CXCL5 Konzentration im Serum; C) CXCL5 Konzentrationen bei Patienten mit Lungenkarzinom im Vergleich der Kompartimente; D) CXCL5 Konzentrationen bei Patienten der Kontrollgruppe im Vergleich der Kompartimente	36
Abbildung 6 A) TFF3 Konzentration im Pleuraerguss; B) TFF3 Konzentration im Serum; C) TFF3 Konzentrationen bei Patienten mit Lungenkarzinom im Vergleich der Kompartimente; D) TFF3 Konzentrationen bei Patienten der Kontrollgruppe im Vergleich der Kompartimente	37
Abbildung 7 A) MMP-9 Konzentration im Pleuraerguss; B) MMP-9 Konzentration im Serum; C) MMP-9 Konzentrationen bei Patienten mit Lungenkarzinom im Vergleich der Kompartimente; D) MMP-9 Konzentrationen bei Patienten der Kontrollgruppe im Vergleich der Kompartimente	38
Abbildung 8 A) Angiogenin Konzentration im Pleuraerguss; B) Angiogenin Konzentration im Serum; C) Angiogenin Konzentrationen bei Patienten mit Lungenkarzinom im Vergleich der Kompartimente; D) Angiogenin Konzentrationen bei Patienten der Kontrollgruppe im Vergleich der Kompartimente	40
Abbildung 9 A) VEGF Konzentration im Pleuraerguss; B) VEGF Konzentration im Serum; C) VEGF Konzentrationen bei Patienten mit Lungenkarzinom im Vergleich der Kompartimente; D) VEGF Konzentrationen bei Patienten der Kontrollgruppe im Vergleich der Kompartimente	41
Abbildung 10 A) IGF-1 Konzentration im Pleuraerguss; B) IGF-2 Konzentration im Serum; C) IGF-1 Konzentrationen bei Patienten mit Lungenkarzinom im	

Vergleich der Kompartimente; D) IGF-1 Konzentrationen bei Patienten der Kontrollgruppe im Vergleich der Kompartimente.....	42
Abbildung 11 A) IGFBP-3 Konzentration im Pleuraerguss; B) IGFBP-3 Konzentration im Serum; C) IGFBP-3 Konzentrationen bei Patienten mit Lungenkarzinom im Vergleich der Kompartimente; D) IGFBP-3 Konzentrationen bei Patienten der Kontrollgruppe im Vergleich der Kompartimente.....	43
Abbildung 12 A) IL-6 Konzentration im Pleuraerguss; B) IL-6 Konzentration im Serum; C) IL-6 Konzentrationen bei Patienten mit Lungenkarzinom im Vergleich der Kompartimente; D) IL-6 Konzentrationen bei Patienten der Kontrollgruppe im Vergleich der Kompartimente.....	45
Abbildung 13 A) IL-8 Konzentration im Pleuraerguss; B) IL-8 Konzentration im Serum; C) IL-8 Konzentrationen bei Patienten mit Lungenkarzinom im Vergleich der Kompartimente; D) IL-8 Konzentrationen bei Patienten der Kontrollgruppe im Vergleich der Kompartimente.....	46
Abbildung 14 A) TGF- β 1 Konzentration im Pleuraerguss; B) TGF- β 1 Konzentration im Serum; C) TGF- β 1 Konzentrationen bei Patienten mit Lungenkarzinom im Vergleich der Kompartimente; D) TGF- β 1 Konzentrationen bei Patienten der Kontrollgruppe im Vergleich der Kompartimente.....	47
Abbildung 15 A) TGF- β 2 Konzentration im Pleuraerguss; B) TGF- β 2 Konzentration im Serum; C) TGF- β 2 Konzentrationen bei Patienten mit Lungenkarzinom im Vergleich der Kompartimente; D) TGF- β 2 Konzentrationen bei Patienten der Kontrollgruppe im Vergleich der Kompartimente.....	49
Abbildung 16 A) IL-22 Konzentration im Pleuraerguss; B) IL-22 Konzentration im Serum; C) IL-22 Konzentrationen bei Patienten mit Lungenkarzinom im Vergleich der Kompartimente; D) IL-22 Konzentrationen bei Patienten der Kontrollgruppe im Vergleich der Kompartimente.....	50

III. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 Histologische Klassifikation des Lungenkarzinoms (LAUREN G. COLLINS et al. 2007)	2
Tabelle 2 Verteilung der histologischen Tumordifferenzierung	33
Tabelle 3 Korrelation von CXCL5 mit systemischer Inflammation	52
Tabelle 4 Korrelation von TFF3 mit systemischer Inflammation	52
Tabelle 5 Korrelation von MMP-9 mit systemischer Inflammation	53
Tabelle 6 Korrelation von Angiogenin mit systemischer Inflammation	54
Tabelle 7 Korrelation von VEGF mit systemischer Inflammation	54
Tabelle 8 Korrelation von IGF-1 mit systemischer Inflammation	55
Tabelle 9 Korrelation von IGFBP-3 mit systemischer Inflammation	56
Tabelle 10 Korrelation von IL-6 mit systemischer Inflammation	56
Tabelle 11 Korrelation von IL-8 mit systemischer Inflammation	57
Tabelle 12 Korrelation von TGF- β 1 mit systemischer Inflammation	58
Tabelle 13 Korrelation von TGF- β 2 mit systemischer Inflammation	58
Tabelle 14 Korrelation von IL-22 mit systemischer Inflammation	59
Tabelle 15 Ergussdifferenzierung des Patientenkollektivs	59
Tabelle 16 Differenzierung der Kontrollgruppe	60

1 Einleitung

1.1 Epidemiologie und Ätiologie des Lungenkarzinoms

Die Diagnose „Lungenkarzinom“ ist weiterhin für alle betroffenen Patienten ein Schock und zeigt auch im 21. Jahrhundert noch eine hohe Prävalenz und Inzidenz. Das Lungenkarzinom steht noch immer auf Platz vier der diagnostizierten Krebserkrankungen in Deutschland, sowie auf Platz zwei in den USA (Ng et al. 2014; Jemal et al. 2011; Siegel et al. 2015, 2017; Zentrum für Krebsregisterdaten - RKI 2017). In Deutschland war das Lungenkarzinom auch im Jahr 2016 noch bei beiden Geschlechtern mit 45.776 Todesfällen die tödlichste Karzinomform, was 19,8% aller Krebstoden entspricht. In den USA entspricht die Mortalität von Lungenkrebs sogar 26% aller Krebstoden. Die 5-Jahres-Überlebensrate beträgt insgesamt 17%, bei Patienten mit einer Erkrankung im fortgeschrittenem Stadium sogar nur 4% (Siegel et al. 2014; Statistisches Bundesamt (Destatis) 2017).

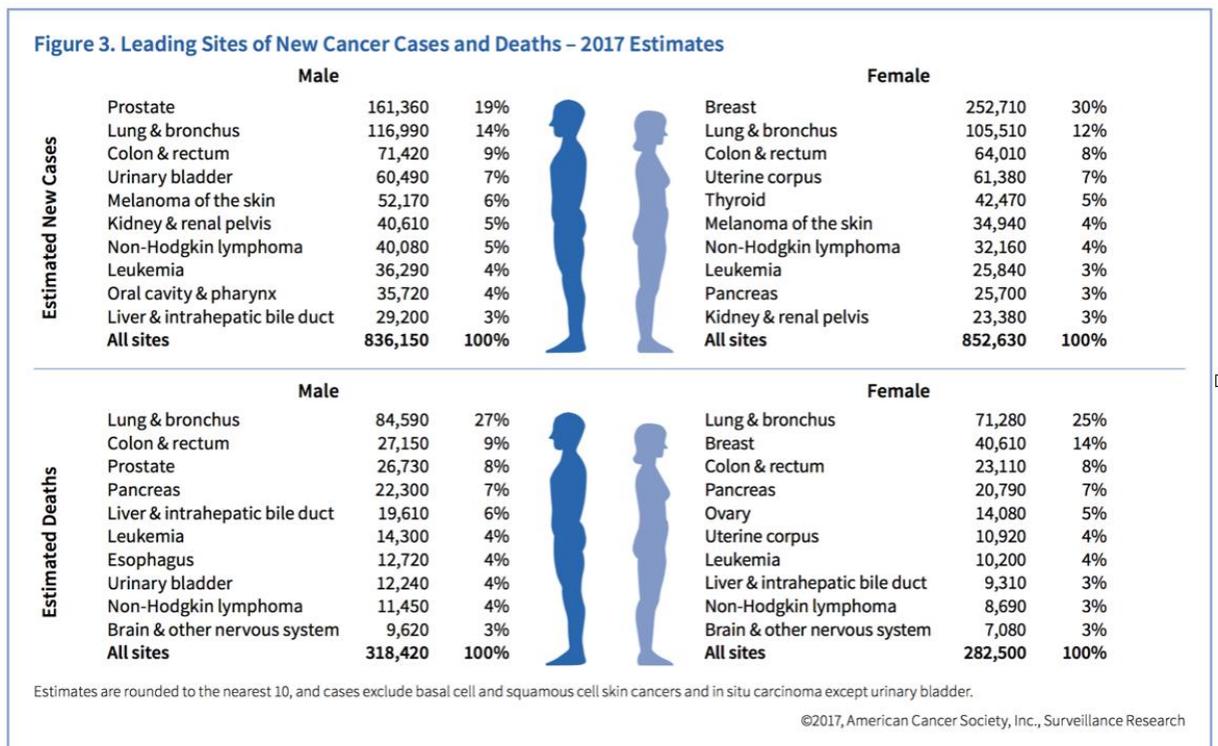


Abbildung 1 Voraussichtliche Inzidenz und Mortalität der zehn führenden Krebsarten in den USA, 2017 (Siegel et al. 2017)

Als Hauptrisikofaktor gilt auch weiterhin das aktive Zigarettenrauchen. Bei Männern sind 90% und bei Frauen 60% einer Erkrankung mit Lungenkarzinom auf das Zigarettenrauchen zurückzuführen (RKI und GEKID 2012). Als weitere Risikofaktoren gelten unter anderem Passivrauchen, Umwelteinflüsse wie eine erhöhte Radonkonzentration und berufliche Exposition gegenüber Asbest und Arsen (Office on Smoking and Health 2006; Schmid et al. 2010; Popp et al. 2003).

1.2 Histologische Klassifikation

Es gibt eine Vielzahl von verschiedenen histologischen Typen des Lungenkarzinoms, wobei nun im Folgenden nur auf die häufigsten eingegangen wird.

Histologische Klassifikation	Prozentualer Anteil [%]
Nicht-kleinzelliges Lungenkarzinom	75%
<ul style="list-style-type: none"> • Adenokarzinom • Plattenepithelkarzinom • Grosszelliges Karzinom 	<p>40%</p> <p>25%</p> <p>10%</p>
Kleinzelliges Lungenkarzinom	20%
Andere	5%

Tabelle 1 Histologische Klassifikation des Lungenkarzinoms (LAUREN G. COLLINS et al. 2007)

Adenokarzinom:

Das Adenokarzinom ist die häufigste Form des Lungenkarzinoms bei Nichtrauchern. Es ist durch Schleimbildung oder drüsig/azinäres Wachstum, bei einer Tumorverdopplungszeit von 180 Tagen, gekennzeichnet. Lokalisiert ist es zumeist in den peripheren Regionen der Lunge, mit oftmals unmittelbarer Nähe zur Pleura (Herold 2014). In der molekularen Charakterisierung des Lungenkarzinoms, vor allem des Adenokarzinoms, konnten sogenannte Targets gefunden werden, welche unabhängig von äusseren Stimuli und dauerhaft Signalkaskaden in der Zelle aktivieren können. Diese Signalkaskaden können zum Beispiel Angiogenese, Zellproliferation und Zellmigration fördern. Beispielsweise kann eine Punktmutation oder Deletion im Epidermal-Growth

Factor-Receptor-(EGFR) Gen kann zu einer Aktivierung führen und zeigt in Mitteleuropa eine Häufigkeit von 10% in einer unselektierten Patientengruppe (Pao et al. 2004; Gahr et al. 2013; Länger et al. 2016).

Plattenepithelkarzinom:

Nach dem Adenokarzinom ist das Plattenepithelkarzinom die zweithäufigste Tumorform und am stärksten mit dem Faktor des Zigarettenrauchens assoziiert. Der Tumor zeigt bei meist zentraler Lage oft starkes invasives Wachstum in benachbarte Strukturen des Lungenparenchyms, angrenzender Lymphknoten oder des Bronchialgewebes. Des Weiteren zeigen sich oft Koagulationsnekrosen und Kavernenbildung. Die Tumorverdopplungszeit beträgt ca. 300 Tage (Herold 2014; Schirmacher 2015)

Grosszelliges Karzinom:

Das Grosszellige Karzinom ist eine Ausschlussdiagnose, welche nur anhand eines kompletten chirurgischen Resektats gestellt werden kann. Histologisch vermutet man eine Entdifferenzierung aus Adeno- oder Plattenepithelkarzinom. Das klinische Bild des Großzelligen Karzinoms erscheint sehr unspezifisch und zeigt neben einer ubiquitären Lage in der gesamten Lunge auch einen Zusammenhang mit der Höhe des Zigarettenkonsums (Muscat et al. 1997; Travis et al. 2015; Rajdev et al. 2018).

Großzellig neuroendokrines Karzinom:

Seit 2015 wird das Großzellig neuroendokrine Karzinom nicht mehr als Subgruppe des Großzelligen Karzinoms geführt, sondern gehört der eigenen Gruppe der Neuroendokrinen Tumoren an. Histologisch erscheint es als hochgradig differenzierter Tumor, dessen Zellen seinen Ursprung im Neuroendokrinen System haben und ähnlich wie das kleinzellige Karzinom eine schlechte 5-Jahres Überlebensprognose hat. Es ist für circa 3% aller Lungenkarzinomformen verantwortlich und erscheint vor allem bei einem männlichen, älteren und rauchenden Patientenkollektiv (Travis et al. 2015; Fasano et al. 2015; Hiroshima und Mino-Kenudson 2017)

Kleinzelliges Lungenkarzinom:

Mit der schlechtesten Prognose assoziiert, zeigt das kleinzellige Lungenkarzinom, bei meist zentraler Lage, eine kurze Tumorverdopplungszeit von 10-50 Tagen. Histologisch imponieren Haferkörner ähnliche Zellen, welche oftmals auch Hormone sezernieren bzw. zu paraneoplastischen Endokrinopathien führen können (Herold 2014).

1.3 Pleuraerguss

Als Pleuraerguss definiert man eine übermäßige Ansammlung von Flüssigkeit im Spalt zwischen viszeraler und parietaler Pleura. Ein benigner Pleuraerguss ist oftmals bedingt durch kardiale Leistungsminderung, Infektionen oder eine Leberzirrhose und zeigt sich meistens als Transsudat. Ein Exsudat zeigt sich oft als Symptom bei Tumorerkrankungen, Tuberkulose, Lungenembolie oder im Rahmen eines parapneumonischen Ergusses (Held-Warmkessel und Schiech 2008; Medford 2005; Herold 2014).

Viele Tumorerkrankungen (z.B. Lungen-, Brust-, Ovarialkrebs & Mesotheliom) zeigen als Symptom meist exsudative Pleuraergüsse (Roberts et al. 2010; Held-Warmkessel und Schiech 2008). Beim malignen Pleuraerguss müssen definitionsgemäß maligne Zellen im Pleurapunktat zu finden sein oder eine direkte Biopsie mit Tumoranteilen vorliegen. Es besteht jedoch keine hundertprozentige Sensitivität, da auch bei zugrunde liegender maligner Erkrankung ein Pleuraerguss vorhanden sein kann, dieser aber keine maligne Zellen zeigen muss, auch nicht durch einen Tumorbefall der Pleura, sondern durch ein Abflussproblem oder eine Infektion verursacht sein kann und somit definitionsgemäß nicht als maligner Erguss gewertet wird (Heffner und Klein 2008). Bis zu 40 % aller Patienten mit Lungenkarzinom zeigen im Verlauf ihrer Krankheit, als Begleitsymptom oder post-mortem in der Autopsie, Pleuraergüsse. Allein in den USA tritt der maligne Pleuraerguss mit einer Inzidenz von 150.000 pro Jahr auf (Haas et al. 2007). Als Ursache der malignen Pleuraergüsse wird eine lymphatische Obstruktion vermutet (Held-Warmkessel und Schiech 2008).

Ein Großteil dieser Ergüsse muss aufgrund der klinischen Symptomatik der Patienten, vor allem Dyspnoe, behandelt werden. Als therapeutische Optionen

stehen neben der ursächlichen Behandlung eines Pleuraergusses, wie z.B. die Chemotherapie bei Tumorerkrankung und Therapieoptimierung bei gleichzeitig vorliegender Herzinsuffizienz, auch Pleurapunktionen, eine Pleurodese oder die Anlage einer Thoraxdrainage zu Verfügung (Muduly et al. 2011).

Das Adenokarzinom verursacht als häufigste Form des Lungenkarzinoms häufig einen Pleuraerguss, wohingegen das kleinzellige Lungenkarzinom am seltensten maligne Ergüsse als Symptom zeigt (Johnston 1985; Porcel et al. 2015).

Unterschiedliche Zytokinexpressionen in einzelnen Kompartimenten des menschlichen Organismus sind schon bei anderen Karzinomformen als relevant eingestuft worden. So zeigten sich bei Patienten mit Ovarial Karzinom zwischen Aszites- und Serumproben signifikante Unterschiede vieler gemessener Zytokine (Giuntoli et al. 2009).

Beim Lungenkarzinom gibt es indirekte Hinweise, dass unterschiedliche Kompartimente des Körpers voneinander abweichende Immunreaktionen zeigen. Patienten mit einem Lungenkarzinom sprachen bei vorliegenden Lebermetastasen vergleichsweise schlecht auf eine Immuntherapie an, profitierten aber von einer Kombination mit VEGF-Inhibitoren (Tumeh et al. 2017). Die 2015 gestartete IMpower-150-Studie untersuchte anhand von drei Studienarmen die Wirksamkeit einer Therapie mit einer Vierfach Kombination aus Carboplatin-Paclitaxel, Bevacizumab und Atezolizumab im Vergleich zu einer 3-fach Kombination mit Carboplatin-Paclitaxel mit Atezolizumab (Ig-G Antikörper gegen PD-L1) oder Bevacizumab (Ig-G Antikörper zur Angiogenesehemmung) bei Patienten mit Lungenkarzinom. Patienten mit Lebermetastasen zeigten unter einer Therapie mit der Vierfachkombination sowohl ein deutlich verlängertes Gesamtüberleben (13,2 Monate vs.9,1 Monate), als auch eine um 46 % verringerte Sterblichkeitsrate verglichen mit einer Dreifachkombination von Chemotherapie mit Bevacizumab (Socinski et al. 2018).

1.4 Diagnostik und Prognose

Bei vorliegendem Verdacht durch passende klinische Symptomatik oder radiologische Auffälligkeiten auf eine maligne Raumforderung der Lunge, sollte eine möglichst rasche Diagnostik erfolgen. Für eine gute prognostische

Aussagefähigkeit und das weitere therapeutische Vorgehen ist beim Lungenkarzinom die Bestimmung des histologischen Typs, ggf. einschließlich einer molekulargenetischen Diagnostik und der Tumorausdehnung von größter Bedeutung. (Ost et al. 2013)

Nachfolgend sind die diagnostischen Schritte anhand einer Grafik des Tumorzentrums München dargestellt und es werden die wichtigsten diagnostischen Schritte kurz vorgestellt.

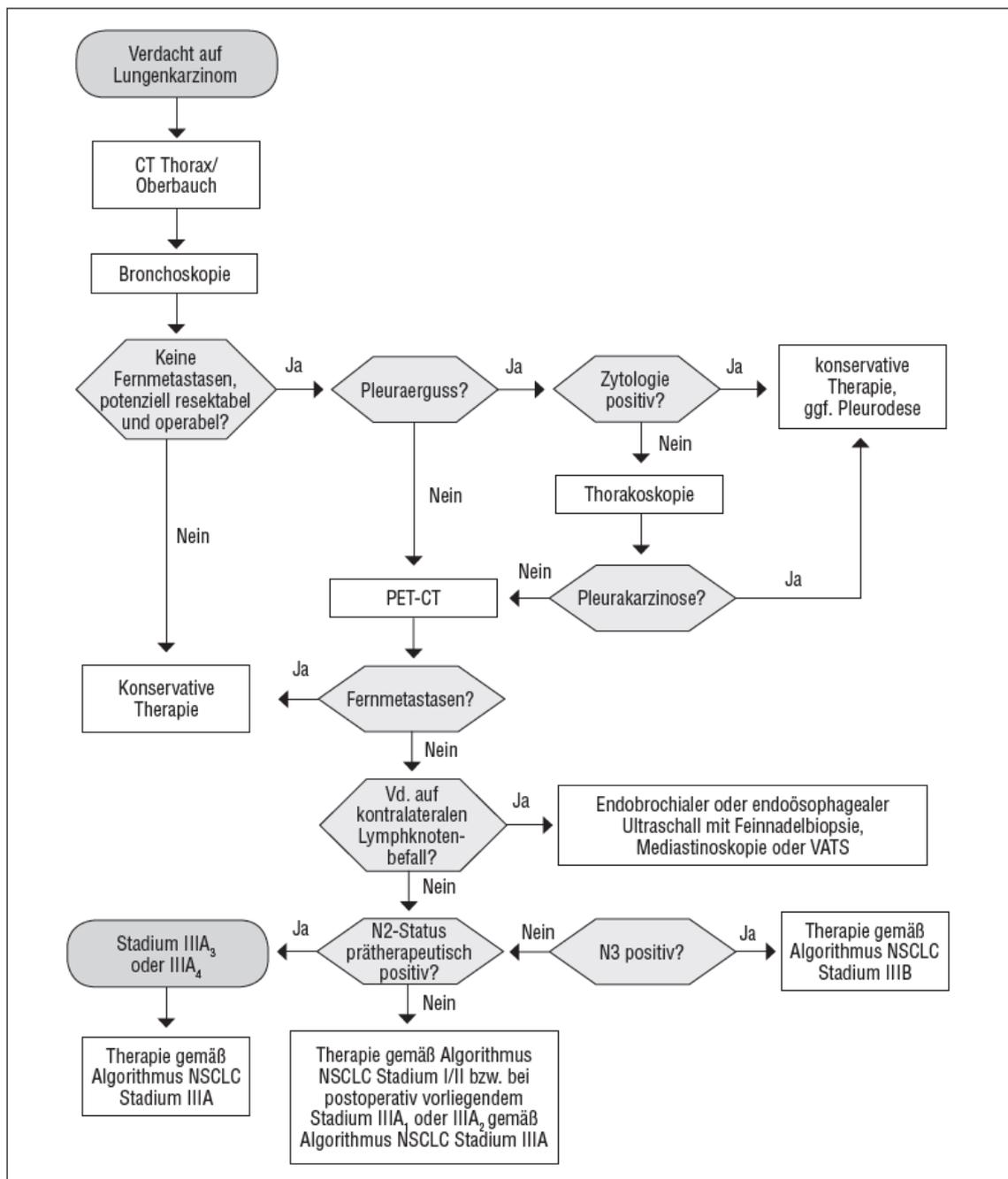


Abbildung 2 Algorithmus zum diagnostischen Vorgehen bei nichtkleinzelligem Lungenkarzinom (Tumorzentrum München und Huber 2017)

Verdacht Lungenkarzinom

Neben dem Zufallsbefund einer Röntgen-Thorax Aufnahme führen oftmals die klinischen Symptome und typische Anamnese eines Patienten zum Verdacht des Lungenkarzinoms. Wie zum Teil im vorhergegangenen Abschnitt schon erwähnt sollte nach Tabakkonsum, Expositionen gegenüber Schadstoffen, genetischer Belastung, Vorerkrankungen wie COPD und den klinischen Symptomen gefragt werden.

Radiologische Diagnostik

Die Röntgen-Thorax Untersuchung gehört aufgrund geringer logistischer und finanzieller Belastung und geringer Strahlendosis, trotz relativ niedriger Sensitivität, auch heutzutage noch immer zu den Standardaufnahmen bei Verdacht auf Lungenkarzinom (Hoop et al. 2010).

Das Verfahren der Wahl zur radiologischen Diagnose einer Raumforderung und zum radiologischen Staging des Tumors ist die CT-Untersuchung. Dort können Lage, Größe, Ausdehnung und der weitere räumliche Bezug, sowie möglicher Lymphknoten Befall dargestellt werden. Am besten führt man diese mit der Positronen-Emissions-Topografie zusammen als PET/CT durch. Die PET/CT Untersuchung kombiniert die gute anatomische Auflösung der CT-Untersuchung mit der Möglichkeit der bildlichen Darstellung des erhöhten Stoffwechsels von Tumorzellen (HICKS et al. 2007; Zhang et al. 2013).

Histologischer Nachweis

Als wichtigste Methode zur histologischen oder zytologischen Diagnosesicherung des Tumors, steht die Bronchoskopie mit invasiver Probenentnahme zur Verfügung. Die Sputumzytologie stellt zwar die am geringsten invasive Methode zum Nachweis eines Lungenkarzinoms dar, jedoch ist die Sensitivität gering und abhängig von der Zahl gewonnener Proben sowie der anatomischen Lage des Tumors. Kann durch oben genannte Schritte keine sichere histologische/zytologische Sicherung erfolgen, so folgt entweder eine weitere Bronchoskopie unter Zuhilfenahme unterstützender diagnostischer Instrumente, wie der EBUS-Bronchoskopie oder eine Probengewinnung über andere invasive Maßnahmen, wie einer transthorakalen Nadelbiopsie, Mediastinoskopie oder Thorakoskopie. (Goeckenjan et al. 2010)

1.5 Problematik der Diagnostik und Früherkennung

Ein Grund für die hohe Mortalität ist der meist fortgeschrittene Zustand der Erkrankung, da das Lungenkarzinom erst in einem späten Stadium erste unspezifische klinische Symptome zeigt und oftmals ein Zufallsbefund in einem bildgebenden Verfahren ist (Howlader N et al. 2015). Zum Zeitpunkt der Diagnosestellung befanden sich in einer Studie bereits 57 % der Patienten in einem fortgeschrittenem Stadium der Erkrankung (Siegel et al. 2015). Um diesem Zustand entgegenwirken zu können, bräuchte es die Möglichkeit eines breiten, möglichst nicht invasiven, frühzeitigen Screenings. Der Mangel an eben diesem, ist ein Problem des Lungenkarzinoms. Weder das Screening mit Proben der Sputum-Zytologie, noch mit dem Röntgen Thorax, zeigen eine Reduktion der Mortalität bei Patienten mit Lungenkarzinom (Manser et al.- 2013).

Symptoms and Signs	Frequency, %
Cough	8-75
Weight loss	0-68
Dyspnea	3-60
Chest pain	20-49
Hemoptysis	6-35
Bone pain	6-25
Clubbing	0-20
Fever	0-20
Weakness	0-10
SVC obstruction	0-4
Dysphagia	0-2
Wheezing and stridor	0-2

Abbildung 3 Häufigkeit der klinischen Symptome und Zeichen (Ost et al. 2013)

Studien mit Niedrig-Dosis-CT-Untersuchungen zeigen eine mögliche Detektion des Lungenkarzinoms im Frühstadium, sowie eine erhöhte Effizienz und verlängertes Überleben der gescreenten Patienten (Swensen SJ et al. 2003) (Nawa T et al. 2002). Die mögliche Effektivität des CT-Screenings zeigte eine weitere Studie, welche bei Entdeckung des Karzinoms im Stadium I, mit

anschließender Operation, eine 10-Jahres-Überlebensrate von 92 % darstellte (95% Konfidenzintervall) (Henschke CI et al. 2006). Die 2011 in den USA veröffentlichten Daten des NLST verglichen an einem Patientenkollektiv von über 50.000 Patienten aus einem Hoch-Risiko-Kollektiv, den möglichen Vorteil eines Screenings für das Lungenkarzinom mithilfe der Niedrig-Dosis-CT-Untersuchung gegenüber der konventionellen Röntgen-Thorax Untersuchung. Es zeigte sich eine signifikante relative Reduktion der Mortalität um 20 % in der Gruppe der Patienten, die sich der Niedrig-Dosis-CT-Untersuchung unterzogen hatten, gegenüber den mit Röntgen-Thorax gescreenten Patienten (National Lung Screening Trial Research Team 2011). Die NLST Daten können durch die 2018 vorgestellte NELSON Studie belegt werden, welche in einem Hoch-Risiko-Patienten-Kollektiv für das Lungenkarzinom eine Reduktion der Lungenkarzinom assoziierten Mortalität durch Niedrig-Dosis-CT-Untersuchungen bei Männern um 26 %, sowie bei Frauen um 39 %, zeigen konnte. Hierfür wurden die asymptomatischen Patienten randomisiert über einen Zeitraum von mindestens 10 Jahren entweder einem Screening durch multile Niedrig-CT-Untersuchungen oder einer Kontrollgruppe ohne Screening zugeordnet (Koning et al. 2018). Dem CT-Screening stehen aber noch viele offene Fragen gegenüber, wie die hohe Anzahl an falsch-positiven Diagnosen, hohe Kosten durch Einzel- und Follow-Up Untersuchungen, vermeidbare Strahlenbelastung und weitere Studien, die die Vorteile des Screenings teilweise nur für ein Hochrisiko-Patienten Kollektiv sehen (Brenner 2004; Patz et al. 2014; McMahon et al. 2011; Gutierrez et al. 2013).

Bei positivem Röntgen-, Sputum-, oder CT-Befund, erfolgt zumeist trotzdem ein invasiver diagnostischer Schritt, da wie zuvor schon beschrieben, nur durch eine histologische Biopsie oder positive Zytologie eine Tumor-Typ Bestimmung möglich ist, welche essentiell für das jeweils anschließende Therapieschema ist (William D. Travis et al. 2011).

Differenzierung Pleuraerguss

Obwohl der Ursprung für einen malignen Pleuraerguss am häufigsten im Vorliegen eines Lungenkarzinoms liegt, können auch weitere onkologische Diagnosen, wie Brust-, Magen- oder auch Ovarialkarzinom zu einem malignen

Erguss führen (Neragi-Miandoab 2006). Die Sensitivität der zytologischen Untersuchung des malignen Pleuraergusses liegt ca. bei 60%, bei einer Streuung von 40-87% (Light 2013). Dennoch stellen sich auch 50% der Pleuraergüsse bei nachgewiesener maligner Diagnose als benigne dar (Heffner und Klein 2008). Eine zuverlässige Diagnose bezüglich des Ursprungs und der Malignität des Pleuraergusses ist durch die alleinige zytologische Untersuchung aktuell noch nicht immer möglich. In der klinischen Praxis fehlt noch ein diagnostischer Biomarker, der eine genauere Differenzierung des Ergusses zulässt.

1.6 Therapie

Operation

Die operative Therapie findet ihre Anwendung vor allem bei Tumoren, die sich in einem frühen und lokalen Stadium, meist Stadium I und II, befinden. Eine totale Lobektomie ist bei ausreichender Lungenfunktion aktuell noch das Verfahren der Wahl. Die Lungenfunktion, gemessen an der FEV₁, wird durch eine Segmentektomie signifikant geringer reduziert als durch eine Lobektomie. Nach zwei Monaten zeigte sich eine Differenz der initialen FEV₁ von 3-10 % und nach 12 Monaten eine Differenz von 4–7 % (Charloux und Quoix 2017). In einer 2018 veröffentlichten Studie zeigte sich hingegen für Tumore im Stadium I kein signifikanter Vorteil der Lobektomie gegenüber einer Segmentektomie oder einer VATS bezüglich des 5 Jahres-Krankheitsfreien-Intervalls ($p=0.76$) und der 5-Jahres-Überlebensrate ($p=0.223$) (Ha et al. 2018). Eine zusätzliche Chemotherapie oder Radiotherapie ist oft nötig und sorgt für ein verbessertes Überleben der Patienten (Vansteenkiste et al. 2014; Arriagada et al. 2004; Goeckenjan et al. 2010).

Strahlentherapie

Die Strahlentherapie spielt in der Behandlung des Lungenkarzinoms eine tragende Rolle und wird als Kombinationspartner in der Radiochemotherapie eingesetzt. Sowohl in einer kurativen Situation mit direkter Tumorbestrahlung, als auch zur Symptombekämpfung in palliativen Situationen, zeigt die Bestrahlung gute Ergebnisse. Zu vermeiden ist eine zu große Einschränkung der Patienten in ihrer Lebensqualität oder Belastungsfähigkeit, welche durch die

Nebenwirkungen, wie einer Pneumonitis entstehen können (Goeckenjan et al. 2010; Haslett et al. 2014).

Chemotherapie

Als adjuvante Therapie kommt die Chemotherapie bei Patienten mit Lungenkarzinom in einem frühen Stadium zum Tragen. In der LACE Studie bewirkt eine adjuvante Chemotherapie einen Anstieg der 5-Jahresrate von 5,4% und einen Abfall der Krebsbedingten Mortalität um 6,9%, im Vergleich zu einem Patientenkollektiv, das keine adjuvante Chemotherapie erhielt. Die Nebenwirkungen der Chemotherapie könnten der Grund für den Anstieg um 1,4% der nichtkarzinom bedingten Todesfälle sein und lässt die Frage, welche Patienten von einer adjuvanten Chemotherapie wirklich profitieren, weiterhin offen (Pignon et al. 2008). Ähnliche Ergebnisse liefern aktuell neoadjuvante Ansätze.

Das Lungenkarzinom im Stadium IV, ist zum heutigen Stand der Medizin zwar behandelbar, aber nicht heilbar. Patienten im Stadium IV werden im Zuge einer palliativen Behandlung meist einer Kombinationstherapie auf Grundlage von Carbo- oder Cisplatin unterzogen (Novello et al. 2016; Masters et al. 2015). Als Erweiterung der Standard-Chemotherapie-Schemata, nutzt man einzelne Mutationen des zugrundeliegenden Tumors. So profitieren Patienten im Stadium IV mit einer EGFR-Mutation vom Einsatz des Tyrosinkinase Inhibitors Afatinib als Erstlinientherapie, mit einer signifikanten Verlängerung des progressionsfreien Überlebens (11,1 Monate vs. 6,9 Monate; $p=0,001$) (Sequist et al. 2013).

Neue Therapieansatzmöglichkeiten

Die fehlende kurative Wirkung und das breite Spektrum der Nebenwirkungen der vorhandenen Chemotherapeutika veranlassen dazu, neue Ansatzpunkte in der Therapie des Lungenkarzinoms zu erforschen. Ein mittlerweile in anderen Krebsarten schon vielfach erfolgreich umgesetzter Ansatzpunkt, ist der Einsatz spezifischer monoklonaler Antikörper, insbesondere Immun-Checkpoint-Inhibitoren.

So zeigen sich auch in der Therapie des Lungenkarzinoms langsam erste Erfolge. Der Einsatz von Nivolumab, ein monoklonaler Antikörper der als PD-1-Inhibitor fungiert, konnte im Vergleich zu einer systemischen Therapie mit

Docetaxel, nach einem Follow-Up von mindestens zwei Jahren, eine verlängerte Gesamtüberlebensrate (23 vs. 8% & 29 vs. 13%), bei gleichzeitiger besserer Verträglichkeit der Therapie, zeigen. Eingeschlossen wurden Patienten, die einen Progress während oder nach einer platinbasierten Kombinationstherapie zeigten und die Diagnose eines NSCLC hatten (Horn et al. 2017).

Ein weiteres erfolgreiches Beispiel für den Fortschritt auf der Grundlage der Immuntherapie ist der Einsatz des Immun-Checkpoint-Inhibitors Pembrolizumab, welcher auch zu den PD-1 Inhibitoren gezählt wird. Eine alleinige Immunonkologische Therapie bei Patienten mit NSCLC, die eine PD-L1 Expression bei mehr als 50% der Tumorzellen und keine EGFR- oder ALK-Mutation zeigten, hat sich mittlerweile als Erstlinientherapie gegenüber einer platinbasierten Chemotherapie durchgesetzt. Eine alleinige Pembrolizumab-Therapie führte zu einem verlängerten Progressionsfreien Intervall (10,3 Monate vs. 6,0 Monate), sowie einem verlängerten Gesamtüberleben (nach 6 Monaten 80,2% vs. 72,4%) im Vergleich zu einem Schema mit platinbasierter Chemotherapie (Reck et al. 2016; Hui et al. 2017).

Auch in der Kombination der Immunonkologie mit der klassischen Chemotherapie konnten für eine Therapie mit einem Checkpointinhibitor wie z.B. Pembrolizumab Erfolge gezeigt werden. Für die Zulassungsstudie für Pembrolizumab wurden Patienten mit der Diagnose eines NSCLC, welches nicht vom Typ Plattenepithelkarzinom war und keine EGFR- oder ALK Mutation zeigte, in zwei Gruppen eingeteilt. Beide Gruppen erhielten die gleiche platinbasierte Chemotherapie und Pemetrexed, wohingegen nur eine der beiden Gruppen mit zusätzlich 200 mg Pembrolizumab therapiert wurde und die andere Gruppe ein Placebo erhielt. Im direkten Vergleich stellte sich für die Gruppe, welche zusätzlich Pembrolizumab erhielt, ein deutlich verlängertes progressionsfreies Intervall von 8,8 Monaten im Vergleich zu 4,9 Monaten bei der Placebogruppe heraus. Auch beim Gesamtüberleben nach 12 Monaten ergab sich ein statistisch signifikanter Vorteil für die mit Pembrolizumab therapierte Gruppe (69,2% vs. 49,4%). Die Ergebnisse der Studie stellten sich als unabhängig vom PD-L1 Status der Tumorzellen dar (Gandhi et al. 2018).

2 Immunologische Grundlagen

2.1 Einführung

Die Aufgabe des Immunsystems ist es unter anderem fremde und defekte Zellen zu erkennen und auszuschalten. Tumorzellen können sich mit verschiedenen Mechanismen, wie zum Beispiel durch Antigenverlust, dem Erkennen und Abbau durch das Immunsystem entziehen und sich somit trotz intaktem Immunsystem weiter ausbreiten (Balkwill et al. 2012; Beatty und Gladney 2015).

Sowohl das Wachstum und die Differenzierung als auch die Metastasierung des Tumors, ist eng verknüpft mit der Interaktion der einzelnen Tumorzellen und dem Immunsystem des Körpers. Neben einer direkten zellvermittelten Interaktion der Tumorzellen, wie zum Beispiel einer Induktion der Apoptose und Dysfunktion von CD8+-Zellen, scheint auch das direkte Tumormilieu, welches durch Zytokine und Interleukine beeinflusst wird, ein wichtiger Faktor für das Überleben und Differenzieren der Tumorzellen zu sein (Whiteside 2010; Pandolfi et al. 2011; Whiteside 2002).

Eine weitere Beeinflussung der Tumorzellen und des Tumormilieus scheint durch chronische und akute Infektionszustände zustande zu kommen. Schon Virchow entdeckte im Jahre 1863 einen Zusammenhang zwischen kanzerogenen Läsionen und dem Einfall von Leukozyten. Heutzutage vermutet man, dass 25% der malignen Erkrankungen auf eine chronische oder akute bakterielle oder virale Infektion zurückgehen (Hussain und Harris 2007; Rudolf Virchow 1863)

Als lösliche Glykoproteine spielen Zytokine eine zentrale Rolle bei der Regulation von Immunantworten sowie bei interzellulären Signalübermittlungen (Holländer 2006). Sie können von Immunzellen und anderen Zellen, wie Epithelzellen, Makrophagen oder Endothelzellen gebildet werden. Ihre Wirkung üben sie autokrin, parakrin oder endokrin, nach Bindung an zelloberflächenständige Rezeptoren aus und können zum Beispiel als Wachstumshormone das Wachstum verschiedener Zellen aktivieren und deaktivieren (Miksitis und Hahn 2004; Roitt et al. 1995). In ihrer Funktion als Botenstoffe arbeiten sie in einem Netzwerk aus mehreren Beteiligten und interagieren mit anderen Faktoren, wie z.B. anderen Zytokinen oder Chemokinen (Schütt und Bröker 2011).

Im Weiteren folgt eine kurze Übersicht der Zytokine, die in der vorliegenden Arbeit untersucht wurden. Um ein möglichst breites Feld des immunologischen Milieus der Tumorzellen abdecken und gleichzeitig spezifische Fragestellungen beantworten zu können, erstellten wir Kategorien, anhand derer eine Auswahl der Zytokine durch vorangegangene Studienergebnisse und Literaturrecherche möglich wurde.

Es stellten sich folgenden vier Kategorien als erfolgsversprechend heraus:

1. Proinflammatorisch

CXCL-5

TFF-3

IL-6

IL-8

2. Pro-Angiogenetisch

MMP-9

Angiogenin

VEGF

TGF- β 1

TGF- β 2

3. IGF-Achse

IGF-1

IGFBP-3

4. Auf Vorarbeiten der Arbeitsgruppe basierend

IL-22

2.2 Untersuchte Zytokine

CXCL5

CXCL5 ist als Protein Teil der Familie der Chemokine und maßgeblich am Prozess der Inflammation, insbesondere als Trigger zur Einwanderung Neutrophiler Granulozyten ins Zielgewebe, beteiligt (Jeyaseelan et al. 2004). Als produzierende Zellen werden Thrombozyten und innerhalb der Lunge insbesondere Alveolar-Epithel-Zellen vom Typ 2 angesehen (Koltsova und Ley 2010; Jeyaseelan et al. 2005). Über die Aktivierung der AKT und MAPK

Signalkaskaden ist es CXCL5 möglich Tumorproliferation, Invasion und Wachstum zu fördern (Kongju et al. 2017).

TFF3

TFF3 ist Teil der Trefoil Factor Family, welche eine Gruppe kleiner Peptide ist, die vor allem im sekretorischen Milieu von Muzin produzierenden Zellen, vor allem intestinal, sezerniert wird und dem Erhalt und Aufbau der Schleimhaut dient. Die Entfaltung der protektiven Wirkung erfolgt über den EGF-R und PIK3-Akt Signalweg (Kjellev 2008; Tomasetto 2001). Eine signifikante Akkumulation findet sich auch im muzinösen unteren Respirationstrakt, der durch die Koproduktion von TFF3 und anderer Muzine in den dort ansässigen Becherzellen bedingt ist (WIEDE et al. 1999). Zusammen mit VEGF potenziert TFF3 die proinvasive Aktivität über STAT3 beim Colonkarzinom (Rivat C et al. 2005).

MMP-9

MMP-9 besitzt die Fähigkeit, als Zink abhängige Endopeptidase Kollagen 4 und Laminin 5 abzubauen, welche essentielle Strukturen der Extrazellulärmatrix sind. Metastasierende Tumorzellen nutzen diese Fähigkeit, um die Basalmembran leichter zu durchdringen und sich den notwendigen Platz zur Proliferation zu schaffen. In einem in-vivo Model bei Mäusen konnte in Zellen des Pankreaskarzinoms ein Angiogenese induzierender Effekt durch eine VEGF Erhöhung beobachtet werden (Deepak et al. 2006; Hanahan et al. 2000). Eine Sekretion findet durch eine weite Anzahl an Zellen, wie Makrophagen, Neutrophilen Granulozyten und Fibroblasten statt (Yabluchanskiy et al. 2013).

Angiogenin

Angiogenin besitzt die Möglichkeit durch die Bindung an Typ α -Actin die Basalmembran und Extrazellulärmatrix zu zerstören und bietet darausfolgend Endothelzellen die Möglichkeit der Penetration und Migration. Erhöhte Zellproliferation und verstärkte Angiogenese werden zum einen durch eine Aktivierung diverser Zellsignalwege, wie zum Beispiel ERK 1/2 und zum anderen durch eine verstärkte rRNA Transkription wichtiger Enzyme bewirkt (Gao und Xu 2008). Eine wichtige Funktion ist die Inhibition von p53, wodurch Angiogenin antiapoptotisch wirkt und das Zellüberleben fördert. Unter einem Angiogenininhibitor konnte die Tumorprogression, sowie vereinzelt auch das

Tumorwachstum von Zellen des Oralkarzinoms durch Angiogenese Inhibition gestoppt werden (Sadagopan et al. 2012; KOJI KISHIMOTO et al. 2014).

VEGF

VEGF wirkt als potenter angiogenetischer Faktor, der von diversen Zellen (z.B. einige Tumorzellen, Makrophagen, Endothelzellen, Mesangiumzellen und weiteren) sezerniert wird und bei einer Vielzahl an soliden Tumoren erhöht ist. Auch eine BCL2 Upregulation und Verhinderung der Apoptose bei Mammakarzinom konnte beobachtet werden (Madame Curie Bioscience Database 2000-2013). Über die Bindung an Tyrosinkinase Rezeptoren erfolgt eine Aktivierung diverser Signaltransduktionswege, die zu einer erhöhten Proliferation, verlängertem Überleben, erhöhter Permeabilität und vermehrter Migration der Zellen führt (Hoeben 2004).

IGF-1

IGF-1 ist Teil der „IGF-Achse“, entwickelt seine Wirkung zum Teil parakrin über seinen eigenen Rezeptor (IGF-1R), aber auch endokrin und wird hauptsächlich in der Leber produziert. Auch eine lokale Produktion ist möglich und besonders in der Lunge sind bronchiale Epithelzellen als Produktionsort detektiert worden (Merimee und Zvi Laron 2006; Lann und LeRoith 2008; Zhang et al. 1999). Als Mediator des GH und Tyrosinkinaseaktivator über IGF1-R, beeinflusst IGF-1 zahlreiche Signalwege (MAPK/Ras-Raf-Erk; PI3K/AKT etc.) und hat darüber hinaus Einfluss auf Entwicklung und Wachstum der Zelle (Arnaldez und Helman 2012).

IGFBP-3

IGFBP-3 bindet als Mitglied der „IGF-Achse“ 75-90 Prozent des zirkulierenden IGF-1. Zusätzlich besitzt es noch IGF-1/IGFR abhängige und unabhängige Funktionen, wie zum Beispiel die Verstärkung oder Abschwächung einiger Effekte von IGF-1 und IGF-2, wie Zellproliferation und Apoptose. IGFBP-3 wird oft mit der Pathogenese eines Tumors, zum Beispiel des ösophagealen Plattenepithelkarzinoms, in Verbindung gebracht (Natsuizaka et al. 2014; Jogie-Brahim et al. 2009).

IL-6

Dem Zytokin IL-6 werden vielfältige biologische Wirkungen, wie zum Beispiel die Regulation der humoralen und zellvermittelten Immunabwehr, eine lokale Beeinflussung der Immunabwehr und Förderung des Zellwachstums diverser Krebs-Zelllinien zugeschrieben (S. und M. 1999). Als proinflammatorisches Zytokin wird es nach Fremdartigenbindung an TOLL-Rezeptoren synthetisiert und freigesetzt und wirkt sowohl als Differenzierungsfaktor für B- und T-Zellen, als auch als Aktivierungsfaktor für T-Zellen. Erhöhte IL-6 Werte bei Patienten mit Karzinom sind mit schlechterer Prognose verbunden. Die Autokrine IL-6 Produktion von Tumorzellen sorgt für eine folgende Stimulation diverser Faktoren (z.B. MMP, VEGF, STAT3), welche Tumorprogression, Metastasierung und Angiogenese fördern (Lippitz 2013; Fisher et al. 2014).

IL-8

IL-8 zählt zu den proinflammatorischen Zytokinen, welches durch seine Signalwege Einfluss auf Transkriptionsfaktorregulation, Modulation der Translation des zellulären Proteoms und die posttranslationale Regulation einiger Zellskelettproteine hat. Durch diese Effekte verstärkt IL-8 die Einwanderung Neutrophiler Granulozyten durch Chemotaxis, die Migration von Tumor und Endothelzellen, die Angiogenese von Endothelzellen, sowie das Wachstum der Tumor- und Endothelzellen. Über die Interaktion mit den G-Protein gekoppelten Rezeptoren CXCR 1+2, triggert IL-8 proangiogenetische Aktivität durch das Vorkommen von CXCR an Endothelzellen (Waugh und Wilson 2008; Brat 2005).

TGF- β 1

TGF- β 1 ist ein Protein, welches als Homodimer vorliegt und diverse Funktionen im Körper ausführt. So kann es zum Beispiel im Rahmen einer Inflammation die Makrophagenaktivierung inhibieren (Reed 1999). Desweiteren reguliert es als Inhibitor Zellproliferation und dient als Promotor für Zelldifferenzierung und Zellbewegung. Tumorzellen verlieren den antimitotischen Effekt von TGF- β 1 und besitzen die Möglichkeit TGF- β 1 selbst zu sezernieren. Durch die TGF- β 1 Sekretion entsteht ein immunsupprimiertes, proangiogenetisches Milieu, welches sie bei Tumorwachstum und Metastasierung unterstützt (Kajdaniuk et al. 2013).

TGF- β 2

Erhöhte TGF- β 2 Level führen zu vermehrter Expression von NF- κ B und damit zu einem verbesserten Überleben diverser Tumorzellen. Über den TGF- β Signalweg kann TGF- β 2 helfen, Wachstum und Proliferation zu kontrollieren und besitzt die Fähigkeit Apoptose und Wachstumsstillstand der Zellverbände zu induzieren (Lu et al. 2004; Heldin et al. 2009).

IL-22

Als Zytokin der IL-10 Superfamilie wird IL-22 von T-Zellen (TH-22/17/1), NK-Zellen, dendritischen Zellen und einigen anderen gebildet. Seine Wirkung entfaltet IL-22 vor allem über die IL-22R und IL-10 β R Rezeptoren, welche auf Epithelzellen, Hepatozyten und Zellen des Immunsystems zu finden sind, generell aber ubiquitär vorkommen (Wolk et al. 2010; Zenewicz und Flavell 2011). Über den STAT3 und ERK Signalweg entwickelt IL-22 eine gewebeprotective Wirkung durch Anti-apoptotische und proliferative Eigenschaften (Mühl et al. 2013). Die IL-22-Produktion in der Lunge wird vor allem durch Alveolarmakrophagen und dendritische Zellen reguliert (McAleer und Kolls 2014).

3 Zielsetzung

Das Lungenkarzinom ist auch heutzutage noch eine der häufigsten Tumorerkrankungen weltweit, welche bei bisher mangelnder Frühdiagnostik oft erst in einem fortgeschrittenen Stadium entdeckt wird und somit eine schlechte 5-Jahres-Überlebensrate zeigt.

Das Ziel der Arbeit war die Quantifizierung einzelner Zytokine (CXCL5, TFF3, MMP-9, Angiogenin, VEGF, IGF-1, IGFBP-3, IL-6, IL-8, TGF- β 1, TGF- β 2, IL-22) in Pleuraerguss und Serum von Patienten mit Lungenkarzinom im Vergleich zu Patienten ohne Lungenkarzinom. Davon erwarteten wir die Möglichkeit, den Zusammenhang zwischen den einzelnen Zytokinen und der Tumorzelle näher definieren zu können. Von einem Vergleich der beiden Kompartimente, Serum und Pleuraerguss, erhofften wir uns, Rückschlüsse auf die sekretorische Quelle und die prognostische Bedeutung der einzelnen Zytokine ziehen zu können.

Eine Korrelation von Parametern systemischer Inflammation mit den lokal erhobenen Zytokinspiegeln soll sich damit beschäftigen, ob die Zytokinspiegel vor Ort als Abbild systemischer Inflammation gesehen werden können oder auch durch lokale Biomechanismen getriggert sein können.

Die Studie könnte somit zum einen Hinweise für einen neuen Biomarker geben und zum anderen zum Verständnis der Immunologie des Tumormilieus beitragen.

4 Material und Methoden

4.1 Patienten

Patientengut

Das Patientenkollektiv besteht aus 30 Patienten, die zwischen November 2014 und März 2016 im Klinikum der Ludwig-Maximilians-Universität München - Campus Innenstadt behandelt worden sind. Einschlusskriterien waren ein vorliegender Pleuraerguss mit notwendiger Punktion oder Anlage einer Drainage, sowie das Einverständnis der Patienten. Alle Pleurapunktionen waren klinisch indiziert und wurden unabhängig von der Studie als Routineeingriff mit diagnostischer und/oder therapeutischer Zielsetzung durchgeführt. Die durchgeführte Studie wurde von der Ethikkommission der Universität München als ethisch und rechtlich unbedenklich anerkannt.

4.2 Material

Die Serumproben wurden mit Einverständniserklärung der Patienten mit einer peripheren Venenpunktionskanüle entnommen, über 15 Minuten mit 1500 Umdrehungen/Minute zentrifugiert und das Plasma anschließend auf 1ml pipettiert und bei -23 Grad eingefroren. Entnommen wurden zwischen 10 und 15ml Serum, wofür zwei 7,5ml Serum-Gel-Röhrchen der Firma Sarstedt verwendet worden sind.

Die Proben des Pleuraergusses wurden mit Einverständniserklärung der Patienten entweder direkt zum Zeitpunkt der Pleurapunktion gewonnen oder vereinzelt aus liegender Thoraxdrainage entnommen. Falls die Proben direkt aus einer liegenden Thoraxdrainage entnommen wurden, wurde darauf geachtet, keinen Überstand der Flüssigkeit aus dem System zu entnehmen. Dies wurde gewährleistet, indem eine, an das jeweilige System angepasste Menge, vor Probenabnahme abgenommen und verworfen wurde. Die Proben des Ergusses wurden zu je 8-mal 1ml pipettiert und auch bei -23 Grad eingefroren.

Da die Studie als Orientierungsstudie durchgeführt wurde und kein Aufbau einer Biobank angedacht war, wurden keine weiteren Werte, ausser den in der Studie vorgestellten, aus den Serum- und Pleuraergussproben bestimmt.

4.3 Methoden

4.3.1 Allgemein

Alle Zytokinkonzentrationen wurden mittels Sandwich-ELISA in den Proben bestimmt. Ein Sandwich-ELISA dient zum Nachweis bestimmter Antigene in Flüssigkeiten, im hier vorliegenden Fall von Pleuraflüssigkeit und Serum der Patienten.

Die Mikrotiterplatte, welche als Trägersubstanz dient, ist mit einem Antikörper gegen das gesuchte Antigen beschichtet. Nach Zugabe der Probe bindet das Antigen, soweit vorhanden, an den Antikörper. Zur Bestimmung der Menge der gebundenen Antigene wird ein zweiter Antikörper hinzugefügt, der in entsprechender Menge an das schon gebundene Antigen bindet („Sandwich“). An diesen sekundären Antikörper ist ein Enzym gekoppelt, welches in der Lage ist, einen hinzugefügten Farbstoff photometrisch zu spalten. Diese Enzymaktivität kann photometrisch erfasst werden und ist proportional zur gebundenen Menge des Zielantigens.

Zur Vergleichbarkeit der Antigenkonzentration und der beobachteten Farbreaktion, wird für jeden ELISA eine Standardverdünnungsreihe erstellt. Diese Standardverdünnungsreihe gibt die Eichkurve vor, welche zur Korrelation von Farbreaktion und Antigenkonzentration dient.

Vor Zugabe des zweiten Antikörpers und der Farblösung wird die Platte in mehrmaligen Waschgängen ausgewaschen, um ungebundene Bestandteile zu entfernen und somit falsch positive Ergebnisse zu vermeiden. Zur Herstellung der Waschlösung wurden 20 ml der Wasch-Puffer-Konzentration mit 480 ml destilliertem Wasser zu insgesamt 500 ml Waschlösung gemischt.

Alle Proben und Standardkonzentrationen wurden doppelt bestimmt. Zu Beginn jeder Messung wurden alle Reagenzien, Standardverdünnungen und Proben, wie im jeweiligen Produkt angewiesen, vorbereitet.

Wasch Prozedur:

Im ersten Schritt entfernte man jegliche Restflüssigkeit aus der Platte, indem man diese über einem Waschbecken ausleerte. Um auch kleinste Flüssigkeitsreste mit zu entfernen, wurde die Platte über einem Papiertuch 5-mal ausgeklopft. Im nächsten Schritt füllte man jede Vertiefung (= „Well“) mit 400 µl der

Standardwaschlösung. Um die Platte von der Waschlösung zu entfernen, wurde die Platte erneut ausgeleert und ausgeklopft. Für jeden Waschgang wurden oben genannte Schritte nach Vorgabe wiederholt.

Bis auf die Bestimmung der IL-22 Konzentrationen wurden alle Prozeduren in dem zur Medizinischen Klinik V zugehörigen Labor durchgeführt und dokumentiert. Die Durchführung der IL-22 ELISA-Tests erfolgte aufgrund notwendiger erweiterter technischer Voraussetzungen durch geschätzte Kollegen der Klinischen Pharmakologie des Klinikum der Ludwig-Maximilians-Universität München.

4.3.2 Zytokine

CXCL5/ENA78

Die Bestimmung der CXCL5/ENA78 Werte erfolgte mit dem Human CXCL5/ENA-78 Quantikine ELISA Kit DX000 der Firma R&D Systems (R&D Systems, Minneapolis, Minnesota, USA).

1. Jede Well wurde mit 200 µl des Verdünnungspuffers RD1W und darauffolgend noch mit je 50 µl der Standardverdünnungsreihe der Serum- oder der Pleuraflüssigkeitproben befüllt. Unter Verschluss wurde die Platte 2 Stunden bei Raumtemperatur inkubiert.
2. Mit je 400 µl der Waschlösung folgten nun pro Well 3 Waschungen und darauffolgendem Hinzufügen von 200 µl des „CXCL5/ENA-78Conjugat“. Die Platte inkubierte nach beendeter Waschung wie in 1) beschrieben für weitere zwei Stunden.
3. Nach Abschluss der Inkubation wurden die Well wie in 2) beschrieben erneut gewaschen und mit 200 µl der Farblösung gefüllt. Bei Raumtemperatur inkubierte die Platte für 30 Minuten unter Lichtausschluss. Die farblose Lösung wechselte in einen Blauton.
4. Ein Farbumschlag von blau auf gelb konnte nach Hinzugabe von 50 µl der Stopplösung beobachtet werden.
5. Innerhalb von 30 Minuten erfolgte das Auslesen der Platte bei einer Wellenlänge von 450nm in einem geeignetem ELISA-Platten-Leser.

TFF-3

Die Bestimmung der TFF-3 Werte erfolgte mit dem Human TFF3 Immunoassay Quantikine ELISA Kit DTFF30 der Firma R&D Systems (R&D Systems, Minneapolis, Minnesota, USA).

1. Jede Well wurde zuerst mit 100 µl des Verdünnungspuffers RD1-68 befüllt. Anschliessend wurden noch je 50 µl der Standardverdünnungsreihe, der Serum- oder der Pleuraflüssigkeitproben einzeln hinzugegeben und dann auf einem Mikroplatten Rundschüttler (500 ± 50 rpm) für zwei Stunden bei Raumtemperatur unter Verschluss inkubiert.
2. Mit je 400 µl der Waschlösung folgten nun vier Waschungen pro Well und darauffolgendem Hinzufügen von 200 µl des „TFF3Conjugat“. Die Platte inkubierte daraufhin wieder wie in 1) beschrieben für zwei Stunden.
3. Nach erneuter Waschung wie in 2) wurden 200 µl der Farblösung hinzugefügt und die Proben für 30 Minuten bei Raumtemperatur auf ebener Fläche ohne Lichtzufuhr inkubiert. Die farblose Lösung wechselte in einen Blauton.
4. Ein Farbumschlag von blau auf gelb konnte nach Hinzugabe von 50 µl der Stoplösung beobachtet werden.
5. Das Auslesen der Platte erfolgte innerhalb von 30 min bei einer Wellenlänge von 450 nm in einem geeignetem ELISA-Platten-Leser.

MMP-9

Die Bestimmung der MMP-9 Werte erfolgte mit dem Human MMP-9 Quantikine ELISA Kit DMP900 der Firma R&D Systems (R&D Systems, Minneapolis, Minnesota, USA).

1. Jede Well wurde mit 100 µl des Verdünnungspuffers RD1-34 und je 100 µl der Standardverdünnungsreihen und Proben befüllt. Die Platte wurde verschlossen und inkubierte für zwei Stunden bei Raumtemperatur auf einem horizontalen Mikroplattenschüttler (500 +/- 50 rpm).
2. Nach vier Waschgängen mit je 400 µl der Waschlösung fügte man zu jeder Well 200 µl des „Human MMP-9 Conjugate“ und liess die gesamte Platte verschlossen für eine weitere Stunde bei Raumtemperatur auf dem Mikroplattenschüttler inkubieren.

3. Nach Abschluss der Inkubation wurde jede Well erneut in vier Waschgängen ausgewaschen. Darauffolgend pipettierten wir in jede Well 200 µl der Farblösung. Unter Lichtausschluss inkubierte die Platte für 30 Minuten.
4. Ein Farbumschlag von blau zu gelb, konnte nach Hinzufügen von 50 µl der Stopplösung beobachtet werden.
5. Innerhalb von 30 min ist die Platte bei 450nm und geeignetem ELISA-Platten-Leser ausgelesen worden.

Angiogenin

Die Bestimmung der Angiogenin Werte erfolgte mit dem Human Angiogenin Immunoassay Quantikine ELISA Kit DAN00 der Firma R&D Systems (R&D Systems, Minneapolis, Minnesota, USA).

1. In jede Well wurde 50 µl des Verdünnungspuffers RD1W und 200 µl der Standardverdünnungsreihe oder der Patientenproben ein pipettiert. Das Ganze inkubierte verschlossen für eine Stunde bei Raumtemperatur.
2. Nach 3 Waschgängen mit je 400 µl Waschlösung pro Well wurden 200 µl des „Human ANG Conjugate“ hinzugefügt und das ganze wieder für eine Stunde bei Raumtemperatur inkubiert.
3. Es folgten drei weitere Waschgänge wie in 2), mit anschließendem einpipetieren von 200 µl der Farblösung. Die Platte inkubierte nun für 20 min unter Lichtausschluss. Die Lösung wechselte ihren Farbton von farblos in einen Blauton.
4. Mit Zugabe von 50 µl der Stopplösung konnte ein Farbumschlag von blau zu gelb beobachtet werden.
5. Innerhalb von 30 min ist die Platte bei 450nm und geeignetem ELISA-Platten-Leser ausgelesen worden.

VEGF

Die Bestimmung der VEGF Werte erfolgte mit dem Human VEGF Quantikine ELISA Kit DVE00 der Firma R&D Systems (R&D Systems, Minneapolis, Minnesota, USA).

1. Für die Serumproben wurde jede Well mit 100 µl des Verdünnungspuffers RD1W befüllt. Jede Well der Pleuraflüssigkeitsproben wurde mit 50 µl des Verdünnungspuffers RD1W gefüllt.
2. Die Well der Serumproben wurden mit 100 µl der Standardverdünnungsreihe oder der Serumproben befüllt. Die Well der Pleuraflüssigkeitsproben wurden mit 50 µl der Verdünnungsreihe und 50 µl der Pleuraflüssigkeitsproben befüllt. Die Platte wurde verschlossen und bei Raumtemperatur für 2 Stunden inkubiert.
3. Alle Well wurden in drei Waschdurchgängen mit je 400 µl der Waschlösung gewaschen.
4. Anschliessend wurde jeder Well 200 µl des „Human-VEGF-Conjugat“ hinzugefügt, die Platte neu verschlossen und bei Raumtemperatur für 2 Stunden inkubiert
5. Nach erneuter Waschung wie in 3) beschrieben, wurden alle Well mit 200 µl der Farblösung befüllt. Die Serum- und zugehörigen Standardproben inkubierten bei Raumtemperatur ohne Lichtzufuhr für 25 min. Die Pleuraflüssigkeits- und zugehörigen Standardproben inkubierten bei Raumtemperatur ohne Lichtzufuhr für 20 min. Bei allen Proben konnte ein Farbumschlag der Lösung von farblos auf blau beobachtet werden.
6. Bei Zugabe von 50 µl der Stoplösung konnte ein Farbumschlag von blau auf gelb beobachtet werden.
7. Innerhalb von 30 min ist die Platte bei einer Wellenlänge von 450 nm mit einem geeigneten ELISA-Platten Lesegerät abgelesen worden.

IGF-1

Die Bestimmung der IGF-1 Werte erfolgte mit dem Human IGF-1 Quantikine ELISA Kit DG100 der Firma R&D Systems (R&D Systems, Minneapolis, Minnesota, USA).

1. Jede Well wurde mit 150 µl des Verdünnungspuffers RD1-53 befüllt. Darauffolgend ist in jede Well noch 50 µl der Standardverdünnungsreihe, der Serumflüssigkeit oder der Pleuraflüssigkeit pipettiert worden. Die Platte wurde versiegelt und bei 2-8 °C für zwei Stunden inkubiert.
2. In vier Waschgängen mit je 400 µl der Waschlösung wurde jede Well nach der Inkubation gewaschen.

3. Zu jeder Well fügte man anschliessend 200 µl des kalten „IGF-1 Conjugat“ hinzu. Die Platte wurde erneut versiegelt und bei 2-8 °C für eine weitere Stunde inkubiert.
4. Wie in 2) beschrieben wurde jede Well nach abgelaufener Inkubation gewaschen
5. In jede Well wurde mit 200 µl der Farblösung befüllt und unter Raumtemperatur und Lichtausschluss für weitere 30 Minuten inkubiert. Die farblose Lösung wechselte in einen Blauton.
6. Bei Zugabe von 50 µl der Stopplösung konnte ein Farbumschlag von blau auf gelb beobachtet werden.
7. Innerhalb von 30 Minuten ist die Platte mit einem geeigneten Lesegerät bei einer Wellenlänge von 450 nm ausgelesen worden.

IGFBP-3

Die Bestimmung der IGFBP-3 Werte erfolgte mit dem Human IGFBP-3 Quantikine ELISA Kit DGB300 der Firma R&D Systems (R&D Systems, Minneapolis, Minnesota, USA).

1. In jede Well wurden 100 µl des Verdünnungspuffers RD1-62 pipetiert. Im nächsten Schritt wurden 100 µl der Standardverdünnungsreihe, der Serumproben oder der Pleuraflüssigkeit hinzugefügt und die komplette Platte verschlossen und bei 2-8 °C für zwei Stunden inkubiert.
2. Mit je 400 µl der Waschlösung wurde jede Well anschliessend in insgesamt vier Durchgängen gewaschen.
3. Im nächsten Schritt wurde jede Well mit 200 µl des kalten „IGFBP-3 Conjugat“ gefüllt, die komplette Platte mit einer neuen Folie abgedichtet und bei 2-8 °C für weitere zwei Stunden inkubiert.
4. Wie in 2) beschrieben wurde das Waschen der Well wiederholt
5. Nach Hinzufügen von 200 µl Farblösung inkubierten die Proben unter Lichtausschluss für 30 Minuten. Die Lösung wechselte ihren Farbton von farblos in einen Blauton.
6. Nach Zugabe von 50 µl der Stopplösung konnte ein Farbumschlag von blau auf gelb beobachtet werden.
7. Mit einem geeigneten Lesegerät ist die Platte bei einer Wellenlänge von 450 nm ausgelesen worden.

IL-6

IL-6 Serum

Die Bestimmung der IL-6 Serum Werte erfolgte mit dem Human IL-6 Quantikine ELISA Kit HS600B der Firma R&D Systems (R&D Systems, Minneapolis, Minnesota, USA).

1. Jede Well wurde mit 100 µl des Verdünnungspuffers RD1-75 und 100 µl der Standardverdünnungsreihe oder Serumproben befüllt. Mit der beigefügten Folie wurde die Platte abgedichtet und bei Raumtemperatur für 2 Stunden auf einem horizontalen Mikroplatten Rundschüttler (500 ± 50 rpm) inkubiert.
2. In sechs Waschgänge mit je 400 µl der Waschlösung wurde jede Well unter Standardbedingungen nach der Inkubation gründlich ausgewaschen.
3. In jede Well wurden nun 200 µl des „Human IL-6 HS Conjugat“ gefüllt und die Platte erneut verschlossen. Bei Raumtemperatur inkubierte die Platte für 2 Stunden auf dem Rundschüttler.
4. Im nächsten Schritt wurde die Waschung wie in 2) wiederholt.
5. Nach erfolgter Waschung fügte man 50 µl der Farblösung hinzu und inkubierte die verschlossene Platte auf ebener Fläche bei Raumtemperatur für 60 Minuten.
6. Ohne weitere Waschung wurden in jede Well 50 µl der mitgelieferten Verstärkungslösung pipettiert, die Platte erneut verschlossen und auf ebener Fläche für 30 Minuten inkubiert. Nach erfolgter Inkubationszeit konnte der Farbumschlag in einen Rotton beobachtet werden.
7. 50 µl der Stoplösung wurden jeder Well hinzugefügt.
8. Innerhalb von 30 Minuten ist die Platte mit einem geeigneten ELISA-Platten Lesegerät bei einer Wellenlänge von 490 nm ausgelesen worden.

IL-6 Pleuraerguss

Die Bestimmung der IL-6 Pleuraflüssigkeitswerte erfolgte mit dem Human IL-6 Quantikine ELISA Kit D6050 der Firma R&D Systems (R&D Systems, Minneapolis, Minnesota, USA).

1. Jede Well wurde mit 100 µl des Verdünnungspuffers RD1W und mit 100 µl der Standardverdünnungsreihe oder Pleuraflüssigkeitsproben befüllt und verschlossen bei Raumtemperatur für 2 Stunden inkubiert.
2. Unter Standardbedingungen wurde jede Well mit 400 µl der Waschlösung in einer Gesamtzahl von 4 vier Waschungen gewaschen.
3. Nach Hinzufügen von je 200 µl des „Human IL-6 Conjugat“ wurde die Platte wieder mit einer beigefügten Folie abgedeckt und bei Raumtemperatur für weitere zwei Stunden inkubiert.
4. Eine Waschung wurde wie unter 2) wiederholt
5. Anschliessend fügte man 200 µl der Farblösung hinzu und inkubierte die verschlossene Platte für 30 Minuten unter Lichtausschluss bei Raumtemperatur. Ein Farbumschlag von farblos auf blau konnte beobachtet werden.
6. Nach Hinzugabe von 50 µl der Stopplösung konnte ein Farbumschlag von blau auf gelb beobachtet werden.
7. Mit einem geeigneten Lesegerät wurde die Platte innerhalb von 30 Minuten bei einer Wellenlänge von 450 nm ausgelesen.

IL-8

IL-8 Serum

Die Bestimmung der IL-8 Serumwerte erfolgte mit dem Human CXCL8/IL-8 Quantikine ELISA Kit HS800 der Firma R&D Systems (R&D Systems, Minneapolis, Minnesota, USA).

1. Jede Well wurde mit 100 µl des Verdünnungspuffers RD1-85 und 100 µl der Standardverdünnungsreihen oder Serumproben befüllt. Mit der zugehörigen Folie wurde die Platte luftdicht verschlossen und bei Raumtemperatur für zwei Stunden inkubiert.
2. Jede Well wurde in 6 Waschgängen mit 400 µl der Waschlösung unter Standardbedingungen gewaschen.
3. In jede Well wurden anschliessend 200 µl des „Human IL-8 HS Conjugat“ gegeben, die Platte erneut luftdicht verschlossen und für eine Stunde bei Raumtemperatur inkubiert.
4. Wie unter 2) beschrieben wiederholte sich die Waschung.

5. Nach erfolgter Waschung fügte man 50 µl der Farblösung hinzu und ließ die Platte luftdicht verschlossen, unter Lichtausschluss, bei Raumtemperatur für eine Stunde inkubieren. Es folgte keine Waschung.
6. In jede Well wurden 50 µl der zugehörigen Verstärkungslösung pipettiert, die Platte erneut verschlossen und bei Raumtemperatur für weitere 30 Minuten inkubiert. Ein Farbumschlag in einen Rotton konnte beobachtet werden.
7. Abschliessend wurden noch 50 µl der Stopplösung jeder Well hinzugefügt.
8. Innerhalb von 30 Minuten wurde die Platte mit einem geeigneten Lesegerät bei einer Wellenlänge von 450 nm ausgelesen.

IL-8 Pleuraerguss

Die Bestimmung der IL-8 Pleuraflüssigkeitswerte erfolgte mit dem Human CXCL8/IL-8 Quantikine ELISA Kit D8000C der Firma R&D Systems (R&D Systems, Minneapolis, Minnesota, USA)

1. Als ersten Schritt wurden 100 µl des Verdünnungspuffers RD1—85 in jede Well pipettiert. Darauffolgend wurde zu jeder Well noch 50 µl der Standardverdünnungsreihe oder der Pleuraflüssigkeitsproben beigefügt und die Platte luftdicht für zwei Stunden bei Raumtemperatur inkubiert.
2. Nach dem vorgegebenen Standard wurde jede Well in vier Waschgängen mit 400 µl der Waschlösung gewaschen
3. Nach Hinzugabe von 100 µl des „Human IL-8 Conjugat“ in jede Well, wurde die Platte erneut verschlossen und bei Raumtemperatur für eine Stunde inkubiert.
4. Eine Waschung wurde wie in 2) beschrieben wiederholt.
5. Nach Hinzufügen von 200 µl der Farblösung inkubierte die Platte unter Lichtausschluss für weitere 30 Minuten. Ein Farbwechsel der Flüssigkeit von farblos in einen Blauton erfolgte.
6. Nach Gabe von 50 µl der Stopplösung in jede Well, konnte ein Farbumschlag von blau auf gelb beobachtet werden.
7. Innerhalb von 30 Minuten konnte die Platte mit einem geeigneten Lesegerät bei einer Wellenlänge von 450 nm ausgelesen werden.

TGF-β1

Die Bestimmung der TGF-β1 Werte erfolgte mit dem Human TGF-β1 Quantikine ELISA Kit DB100B der Firma R&D Systems (R&D Systems, Minneapolis, Minnesota, USA).

1. Zu Beginn wurde jede Well mit 50 µl des Verdünnungspuffers RD1-21 für alle Proben der Pleuraflüssigkeiten und mit 50 µl des Verdünnungspuffers RD1-73 für alle Serumproben befüllt.
2. Darauffolgend wurde jeder Well 50 µl der zugehörigen Standardverdünnungsreihe, Serumproben oder Pleuraflüssigkeit hinzugefügt. Nach vorsichtigem Durchmischen deckte man die Platte ab und ließ sie für zwei Stunden bei Raumtemperatur inkubieren.
3. Jede Well wurde nach Protokoll mit 400 µl der Waschlösung in vier Durchgängen gewaschen.
4. Zu jeder Well fügte man 100 µl des „Human TGF- β1 Conjugat“ hinzu, deckte die Platte wieder ab und ließ sie erneut für zwei Stunden bei Raumtemperatur inkubieren
5. Die Waschung wurde wie in 3) beschrieben wiederholt.
6. Nach Hinzufügen von 100 µl der Farblösung inkubierte die Platte bei Raumtemperatur, unter Lichtausschluss für weitere 30 Minuten. Die Lösung wechselte ihren Farbton von farblos in einen Blauton.
7. Nachdem zu jeder Well 100 µl der Stopplösung hinzugefügt wurde, konnte nach vorsichtigem Durmischen ein Farbumschlag von blau auf gelb beobachtet werden.
8. Innerhalb von 30 Minuten wurde die Platte mit einem geeigneten Lesegerät bei einer Wellenlänge von 450 nm ausgelesen.

TGF-β2

Die Bestimmung der TGF- β2 Werte erfolgte mit dem Human TGF-β2 Quantikine ELISA Kit DB250 der Firma R&D Systems (R&D Systems, Minneapolis, Minnesota, USA).

1. Jede Well wurde im ersten Schritt mit 100 µl des Verdünnungspuffers befüllt. Im nächsten Schritt ist in jede Well 100 µl der Standardverdünnungsreihe, der Serumprobe oder der

- Pleuraflüssigkeitsproben pipettiert worden. Die Platte wurde Vakuum versiegelt und bei Raumtemperatur zwei Stunden inkubiert.
2. Unter Standardbedingungen wurde jede Well mit 400 µl der Waschlösung in einer Gesamtzahl von drei Durchgängen gewaschen.
 3. Im nächsten Schritt folgte das Hinzufügen von 200 µl des „Human TGF-β1 Conjugat“ zu jeder Well. Anschliessend inkubierte die Platte vakuumversiegelt für weitere zwei Stunden unter Raumtemperatur.
 4. Erneute Waschung wie in 2) beschrieben.
 5. Nach Hinzugabe von 200 µl der Farblösung inkubierte die Platte für 20 Minuten unter Lichtausschluss. Ein Farbumschlag von farblos auf blau konnte beobachtet werden.
 6. Ein Farbumschlag von blau auf gelb konnte nach Hinzugabe von 50 µl der Stoplösung beobachtet werden.
 7. Mit einem geeigneten Lesegerät konnte die Platte innerhalb von 30 Minuten bei einer Wellenlänge von 450 nm ausgelesen werden.

IL-22

Alle Werte wurden nach Standardprotokoll des durchführenden Labors der Abteilung der Klinischen Pharmakologie (Prof. S. Endres und Dr. S. Kobold) des Klinikum der Ludwig-Maximilians-Universität München bestimmt.

4.4 Statistik

Vergleich zweier Gruppen

Aufgrund der breiten Streuung der Ergebnisse wurden die vergleichenden Analysen zweier Gruppen mithilfe des „Mann-Whitney-U-Tests“ durchgeführt. Die Werte wurden als zweiseitiger Test ausgewertet und ein Signifikanzniveau mit dem p-Wert kleiner als 0,05 als statistisch signifikant festgesetzt.

Korrelation mit systemischer Inflammation

Zur Analyse der Korrelation von Parametern der systemischen Inflammation mit den lokal im Pleuraerguss vorherrschenden Zytokinspiegeln wurde der Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman verwendet. Als statistisch signifikant wurde auch hier ein p-Wert kleiner als 0,05 festgesetzt.

Differenzierung des Pleuraergusses

Als Maß für die Stärke des Zusammenhangs der beiden Merkmale wurde sowohl der Phi-Koeffizient bestimmt als auch der Chi-Quadrat-Vierfeldertest durchgeführt. Als dichotome Merkmale wurden die beiden Entscheidungen Lungenkarzinom Ja/Nein und Exsudat Ja/Nein in einer Vierfelder Tafel gegenübergestellt.

Zur Datenverarbeitung und Berechnung der mathematischen Größen wurde das Programm R (V. 3.4.3, The R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria) verwendet.

5 Ergebnisse

Wir untersuchten Serum- und Pleuraergussproben von 30 Patienten und verglichen die Werte der Patienten mit Lungenkarzinom mit denjenigen der Kontrollgruppe. Auch das lokale tumornahe Milieu wurde mit tumorfernen Zytokinspiegeln verglichen.

Eine Korrelation systemischer Inflammation mit Serumwerten wurde anhand der Zellreihen der Leukozyten und Lymphozyten und der Höhe der CRP-Spiegel erhoben. Es wurde die Zytokinkonzentration im lokalen Kompartiment des Pleuraergusses mit oben genannten, im Serum gemessenen Parametern, verglichen. Die Gruppengröße der Patienten verringert sich bei der Untersuchung, da nicht bei allen Patienten ein Differentialblutbild mit Bestimmung der Lymphozytenzahlen vorlag.

5.1 Histologie

Unter den 30 Personen befanden sich 19 Patienten mit diagnostiziertem Lungenkarzinom und 11 Patienten ohne der Diagnose Lungenkarzinom, welche als Kontrollgruppe dienten. Unter den 19 Patienten fanden sich 16 Patienten mit der Histologischen Diagnose Adenokarzinom, zwei Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom und ein Patient mit der Diagnose eines kleinzelligen Karzinoms.

In der Kontrollgruppe fanden sich von 11 Patienten vier mit einer anderen malignen Diagnose, sowie 7 ohne maligne Grunderkrankung.

Histologie	Anzahl der Patienten	Prozentualer Anteil [%]
Adenokarzinom	16	84
Plattenepithelkarzinom	2	11
Kleinzelliges Karzinom	1	5
Gesamt	19	100

Tabelle 2 Verteilung der histologischen Tumordifferenzierung

5.2 Altersverteilung

Die Altersverteilung des Patientenkollektivs kann der unten angefügten Abbildung 4 entnommen werden. Von den 30 Patienten waren 16 männlich und 14 weiblich. Der Altersdurchschnitt betrug $64,1 \pm 15,6$ Jahren, wobei der jüngste Patient 30 Jahre alt und die älteste Patientin 86 Jahre alt waren.

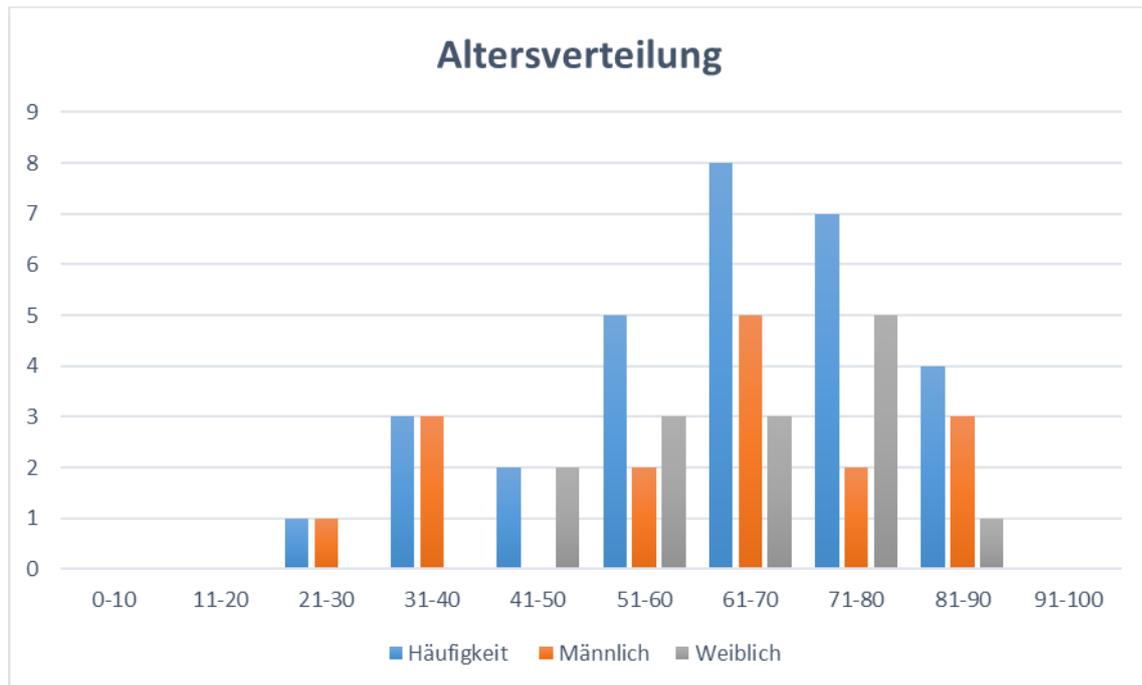


Abbildung 4 Altersverteilung des Patientenkollektivs

5.3 Klassifizierung Pleuraerguss

Für eine orientierende pathophysiologische Einteilung des Pleuraergusses in Trans- oder Exsudat, wurde retrospektiv in den einzelnen Punktionen die vorliegende LDH Konzentrationen recherchiert. Als Schnittpunkt der Unterscheidung zwischen Trans- oder Exsudat wurde eine LDH-Konzentration von größer als 200 U/L im Punktat angenommen. Proben mit LDH Werten über 200 U/L wurden als Exsudat eingestuft, wohingegen Proben mit LDH Werten unter 200 U/L als Transsudat eingestuft wurden. Bei vier Patienten (3 Lungenkarzinom; 1 Kontrollgruppe) wurde keine LDH-Bestimmung der Ergussprobe durchgeführt. Von 16 Patienten mit Lungenkarzinom zeigten 10 Patienten ein Exsudat und 6 Patienten ein Transsudat (Exsudat: 63 %, Transsudat 37 %). In der Kontrollgruppe ergaben die laborchemischen

Untersuchungen des Punktates 7 Transsudate und 3 Exsudate (Exsudat: 30%, Transsudat: 70 %).

5.4 Laborparameter

5.4.1 Wertlagen der Zytokine

CXCL5

Konzentration in Pleuraerguss und Serum

Als Untergrenze wurde für beide Gruppen 15,0 pg/ml gesetzt. Die Obergrenze für die Proben im Pleuraerguss lag bei 20000 pg/ml und in den Serumproben bei 4000 pg/ml.

Die Untersuchung der Wertlagen zeigte, dass die Konzentration von CXCL5 im Punktat von Patienten mit Lungenkarzinom höher ist, als die Konzentration im Punktat der Kontrollgruppe. Patienten mit Lungenkarzinom zeigten einen Mittelwert von 1857 pg/ml (Reichweite: 7 – 10166 pg/ml; Median: 91 pg/ml), während der Mittelwert der Kontrollgruppe bei 741 pg/ml lag (Reichweite: 17 - 5287 pg/ml; Median: 38 pg/ml). Der Unterschied war nicht signifikant (p-Wert: 0,75).

Bei der Betrachtung der CXCL Werte im Serum beider Kollektive konnte gesehen werden, dass die Kontrollgruppe einen höheren Durchschnittswert aufwies. In der Gruppe der Patienten mit Lungenkarzinom sah man einen Mittelwert von 1367 pg/ml (Reichweite: 53 – 4229 pg/ml; Median: 1183 pg/ml), in der Kontrollgruppe ergab sich ein Mittelwert von 1711 pg/ml (Reichweite: 532 – 5121 pg/ml; Median: 1185 pg/ml). Aber auch dieser Unterschied war nicht signifikant (p-Wert: 0,52).

Im Vergleich von Proben des lokalen Tumormilieus im Pleuraerguss mit den peripheren Serumproben, fielen signifikant höhere Werte im Serum der Kontrollgruppe auf (p-Wert: 0,02). Patienten mit Lungenkarzinom zeigten keine signifikanten Unterschiede (p-Wert: 0,10).

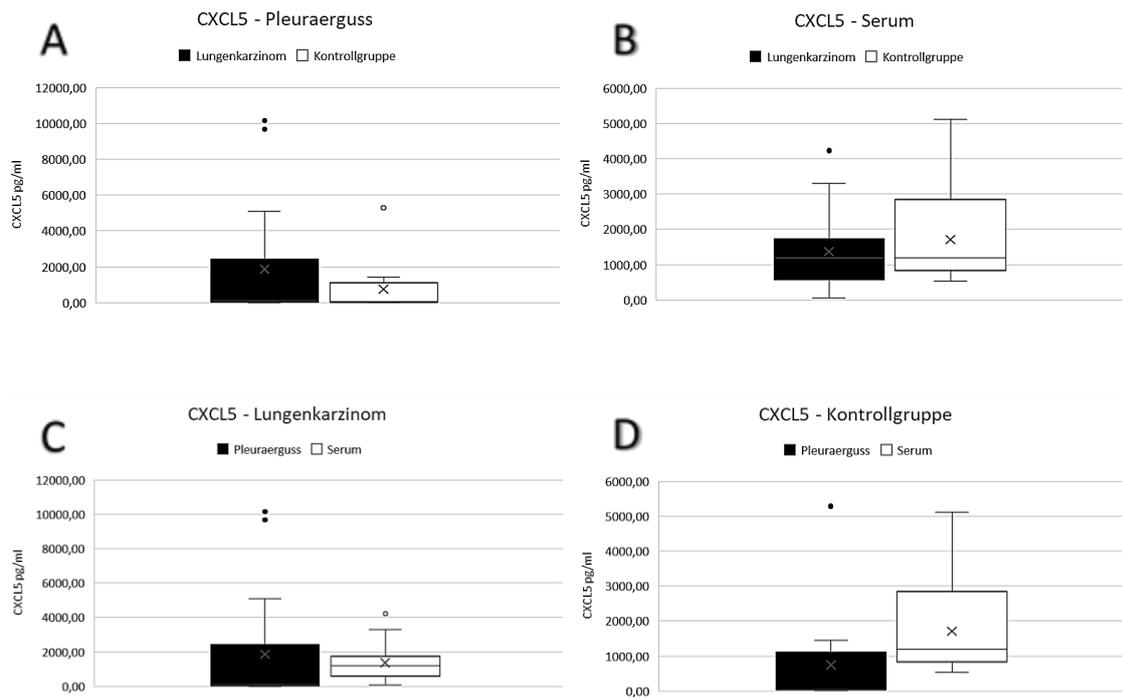


Abbildung 5 A) CXCL5 Konzentration im Pleuraerguss; B) CXCL5 Konzentration im Serum; C) CXCL5 Konzentrationen bei Patienten mit Lungenkarzinom im Vergleich der Kompartimente; D) CXCL5 Konzentrationen bei Patienten der Kontrollgruppe im Vergleich der Kompartimente

TFF3

Konzentration in Pleuraerguss und Serum

In beiden Gruppen lag die Untergrenze für die TFF3 Bestimmung bei 6,43 pg/ml und die Obergrenze bei 125000 pg/ml.

Die Konzentration von TFF3 zeigte im Punktat der Patienten mit Lungenkarzinom einen Mittelwert von 26051 pg/ml (Reichweite: 8130 – 148689 pg/ml; Median: 16113 pg/ml) und in den Proben der Kontrolle einen Mittelwert von 33711 pg/ml (Reichweite: 6928 – 122407 pg/ml; Median: 16392 pg/ml). Ein statistisch signifikanter Unterschied besteht nicht (p-Wert: 0,78).

Im Serum wurden bei Patienten mit Lungenkarzinom TFF3 Konzentrationen mit einem Mittelwert von 20120 pg/ml (Reichweite: 7328 – 40695 pg/ml; Median: 15328 pg/ml) und in der Kontrollgruppe mit einem Mittelwert von 31259 pg/ml (Reichweite: 6753 – 117078 pg/ml; Median: 17601 pg/ml) gefunden. Auch hier besteht kein signifikanter Unterschied (p-Wert: 0,59).

Im Vergleich von lokalem Milieu und Serum zeigten sich weder in der Gruppe mit Lungenkarzinom (p-Wert: 0,67), noch in der Kontrollgruppe (p-Wert: 0,75) signifikante Unterschiede.

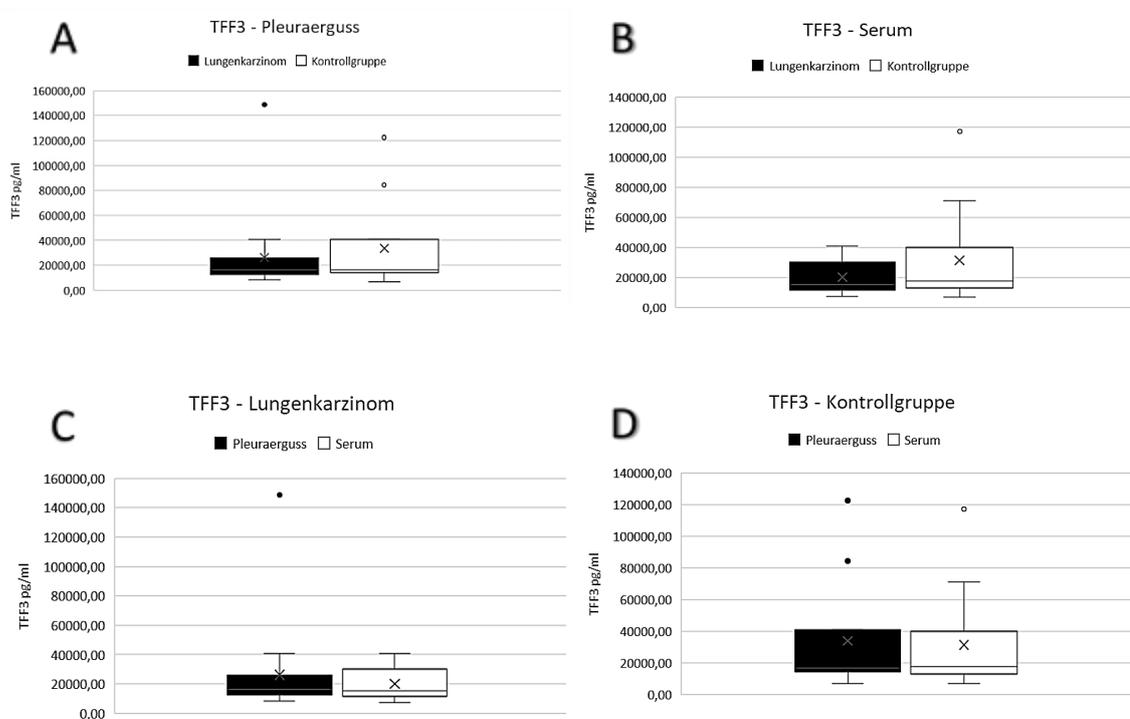


Abbildung 6 A) TFF3 Konzentration im Pleuraerguss; B) TFF3 Konzentration im Serum; C) TFF3 Konzentrationen bei Patienten mit Lungenkarzinom im Vergleich der Kompartimente; D) TFF3 Konzentrationen bei Patienten der Kontrollgruppe im Vergleich der Kompartimente

MMP-9

Konzentration in Pleuraerguss und Serum

Die Untergrenze der ELISA-Test Untersuchungen lag bei 0,156 ng/ml. Für die Gruppe der Patienten mit Lungenkarzinom lag die Obergrenze für die Proben im Erguss bei 4000 ng/ml und für die Proben im Serum 2000 ng/ml.

Die Untersuchung der Wertlagen zeigte, dass sich die mittleren Zytokinspiegel im Pleuraerguss bei Patienten mit Lungenkarzinom höher darstellten, als bei den Patienten der Kontrollgruppe, wohingegen sich der Median beider Gruppen gegenläufig dazu verhielt. Der Mittelwert bei Patienten mit Lungenkarzinom lag bei 572 ng/ml (Reichweite: 4 – 7974 ng/ml; Median: 22 ng/ml) und bei Patienten

in der Kontrollgruppe bei 299 ng/ml (Reichweite: 7 – 1129 ng/ml; Median: 68 ng/ml). Der Unterschied zeigte sich aber nicht signifikant (p-Wert: 0,29).

Bei Betrachtung der MMP-9 Konzentrationen im Serum, konnte im Patientenkollektiv mit Lungenkarzinom ein Mittelwert von 656 ng/ml (Reichweite: 48 – 3056 ng/ml; Median: 333 ng/ml) und im Patientenkollektiv der Kontrollgruppe ein Mittelwert von 694 ng/ml (Reichweite: 196 – 2253 ng/ml; Median: 605 ng/ml) beobachtet werden. Auch dieser Unterschied war nicht signifikant (p-Wert: 0,33).

Im direkten Vergleich des lokalen Milieus im Pleuraerguss mit peripheren Werten im Serum konnten in beiden Gruppen Unterschiede festgestellt werden, die sowohl in der Gruppe der Patienten mit Lungenkarzinom (p-Wert: 0,002), als auch in der Kontrollgruppe (p-Wert: 0,03) signifikant waren. In beiden Fällen zeigten sich höhere Werte im Serum.

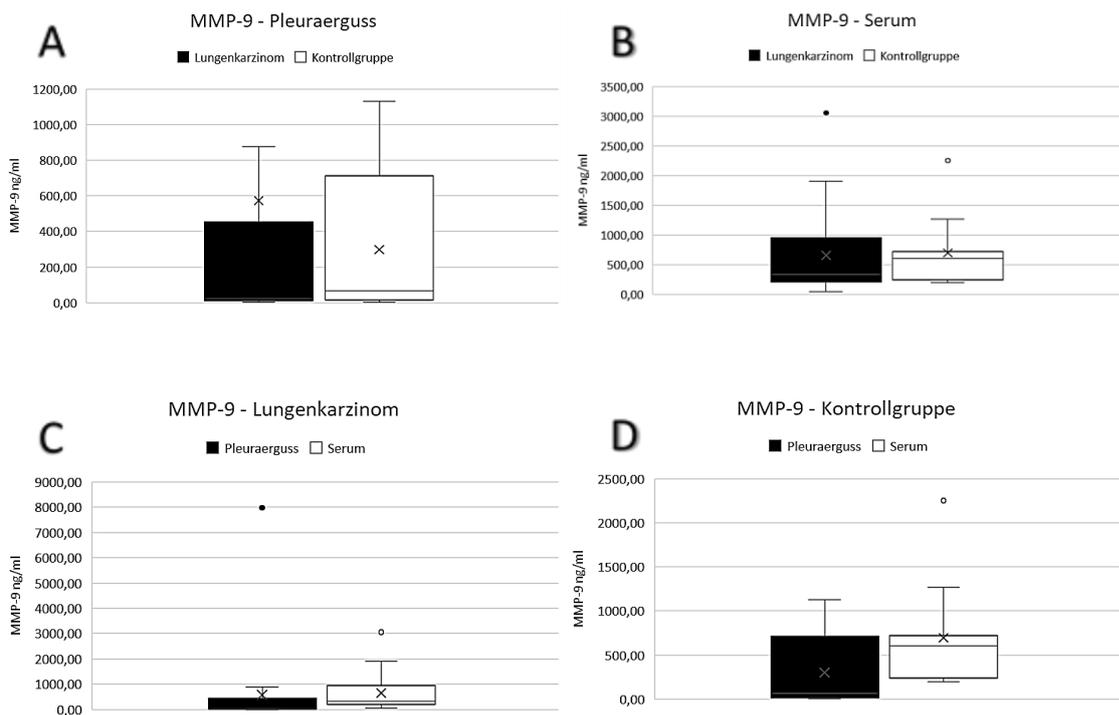


Abbildung 7 A) MMP-9 Konzentration im Pleuraerguss; B) MMP-9 Konzentration im Serum; C) MMP-9 Konzentrationen bei Patienten mit Lungenkarzinom im Vergleich der Kompartimente; D) MMP-9 Konzentrationen bei Patienten der Kontrollgruppe im Vergleich der Kompartimente

Angiogenin

Konzentration in Pleuraerguss und Serum

In beiden Gruppen lag die Untergrenze bei 6,0 pg/ml und die Obergrenze bei 100000 pg/ml.

Die Konzentration von Angiogenin im Pleuraerguss zeigte bei Patienten mit Lungenkarzinom einen Mittelwert von 230306 pg/ml (Reichweite: 50444 – 659263 pg/ml; Median: 172032 pg/ml) und bei Patienten der Kontrollgruppe einen Mittelwert von 201455 pg/ml (Reichweite: 93577 – 304945 pg/ml; Median: 220318 pg/ml). Ein signifikanter Unterschied bestand nicht (p-Wert: 1)

Bei Betrachtung der Angiogenin Werte im Serum, konnte im Patientenkollektiv mit Lungenkarzinom ein Mittelwert von 349217 pg/ml (Reichweite: 212636 – 837500 pg/ml; Median: 314787 pg/ml) und im Patientenkollektiv der Kontrollgruppe ein Mittelwert von 384520 pg/ml (Reichweite: 174366 – 582870 pg/ml; Median: 376357 pg/ml) festgestellt werden. Der Unterschied war nicht signifikant (p-Wert: 0,35).

Der direkte Vergleich der Werte im lokalen Milieu und peripher bestimmt im Serum, ergab sowohl in der Gruppe mit Lungenkarzinom (p-Wert: 0,001), als auch in der Kontrollgruppe (p-Wert: 0,0004), einen signifikanten Unterschied der beiden Kompartimente, mit höheren Konzentrationen im Serum.

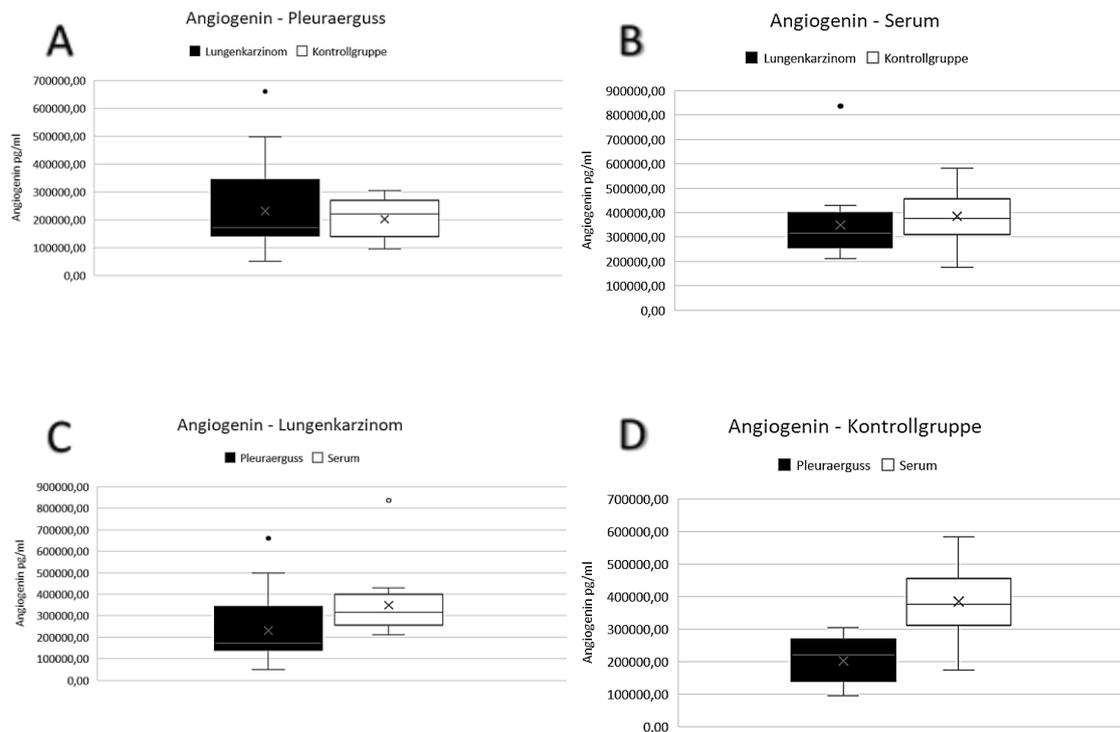


Abbildung 8 A) Angiogenin Konzentration im Pleuraerguss; B) Angiogenin Konzentration im Serum; C) Angiogenin Konzentrationen bei Patienten mit Lungenkarzinom im Vergleich der Kompartimente; D) Angiogenin Konzentrationen bei Patienten der Kontrollgruppe im Vergleich der Kompartimente

VEGF

Konzentration in Pleuraerguss und Serum

Für die Bestimmung der Werte wurde die Untergrenze auf 9,0 pg/ml gesetzt. Im Pleuraerguss lag die Obergrenze bei 100000 pg/ml und im Serum bei 2000 pg/ml.

Bei Betrachtung der VEGF Werte im Pleuraerguss, konnte bei Patienten mit Lungenkarzinom bei einem Mittelwert von 6687 pg/ml (Reichweite: 79 – 46442 pg/ml; Median: 2920 pg/ml) und in der Kontrollgruppe ein Mittelwert von 4178 pg/ml (Reichweite: 23 – 14282 pg/ml; Median: 518 pg/ml), festgestellt werden. Dieser Unterschied stellte sich nicht als signifikant dar (p-Wert: 0,56).

Die Untersuchung der Wertlagen zeigte, dass sich die Zytokinspiegel im Serum bei Patienten mit Lungenkarzinom im Mittelwert niedriger darstellten, als bei Patienten der Kontrollgruppe. Patienten mit Lungenkarzinom hatten einen Mittelwert von 554 pg/ml (Reichweite: 66 – 2278 pg/ml; Median: 366 pg/ml). Das Kollektiv der Kontrollgruppe ergab einen Mittelwert von 640 pg/ml (Reichweite:

145 – 1895 pg/ml; Median 448 pg/ml). Der Unterschied war nicht signifikant (p-Wert: 0,47).

Ein signifikanter Unterschied der beiden Kompartimente Pleuraerguss und Serum ergab sich mit höheren Werten im Pleuraerguss in der Gruppe der Patienten mit Lungenkarzinom (p-Wert: 0,01). In der Kontrollgruppe stellte sich dieser Unterschied nicht signifikant dar (p-Wert: 0,40).

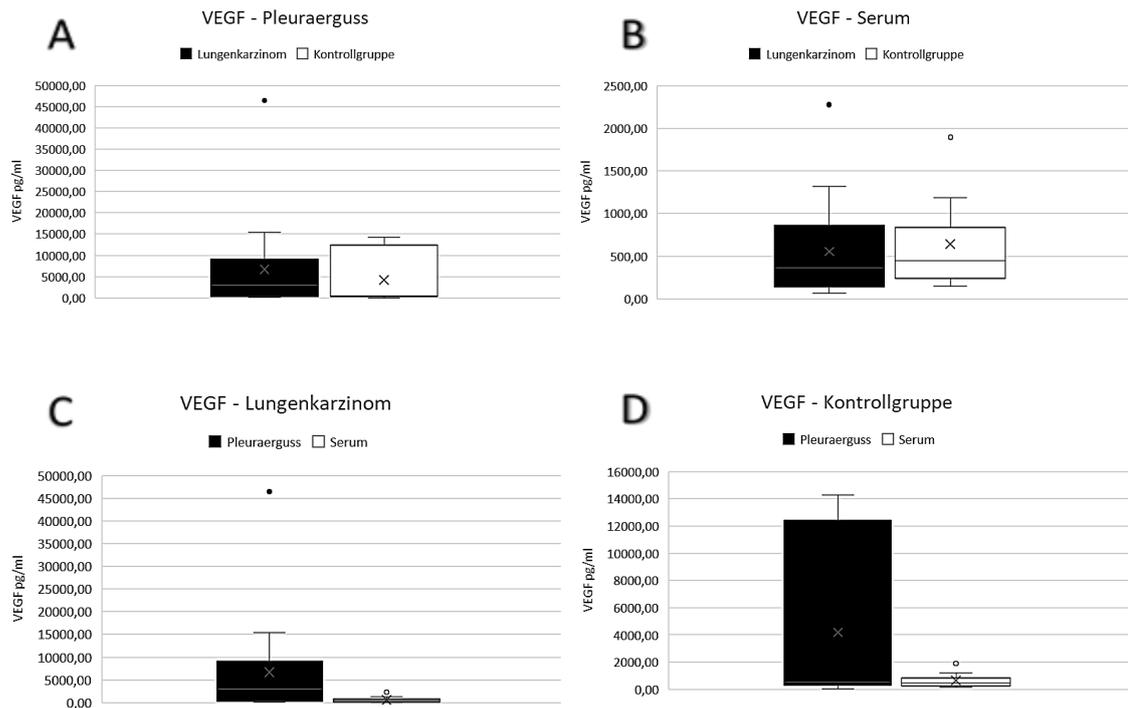


Abbildung 9 A) VEGF Konzentration im Pleuraerguss; B) VEGF Konzentration im Serum; C) VEGF Konzentrationen bei Patienten mit Lungenkarzinom im Vergleich der Kompartimente; D) VEGF Konzentrationen bei Patienten der Kontrollgruppe im Vergleich der Kompartimente

IGF-1

Konzentration in Pleuraerguss und Serum

In beiden Gruppen wurde die Untergrenze der Bestimmung auf 0,026 ng/ml und die Obergrenze auf 600 ng/ml gesetzt.

Die Untersuchung der Wertlagen zeigte, dass die Konzentration von IGF-1 im Pleuraerguss bei Patienten mit Lungenkarzinom im Mittel höher ist, als bei Patienten der Kontrollgruppe. In der Gruppe der Patienten mit Lungenkarzinom zeigte sich ein Mittelwert von 45 ng/ml (Reichweite: 3 – 106 ng/ml; Median: 45 ng/ml). In der Gruppe der Patienten der Kontrollgruppe zeigte sich ein Mittelwert

von 19 ng/ml (Reichweite: 3 – 49 ng/ml; Median: 17 ng/ml). Dieser Unterschied stellte sich eindeutig als signifikant dar (p-Wert: 0,02).

Im Serum wurde bei Patienten mit Lungenkarzinom ein IGF-1 Mittelwert von 95 ng/ml (Reichweite: 30 – 207 ng/ml; Median: 87 ng/ml) und in der Kontrollgruppe ein Mittelwert von 77 ng/ml (Reichweite: 13 – 144 ng/ml; Median: 67 ng/ml) gefunden. Dieser Unterschied stellte sich nicht als signifikant dar (p-Wert: 0,31).

Sowohl im Patientenkollektiv der Patienten mit Lungenkarzinom als auch in der Kontrollgruppe konnten signifikante Unterschiede im Vergleich des lokalen Milieus mit peripheren Serum Werten gefunden werden (p-Wert Lungenkarzinom: 0,0001; p-Wert Kontrollgruppe: 0,0006). Für beide Gruppen ergaben sich höhere IGF-1 Level im Serum.

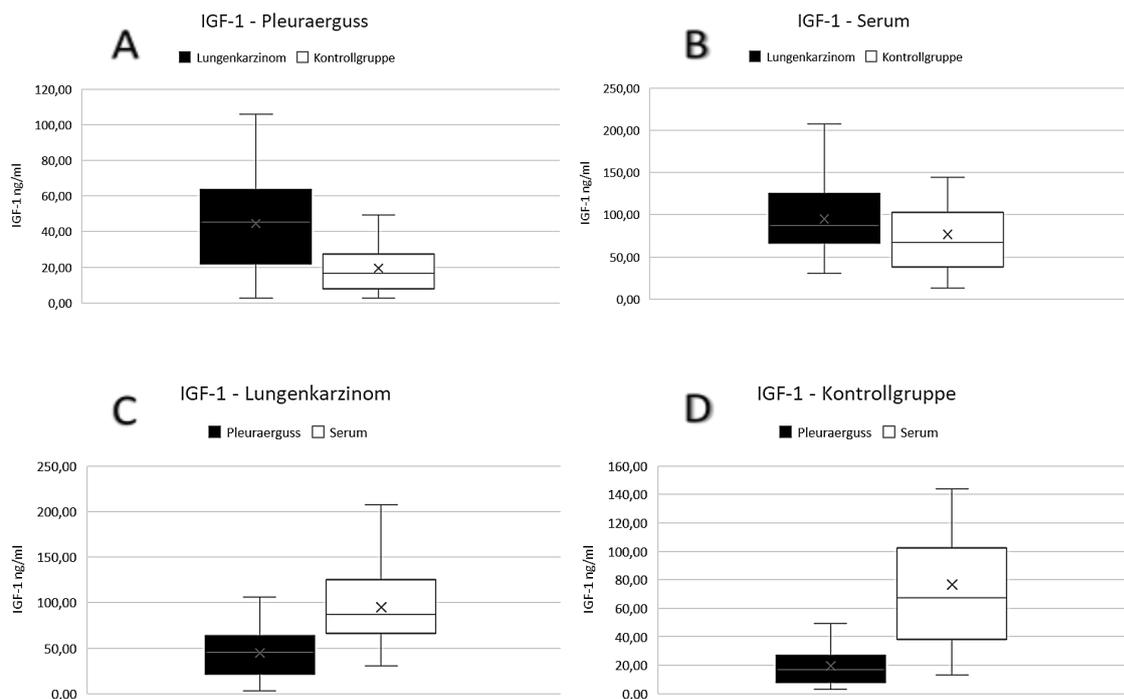


Abbildung 10 A) IGF-1 Konzentration im Pleuraerguss; B) IGF-2 Konzentration im Serum; C) IGF-1 Konzentrationen bei Patienten mit Lungenkarzinom im Vergleich der Kompartimente; D) IGF-1 Konzentrationen bei Patienten der Kontrollgruppe im Vergleich der Kompartimente

IGFBP-3

Konzentration in Pleuraerguss und Serum

Die Untergrenze lag in beiden Gruppen bei 0,5 ng/ml und die Obergrenze sowohl im Erguss als auch im Serum bei 5000 ng/ml.

Bei Betrachtung der IGFBP-3 Werte im Pleuraerguss zeigten sich im Erguss der Patienten mit Lungenkarzinom ein Mittelwert von 1155 ng/ml (Reichweite: 643 – 2366 ng/ml; Median: 1103 ng/ml) und im Erguss der Kontrollgruppe ein Mittelwert von 1123 ng/ml (Reichweite: 322 – 2300 ng/ml; Median: 1049 ng/ml). Dieser Unterschied war nicht signifikant (p-Wert: 0,75).

Bei Betrachtung der IGFBP-3 Konzentrationen im Serum konnten im Durchschnitt höhere Werte in der Gruppe der Patienten mit Lungenkarzinom beobachtet werden. Diese zeigten einen Mittelwert von 3089 ng/ml (Reichweite: 449 – 4770 ng/ml; Median: 3404 ng/ml), wohingegen die Gruppe der Patienten der Kontrollgruppe einen Mittelwert von 2518 ng/ml (Reichweite: 1015 – 4571 ng/ml; Median: 2482 ng/ml) zeigten. Dieser Unterschied stellte sich jedoch als nicht signifikant dar (p-Wert: 0,15).

Im direkten Vergleich der im Erguss bestimmten tumornahen IGFBP-3 Werte mit den peripheren Werten im Serum, stellte sich ein signifikanter Unterschied sowohl in der Patientengruppe mit Lungenkarzinom, als auch in der Kontrollgruppe dar (p-Wert Lungenkarzinom: 0,0000008; p-Wert Kontrollgruppe: 0,002). Die Serumkonzentrationen zeigten sich in beiden Gruppen im Vergleich zu Werten des Pleuraergusses höher.

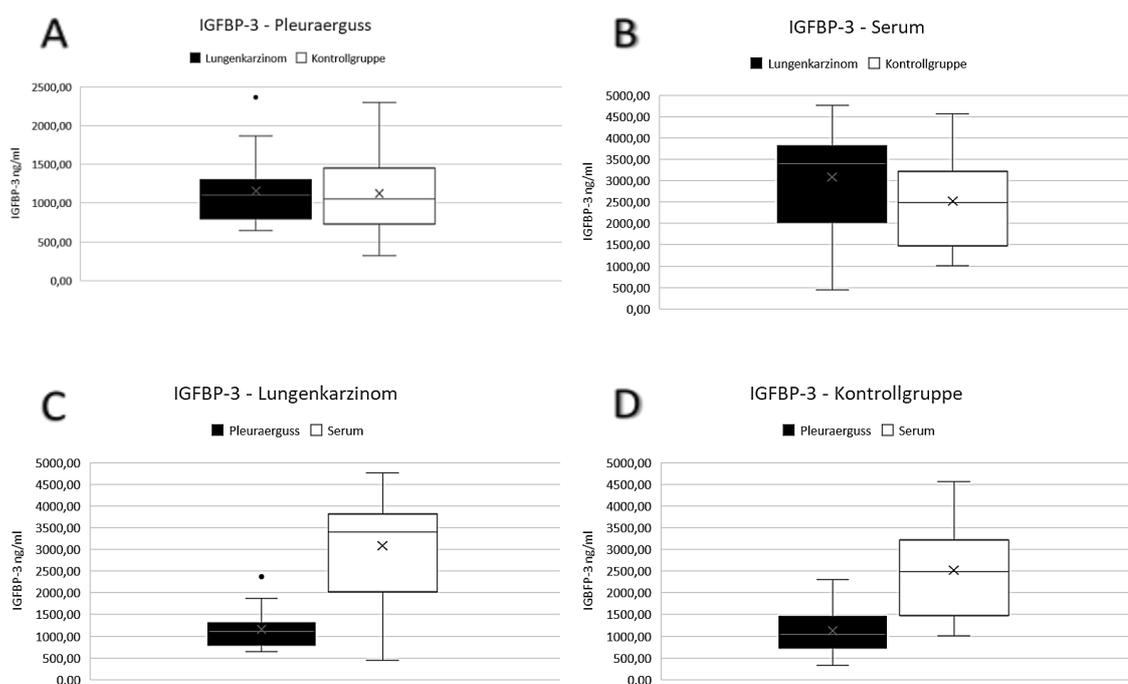


Abbildung 11 A) IGFBP-3 Konzentration im Pleuraerguss; B) IGFBP-3 Konzentration im Serum; C) IGFBP-3 Konzentrationen bei Patienten mit Lungenkarzinom im Vergleich der Kompartimente; D) IGFBP-3 Konzentrationen bei Patienten der Kontrollgruppe im Vergleich der Kompartimente

IL-6

Konzentration in Pleuraerguss und Serum

Die Untergrenze der ELISA-Test Untersuchungen lag bei 0,110 pg/ml. Für die Gruppe der Patienten mit Lungenkarzinom lag die Obergrenze für die Proben im Erguss bei 5000 pg/ml und für die Proben im Serum bei 1000 pg/ml.

Bei Untersuchung der Wertlagen ergab sich, dass sich die Höhe der IL-6 Werte im Pleuraerguss im Vergleich beider Gruppen kaum unterscheidet. Das Patientenkollektiv mit Lungenkarzinom zeigte einen Mittelwert von 4565 pg/ml (Reichweite: 341 – 5711 pg/ml; Median: 5499 pg/ml). In der Kontrollgruppe zeigte sich ein Mittelwert von 4214 pg/ml (Reichweite: 65 – 5623 pg/ml; Median: 5441 pg/ml). Der Unterschied war nicht signifikant (p-Wert: 0,25).

Im Serum wurde in der Gruppe der Patienten mit Lungenkarzinom ein IL-6 Mittelwert von 180 pg/ml (Reichweite 4 – 826 pg/ml; Median: 82 pg/ml) und in der Kontrollgruppe ein Mittelwert von 130 pg/ml (Reichweite: 3 – 328 pg/ml; Median: 126 pg/ml) gefunden. Ein signifikanter Unterschied bestand nicht (p-Wert: 1,00).

Im direkten Vergleich der IL-6 Werte im lokalen Milieu des Pleuraergusses mit peripheren Werten im Serum, konnten in beiden Gruppen Unterschiede festgestellt werden, die sowohl in der Gruppe der Patienten mit Lungenkarzinom (p-Wert: 0,0000005), als auch in der Kontrollgruppe (p-Wert: 0,00009) signifikant waren. Die IL-6 Level waren in beiden Gruppen im Pleuraerguss deutlich höher, verglichen mit Werten im Serum der Patienten.

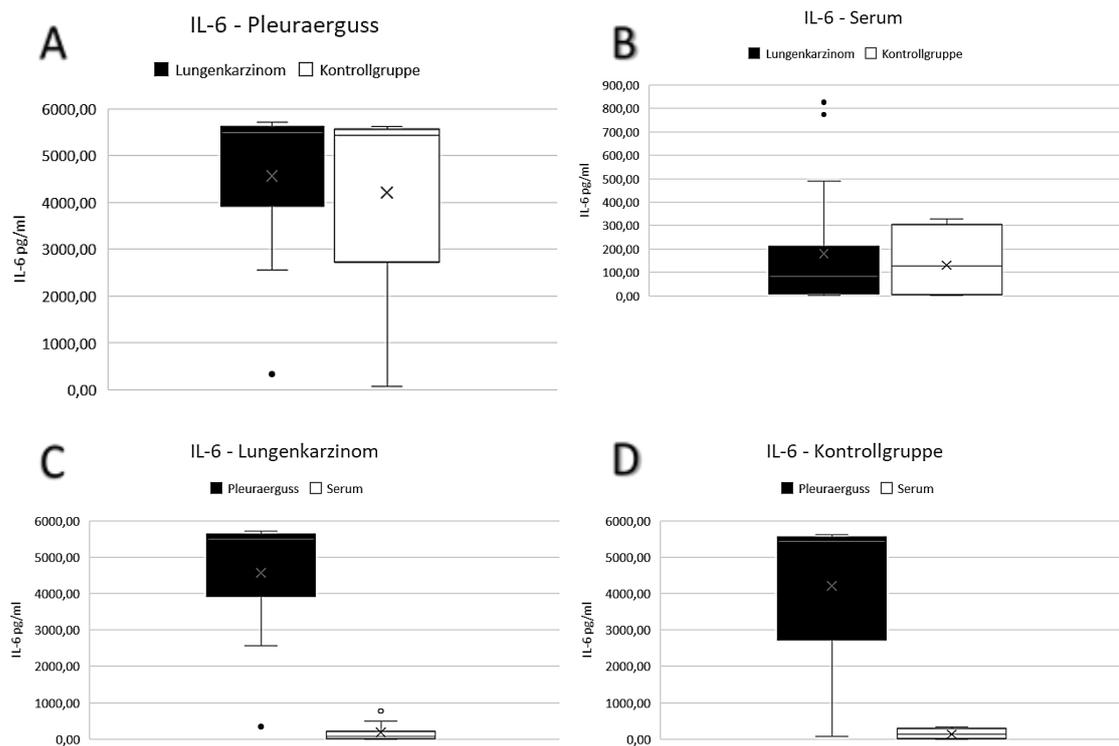


Abbildung 12 A) IL-6 Konzentration im Pleuraerguss; B) IL-6 Konzentration im Serum; C) IL-6 Konzentrationen bei Patienten mit Lungenkarzinom im Vergleich der Kompartimente; D) IL-6 Konzentrationen bei Patienten der Kontrollgruppe im Vergleich der Kompartimente

IL-8

Konzentration in Pleuraerguss und Serum

Für die Bestimmung der Werte wurde die Untergrenze auf 0,130 pg/ml gesetzt. Im Pleuraerguss lag die Obergrenze bei 10000 pg/ml und im Serum bei 2000 pg/ml.

Bei Betrachtung der IL-8 Konzentrationen im Pleuraerguss zeigte sich bei Patienten mit Lungenkarzinom ein Mittelwert von 4810 pg/ml (Reichweite: 105 – 15525 pg/ml; Median: 997 pg/ml). In der Kontrollgruppe ergab sich ein Mittelwert von 3426 pg/ml (Reichweite: 142 – 14715 pg/ml; Median: 817 pg/ml). Der Unterschied zwischen beiden Gruppen stellte sich als nicht signifikant dar (p-Wert: 0,80).

Es konnten im Serum bei Patienten mit Lungenkarzinom IL-8 Mittelwerte von 47 pg/ml (Reichweite: 12 – 201 pg/ml; Median: 29 pg/ml) und bei Patienten der Kontrollgruppe Mittelwerte von 38 pg/ml (Reichweite: 19 – 69 pg/ml; Median: 33 pg/ml) festgestellt werden. Der Unterschied war nicht signifikant (p-Wert: 0,97).

Sowohl im Patientenkollektiv der Patienten mit Lungenkarzinom als auch in der Kontrollgruppe konnten signifikant höhere IL-8 Spiegel des lokalen Milieus im Pleuraerguss mit peripheren Serum Werten gefunden werden (p-Wert Lungenkarzinom: 0,0000003; p-Wert Kontrollgruppe: 0,000003).

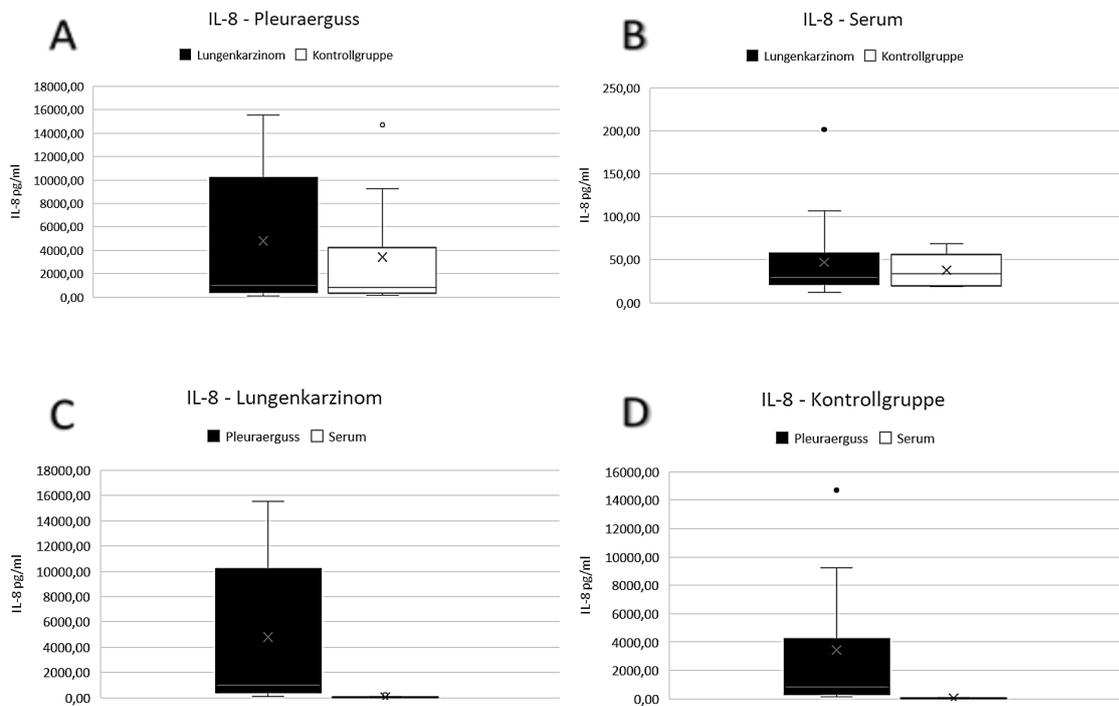


Abbildung 13 A) IL-8 Konzentration im Pleuraerguss; B) IL-8 Konzentration im Serum; C) IL-8 Konzentrationen bei Patienten mit Lungenkarzinom im Vergleich der Kompartimente; D) IL-8 Konzentrationen bei Patienten der Kontrollgruppe im Vergleich der Kompartimente

TGF- β 1

Konzentration in Pleuraerguss und Serum

Für die Wertebestimmung wurde die Untergrenze auf 4,61 pg/ml gesetzt. Für die Bestimmung der Werte im Pleuraerguss lag die Obergrenze bei 2800 pg/ml und für die Bestimmung im Serum bei 80000 pg/ml.

Bei Betrachtung der TGF- β 1 Werte im Pleuraerguss konnte in der Gruppe der Patienten mit Lungenkarzinom ein Mittelwert von 2464 pg/ml (Reichweite: 613 – 4072 pg/ml; Median: 2371 pg/ml) festgestellt werden. In der Kontrollgruppe ergab sich bei Betrachtung der TGF- β 1 Werte ein Mittelwert von 2353 pg/ml (Reichweite: 582 – 3952 pg/ml; Median: 2278 pg/ml). Der Unterschied zwischen beiden Gruppen war nicht signifikant (p-Wert: 0,80).

Bei Untersuchung der Wertlagen im Serum zeigten sich annähernd gleiche TGF- β 1 Mittelwerte in beiden Gruppen. Die Patienten mit Lungenkarzinom zeigten einen Mittelwert von 26663 pg/ml (Reichweite: 1862 – 76629 pg/ml; Median: 23309 pg/ml). In der Kontrollgruppe wurde ein Mittelwert von 26811 pg/ml (Reichweite: 14801 – 69854 pg/ml; Median: 22821 pg/ml) festgestellt. Ein signifikanter Unterschied bestand nicht (p-Wert: 0,98).

Im direkten Vergleich der TGF- β 1 Konzentrationen im lokalen Milieu des Pleuraergusses mit peripheren Werten im Serum konnten in beiden Gruppen Unterschiede festgestellt werden, die sowohl in der Gruppe der Patienten mit Lungenkarzinom (p-Wert: 0,00000002), als auch in der Kontrollgruppe (p-Wert: 0,000003) signifikant waren und höhere Werte im Serum ergaben.

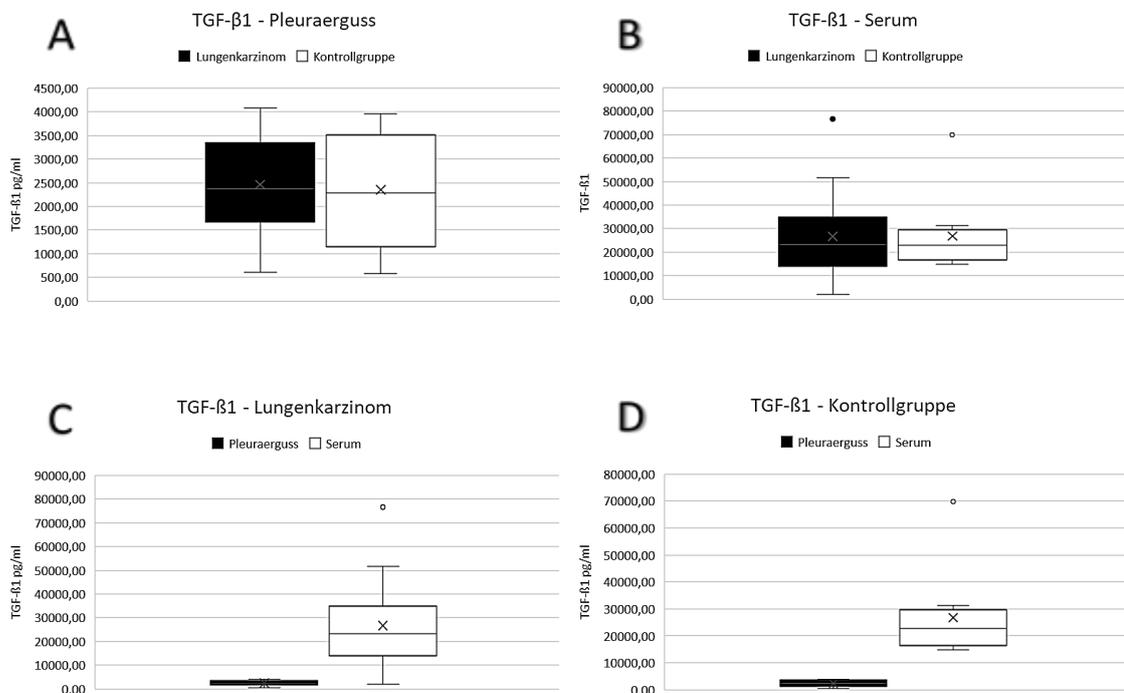


Abbildung 14 A) TGF- β 1 Konzentration im Pleuraerguss; B) TGF- β 1 Konzentration im Serum; C) TGF- β 1 Konzentrationen bei Patienten mit Lungenkarzinom im Vergleich der Kompartimente; D) TGF- β 1 Konzentrationen bei Patienten der Kontrollgruppe im Vergleich der Kompartimente

TGF- β 2

Konzentration in Pleuraerguss und Serum

Sowohl im Pleuraerguss als auch im Serum lag die Untergrenze für die Bestimmung der Werte bei 7,0 pg/ml. Im Pleuraerguss lag die Obergrenze bei 15600 pg/ml und im Serum bei 15000 pg/ml.

Bei der Untersuchung der Wertlagen in Proben des Pleuraergusses, zeigte sich ein erhöhter TGF- β 2 Mittelwert in der Gruppe der Patienten mit Lungenkarzinom verglichen mit Patienten der Kontrollgruppe. Das Patientenkollektiv der Patienten mit Lungenkarzinom zeigte einen Mittelwert von 651 pg/ml (Reichweite: 200 – 5500 pg/ml; Median: 264 pg/ml). In der Kontrollgruppe ergab sich ein Mittelwert von 279 pg/ml (Reichweite: 233 – 383 pg/ml; Median: 277 pg/ml). Dieser Unterschied stellte sich jedoch als nicht signifikant dar (p-Wert: 0,80).

Bei Betrachtung der TGF- β 2 Werte im Serum konnte in der Gruppe der Patienten mit Lungenkarzinom ein Mittelwert von 210 pg/ml (Reichweite: 80 – 346 pg/ml; Median: 227 pg/ml) und in der Kontrollgruppe ein Mittelwert von 259 pg/ml (Reichweite: 83 – 468 pg/ml; Median: 273 pg/ml) dargestellt werden. Auch dieser Unterschied war nicht signifikant (p-Wert: 0,26).

Im direkten Vergleich, der im Erguss bestimmten tumornahen TGF- β 2 Werte mit den peripheren Werten im Serum, stellte sich ein signifikanter Unterschied in der Patientengruppe mit Lungenkarzinom dar (p-Wert: 0,001). TGF- β 2 Werte im Pleuraerguss erschienen höher, als peripher bestimmte Serumwerte. Im Kollektiv der Kontrollgruppe zeigte sich kein signifikanter Unterschied (p-Wert: 0,60).

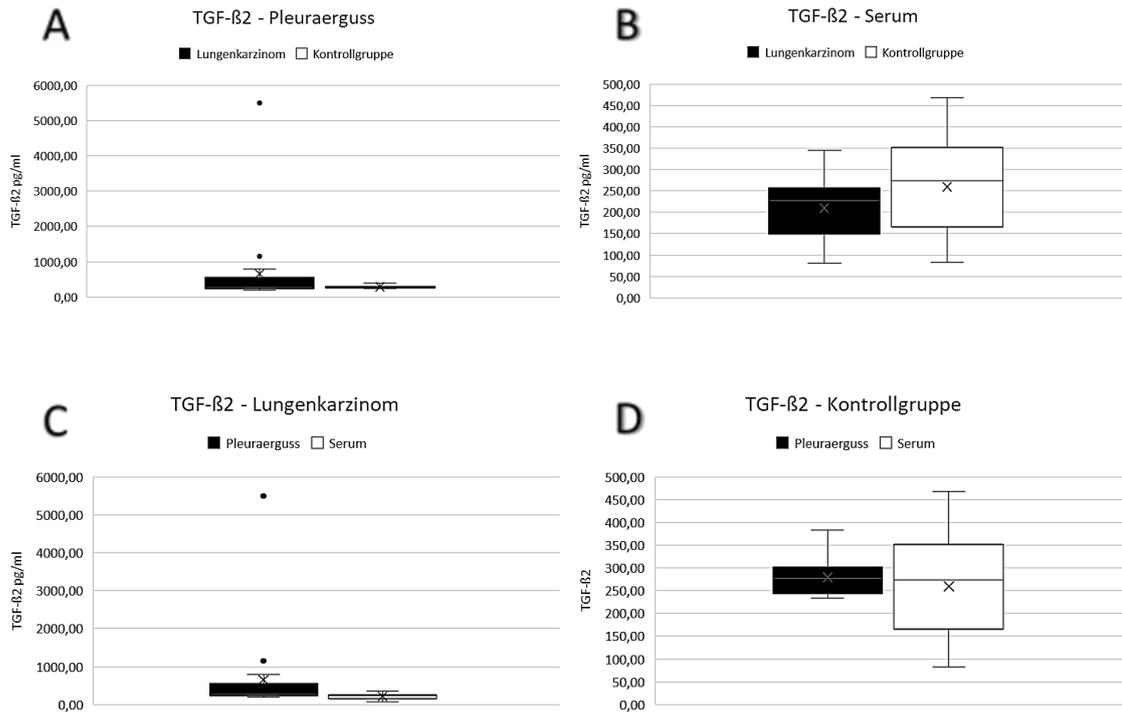


Abbildung 15 A) TGF-β2 Konzentration im Pleuraerguss; B) TGF-β2 Konzentration im Serum; C) TGF-β2 Konzentrationen bei Patienten mit Lungenkarzinom im Vergleich der Kompartimente; D) TGF-β2 Konzentrationen bei Patienten der Kontrollgruppe im Vergleich der Kompartimente

IL-22

Konzentration in Pleuraerguss und Serum

Bei Untersuchung der Wertlagen zeigte sich im Pleuraerguss der Patienten mit Lungenkarzinom ein niedrigerer IL-22-Mittelwert verglichen mit dem Mittelwert der Kontrollgruppe. In der Gruppe der Patienten mit Lungenkarzinom ergab sich ein Mittelwert von 239 pg/ml (Reichweite: 14 – 1746 pg/ml; Median: 83 pg/ml) und in der Kontrollgruppe ein Mittelwert von 408 pg/ml (Reichweite 26 – 2466 pg/ml; Median: 109 pg/ml). Dieser Unterschied stellte sich nicht als signifikant dar (p-Wert: 0,33).

Bei Betrachtung der IL-22 Werte im Serum, konnte in der Gruppe der Patienten mit Lungenkarzinom ein Mittelwert von 91 pg/ml (Reichweite: 0 – 310 pg/ml; Median: 63 pg/ml) festgestellt werden. Die Kontrollgruppe zeigte im Vergleich einen Mittelwert von 98 pg/ml (Reichweite: 0 – 285 pg/ml; Median: 76 pg/ml). Auch dieser Unterschied war nicht signifikant (p-Wert: 0,85).

Sowohl im Patientenkollektiv der Patienten mit Lungenkarzinom als auch in der Kontrollgruppe konnten keine signifikanten Unterschiede im Vergleich des lokalen Milieus im Pleuraerguss mit peripheren Serumwerten gefunden werden (p-Wert Lungenkarzinom: 0,35; p-Wert Kontrollgruppe: 0,33).

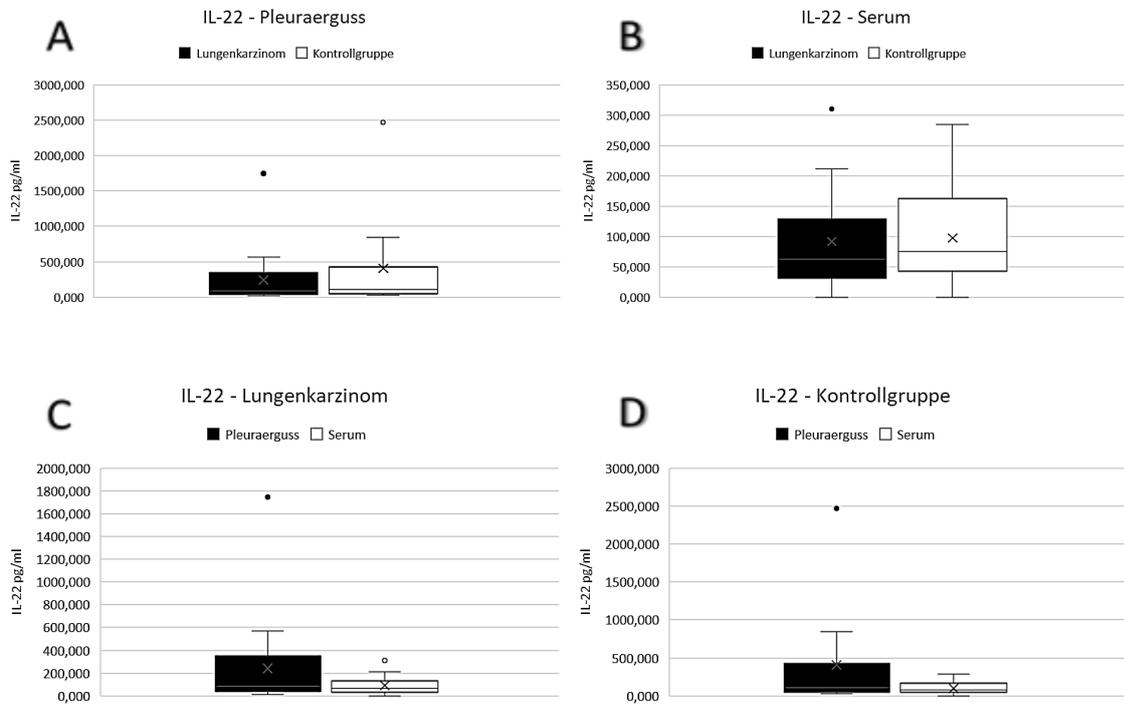


Abbildung 16 A) IL-22 Konzentration im Pleuraerguss; B) IL-22 Konzentration im Serum; C) IL-22 Konzentrationen bei Patienten mit Lungenkarzinom im Vergleich der Kompartimente; D) IL-22 Konzentrationen bei Patienten der Kontrollgruppe im Vergleich der Kompartimente

5.4.2 Korrelation mit systemischer Inflammation

Um einen Einfluss systemischer Inflammation auf die lokale Produktion der einzelnen Zytokine und Interleukine zu untersuchen, verglichen wir die tumornahen Werte der Zytokine im Pleuraerguss mit gängigen laborchemischen Parametern CRP, Anzahl der Leukozyten und Anzahl der Lymphozyten, welche alle im Serum bestimmt wurden.

Die CRP-Werte ergaben in der Gruppe mit Lungenkarzinom einen Mittelwert von 5,4 mg/dl (Reichweite: 0,2 – 25,3 mg/dl; Median: 3,1) und in der Kontrollgruppe einen Mittelwert von 6,0 mg/dl (Reichweite: 0,1 – 31 mg/dl; Median: 1,95 mg/dl).

Für die Anzahl der Leukozyten konnte im Patientenkollektiv mit Lungenkarzinom ein Mittelwert von 9,3 G/l (Reichweite: 2,6 – 39,1 G/l; Median: 8,0 G/l) und im Patientenkollektiv der Kontrollgruppe ein Mittelwert von 9,4 G/l (Reichweite: 5,7 – 19 G/l; Median: 8,7 G/l) gefunden werden.

Es ergab sich in der Patientengruppe mit Lungenkarzinom für die Anzahl der Lymphozyten ein Mittelwert von 1,5 G/l (Reichweite: 0,04 – 7,7 G/l; Median: 0,8 G/l) und in der Kontrollgruppe ein Mittelwert von 1,6 G/l (Reichweite: 0,8 – 3,1 G/l; Median: 1,3 G/l).

Korrelation von CXCL5 mit systemischer Inflammation

Bei Betrachtung der Werte von CRP im direkten Vergleich zeigte sich weder in der Gruppe der Patienten mit Lungenkarzinom (p-Wert: 0,05), noch in der Kontrollgruppe (p-Wert: 0,06) eine signifikante Korrelation.

Auch im Vergleich der Leukozytenzahl mit der Höhe der CXCL5 Werte im Erguss lieferte sowohl bei Patienten mit Lungenkarzinom (p-Wert: 0,51), als auch bei der Referenzgruppe (p-Wert: 0,41) keine signifikante Korrelation.

Bei Untersuchung des Zusammenhangs von Lymphozyten mit der Höhe der CXCL5 Werte zeigte sich in beiden Gruppen keine signifikante Korrelation (Lungenkarzinom p-Wert: 0,08; Kontrollgruppe p-Wert: 0,36).

Korrelation von CXCL5 im Pleuraerguss mit systemischer Inflammation

	Gruppengröße (n)	Spearman Koeffizient	p-Wert
Patienten mit Lungenkarzinom			
Korrelation von CXCL5 im Erguss mit CRP	19	0,46	0,05
Korrelation von CXCL5 im Erguss mit Leukozyten	19	-0,16	0,51
Korrelation von CXCL5 im Erguss mit Lymphozyten	17	-0,44	0,08
Patienten der Kontrollgruppe			
Korrelation von CXCL5 im Erguss mit CRP	11	0,58	0,06
Korrelation von CXCL5 im Erguss mit Leukozyten	11	0,28	0,41
Korrelation von CXCL5 im Erguss mit Lymphozyten	8	0,38	0,36

Tabelle 3 Korrelation von CXCL5 mit systemischer Inflammation

Korrelation von TFF3 mit systemischer Inflammation

Es zeigte sich weder bei Patienten mit Lungenkarzinom noch bei Patienten der Kontrollgruppe eine signifikante Korrelation von TFF3 im Pleuraerguss verglichen mit der Höhe des CRP-Spiegels, der im Serum bestimmt wurde (Lungenkarzinom p-Wert: 0,64; Kontrollgruppe p-Wert: 0,16).

Eine signifikante Korrelation zeigte sich auch nicht im Vergleich der Höhe von TFF3 mit den peripher im Serum bestimmten Leukozytenzahlen (Lungenkarzinom p-Wert: 0,5; Kontrollgruppe p-Wert: 0,43).

Lymphozyten Werte korrelierten im Kollektiv der Kontrollgruppe signifikant mit TFF3 Werten, wohingegen Patienten mit Lungenkarzinom keine Korrelation zeigten (Lungenkarzinom p-Wert: 0,95; Kontrollgruppe p-Wert: 0,02).

Korrelation von TFF3 im Pleuraerguss mit systemischer Inflammation

	Gruppengröße (n)	Spearman Koeffizient	p-Wert
Patienten mit Lungenkarzinom			
Korrelation von TFF3 im Erguss mit CRP	19	0,12	0,64
Korrelation von TFF3 im Erguss mit Leukozyten	19	-0,16	0,5
Korrelation von TFF3 im Erguss mit Lymphozyten	17	-0,02	0,95
Patienten der Kontrollgruppe			
Korrelation von TFF3 im Erguss mit CRP	11	-0,45	0,16
Korrelation von TFF3 im Erguss mit Leukozyten	11	-0,26	0,43
Korrelation von TFF3 im Erguss mit Lymphozyten	8	-0,83	0,02

Tabelle 4 Korrelation von TFF3 mit systemischer Inflammation

Korrelation von MMP-9 mit systemischer Inflammation

Bei Betrachtung der Werte von CRP im Vergleich zu den lokalen Zytokinspiegeln im Pleuraerguss zeigte sich weder bei Patienten mit Lungenkarzinom (p-Wert: 0,26), noch bei Patienten der Kontrollgruppe (p-Wert: 0,99) ein signifikanter Unterschied.

Es konnte festgestellt werden, dass im Vergleich der Korrelation der Leukozytenzahl mit der Höhe der Werte der Zytokine, eine signifikante Korrelation in der Kontrollgruppe (p-Wert: 0,02) auftritt, wohingegen die Gruppe der Patienten mit Lungenkarzinom keine signifikante Korrelation zeigt (p-Wert: 0,26).

Im Vergleich beider Gruppen mit dem absoluten Wert der Lymphozyten konnte in beiden Gruppen keine signifikante Korrelation festgestellt werden (p-Wert Lungenkarzinom: 0,92; p-Wert Kontrollgruppe: 0,08).

Korrelation von MMP-9 im Pleuraerguss mit systemischer Inflammation

	Gruppengröße (n)	Spearman Koeffizient	p-Wert
Patienten mit Lungenkarzinom			
Korrelation von MMP-9 im Erguss mit CRP	19	0,27	0,26
Korrelation von MMP-9 im Erguss mit Leukozyten	19	0,27	0,26
Korrelation von MMP-9 im Erguss mit Lymphozyten	17	-0,03	0,92
Patienten der Kontrollgruppe			
Korrelation von MMP-9 im Erguss mit CRP	11	0,01	0,99
Korrelation von MMP-9 im Erguss mit Leukozyten	11	0,69	0,02
Korrelation von MMP-9 im Erguss mit Lymphozyten	8	0,67	0,08

Tabelle 5 Korrelation von MMP-9 mit systemischer Inflammation

Korrelation von Angiogenin mit systemischer Inflammation

Bei Untersuchung der Korrelation der CRP-Spiegel mit der Höhe der Werte von Angiogenin im Pleuraerguss, konnte weder im Kollektiv der Patienten mit Lungenkarzinom (p-Wert: 0,36), noch im Kollektiv der Patienten der Kontrollgruppe (p-Wert: 0,8) eine Signifikanz festgestellt werden.

Eine signifikante Korrelation konnte auch im Vergleich der Leukozytenzahlen mit der Angiogenin Konzentration im Erguss nicht festgestellt werden (p-Wert Lungenkarzinom: 0,07; p-Wert Kontrollgruppe: 0,97).

Es zeigte sich bei Untersuchung der Korrelation von Angiogenin und Zahl der Lymphozyten, sowohl in der Gruppe mit Lungenkarzinom (p-Wert: 0,16), als auch in der Kontrollgruppe (p-Wert: 0,06) keine statistische Korrelation.

Korrelation von Angiogenin im Pleuraerguss mit systemischer Inflammation

	Gruppengröße (n)	Spearman Koeffizient	p-Wert
Patienten mit Lungenkarzinom			
Korrelation von Angiogenin im Erguss mit CRP	19	0,22	0,36
Korrelation von Angiogenin im Erguss mit Leukozyten	19	-0,42	0,07
Korrelation von Angiogenin im Erguss mit Lymphozyten	17	-0,35	0,16
Patienten der Kontrollgruppe			
Korrelation von Angiogenin im Erguss mit CRP	11	-0,09	0,8
Korrelation von Angiogenin im Erguss mit Leukozyten	11	-0,02	0,97
Korrelation von Angiogenin im Erguss mit Lymphozyten	8	-0,72	0,06

Tabelle 6 Korrelation von Angiogenin mit systemischer Inflammation

Korrelation von VEGF mit systemischer Inflammation

Es zeigte sich weder bei Patienten mit Lungenkarzinom noch bei Patienten der Kontrollgruppe eine signifikante Korrelation von VEGF im Pleuraerguss verglichen mit der Höhe der CRP-Spiegel, die im Serum bestimmt wurden (Lungenkarzinom p-Wert: 0,88; Kontrollgruppe p-Wert: 0,49).

Die Untersuchung des Zusammenhangs von Leukozyten mit der Höhe der VEGF Werte zeigte in beiden Gruppen keine signifikante Korrelation (Lungenkarzinom p-Wert: 0,33; Kontrollgruppe p-Wert: 0,30).

Es konnte festgestellt werden, dass im Vergleich der Korrelation der Lymphozytenzahl mit der Konzentration von VEGF im Pleuraerguss, eine signifikante Korrelation in der Kontrollgruppe (p-Wert: 0,02) auftritt, wohingegen die Gruppe der Patienten mit Lungenkarzinom keine signifikante Korrelation zeigt (p-Wert: 0,67).

Korrelation von VEGF im Pleuraerguss mit systemischer Inflammation

	Gruppengröße (n)	Spearman Koeffizient	p-Wert
Patienten mit Lungenkarzinom			
Korrelation von VEGF im Erguss mit CRP	19	-0,04	0,88
Korrelation von VEGF im Erguss mit Leukozyten	19	-0,23	0,33
Korrelation von VEGF im Erguss mit Lymphozyten	17	-0,11	0,67
Patienten der Kontrollgruppe			
Korrelation von VEGF im Erguss mit CRP	11	0,24	0,49
Korrelation von VEGF im Erguss mit Leukozyten	11	0,35	0,30
Korrelation von VEGF im Erguss mit Lymphozyten	8	0,81	0,02

Tabelle 7 Korrelation von VEGF mit systemischer Inflammation

Korrelation von IGF-1 mit systemischer Inflammation

Bei Untersuchung des Zusammenhangs der CRP Werte mit der Höhe der IGF-1 Konzentrationen zeigte sich in der Kontrollgruppe eine signifikante Korrelation (p-

Wert: 0,03). Die Patienten mit Lungenkarzinom zeigten keine Korrelation (p-Wert: 0,28).

Bei Betrachtung der Korrelation der Leukozytenzahlen mit IGF-1 Werten zeigte sich in beiden Gruppen keine signifikante Korrelation (p-Wert Lungenkarzinom: 0,40; p-Wert Kontrollgruppe: 0,08).

Auch der Vergleich beider Gruppen mit der absoluten Anzahl der Lymphozyten ergab keine signifikante Korrelation (p-Wert Lungenkarzinom: 0,36; p-Wert Kontrollgruppe: 0,66).

Korrelation von IGF-1 im Pleuraerguss mit systemischer Inflammation			
	Gruppengröße (n)	Spearman Koeffizient	p-Wert
Patienten mit Lungenkarzinom			
Korrelation von IGF-1 im Erguss mit CRP	19	-0,26	0,28
Korrelation von IGF-1 im Erguss mit Leukozyten	19	-0,21	0,40
Korrelation von IGF-1 im Erguss mit Lymphozyten	17	0,24	0,36
Patienten der Kontrollgruppe			
Korrelation von IGF-1 im Erguss mit CRP	11	-0,68	0,03
Korrelation von IGF-1 im Erguss mit Leukozyten	11	-0,56	0,08
Korrelation von IGF-1 im Erguss mit Lymphozyten	8	-0,19	0,66

Tabelle 8 Korrelation von IGF-1 mit systemischer Inflammation

Korrelation von IGFBP-3 mit systemischer Inflammation

Es zeigte sich weder bei Patienten mit Lungenkarzinom noch bei Patienten der Kontrollgruppe eine signifikante Korrelation von IGFBP-3 im Pleuraerguss verglichen mit Höhe der CRP-Spiegel, die im Serum bestimmt wurden (Lungenkarzinom p-Wert: 0,16; Kontrollgruppe p-Wert: 0,23).

Eine signifikante Korrelation konnte auch in beiden Gruppen nicht im Vergleich zur Leukozytenzahl gefunden werden. (p-Wert Lungenkarzinom 0,47; p-Wert Kontrollgruppe: 0,96).

Sowohl in der Gruppe der Patienten mit Lungenkarzinom (p-Wert: 0,3), als auch in der Kontrollgruppe (p-Wert: 0,69), ergab sich im Vergleich mit den Zahlen der Lymphozyten keine signifikante Korrelation.

Korrelation von IGFBP-3 im Pleuraerguss mit systemischer Inflammation

	Gruppengröße (n)	Spearman Koeffizient	p-Wert
Patienten mit Lungenkarzinom			
Korrelation von IGFBP-3 im Erguss mit CRP	19	-0,33	0,16
Korrelation von IGFBP-3 im Erguss mit Leukozyten	19	-0,18	0,47
Korrelation von IGFBP-3 im Erguss mit Lymphozyten	17	0,26	0,30
Patienten der Kontrollgruppe			
Korrelation von IGFBP-3 im Erguss mit CRP	11	-0,4	0,23
Korrelation von IGFBP-3 im Erguss mit Leukozyten	11	-0,02	0,96
Korrelation von IGFBP-3 im Erguss mit Lymphozyten	8	-0,17	0,69

Tabelle 9 Korrelation von IGFBP-3 mit systemischer Inflammation

Korrelation von IL-6 mit systemischer Inflammation

Bei Untersuchung der Korrelation der CRP-Spiegel mit der Höhe der Werte von IL-6 im Pleuraerguss konnte weder im Kollektiv der Patienten mit Lungenkarzinom (p-Wert: 0,06), noch im Kollektiv der Patienten der Kontrollgruppe (p-Wert: 0,69), eine Signifikanz festgestellt werden.

Im Vergleich der Korrelation der Leukozytenzahlen im Serum mit Höhe der IL-6 Spiegel im Pleuraerguss zeigte sich in beiden Gruppen keine signifikante Korrelation (p-Wert Lungenkarzinom: 0,84; p-Wert Kontrollgruppe: 0,34).

Eine signifikante Korrelation konnte auch im Vergleich der Lymphozytenzahlen mit der IL-6 Konzentration im Erguss nicht festgestellt werden (p-Wert Lungenkarzinom: 0,79; p-Wert Kontrollgruppe: 0,93).

Korrelation von IL-6 im Pleuraerguss mit systemischer Inflammation

	Gruppengröße (n)	Spearman Koeffizient	p-Wert
Patienten mit Lungenkarzinom			
Korrelation von IL-6 im Erguss mit CRP	19	0,44	0,06
Korrelation von IL-6 im Erguss mit Leukozyten	19	-0,05	0,84
Korrelation von IL-6 im Erguss mit Lymphozyten	17	-0,07	0,79
Patienten der Kontrollgruppe			
Korrelation von IL-6 im Erguss mit CRP	11	0,14	0,69
Korrelation von IL-6 im Erguss mit Leukozyten	11	-0,32	0,34
Korrelation von IL-6 im Erguss mit Lymphozyten	8	0,05	0,93

Tabelle 10 Korrelation von IL-6 mit systemischer Inflammation

Korrelation von IL-8 mit systemischer Inflammation

Im Vergleich der IL-8 Werte im Pleuraerguss beider Gruppen mit der Höhe der CRP Werte im Serum zeigte sich keine signifikante Korrelation (p-Wert Lungenkarzinom: 0,07; p-Wert Kontrollgruppe: 0,36)

Bei Untersuchung des Zusammenhangs der Leukozytenzahlen mit der Höhe der IL-8 Konzentrationen zeigte sich weder in der Patientengruppe mit Lungenkarzinom (p-Wert: 0,79), noch in der Kontrollgruppe (p-Wert: 0,88) eine signifikante Korrelation.

Auch im Vergleich beider Gruppen mit dem absoluten Wert der Lymphozyten konnte in beiden Gruppen keine signifikante Korrelation festgestellt werden (p-Wert Lungenkarzinom: 0,57; p-Wert Kontrollgruppe: 0,93).

Korrelation von IL-8 im Pleuraerguss mit systemischer Inflammation

	Gruppengröße (n)	Spearman Koeffizient	p-Wert
Patienten mit Lungenkarzinom			
Korrelation von IL-8 im Erguss mit CRP	19	0,42	0,07
Korrelation von IL-8 im Erguss mit Leukozyten	19	-0,06	0,79
Korrelation von IL-8 im Erguss mit Lymphozyten	17	-0,15	0,57
Patienten der Kontrollgruppe			
Korrelation von IL-8 im Erguss mit CRP	11	0,31	0,36
Korrelation von IL-8 im Erguss mit Leukozyten	11	0,05	0,88
Korrelation von IL-8 im Erguss mit Lymphozyten	8	0,05	0,93

Tabelle 11 Korrelation von IL-8 mit systemischer Inflammation

Korrelation von TGF-β1 mit systemischer Inflammation

Es konnte festgestellt werden, dass im Vergleich der Korrelation der CRP Werte mit der Höhe der TGF-β1 Werte, eine signifikante Korrelation in der Gruppe der Patienten mit Lungenkarzinom (p-Wert: 0,04) auftritt, wohingegen die Kontrollgruppe keine signifikante Korrelation zeigt (p-Wert: 0,18).

In beiden Gruppen konnte im Vergleich der Leukozytenzahlen im Serum mit den TGF-β1 Werten im Pleuraerguss keine signifikante Korrelation gefunden werden (p-Wert Lungenkarzinom: 0,29; p-Wert Kontrollgruppe: 0,27).

Bei Betrachtung der Korrelation der Lymphozytenzahlen mit TGF-β1 Serumwerten, zeigte sich bei Patienten mit Lungenkarzinom eine deutliche Signifikanz (p-Wert: 0,01), die sich in der Kontrollgruppe nicht zeigte (p-Wert: 0,60).

Korrelation von TGF-β1 im Pleuraerguss mit systemischer Inflammation

	Gruppengröße (n)	Spearman Koeffizient	p-Wert
Patienten mit Lungenkarzinom			
Korrelation von TGF-β1 im Erguss mit CRP	19	0,48	0,04
Korrelation von TGF-β1 im Erguss mit Leukozyten	19	-0,26	0,29
Korrelation von TGF-β1 im Erguss mit Lymphozyten	17	-0,63	0,01
Patienten der Kontrollgruppe			
Korrelation von TGF-β1 im Erguss mit CRP	11	0,44	0,18
Korrelation von TGF-β1 im Erguss mit Leukozyten	11	0,36	0,27
Korrelation von TGF-β1 im Erguss mit Lymphozyten	8	0,13	0,60

Tabelle 12 Korrelation von TGF-β1 mit systemischer Inflammation

Korrelation von TGF-β2 mit systemischer Inflammation

Bei Untersuchung des Zusammenhangs der Höhe der CRP Werte im Serum mit der Höhe der TGF-β2 Konzentrationen im Pleuraerguss, zeigte sich weder in der Patientengruppe mit Lungenkarzinom (p-Wert: 0,23), noch in der Kontrollgruppe (p-Wert: 0,23) eine signifikante Korrelation.

Auch bei Betrachtung der Korrelation der Leukozytenzahlen mit den TGF-β2 Werten, zeigte sich in beiden Gruppen keine Signifikanz (p-Wert Lungenkarzinom: 0,07; p-Wert Kontrollgruppe: 0,80).

Bei Untersuchung des Zusammenhangs der Lymphozytenzahlen mit der Höhe der TGF-β2 Konzentrationen, zeigte sich weder in der Patientengruppe mit Lungenkarzinom (p-Wert: 0,70), noch in der Kontrollgruppe (p-Wert: 0,53) eine signifikante Korrelation.

Korrelation von TGF-β2 im Pleuraerguss mit systemischer Inflammation

	Gruppengröße (n)	Spearman Koeffizient	p-Wert
Patienten mit Lungenkarzinom			
Korrelation von TGF-β2 im Erguss mit CRP	19	0,29	0,23
Korrelation von TGF-β2 im Erguss mit Leukozyten	19	-0,43	0,07
Korrelation von TGF-β2 im Erguss mit Lymphozyten	17	-0,10	0,70
Patienten der Kontrollgruppe			
Korrelation von TGF-β2 im Erguss mit CRP	11	0,40	0,23
Korrelation von TGF-β2 im Erguss mit Leukozyten	11	0,09	0,80
Korrelation von TGF-β2 im Erguss mit Lymphozyten	8	0,27	0,53

Tabelle 13 Korrelation von TGF-β2 mit systemischer Inflammation

Korrelation von IL-22 mit systemischer Inflammation

Im Vergleich der IL-22 Werte im Pleuraerguss beider Gruppen mit der Höhe der CRP Werte im Serum zeigte sich keine signifikante Korrelation (p-Wert Lungenkarzinom: 0,19; p-Wert Kontrollgruppe: 0,84).

Es konnte festgestellt werden, dass im Vergleich der Korrelation der Leukozytenzahlen mit der Höhe der IL-22 Werte, eine signifikante Korrelation in der Gruppe der Patienten mit Lungenkarzinom (p-Wert: 0,04) auftritt, wohingegen die Kontrollgruppe keine signifikante Korrelation zeigt (p-Wert: 0,82).

Im Vergleich der absoluten Lymphozytenzahlen im Serum mit im Erguss bestimmten IL-8 Werten, zeigte sich weder in der Gruppe der Patienten mit Lungenkarzinom (p-Wert: 0,07), noch in der Kontrollgruppe (p-Wert: 0,36) eine signifikante Korrelation.

Korrelation von IL-22 im Pleuraerguss mit systemischer Inflammation			
	Gruppengröße (n)	Spearman Koeffizient	p-Wert
Patienten mit Lungenkarzinom			
Korrelation von IL-22 im Erguss mit CRP	19	0,43	0,19
Korrelation von IL-22 im Erguss mit Leukozyten	19	-0,47	0,04
Korrelation von IL-22 im Erguss mit Lymphozyten	17	-0,45	0,07
Patienten der Kontrollgruppe			
Korrelation von IL-22 im Erguss mit CRP	11	-0,05	0,84
Korrelation von IL-22 im Erguss mit Leukozyten	11	0,08	0,82
Korrelation von IL-22 im Erguss mit Lymphozyten	8	0,38	0,36

Tabelle 14 Korrelation von IL-22 mit systemischer Inflammation

5.4.3 Differenzierung des Pleurapunktats

Eine Unabhängigkeit zwischen der Ergussform (Exsudat/Transsudat) und der Diagnose des Lungenkarzinoms konnte nicht verworfen werden, sondern zeigte sich in einem schwachen Zusammenhang. Der Phi-Koeffizient zeigte mit einem Wert von 0,32 einen schwachen Zusammenhang der beiden Merkmale. Im Chi-Quadrat-Vierfeldertest konnte die Nullhypothese, dass sich die Art des Pleuraergusses unabhängig von der Diagnose eines Lungenkarzinoms zeigt, auf einem Signifikanzniveau von 0,05 nicht verworfen werden (Prüfwert: 0,1; Kritischer Wert: 3,84).

Differenzierung des Ergusses			
	Exsudat	Transsudat	
Lungenkarzinom	10	6	16
Kontrolle	3	7	10
	13	6	26

Tabelle 15 Ergussdifferenzierung des Patientenkollektivs

5.4.4 Differenzierung der Kontrollgruppe

Um einen möglichen Einfluss maligner Erkrankungen auf die Höhe der Zytokinspiegel auszuschliessen, verglichen wir die Wertlagen der Patienten der Kontrollgruppe untereinander. Die Patienten wurden anhand ihrer Diagnosen in zwei Gruppen aufgeteilt. Zum einen in eine Gruppe mit der Diagnose einer anderen malignen Erkrankung als dem Lungenkarzinom (n=4) und zum anderen in eine Gruppe ohne maligne Erkrankung (n=7). Sowohl die Werte im Serum als auch die Werte im Pleuraerguss wurden verglichen.

Im Vergleich der beiden Gruppen der Kontrollgruppe, zeigten sich keine signifikanten Unterschiede. Die Ergebnisse der einzelnen Zytokine sind in folgender Tabelle aufgeführt.

Differenzierung der Kontrollgruppe		
	Pleuraerguss p-Wert	Serum p-wert
CXCL5	0,78	1
TFF3	0,79	0,53
MMP-9	0,53	1
Angiogenin	0,79	0,07
VEGF	0,65	0,93
IGF-1	0,23	0,79
IGFBP-3	0,85	0,93
IL-6	0,32	0,79
IL-8	0,41	0,93
TGF- β 1	0,41	0,53
TGF- β 2	0,51	0,79
IL-22	1	1

Tabelle 16 Differenzierung der Kontrollgruppe

6 Diskussion

Mit der Studie sollte zum einen ein grundlegendes Verständnis über die Immunologie des Tumormilieus und zum anderen Kenntnisse über die unterschiedlichen Konzentrationen in lokalen Pleuraergussproben, verglichen mit peripheren Serumwerten, gewonnen werden. Dafür wurden 30 Patienten in die Studie aufgenommen, bei denen eine klinisch indizierte Pleurapunktion durchgeführt wurde. Von diesen 30 Patienten hatten 19 Patienten die Diagnose eines Lungenkarzinoms verschiedener Subtypen und 11 Patienten eine andere Diagnose, welche somit die Kontrollgruppe stellten. In einer Querschnittsstudie quantifizierten wir mittels ELISA-Untersuchungen 12 Zytokine, welche durch vorausgegangene Studienergebnisse und Literaturrecherchen vorselektiert wurden. Zum Abgleich der Zytokinwerte mit systemischen Inflammationssmarkern, verglichen wir die lokalen Zytokinexpressionen mit den systemischen Markern CRP, Leukozyten und Lymphozyten.

6.1 Zytokine

CXCL5

Erhöhte CXCL5 Serum Werte sind zum einen assoziiert mit einem erhöhten Risiko für die Entstehung eines Lungenkarzinoms, als auch, zusammen mit erhöhten Werten direkt im Tumorgewebe, assoziiert mit einem aggressiveren Charakter des Tumors und einem schlechteren Gesamtüberleben der Betroffenen (Shiels et al. 2013; Kongju et al. 2017). Bei Patienten mit NSCLC im Frühstadium stellte sich CXCL5 als statistisch signifikanter Prognosefaktor dar (Kowalczuk et al. 2014). Eine weitere Studie zeigte, dass erhöhte mRNA Spiegel in Gewebeproben sowohl mit der Tumorgröße, als auch der histologischen Differenzierung, in Zusammenhang stehen (Han et al. 2015).

Trotz deutlich höherem Mittelwert im Pleuraerguss der Gruppe der Patienten mit Lungenkarzinom zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen. Der höhere Mittelwert lässt sich durch die hohen Ausreißer in der Gruppe erklären und wird durch die Methodik des Whitney-Mann-U Test relativiert. Es konnte nicht, wie in der Literatur oft beschrieben, gezeigt werden, dass die Diagnose des Lungenkarzinoms mit erhöhten CXCL5 Spiegeln

assoziiert werden kann, weder in direkter Nähe des Tumors im Milieu des Pleuergusses noch peripher im Serum.

Die höheren Medianwerte beider Gruppen im Serum (Lungenkarzinom: 1183 pg/ml; 1185 pg/ml) im Vergleich zu den Werten im Pleuraerguss (Lungenkarzinom: 91 pg/ml; Kontrollgruppe: 38 pg/ml), wurden schon zuvor beschrieben (Liu et al. 2009). Signifikante Unterschiede ergaben sich jedoch nur in der Kontrollgruppe. Eine direkte Verstärkung der Expression, wie sie für CXCL5 in Phasen der Infektion durch Thrombozyten, Endothelzellen und auch Monozyten bekannt ist, könnte eine mögliche Erklärung für die erhöhten Serumwerte sein (Power et al. 1994; Imaizumi et al. 1997; Schnyder-Candrian und Walz 1997). Eine lokale Produktion im Pleuraerguss, wie sie von Liu et al. 2009 vermutet wurde, konnte nicht bestätigt werden.

Obwohl für CXCL5 eine maßgebliche Beteiligung an Schritten der Inflammation nachgewiesen und oft beschrieben ist, zeigte sich in dieser Studie zwar eine Korrelation lokal gemessener Werte mit Parametern systemischer Inflammation, jedoch nie signifikant unter dem zuvor gesetzten 5% Fehlerniveau (Mei et al. 2012; Jeyaseelan et al. 2004). CXCL5 scheint somit auch unter dem Einfluss lokaler Prozesse zu stehen und lässt mit den im Pleuraerguss gemessenen Werten kein direktes Abbild der systemischen Lage der Inflammation zu.

TFF3

Studien zeigen erhöhte Werte von TFF3 im Serum und Lungengewebe bei Patienten mit Lungenkarzinom im Vergleich zu Patienten aus einer Kontrollgruppe (Qu 2012). Erhöhte TFF3-Werte wurden in Proben von Patienten mit Adenokarzinom gefunden, nicht aber bei Patienten mit Plattenepithelkarzinom (Wang et al. 2015).

Im Zusammenhang mit der Pathogenese des Lungenkarzinoms existieren nur wenige Studien, die erhöhte Werte vor allem für den Subtyp des Adenokarzinoms beschreiben. Diese Werte wurden jedoch bisher auch nur in direkten Gewebeproben nachgewiesen (Qu 2012; Wang et al. 2015).

In der vorliegenden Studie konnten weder im Pleuraerguss (Median: 16113 pg/ml) noch im Serum (Median: 15328 pg/ml) von Patienten mit Lungenkarzinom erhöhte TFF3 Spiegel im Vergleich mit der Kontrollgruppe (Median Pleuraerguss:

16392 pg/ml; Median Serum: 17601 pg/ml) dargelegt werden. Dieses Ergebnis spiegelt sich auch teilweise in einer Studie von Davidson et al. wider, in der keine Überexpression von TFF3 in Pleuraergussproben von Patienten mit Adenokarzinom gefunden werden konnte (Davidson et al. 2012). Eine lokal erhöhte Produktion, im Kompartiment des Pleuraergusses, die man durch die Produktion, welche vor allem durch Muzin produzierende Zellen durchgeführt wird, erwarten könnte, konnte nicht dargestellt werden.

Es ergeben sich keine Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen TFF3 Spiegel in Pleuraerguss oder Serum und der Diagnose eines Lungenkarzinoms.

Als einziger Parameter der systemischen Inflammation zeigte sich in der Kontrollgruppe eine signifikante Korrelation (p-Wert: 0,02) der Lymphozyten mit TFF3 Werten, bei negativem Spearman Koeffizienten. Es gibt keine Literatur, die einen Zusammenhang der Höhe der Lymphozyten mit TFF3 Spiegel beschreibt und auch die Korrelation im Kollektiv der Kontrollgruppe lässt keinen Rückschluss auf einen Zusammenhang systemischer Inflammation mit TFF3 Spiegel bei Patienten mit Lungenkarzinom zu.

MMP-9

Anhand von A549 Zelllinien konnte eine ILK induzierte MMP-9 Expression bei Patienten mit NSCLC nachgewiesen werden, die Zell Migration und Invasion triggerte (Zhao et al. 2013). In bronchoskopisch entnommenem Lungengewebe zeigte sich sowohl eine erhöhte MMP-9 Expression als auch erhöhte MMP-9 Aktivität in Serum und Lungengewebe bei Patienten mit NSCLC/SCLC. Je fortgeschrittener das Stadium der Tumorerkrankung war, desto höher waren auch die nachgewiesenen MMP-9 Werte (El-Badrawy et al. 2014).

Zur Höhe der MMP-9 Spiegel in malignem Pleuraerguss finden sich in der Literatur verschiedene Aussagen. Fiorelli et al. fanden bei Patienten mit Lungenkarzinom signifikant höhere MMP-9 Spiegel im Vergleich zu Proben aus benignen Pleuraergüssen (1200 ng/ml vs. 171 ng/ml; $p < 0,0001$) (Fiorelli et al. 2013). MMP-9 Level im Pleuraerguss scheinen trotz relativ erhöhten Werten aber auch kein prädiktiver Marker für maligne Neoplasien zu sein, legen aber die lokale Produktion von MMP-9 nahe (Hurewitz et al. 1992). Auch signifikant niedrigere MMP-9 Spiegel im Pleuraerguss von Patienten mit Lungenkarzinom

verglichen mit Patienten einer benignen Kontrollgruppe wurden schon beschrieben (Kremer et al. 2010).

Es konnten in dieser Studie zwar erhöhte Mittelwerte von 572 ng/ml im Pleuraerguss der Patienten mit Lungenkarzinom im Vergleich zur Kontrollgruppe mit 299 ng/ml nachgewiesen werden, so zeigt sich aber die geringe Aussagekraft dieser Zahlen, wenn man die Medianwerte betrachtet, die der Kontrollgruppe einen höheren Median von 68 ng/ml im Vergleich zu 22 ng/ml zusagen. Im Serum zeigen sich sowohl Mittelwert als auch Median in der Kontrollgruppe höher als die Werte der Patienten mit Lungenkarzinom.

Bezogen auf die Diagnose Lungenkarzinom, konnten keine signifikanten Aussagen getroffen werden, doch zeigen die niedrigeren Werte den Median betrachtend, eher eine Bestätigung der Ergebnisse von Kremer et al. Eine lokale Produktion von MMP-9 widerlegten die Ergebnisse unserer Untersuchung, die für beide Gruppen (p-Wert: 0,002 & p-Wert 0,03) signifikant höhere Werte im Serum, als im Pleuraerguss fanden. Dieser Unterschied lässt eine MMP-9 Diffusion aus dem Serum wahrscheinlicher erscheinen, als eine lokale Produktion durch dort vorhandene Zellpopulation.

Eine vorhandene Korrelation der Leukozyten mit MMP-9 Werten (p-Wert 0,02) und positivem Spearman Index von 0,69 in der Kontrollgruppe, lässt einen möglich Rückschluss zu, dass MMP-9 Werte im lokalen Milieu als Abbild der systemischen Inflammation wirken könnte. Aufgrund mangelnder weiterer Studien und fehlender Korrelation der Lymphozyten und dem CRP-Wert, sollte man dieses Ergebnis klinisch bei Bedarf in weiteren Studien festigen.

Angiogenin

Im Lungenkondensat von Patienten mit NSCLC wurde eine erhöhte Angiogeninkonzentration gemessen (Gessner et al. 2007). Eine Studie konnte zwar keine Korrelation zwischen den Angiogeninkonzentrationen in Serum und BAL feststellen, aber eine Korrelation der Angiogeninlevel im Vergleich der BAL der beiden Lungenseiten darstellen (Gesund vs. Krank) (Rozman et al. 2012). Die Zellproliferation und Angiogenese wurden in Zellen des Adenokarzinoms durch Angiogenin beeinflusst (Yuan et al. 2009).

Aufgrund der anti-apoptotischen und gleichzeitig Angiogenese und Zellproliferation fördernden Wirkung von Angiogenin und fehlender Datenlage bezüglich Angiogeninlevel im Pleuraerguss bei Patienten mit und ohne Lungenkarzinom, sollte die Datenlage durch die durchgeführten ELISA Untersuchungen erweitert werden (Gao und Xu 2008; Sadagopan et al. 2012). Es ergaben sich jedoch keine statistisch signifikanten Unterschiede oder erhöhte Werte in beiden Gruppen. Auf diesen Daten aufbauend, lässt sich keine prädiktiv sinnvolle Nutzung von Angiogenin als Tumormarker herleiten.

Auf das lokale Milieu des Tumors bezogen, scheint sich keine lokale Produktion oder erhöhte Konzentration von Angiogenin darzustellen, da beide Gruppen im direkten Vergleich der Serum Werte mit den Werten des Pleuraergusses höhere Werte im Serum zeigten (p-Wert: 0,001 & p-Wert 0,0004). Eine wie von Yuan et al. beschriebene Beeinflussung der Zellproliferation und Angiogenese scheint somit zumindest nicht mit lokal erhöhten Werten im Erguss einherzugehen, bzw. stellen diese Beeinflussung eher in Frage.

Es zeigte sich für Angiogenin keine relevante Korrelation mit Parametern der systemischen Inflammation. Dies lässt Angiogeninwerte als Abbild der direkten Einflüsse der Prozesse im Erguss wahrscheinlicher erscheinen, als eine Beeinflussung der Angiogenin Werte im Erguss durch systemische Inflammation.

VEGF

Es zeigten sich lokal erhöhte Werte von VEGF in BAL bei Patienten mit Lungenkarzinom und auch eine positive Korrelation von VEGF-Serumwerten mit Tumorgröße und Metastasierung (Rozman et al. 2012). Einige VEGF-Polymorphismen zeigen eine Assoziation mit einem erhöhten Risiko für Lungenkrebs (Lin et al. 2013). Die Höhe der VEGF mRNA und Protein Expression korreliert mit der medianen Überlebenszeit (Ang Yuan et al. 2000).

Eine Vielzahl an Studien belegt den Einfluss von VEGF auf die Entstehung eines Pleuraergusses. VEGF scheint durch die Erhöhung der Gefäßpermeabilität einen wichtigen Beitrag zu leisten und kann biologisch aktiv im Pleuraerguss Tumorwachstum und Chemotaxis unterstützen. Der VEGF Subtyp VEGF-A wird von Tumorzellen des Lungenkarzinoms sekretiert und scheint ein Induktor für die Entstehung eines Ergusses zu sein (Grove und Lee 2002; Hoeben 2004;

Haruhiko et al. 2004; Bradshaw et al. 2013). Sowohl die genau Rolle von VEGF in der biologischen Achse als auch die Pathogenese des malignen Pleuraergusses ist aber noch unbekannt und bedarf weiterer Forschung (ECONOMIDOU et al. 2010).

Erhöhte VEGF Werte im malignen Pleuraerguss oder Exsudat wurden schon des öfteren beschrieben. Eine Metaanalyse von 20 Studien die über einen Zeitraum von 15 Jahren erhoben wurden zeigte, dass die VEGF-Level im Erguss und Serum bei einem Großteil der Patienten mit malignen Pleuraerguss im Gegensatz zum Patientenkollektiv mit benignem Pleuraerguss erhöht waren (Eleftheria et al. 2016). Erhöhte VEGF-Werte in Erguss und Serum verglichen mit Serum- bzw. Transsudatproben gesunder Probanden, fanden sich statistisch signifikant ($P < 0.001$ and $P < 0.0001$) auch bei Hamed et al. (Hamed et al. 2004). Mit der Frage, ob VEGF als Marker für weitere invasivere diagnostische Schritte verwendet kann, beschäftigten sich Fiorelli et al. Auch sie konnten belegen, dass VEGF im malignen Erguss signifikant höher ist als in benignem Erguss ($p=0,005$). Es bestand jedoch kein signifikanter Unterschied in der Ursache des Ergusses, im Vergleich von Lungenkarzinom zu Mesotheliom und/oder extra thorakalen Ursachen (Fiorelli et al. 2011).

Die Untersuchung der Wertlagen ergab auch in unserer Studie sowohl einen erhöhten Mittelwert (6687 pg/ml vs. 4178 pg/ml), als auch einen erhöhten Median (2920 pg/ml vs. 518) bei Patienten mit Lungenkarzinom im direkten Vergleich der Werte im Pleuraerguss. Eine statistische Signifikanz ergab sich aber nicht (p -Wert: 0,56), weswegen unsere Studie eine Beteiligung von VEGF an der Entstehung eines malignen Pleuraergusses weiterhin bestärkt, aber keine statistisch signifikant verwendbaren Ergebnisse beitragen kann.

Die gemessenen Werte im Serum zeigten weder im Mittelwert noch im Median starke Abweichungen und lassen im Gegensatz zur bisherigen Datenlage keine Vermutung einer systemischen Wirkung von VEGF zu.

Eine vermutete lokale Produktion von Tumorzellen des Lungenkarzinoms, wie sie auch von Haruhiko et al. beschrieben wurde, zeigte sich auch in den Auswertungen unserer Datenlagen. Die lokalen Werte im Pleuraerguss von Patienten mit Lungenkarzinom (Mittelwert: 6687 pg/ml; Median: 2920 pg/ml)

zeigten sich statistisch signifikant erhöht (p-Wert: 0,01), verglichen mit den zugehörigen Serum Werten der Patienten mit Lungenkarzinom (Mittelwert: 554 pg/ml; Median: 366 pg/ml). Dieses Ergebnis bestärkt die bisherigen Untersuchungen, die eine Beteiligung von VEGF an der Entstehung eines malignen Pleuraergusses vermuten. Eine lokale Produktion durch Zellen des Lungenkarzinoms erscheint wahrscheinlich, da sich der Unterschied in der Kontrollgruppe nicht signifikant zeigte (p-Wert: 0,40). Weitere Studien zur genauen Pathomechanik der Entstehung eines malignen Pleuraergusses und die Beeinflussung durch lokale VEGF-Spiegel stellen sich als vielversprechendes Ziel dar.

Trotz einer Korrelation der Lymphozytenzahl mit der VEGF Konzentration im Pleuraerguss der Kontrollgruppe, lässt sich bei fehlender Korrelation vom CRP und der Gesamtzahl der Leukozyten kein direkter Zusammenhang zwischen systemischer Inflammationslage und den lokalen Werten von VEGF erkennen.

IGF-1

Eine erhöhte IGF-1-Produktion ist bei Patienten mit NSCLC mit geringerer Gesamtüberlebenszeit verbunden und zeigt sich besonders häufig bei Patienten mit einer EGFR-Mutation. Patienten mit SCLC zeigen oft eine vermehrte Proteinexpression von IGF-1R und erhöhte Anzahl an IGF-1R Kopien. Auch im Serum zeigen Patienten mit Lungenkarzinom (NSCLC & SCLC) erhöhte IGF-1 Werte, sowohl vor als auch nach Chemotherapie (Badzio et al. 2010; Kim et al. 2014; Izycki T et al. 2004).

Die Bestimmung von IGF-1 im Pleuraerguss bei Patienten mit Lungenkarzinom wurde bisher noch nicht forciert durchgeführt. Es existieren Daten, welche erhöhte IGF-1 Werte im Erguss von Patienten mit soliden Tumoren im Vergleich zum Pleuraerguss von Patienten mit Transsudat und im Vergleich zum Pleuraerguss von Patienten mit zugrundeliegender Infektion, zeigen. Eine differenzierte Auswertung bezüglich der Wertlagen der einzelnen Typen der soliden Tumoren erfolgte nicht (Olchovsky et al. 2002).

Wir konnten in unserer Studie einen signifikanten Unterschied der IGF-1 Level im Pleuraerguss von Patienten mit Lungenkarzinom verglichen mit der Kontrollgruppe zeigen (p-Wert: 0,02). Neben einem erhöhten Mittelwert (45 ng/ml

vs. 19 ng/ml), zeigte das Kollektiv der Patienten mit Lungenkarzinom auch einen erhöhten Medianwert (45 ng/ml vs. 17 ng/ml). Die signifikant höhere Konzentration von IGF-1 im Pleuraerguss könnte ein diagnostisch wichtiges Entscheidungskriterium bei der Beurteilung der Malignität eines Pleuraergusses werden.

Im Serum zeigten sich im direkten Vergleich keine signifikanten Unterschiede, vergleicht man jedoch die IGF-1 Werte im Serum mit den Werten im Pleuraerguss, so ergeben sich sowohl für die Patientengruppe mit Lungenkarzinom, als auch für die Kontrollgruppe signifikant höhere Werte im Serum (p-Wert: 0,0001 & p-Wert: 0,0006). Eine Erklärung für diese Unterschiede lässt sich im Hauptproduktionsort der Leber finden, von dem aus IGF-1 zum Teil seine Wirkorte über die Blutbahn erreicht und dort per Diffusion mit dem IGF-1-R interagiert. Die zusätzlich lokal erhöhten IGF-1 Werte im Erguss der Patienten mit Lungenkarzinom, lassen vermuten, dass eine lokale Produktion, von zum Beispiel bronchialen Epithelzellen oder direkt Zellen des Tumors, das lokale Milieu beeinflussen (Zhang et al. 1999). Um diese Beobachtungen weiter zu vertiefen sollten weitere Studien die die Immunologie der Tumorzellen und/oder bronchialen Epithelzellen untersuchen, forciert werden.

Es zeigte sich keine signifikante Korrelation mit Parametern systemischer Inflammation. Auf diesen Ergebnissen aufbauend, wurde der Einfluss eines zentralen Zustandes der Inflammation auf die Höhe der lokal gemessenen IGF-1 Werte ausgeschlossen.

IGFBP-3

Bei hypermethylierten IGFBP-3 Promoter wurden eine statistisch signifikant geringere Gesamtüberlebenszeit, Krankheitsfreiheit und 5 Jahres-Überlebensrate bei Patienten mit NSCLC im Stadium I beobachtet. Eine erhöhte IGFBP-3 Serumkonzentration zeigte sich bei Patienten mit NSCLC und Knochenmetastasen im Vergleich zu Patienten mit NSCLC ohne Knochenmetastasen. Eine positive Korrelation der IGFBP-3 Serumkonzentration mit der VEGF Serumkonzentration besteht ebenfalls (Chang et al. 2002; Lu et al. 2015).

In unserer Studie konnte weder in Proben des Pleuraergusses noch im Serum ein signifikanter Unterschied (p-Wert: 0,75 & p-Wert: 0,15) zwischen der Gruppe mit Lungenkarzinom und der Kontrollgruppe gefunden werden. Die deutlich erhöhten Werte im Serum, verglichen mit den Werten im Erguss, erklären sich durch die Funktion des IGFBP-3, welches im Serum frei zirkulierendes IGF-1 bindet. Es kann also davon ausgegangen werden, dass IGFBP-3 bezüglich der Diagnostik des Lungenkarzinoms und dem Verständnis des immunologischen Milieus keine hohe Aussagekraft besitzt.

Mit Parametern der systemischen Inflammation zeigte sich keine Korrelation und somit ergab sich kein Hinweis auf den Einfluss der Parameter auf die IGFBP-3 Werte.

IL-6

Erhöhte IL-6 Werte wurden in Gewebeproben bei Patienten mit NSCLC gefunden, die sich bei Patienten mit Plattenepithelkarzinom höher zeigten als bei Patienten mit Adenokarzinom. Auch eine autokrine Tumorexpression von IL-6 bei Patienten mit NSCLC konnte nachgewiesen werden und eröffnet Fragen bezüglich der Pathogenese des Tumors (Song et al. 2014; Haura EB et al. 2006). Eine IL-6/JAK-Kinase Blockade führt beim Adenokarzinom zu einem verringerten Tumorwachstum (Gao et al. 2007). Eine autokrine IL-6-Produktion von Zellen des Adenokarzinoms kann zu einer Stat3 Aktivierung führen, welche mit darauffolgender VEGF-Hochregulierung eine Ursache für die Entstehung eines malignen Pleuraergusses sein könnte (Yeh et al. 2006).

Lokal konnten in einer Studie erhöhte Werte von IL-6 und VEGF im Pleurapunktat bei Patienten mit Adenokarzinom, im Vergleich zu einer tumorfreien Kontrollgruppe, gezeigt werden. (Yeh et al. 2006). Unsere Ergebnisse, die weder im Pleuraerguss (p-Wert: 0,25), noch im Serum (p-Wert: 1,00), signifikante Unterschiede zwischen beiden Gruppen darstellten, decken sich mit Ergebnissen von Da-Wei et al., welche für IL-6 Werte keinen signifikanten Unterschied (p-Wert: 0,586) zwischen malignem und benignem Erguss fanden (Da-Wei et al. 2017).

IL-6 zeigte sich sowohl im Pleuraerguss als auch im Serum bei beiden Gruppen erhöht, im Vergleich zu Normalwerten im Serum, die um die 1 pg/ml liegen. Im

Vergleich der Ergussproben mit Serumproben, wurden hochsignifikante Unterschiede zwischen beiden Kompartimenten gefunden (p-Wert: 0,0000005 & p-Wert: 0,00009). Die lokalen IL-6 Werte im Pleuraerguss waren deutlich erhöht. Eine mögliche Erklärung findet sich in der kurzen Halbwertszeit von IL-6 im Serum, die nur wenige Minuten beträgt. Das zirkulierende IL-6 wird durch Leber und Niere ausgeschieden. Dieser fehlende Abbauprozess und eine mögliche parakrine Sekretion von IL-6 im Milieu des Pleuraergusses, sowohl bei Patienten mit Lungenkarzinom als auch in der Kontrollgruppe, könnten ein möglicher Ansatzpunkt für das Verständnis der unterschiedlichen Höhen in beiden Kompartimenten sein.

Trotz der bekannten Aktivität von IL-6 im Rahmen einer Entzündungsreaktion, stellte sich in vorliegender Studie keine signifikante Korrelation mit den ausgewählten Parametern einer systemischen Inflammation dar. Eine mögliche Erklärung könnte sich in lokalen Prozessen finden, die einen Einfluss auf die Höhe der IL-6-Spiegel im Erguss haben und sich in unserer Studie in beiden Gruppen als signifikant unterschiedlich gezeigt haben.

IL-8

Erhöhte IL-8 Serumspiegel sind assoziiert mit NSCLC und einem erhöhten Risiko, ein Lungenkarzinom zu entwickeln (Pine et al. 2011). In Gewebeproben zeigte sich bei Patienten mit NSCLC ein verkürztes Überleben, sowie erhöhte IL-8 Spiegel, bei Invasion des Tumors von Pleura und Gefäßen. Eine Assoziation von hohen IL-8 Spiegeln und KRAS Mutation, im Vergleich zu Proben mit EGFR Mutation oder Wildtyp, konnte auch nachgewiesen werden (Sunaga et al. 2014). Die IL-8 Produktion durch NSCLC Zellen erfolgt über den „EGFR-PI3K-Akt-Erk“ Signalweg (Zhang et al. 2012).

Messungen von IL-8-Konzentrationen im Pleuraerguss, sind bisher vor allem dafür genutzt worden, um zwischen Ex- und Transsudat zu unterscheiden oder den Erguss einer infektiösen Ursache zuordnen zu können. So zeigten sich signifikant höhere IL-8 Spiegel (p-Wert: 0,001) in Exsudaten, welche mit Proben aus Transsudaten verglichen wurden (Zaki und Ashour 2007). Eine weitere Studie ergab signifikant niedrigere IL-8 Spiegel in malignen Ergüssen, verglichen mit Ergüssen infektiöser Ursache. In der Gruppe der malignen Ergüsse erfolgte

keine Differenzierung zwischen den Tumorursprüngen (Ceyhan et al. 1996). Im Vergleich zu Ceyhan et al., stellte unsere Studie im Pleuraerguss der Patienten mit Lungenkarzinom einen höheren Mittelwert (4810 pg/ml vs. 3426 pg/ml) und einen höheren Median (997 pg/ml vs. 817 pg/ml) dar. Für diesen Unterschied ergab sich jedoch keine statistische Signifikanz auf dem 5% Niveau.

Die gefundenen Werte im Serum ergaben im Vergleich der Gruppen untereinander, keinen statistisch signifikanten Unterschied.

Beide Gruppen zeigten im direkten Vergleich beider Kompartimente signifikant höhere IL-8 Konzentrationen im Pleuraerguss, im Vergleich mit Werten im Serum (p-Wert: 0,0000003 & p-Wert: 0,000003). Für viele weitere Erkrankungen, wie Psoriasis Vulgaris oder auch Endometriose ist eine lokale Wirkung von IL-8 beschrieben. Diese spezifische lokale Wirkung von IL-8, wie sie auch bei uns gefunden wurde, wird zum einen durch eine autokrine IL-8 Sekretion und zum anderen durch eine effektive und schnelle Bindung von frei zirkulierendem IL-8 im Serum begründet (Arici 2002; Bickel 1993; Sticherling et al. 1999).

Auch für IL-8 konnte keine signifikante Korrelation mit systemischen Entzündungsparametern, wie CRP, Leukozyten und Lymphozyten gefunden werden.

TGF- β 1

Bei Patienten mit Lungenkarzinom zeigen sich erhöhte Serumwerte, sowie erhöhte TGF- β 1 Werte in BAL-Proben. In diesen BAL-Proben zeigte sich auch eine signifikante Korrelation zwischen TGF- β 1 und IL-6 (Hou et al. 2013; Chen et al. 2014). In Gewebeproben zeigte sich eine höhere Expression von TGF- β 1 in Proben des minimal invasiven Adenokarzinoms, verglichen mit einem Adenokarzinom in situ (Imai et al. 2013).

Durch die aus unserer Arbeit hervorgegangenen Ergebnisse zeigt sich, dass mit TGF- β 1 keine Unterscheidung zwischen einem Erguss, bedingt durch ein Lungenkarzinom oder durch eine andere Ursache bedingt, vorgenommen werden kann. Auch im Serum konnten keine statistisch signifikanten Ergebnisse festgestellt werden, die zu einem besseren Verständnis der Unterschiede der Expression bei Patienten mit oder ohne Lungenkarzinom beigetragen hätten.

Die untersuchten Wertlagen ergaben statistisch hoch signifikante Unterschiede der TGF- β 1 Werte im Serum, verglichen mit Werten im Pleuraerguss (p-Wert 0,00000002 & p-Wert: 0,000003). Die Konzentrationen im Serum zeigten sich in der Gruppe der Patienten mit Lungenkarzinom (Median: 23309 pg/ml) und ohne Lungenkarzinom (Median: 23309 pg/ml) erhöht im direkten Vergleich mit Werten des Pleuraergusses (Median: 2371 pg/ml & Median: 2278 pg/ml). Die Ergebnisse lassen den Rückschluss zu, dass die TGF- β 1 Konzentrationen im Pleuraerguss vor allem durch Diffusion und nicht durch lokale Produktion zu Stande kommen.

Da sich eine signifikante positive Korrelation mit den CRP-Werten und auch der Zahl der Lymphozyten mit der Höhe der TGF- β 1 Werte darstellte, könnten diese Ergebnisse zu weiteren Studien anregen, die das Abbild der systemischen Inflammation in lokalen TGF- β 1 Spiegeln untersuchen. Eine zweiteilige Wirkung von TGF- β 1 im Bezug auf eine systemische und lokale Wirkung wurde schon in Studien beschrieben und steht unserem Ergebnis kritisch gegenüber (Wahl 2007).

TGF- β 2

Das Ausschalten von TGF- β 1 und/oder TGF- β 2 bewirkte in Zellkulturen des Lungenkarzinoms eine Unterdrückung des Tumorzellwachstums (Horie et al. 2014).

Eine damals noch unbekannte Datenlage für eine TGF- β 2 Konzentration im Pleuraerguss liess eine offene Herangehensweise an die Ergebnisse der Untersuchungen zu. Eine erhöhte gesamt TGF- β Aktivität wurde jedoch schon in malignen Ergüssen gefunden, die durch ein Mesotheliom verursacht wurden (Maeda et al. 1994). Es zeigten sich jedoch im direkten Vergleich beider Gruppen, weder im Pleuraerguss noch im Serum, signifikante Unterschiede.

Ein signifikanter Unterschied fiel jedoch im Vergleich der peripher gewonnenen Werte im Serum, verglichen mit lokalen Werten im Pleuraerguss auf. Die Gruppe der Patienten mit Lungenkarzinom zeigte hier signifikant höhere Werte im Pleuraerguss, als im Serum (p-Wert: 0,001). In der Kontrollgruppe zeigte sich dieser Unterschied nicht. Dieser signifikante Unterschied zwischen beiden Kompartimenten, legt eine lokale Produktion von TGF- β 2 im Milieu des Lungenkarzinoms nahe. Die von uns gefundenen Ergebnisse sollten in weiteren

Studien verifiziert werden, mit einem besonderen Augenmerk auf mögliche TGF- β 2 produzierenden Zellen in der Lunge und/oder im Pleuraerguss, da auch hierzu noch keine passende Literatur existiert. Unsere Ergebnisse legen eine direkte Produktion der Tumorzellen, zusätzlich zu systemisch zirkulierenden TGF- β 2 Konzentrationen, nahe.

Eine Korrelation mit Werten der systemischen Inflammation konnte nicht festgestellt werden.

IL-22

Bei Patienten mit Lungenkarzinom konnte eine Hochregulierung von Anti-Apoptotischen Signalwegen (STAT3/ERK), bei gleichzeitig hoher Expression von IL-22 in Gewebeproben, Pleurapunktat und Serum, gefunden werden (Zhang et al. 2008). Eine vermehrte IL-22/IL-22R Expression zeigte sich mit Wachstumspromotion bei Patienten mit chemosensiblen Lungenkarzinom (Kobold et al. 2013). Auch eine höhere Anzahl gewisser Polymorphismen des IL-22 Gens korrelieren mit Progression des NSCLC und dem Plasma Level von IL-22 (Liu et al. 2014). In BAL-Proben zeigten sich bei Patienten mit Lungenkarzinom, im Vergleich zu Kontrollgruppen, erhöhte Level von IL-22 (Tufman et al. 2016).

Seit der Entdeckung von IL-22 vor etwas mehr als 15 Jahren, konnten erhöhte IL-22 Spiegel und Aktivitäten mit einigen Karzinomarten, wie Kolonkarzinom, Magenkarzinom und Leberkarzinom assoziiert werden (Mirna et al. 2016). Die Bestimmung von IL-22 in malignen Pleuraergüssen ergab in Studien erniedrigte Werte von IL-22 im Pleuraerguss, verglichen mit Ergüssen, die bakteriell oder durch Tuberkulose bedingt waren, sowie verglichen mit Transsudaten (DI et al. 2011; Cao et al. 2016).

Bei Betrachtung unserer Ergebnisse, die die Diagnose des Lungenkarzinoms als Unterscheidungscharakter der Ergüsse herangezogen hat, zeigten sich zwar sowohl im Pleuraerguss als auch im Serum niedrigere Werte in der Gruppe der Patienten mit Lungenkarzinom, diese Unterschiede waren jedoch nicht signifikant.

Obwohl der Zusammenhang der IL-22 Spiegel mit der Karzinogenese einiger Tumorarten, wie auch dem Lungenkarzinom, in Studien gezeigt wurde, so

scheinen IL-22 Spiegel bei Patienten im Pleuraerguss und Serum keine signifikante Aussagekraft zu besitzen, um zu einem genaueren Verständnis des Tumormilieus beizutragen oder als prädiktiver Tumormarker zu wirken.

In der Untersuchung des Zusammenhangs lokaler IL-22 Spiegel mit Wertlagen systemischer Inflammation, konnte eine signifikante Korrelation mit negativen Spearman Koeffizienten für die Gruppe der Leukozyten gefunden werden. Dieses Ergebnis zeigt viel mehr die teilweise bestehenden anti-inflammatorische Fähigkeit des IL-22, als ein Abbild der systemischen Inflammation im lokalen Tumormilieu (Ivanov et al. 2013).

6.2 Differenzierung des Pleuraergusses

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen einen schwachen Zusammenhang zwischen dem Vorliegen eines Exsudats und der Diagnose des Lungenkarzinoms. Jedoch kann keine signifikante Zuordnung getroffen werden, da die pathophysiologische Beschaffenheit des Ergussmaterials zum Beispiel auch von anderen malignen Erkrankungen beeinflusst werden kann. Um eine differenzierte Aussage über den Zusammenhang von Exsudat und dem Lungenkarzinom treffen zu können, sollte eine größere Population untersucht werden und unter Umständen eine erweiterte Differenzierung des Punkts durch zum Beispiel die Light Kriterien durchgeführt werden. Eine Assoziation zwischen den beiden Faktoren Exsudat und der Diagnose des Lungenkarzinoms konnte durch unsere Studie bekräftigt werden.

6.3 Methodische Schwierigkeiten

Die durchgeführte Querschnittsstudie, mit einer Gesamtanzahl von 30 eingeschlossenen Patienten, ist aufgrund der niedrigen Zahl in ihrer Aussagekraft eher schwach und würde zur weiteren Validierung, vor allem der auffälligen Ergebnisse, eine Erweiterung des Patientenkollektivs und differenziertere Untersuchung der auffälligen Marker benötigen. Durch eine homogenere Kontrollgruppe bezüglich der Ätiologie des Pleuraergusses könnte in zukünftigen Studien eine verbesserte Vergleichbarkeit erreicht werden.

Ein grundlegendes Verständnis bezüglich der Immunologie und lokalen Verteilung, wie es als Ziel der Arbeit gesetzt wurde, konnte aber trotz der geringen Anzahl erbracht werden.

Eine Ursache für die breite Streuung der Zytokinwerte lässt sich vermutlich in den speziellen Eigenschaften der Zytokine finden. Oft werden diese lokal sezerniert, an verschiedenen Rezeptoren gebunden, lokal verstoffwechselt und besitzen durch diese Eigenschaften eine kurze Halbwertszeit. Die durchgeführte Studie zeigt als Querschnittsmodell nur eine Momentaufnahme und erlaubt keinen Rückschluss oder prospektive Aussagen auf den Verlauf der Konzentrationen während der Krankheit oder Einflüsse verschiedener Therapieschemata auf das immunologische Milieu des Tumors.

7 Zusammenfassung

Die Therapie des Lungenkarzinoms entwickelte sich in den letzten Jahren schnell und hat neben Operation, Chemotherapie und Bestrahlung eine vierte Säule der Therapiemöglichkeiten entwickelt, die Immuntherapie mit Immun-Checkpoint-Inhibitoren. Welchen Stellenwert Immuntherapien bei der Behandlung tragen und in Zukunft tragen werden, zeigt die Vergabe des Nobelpreises im Jahr 2018, welcher für die Entdeckung der Therapie mit Immun-Checkpoint-Inhibitoren vergeben wurde. Trotzdem spricht auch heute noch nicht jedes Lungenkarzinom gut oder langfristig auf die verschiedenen Therapieansätze an. Die Gründe dafür sind auch weiterhin unklar, eine Interaktion mit dem Immunsystem könnte eine mögliche Ursache sein. Ziel der durchgeführten Studie war es, anhand von Zytokinexpressionsprofilen, die Biologie und Immunologie des Lungenkarzinoms besser zu verstehen.

Hierfür wurden Pleuraerguss- und Serumproben von 30 Patienten am Klinikum der Universität München, in Form einer Querschnittsstudie, untersucht. Das Patientenkollektiv wurde in eine Gruppe mit der Diagnose Lungenkarzinom (n=19) und eine Kontrollgruppe ohne Lungenkarzinom (n=11) aufgeteilt. Bei allen Patienten, wurden 12 Zytokinkonzentrationen mittels ELISA im Pleuraerguss und Serum gemessen, sowie die lokalen Zytokinspiegel mit Werten der systemischen Inflammation im Serum verglichen.

Es zeigten sich im Vergleich der Werte im Pleuraerguss signifikant höhere IGF-1 Werte (p-Wert: 0,02) bei Patienten mit Lungenkarzinom im Vergleich zur Kontrollgruppe. Für VEGF ergab sich im Vergleich der Kompartimente Pleuraerguss und Serum ein signifikanter Unterschied (p-Wert: 0,01) in der Gruppe der Patienten mit Lungenkarzinom, mit höheren VEGF Konzentrationen im Pleuraerguss. Auch TGF- β 2 zeigte im Kollektiv der Patienten mit Lungenkarzinom im Vergleich der Kompartimente höhere Werte (p-Wert: 0,001) im Pleuraerguss, verglichen mit im Serum bestimmten Werten.

Ein direktes Abbild systemischer Inflammation in den lokal gemessenen Zytokinspiegeln, konnte für keines der Zytokine mit überzeugender Aussagekraft gefunden werden und lässt den Rückschluss auf eine lokale Beeinflussung der Zytokinexpression im Tumormilieu zu. Nur für TGF- β 1 stellte sich in der Gruppe mit Lungenkarzinom eine positive Korrelation mit zwei der drei Parameter (CRP &

Lymphozyten) dar. IL-22 zeigte bei Patienten mit Lungenkarzinom eine negative Korrelation mit der Anzahl der Leukozyten.

Die in dieser Studie gewonnenen Erkenntnisse könnten sich von diagnostischer Relevanz zeigen und eröffnen neue Ansatzmöglichkeiten für Therapiestrategien des malignen Pleuraergusses bei Patienten mit Lungenkarzinom. Ein langfristiges Ziel sollte es sein, durch ein besseres Verständnis des immunologischen Tumormilieus, lokale Zytokinexpressionen in die Diagnostik und/oder weiterführende Therapieentscheidung mit einzubeziehen. Hierfür sind weiterführende Studien wünschenswert, die eine größere Fallzahl beinhalten und beispielsweise lokale Zytokinexpressionen anhand von Zellmodellen untersuchen.

8 Literaturverzeichnis

Ang Yuan; Chong-Jen Yu; Wen-Jone Chen; Fang-Yue Lin; Sow-Hsong Kuo; Kwen-Tay Luh; Pan-Chyr Yang (2000): Correlation of total VEGF mRNA and protein expression with histologic type, tumor angiogenesis, patient survival and timing of relapse in non-small-cell lung cancer. In: *International Journal of Cancer* 89 (6), S. 475–483.

Arici, Aydin (2002): Local cytokines in endometrial tissue: the role of interleukin-8 in the pathogenesis of endometriosis. In: *Annals of the New York Academy of Sciences* 955, S. 101-9; discussion 118, 396-406.

Arnaldez, Fernanda I.; Helman, Lee J. (2012): Targeting the Insulin Growth Factor Receptor 1. In: *Hematology/Oncology Clinics of North America* 26 (3), S. 527–542. DOI: 10.1016/j.hoc.2012.01.004.

Arriagada, Rodrigo; Bergman, Bengt; Dunant, Ariane; Le Chevalier, Thierry; Pignon, Jean-Pierre; Vansteenkiste, Johan (2004): Cisplatin-based adjuvant chemotherapy in patients with completely resected non-small-cell lung cancer. In: *The New England journal of medicine* 350 (4), S. 351–360. DOI: 10.1056/NEJMoa031644.

Auerbach, Oscar; Garfinkel, Lawrence (1991): The changing pattern of lung carcinoma. In: *American Cancer Society* 68.

Badzio, Andrzej; Wynes, Murry W.; Dziadziuszko, Rafal; Merrick, Daniel T.; Pardo, Marta; Rzyman, Witold et al. (2010): Increased Insulin-Like Growth Factor 1 Receptor Protein Expression and Gene Copy Number in Small Cell Lung Cancer. In: *Journal of Thoracic Oncology* 5 (12), S. 1905–1911. DOI: 10.1097/JTO.0b013e3181f38f57.

Balkwill, Frances R.; Capasso, Melania; Hagemann, Thorsten (2012): The tumor microenvironment at a glance. In: *J Cell Sci* 125 (23), S. 5591–5596. DOI: 10.1242/jcs.116392.

Beatty, Gregory L.; Gladney, Whitney L. (2015): Immune escape mechanisms as a guide for cancer immunotherapy. In: *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* 21 (4), S. 687–692. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-14-1860.

Bickel, M. (1993): The role of interleukin-8 in inflammation and mechanisms of regulation. In: *Journal of periodontology* 64 (5 Suppl), S. 456–460.

- Bradshaw, Michael; Mansfield, Aaron; Peikert, Tobias (2013): The Role of Vascular Endothelial Growth Factor in the Pathogenesis, Diagnosis and Treatment of Malignant Pleural Effusion. In: *Current oncology reports* 15 (3), S. 207. DOI: 10.1007/s11912-013-0315-7.
- Brat, D. J. (2005): The role of interleukin-8 and its receptors in gliomagenesis and tumoral angiogenesis. In: *Neuro-Oncology* 7 (2), S. 122–133. DOI: 10.1215/S1152851704001061.
- Brenner, D. J. (2004): Radiation risks potentially associated with low-dose CT screening of adult smokers for lung cancer. In: *Radiology*. 231 (2), S. 440–445.
- Cao, T. Z.; Du, R. H.; Lian, Z.; Jin, W.; Qiu, M. (2016): Interleukin-20 and interleukin-22 in pleural effusion. In: *Zhonghua jie he he hu xi za zhi = Zhonghua jiehe he huxi zazhi = Chinese journal of tuberculosis and respiratory diseases* 39 (8), S. 608–611. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-0939.2016.08.012.
- Ceyhan, B. B.; Ozgun, S.; Celikel, T.; Yalcin, M.; Koc, M. (1996): IL-8 in pleural effusion. In: *Respiratory medicine* 90 (4), S. 215–221.
- Chang, Yoon Soo; Wang, Luo; Liu, Diane; Mao, Li; Hong, Waun Ki; Khuri, Fadlo R.; Lee, Ho-Young (2002): Correlation between Insulin-like Growth Factor-binding Protein-3 Promoter Methylation and Prognosis of Patients with Stage I Non-Small Cell Lung Cancer. In: *Clin Cancer Res* 8 (12), S. 3669–3675. Online verfügbar unter <http://clincancerres.aacrjournals.org/content/8/12/3669.full>.
- Charloux, Anne; Quoix, Elisabeth (2017): Lung segmentectomy: does it offer a real functional benefit over lobectomy? In: *European Respiratory Review* 26 (146), S. 170079. DOI: 10.1183/16000617.0079-2017.
- Chen, Zhongbo; Xu, Zhiwei; Sun, Shifang; Yu, Yiming; Lv, Dan; Cao, Chao; Deng, Zaichun (2014): TGF- β 1, IL-6, and TNF- α in Bronchoalveolar Lavage Fluid. Useful Markers for Lung Cancer? In: *Sci. Rep.* 4. DOI: 10.1038/srep05595.
- Davidson, Ben; Stavnes, Helene Tuft; Risberg, Björn; Nesland, Jahn M.; Wohlschlaeger, Jeremias; Yang, Yanqin et al. (2012): Gene expression signatures differentiate adenocarcinoma of lung and breast origin in effusions. In: *Human Pathology* 43 (5), S. 684–694. DOI: 10.1016/j.humpath.2011.06.015.

Da-Wei, Wu; Wei-An, Chang; Kuan-Ting, Liu; Meng-Chi, Yen; Po-Lin, Kuo (2017): Vascular endothelial growth factor and protein level in pleural effusion for differentiating malignant from benign pleural effusion. In: *Oncology Letters* 14 (3), S. 3657. DOI: 10.3892/ol.2017.6631.

Deepak; Pralhad Patil; Gopal, Chandra Kundu (2006): MMP9 (matrix metalloproteinase 9 (gelatinase B, 92kDa gelatinase, 92kDa type IV collagenase)). Online verfügbar unter <http://atlasgeneticsoncology.org/Genes/MMP9ID41408ch20q11.html>.

DI, jin.; YING, CHEN; ZHENGYUN, WANG; SIWEI, WANG; HANSVIN, BUNJHOO; JING, Z. H.U. et al. (2011): Diagnostic value of interleukin 22 and carcinoembryonic antigen in tuberculous and malignant pleural effusions. In: *Experimental and Therapeutic Medicine* 2 (6), S. 1205. DOI: 10.3892/etm.2011.344.

ECONOMIDOU, FOTEINI; MARGARITOPOULOS, GEORGE; ANTONIOU, KATERINA M.; SIAFAKAS, NIKOLAOS M. (2010): The angiogenic pathway in malignant pleural effusions: Pathogenetic and therapeutic implications. In: *Experimental and Therapeutic Medicine* 1 (1), S. 3. DOI: 10.3892/etm_00000001.

El-Badrawy, Mohamed K.; Yousef, Aida M.; Shaalan, Dalia; Elsamanoudy, Ayman Z. (2014): Matrix Metalloproteinase-9 Expression in Lung Cancer Patients and Its Relation to Serum MMP-9 Activity, Pathologic Type, and Prognosis. In: *Journal of Bronchology & Interventional Pulmonology* 21 (4), S. 327–334. DOI: 10.1097/LBR.0000000000000094.

Eleftheria, Fafliora; Chrissi, Hatzoglou; Konstantinos, Gourgouljanis; Sotirios, Zarogiannis (2016): Systematic review and meta-analysis of vascular endothelial growth factor as a biomarker for malignant pleural effusions. In: *Physiological Reports* 4 (24). DOI: 10.14814/phy2.12978.

Fasano, Morena; Della Corte, Carminia Maria; Papaccio, Federica; Ciardiello, Fortunato; Morgillo, Floriana (2015): Pulmonary Large-Cell Neuroendocrine Carcinoma: From Epidemiology to Therapy. In: *Journal of Thoracic Oncology* 10 (8), S. 1133–1141. DOI: 10.1097/JTO.0000000000000589.

Fiorelli, Alfonso; Morgillo, Floriana; Fasano, Morena; Vicidomini, Giovanni; Di Giuseppe Crescenzo, Vincenzo; Di Domenico, Marina et al. (2013): The value of matrix metalloproteinase-9 and vascular endothelial growth factor receptor 1 pathway in

diagnosing indeterminate pleural effusion. In: *Interactive Cardiovascular and Thoracic Surgery* 16 (3), S. 263. DOI: 10.1093/icvts/ivs466.

Fiorelli, Alfonso; Vicidomini, Giovanni; Di Domenico, Marina; Napolitano, Filomena; Messina, Gaetana; Morgillo, Floriana et al. (2011): Vascular endothelial growth factor in pleural fluid for differential diagnosis of benign and malignant origin and its clinical applications. In: *Interact CardioVasc Thorac Surg* 12 (3), S. 420–424. DOI: 10.1510/icvts.2010.250357.

Fisher, Daniel T.; Appenheimer, Michelle M.; Evans, Sharon S. (2014): The two faces of IL-6 in the tumor microenvironment. In: *Seminars in Immunology* 26 (1), S. 38–47. DOI: 10.1016/j.smim.2014.01.008.

Gahr, S.; Stoehr, R.; Geissinger, E.; Ficker, J. H.; Brueckl, W. M.; Gschwendtner, A. et al. (2013): EGFR mutational status in a large series of Caucasian European NSCLC patients: data from daily practice. In: *British Journal of Cancer* 109 (7), S. 1821–1828. DOI: 10.1038/bjc.2013.511.

Gandhi, Leena; Rodríguez-Abreu, Delvys; Gadgeel, Shirish; Esteban, Emilio; Felip, Enriqueta; Angelis, Flávia de et al. (2018): Pembrolizumab plus Chemotherapy in Metastatic Non-Small-Cell Lung Cancer. In: *The New England journal of medicine* 378 (22), S. 2078–2092. DOI: 10.1056/NEJMoa1801005.

Gao, Sizhi Paul; Mark, Kevin G.; Leslie, Kenneth; Pao, William; Motoi, Noriko; Gerald, William L. et al. (2007): Mutations in the EGFR kinase domain mediate STAT3 activation via IL-6 production in human lung adenocarcinomas. In: *J. Clin. Invest.* 117 (12), S. 3846–3856. DOI: 10.1172/JCI31871.

Gao, Xiangwei; Xu, Zhengping (2008): Mechanisms of action of angiogenin. In: *Acta Biochimica et Biophysica Sinica* 40 (7), S. 619–624. DOI: 10.1111/j.1745-7270.2008.00442.x.

Gessner, C.; Rechner, B.; Koker, J.; Kuhn, H.; Hammerschmidt, S.; Sack, U.; Wirtz, H. (2007): Erhöhte Konzentrationen von VEGF, bFGF und Angiogenin im Atemkondensat bei Patienten mit einem nicht-kleinzelligen Lungenkarzinom (NSCLC). In: *Pneumologie* 61 (01). DOI: 10.1055/s-2007-967219.

Giuntoli, Robert L. 2nd; Webb, Tonya J.; Zoso, Alessia; Rogers, Ophelia; Diaz-Montes, Teresa P.; Bristow, Robert E.; Oelke, Mathias (2009): Ovarian cancer-associated

ascites demonstrates altered immune environment: implications for antitumor immunity. In: *Anticancer research* 29 (8), S. 2875–2884.

Goeckenjan, G.; Sitter, H.; Thomas, M.; Branscheid, D.; Flentje, M.; Griesinger, F. et al. (2010): Prevention, diagnosis, therapy, and follow-up of lung cancer. In: *Pneumologie (Stuttgart, Germany)* 64 Suppl 2, S. e1-164. DOI: 10.1055/s-0029-1243837.

Grove, Carolyn S.; Lee, Y.c. Gary (2002): Vascular endothelial growth factor: the key mediator in pleural effusion formation. In: *Current Opinion in Pulmonary Medicine* 8 (4), S. 294–301.

Gutierrez, Antonio; Suh, Robert; Abtin, Fereidoun; Genshaft, Scott; Brown, Kathleen (2013): Lung Cancer Screening. In: *Semin intervent Radiol* 30 (02), S. 114–120. DOI: 10.1055/s-0033-1342951.

Ha, Keong Jun; Yun, Jae Kwang; Lee, Geun Dong; Cho, Won Chul; Choi, Se Hoon; Kim, Hyeong Ryul et al. (2018): Surgical Outcomes of Radiographically Noninvasive Lung Adenocarcinoma according to Surgical Strategy: Wedge Resection, Segmentectomy, and Lobectomy. In: *The Korean Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 51 (6), S. 376–383. DOI: 10.5090/kjtcs.2018.51.6.376.

Haas, Andrew; Serman, Daniel; Musani, Ali (2007): Malignant Pleural Effusions: Management Options With Consideration of Coding, Billing, and a Decision Approach. In: *Chest* 132 (3), S. 1036–1041. DOI: 10.1378/chest.06-1757.

Hamed, Enas A.; El-Noweihi, Amira M.; Mohamed, Ashraf Z.; Mahmoud, Azza (2004): Vasoactive mediators (VEGF and TNF- α) in patients with malignant and tuberculous pleural effusions. In: *Respirology* 9 (1), S. 81–86. DOI: 10.1111/j.1440-1843.2003.00529.x.

Han, Na; Yuan, Xun; Wu, Hua; Xu, Hanxiao; Chu, Qian; Guo, Mingzhou et al. (2015): DACH1 inhibits lung adenocarcinoma invasion and tumor growth by repressing CXCL5 signaling. In: *Oncotarget* 6 (8), S. 5877–5888. DOI: 10.18632/oncotarget.3463.

Hanahan, Douglas; Bergers, Gabriele; Brekken, Rolf; McMahon, Gerald; Vu, Thiennu H.; Itoh, Takeshi et al. (2000): Matrix metalloproteinase-9 triggers the angiogenic switch during carcinogenesis. In: *Nat. Cell Biol.* 2 (10), S. 737–744. DOI: 10.1038/35036374.

Haruhiko, Ishii; Takuya, Yazawa; Hanako, Sato; Takehisa, Suzuki; Masaichi, Ikeda; Yasufumi, Hayashi et al. (2004): Enhancement of pleural dissemination and lymph node metastasis of intrathoracic lung cancer cells by vascular endothelial growth factors (VEGFs). In: *Lung Cancer* 45 (3), S. 325–337. DOI: 10.1016/j.lungcan.2004.02.021.

Haslett, Kate; Pottgen, Christoph; Stuschke, Martin; Faivre-Finn, Corinne (2014): Hyperfractionated and accelerated radiotherapy in non-small cell lung cancer. In: *Journal of thoracic disease* 6 (4), S. 328–335. DOI: 10.3978/j.issn.2072-1439.2013.11.06.

Haura EB; Livingston S; Coppola D (2006): Autocrine interleukin-6/interleukin-6 receptor stimulation in non-small-cell lung cancer. In: *Clinical Lung Cancer* 7 (4), S. 273–275.

Heffner, John E.; Klein, Jeffrey S. (2008): Recent Advances in the Diagnosis and Management of Malignant Pleural Effusions. In: *Mayo Clinic Proceedings* 83 (2), S. 235–250. DOI: 10.4065/83.2.235.

Heldin, Carl-Henrik; Landström, Maréne; Moustakas, Aristidis (2009): Mechanism of TGF-beta signaling to growth arrest, apoptosis, and epithelial-mesenchymal transition. In: *Current opinion in cell biology* 21 (2), S. 166–176. DOI: 10.1016/j.ceb.2009.01.021.

Held-Warmkessel, Jeanne; Schiech, Linda (2008): Caring for a patient with malignant pleural effusion. In: *Nursing* 38 (11), S. 43–47. DOI: 10.1097/01.NURSE.0000341079.53082.b1.

Henschke CI; Yankelevitz DF; Libby DM; Pasmantier MW; Smith JP; Miettinen OS; International Early Lung Cancer Action Program Investigators (2006): Survival of Patients with Stage I Lung Cancer Detected on CT Screening. In: *N Engl J Med* 355 (17), S. 1763–1771. DOI: 10.1056/NEJMoa060476.

Herold, Gerd (Hg.) (2014): Innere Medizin. Unter Mitarbeit von Gerd und Mitarbeiter Herold. Köln.

HICKS, Rodney J.; LAU, Eddie; ALAM, Naveed Z.; CHEN, Robert Y. (2007): Imaging in the diagnosis and treatment of non-small cell lung cancer. In: *Respirology* 12 (2), S. 165–172. DOI: 10.1111/j.1440-1843.2006.01012.x.

Hiroshima, Kenzo; Mino-Kenudson, Mari (2017): Update on large cell neuroendocrine carcinoma. In: *Translational Lung Cancer Research* 6 (5), S. 530–539. DOI: 10.21037/tlcr.2017.06.12.

Hoeben, A. (2004): Vascular Endothelial Growth Factor and Angiogenesis. In: *Pharmacological Reviews* 56 (4), S. 549–580. DOI: 10.1124/pr.56.4.3.

Holländer, Georg A. (Hg.) (2006): Immunologie. Grundlagen für Klinik und Praxis. Unter Mitarbeit von T. Barthlott, M. P. Keller, W. Kuhn, W. Krenger und L. Piali. München, Jena: Elsevier-Urban & Fischer (188).

Hoop, Bartjan de; Schaefer-Prokop, Cornelia; Gietema, Hester A.; Jong, Pim A. de; van Ginneken, Bram; van Klaveren, Rob J.; Prokop, Mathias (2010): Screening for Lung Cancer with Digital Chest Radiography. Sensitivity and Number of Secondary Work-up CT Examinations 1. In: *Radiology* 255 (2), S. 629–637. DOI: 10.1148/radiol.09091308.

Horie, Masafumi; Saito, Akira; Noguchi, Satoshi; Yamaguchi, Yoko; Ohshima, Mitsuhiro; Morishita, Yasuyuki et al. (2014): Differential knockdown of TGF- β ligands in a three-dimensional co-culture tumor- stromal interaction model of lung cancer. In: *BMC cancer* 14, S. 580. DOI: 10.1186/1471-2407-14-580.

Horn, Leora; Spigel, David R.; Vokes, Everett E.; Holgado, Esther; Ready, Neal; Steins, Martin et al. (2017): Nivolumab Versus Docetaxel in Previously Treated Patients With Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer: Two-Year Outcomes From Two Randomized, Open-Label, Phase III Trials (CheckMate 017 and CheckMate 057). In: *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 35 (35), S. 3924–3933. DOI: 10.1200/JCO.2017.74.3062.

Hou, Yu-Lei; Chen, Hui; Dong, Zi-He; Xue, Cheng-Jun; Wu, Yan-Feng; Luo, Hai-Xia et al. (2013): Clinical significance of serum transforming growth factor- β 1 in lung cancer. In: *Cancer Epidemiology* 37 (5), S. 750–753. DOI: 10.1016/j.canep.2013.04.013.

Howlander N; Noone AM; Krapcho M; Garshell J; Miller D; Altekruse SF et al. (2015): SEER Cancer Statistics Review, 1975-2012. Hg. v. National Cancer Institute. Bethesda, MD.

Hui, R.; Garon, E. B.; Goldman, J. W.; Leighl, N. B.; Hellmann, M. D.; Patnaik, A. et al. (2017): Pembrolizumab as first-line therapy for patients with PD-L1-positive advanced non-small cell lung cancer: a phase 1 trial. In: *Annals of oncology : official journal of*

the European Society for Medical Oncology 28 (4), S. 874–881. DOI: 10.1093/annonc/mdx008.

Hurewitz, Adam; Zucker, Stanley; Mancuso, Paul; Wu, Chien; Dimassimo, Betty; Lysik, Rita; Moutsiakis, Demetrius (1992): Human Pleural Effusions Are Rich in Matrix Metalloproteinases. In: *Chest* 102 (6), S. 1808–1814. DOI: 10.1378/chest.102.6.1808.

Hussain, S. Perwez; Harris, Curtis C. (2007): Inflammation and cancer: An ancient link with novel potentials. In: *International Journal of Cancer* 121 (11), S. 2373–2380. DOI: 10.1002/ijc.23173.

Imai, Kazuhiro; Minamiya, Yoshihiro; Goto, Akiteru; Nanjo, Hiroshi; Saito, Hajime; Motoyama, Satoru et al. (2013): Bronchioloalveolar invasion in non-small cell lung cancer is associated with expression of transforming growth factor- β 1. In: *World J Surg Onc* 11 (1), S. 113. DOI: 10.1186/1477-7819-11-113.

Imaizumi, T.; Albertine, K. H.; Jicha, D. L.; McIntyre, T. M.; Prescott, S. M.; Zimmerman, G. A. (1997): Human endothelial cells synthesize ENA-78: relationship to IL-8 and to signaling of PMN adhesion. In: *American journal of respiratory cell and molecular biology* 17 (2), S. 181–192. DOI: 10.1165/ajrcmb.17.2.2818.

Ivanov, Stoyan; Rennesson, Joelle; Fontaine, Josette; Barthelemy, Adeline; Paget, Christoph; Fernandez, Elodie et al. (2013): Interleukin-22 Reduces Lung Inflammation during Influenza A Virus Infection and Protects against Secondary Bacterial Infection. In: *Journal of Virology* 87 (12), S. 6911. DOI: 10.1128/JVI.02943-12.

Izycki T; Chyczewska E; Naumnik W; Talalaj J; Panek B; Ossolinska M (2004): Serum levels of IGF-I and IGF-II in patients with lung cancer during chemotherapy. In: *Experimental oncology* 26 (4), S. 316–319.

Jemal, Ahmedin; Bray, Freddie; Center, Melissa M.; Ferlay, Jacques; Ward, Elizabeth; Forman, David (2011): Global cancer statistics. In: *CA: A Cancer Journal for Clinicians* 61 (2), S. 69–90. DOI: 10.3322/caac.20107.

Jeyaseelan, S.; Chu, H. W.; Young, S. K.; Worthen, G. S. (2004): Transcriptional Profiling of Lipopolysaccharide-Induced Acute Lung Injury. In: *Infection and Immunity* 72 (12), S. 7247–7256. DOI: 10.1128/IAI.72.12.7247-7256.2004.

Jeyaseelan, Samithamby; Manzer, Rizwan; Young, Scott K.; Yamamoto, Masahiro; Akira, Shizuo; Mason, Robert J.; Worthen, G. Scott (2005): Induction of CXCL5 During

Inflammation in the Rodent Lung Involves Activation of Alveolar Epithelium. In: *Am J Respir Cell Mol Biol* 32 (6), S. 531–539. DOI: 10.1165/rcmb.2005-0063OC.

Jogie-Brahim, Sherryline; Feldman, David; Oh, Youngman (2009): Unraveling Insulin-Like Growth Factor Binding Protein-3 Actions in Human Disease. In: *Endocrine Reviews* 30 (5), S. 417–437. DOI: 10.1210/er.2008-0028.

Johnston, William W. (1985): The malignant pleural effusion. A review of cytopathologic diagnoses of 584 specimens from 472 consecutive patients. In: *American Cancer Society* 56 (4), S. 905–909.

Kajdaniuk, Dariusz; Marek, Bogdan; Borgiel-Marek, Halina; Kos-Kudła, Beata (2013): Transforming growth factor beta1 (TGFbeta1) in physiology and pathology. In: *Endokrynologia Polska* 64 (5), S. 384–396. DOI: 10.5603/EP.2013.0022.

Kim, Jin-Soo; Kim, Edward S.; Liu, Diane; Lee, J. Jack; Solis, Luisa; Behrens, Carmen et al. (2014): Prognostic Implications of Tumoral Expression of Insulin Like Growth Factors 1 and 2 in Patients With Non–Small-Cell Lung Cancer. In: *Clinical Lung Cancer* 15 (3), S. 213–221. DOI: 10.1016/j.clcc.2013.12.006.

Kjellev, S. (2008): The trefoil factor family – small peptides with multiple functionalities. In: *Cell. Mol. Life Sci.* 66 (8), S. 1350–1369. DOI: 10.1007/s00018-008-8646-5.

Kobold, Sebastian; Völk, Stefanie; Clauditz, Till; Küpper, Natascha Jennifer; Minner, Sarah; Tufman, Amanda et al. (2013): Interleukin-22 Is Frequently Expressed in Small- and Large-Cell Lung Cancer and Promotes Growth in Chemotherapy-Resistant Cancer Cells. In: *Journal of Thoracic Oncology* 8 (8), S. 1032–1042. DOI: 10.1097/JTO.0b013e31829923c8.

KOJI KISHIMOTO; SHOKO YOSHIDA; SOICHIRO IBARAGI; NORIE YOSHIOKA; GUO-FU HU; AKIRA SASAKI (2014): Neamine Inhibits Oral Cancer Progression by Suppressing Angiogenin-mediated Angiogenesis and Cancer Cell Proliferation. In: *Anticancer Res.*, S. 2113–2121.

Koltsova, Ekaterina K.; Ley, Klaus (2010): The Mysterious Ways of the Chemokine CXCL5. In: *Immunity* 33 (1), S. 7–9. DOI: 10.1016/j.immuni.2010.07.012.

Kongju, Wu; Kongming, Wu; Qian, Liu; Shengnan, Yu; Xianguang, Bai; Xinhua, Zheng (2017): The clinical significance of CXCL5 in non-small cell lung cancer. In: *OncoTargets and therapy* 10, S. 5561. DOI: 10.2147/OTT.S148772.

Koning, H.; van der Aalst, C.; Haaf, K. ten; et. al. (2018): Effects of volume CT lung cancer screening: Mortality results of the NELSON randomized-controlled population based trial. In: *World Conference on Lung Cancer* (Abstract PL02.05).

Kowalczyk, Oksana; Burzykowski, Tomasz; Niklinska, Wieslawa Ewa; Kozlowski, Mirosław; Chyczewski, Lech; Niklinski, Jacek (2014): CXCL5 as a potential novel prognostic factor in early stage non-small cell lung cancer. Results of a study of expression levels of 23 genes. In: *Tumor Biol.* 35 (5), S. 4619–4628. DOI: 10.1007/s13277-014-1605-x.

Kremer, R.; Best, L.; Savulescu, D.; Gavish, M.; Nagler, R. (2010): Pleural fluid analysis of lung cancer vs benign inflammatory disease patients. In: *British Journal of Cancer* 102 (7), S. 1180. DOI: 10.1038/sj.bjc.6605607.

Länger, Florian; Lehmann, Ulrich; Kreipe, Han; Heigener, David; Weichert, Wilko; Wellmann, Axel (2016): Nicht-kleinzelliges Lungenkarzinom: Wandel und Möglichkeiten der molekularen Diagnostik. In: *Deutsches Arzteblatt International* (1). DOI: 10.3238/PersPneumo.2016.02.26.02.

Lann, Danielle; LeRoith, Derek (2008): The Role of Endocrine Insulin-Like Growth Factor-I and Insulin in Breast Cancer. In: *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia* 13 (4), S. 371. DOI: 10.1007/s10911-008-9100-x.

LAUREN G. COLLINS; CHRISTOPHER HAINES; ROBERT PERKEL; ROBERT E. ENCK (2007): Lung Cancer: Diagnosis and Management. In: *Am Fam Physician* 75 (1), S. 56–63.

Light, R. W. (2013): Pleural Diseases. In: *Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia* (6th Edition).

Lin, Ling; Cao, Kejian; Chen, Wenhui; Pan, Xufeng; Zhao, Heng; Ahmad, Shama (2013): Four Common Vascular Endothelial Growth Factor Polymorphisms (rs2578C>A, rs460C>T, +936C>T, and +405G>C) in Susceptibility to Lung Cancer. A Meta-Analysis. In: *PLoS ONE* 8 (10), S. e75123. DOI: 10.1371/journal.pone.0075123.

Lippitz, Bodo E. (2013): Cytokine patterns in patients with cancer. A systematic review. In: *The Lancet Oncology* 14 (6), S. e218-e228. DOI: 10.1016/S1470-2045(12)70582-X.

Liu, Fei; Pan, Xufeng; Zhou, Lin; Zhou, Jian; Chen, Bin; Shi, Jianxin et al. (2014): Genetic Polymorphisms and Plasma Levels of Interleukin-22 Contribute to the Development of Nonsmall Cell Lung Cancer. In: *DNA and Cell Biology* 33 (10), S. 705–714. DOI: 10.1089/dna.2014.2432.

Liu, G-N.; Shi, H-Z.; Xie, Z-H.; Shen, H-H.; Huang, H-Q.; Deng, J-M. et al. (2009): Epithelial neutrophil-activating peptide-78 recruits neutrophils into pleural effusion. In: *European Respiratory Journal* 34 (1), S. 184–190. DOI: 10.1183/09031936.00111908.

Lu, Shun; sun, yingjia; ai, xinghao; shen, shengping; gu, liping (2015): Detection and correlation analysis of serum cytokines in non-small-cell lung cancer patients with bone and non-bone metastases. In: *PPA*, S. 1165. DOI: 10.2147/PPA.S86605.

Lu, T.; Burdelya, L. G.; Swiatkowski, S. M.; Boiko, A. D.; Howe, P. H.; Stark, G. R.; Gudkov, A. V. (2004): Secreted transforming growth factor 2 activates NF- κ B, blocks apoptosis, and is essential for the survival of some tumor cells. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences* 101 (18), S. 7112–7117. DOI: 10.1073/pnas.0402048101.

Madame Curie Bioscience Database (Hg.) (2000-2013): Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and Its Role in Non-Endothelial Cells: Autocrine Signalling by VEGF. Unter Mitarbeit von Angela M. Duffy, David J. Bouchier-Hayes und Judith H. Harmey: Landes Bioscience.

Maeda, J.; Ueki, N.; Ohkawa, T.; Iwahashi, N.; Nakano, T.; Hada, T.; Higashino, K. (1994): Transforming growth factor-beta 1 (TGF-beta 1)- and beta 2-like activities in malignant pleural effusions caused by malignant mesothelioma or primary lung cancer. In: *Clinical and Experimental Immunology* 98 (2), S. 319.

Manser, Renée; Lethaby, Anne; Irving, Louis B.; Stone, Christine; Byrnes, Graham; Abramson, Michael J.; Campbell, Don: Screening for lung cancer. In: Cochrane Database of Systematic Reviews.

Masters, Gergory A.; Temin, Sarah; Azzoli, Christopher G.; Giaccone, Giuseppe; Baker Jr, Sherman; Brahmer, Julie et al. (2015): Systemic Therapy for Stage IV Non–Small-Cell Lung Cancer: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline Update. In: *Journal of Clinical Oncology* 33 (30), S. 3488. DOI: 10.1200/JCO.2015.62.1342.

McAleer, Jeremy; Kolls, Jay (2014): Directing traffic: IL-17 and IL-22 coordinate pulmonary immune defense. In: *Immunological reviews* 260 (1), S. 129. DOI: 10.1111/imr.12183.

McMahon, Pamela M.; Kong, Chung Yin; Bouzan, Colleen; Weinstein, Milton C.; Cipriano, Lauren E.; Tramontano, Angela C. et al. (2011): Cost-Effectiveness of Computed Tomography Screening for Lung Cancer in the United States. In: *Journal of Thoracic Oncology* 6 (11), S. 1841–1848. DOI: 10.1097/JTO.0b013e31822e59b3.

Medford, A. (2005): Pleural effusion. In: *Postgraduate Medical Journal* 81 (961), S. 702–710. DOI: 10.1136/pgmj.2005.035352.

Mei, Junjie; Liu, Yuhong; Dai, Ning; Hoffmann, Christian; Hudock, Kristin; Zhang, Peggy et al. (2012): Cxcr2 and Cxcl5 regulate the IL-17/G-CSF axis and neutrophil homeostasis in mice. In: *The Journal of Clinical Investigation* 122 (3), S. 974. DOI: 10.1172/JCI60588.

Merimee, Thomas J.; Zvi Laron (Hg.) (2006): Growth hormone, IGF-I and growth : new views of old concepts / Thomas J. Merimee and Zvi Laron ; with contributions from D. LeRoith, J.S. Parks and J. Zapf. Unter Mitarbeit von Thomas J. Merimee und Zvi Laron. 4. Aufl. London: Freund Publishing House (Modern endocrinology and diabetes).

Miksitis, K.; Hahn, H. (2004): Basiswissen medizinische Mikrobiologie und Infektiologie. 3. Aufl. Berlin-Heidelberg-New York: Springer.

Mirna, Perusina Lanfranca; Yanwei, Lin; Jingyuan, Fang; Weiping, Zou; Timothy, Frankel (2016): Biological and Pathological Activities of Interleukin-22. In: *Journal of molecular medicine (Berlin, Germany)* 94 (5), S. 523. DOI: 10.1007/s00109-016-1391-6.

Muduly, D. K.; Subi, T. S.; Shukla, N. K.; Deo, S. V.S.; Kallianpur, A. A. (2011): An update in the management of malignant pleural effusion. In: *Indian J Palliat Care* 17 (2), S. 98. DOI: 10.4103/0973-1075.84529.

Mühl, Heiko; Scheiermann, Patrick; Bachmann, Malte; Härdle, Lorena; Heinrichs, Anika; Pfeilschifter, Josef (2013): IL-22 in tissue-protective therapy. In: *Br J Pharmacol* 169 (4), S. 761–771. DOI: 10.1111/bph.12196.

Muscat, J. E.; Stellman, S. D.; Zhang, Z. F.; Neugut, A. I.; Wynder, E. L. (1997): Cigarette smoking and large cell carcinoma of the lung. In: *Cancer Epidemiol*

Biomarkers Prev 6 (7), S. 477–480. Online verfügbar unter <http://cebp.aacrjournals.org/content/6/7/477.full.pdf>.

National Lung Screening Trial Research Team (2011): Reduced Lung-Cancer Mortality with Low-Dose Computed Tomographic Screening. In: *The New England journal of medicine* 365 (5), S. 395–409. DOI: 10.1056/NEJMoa1102873.

Natsuizaka, Mitsuteru; Kinugasa, Hideaki; Kagawa, Shingo; Kelly A Whelan, Seiji Naganuma, Harry Subramanian, Sanders Chang, Kei J Nakagawa, Naryan L Rustgi, Yoshiaki Kita, Shoji Natsugoe, Devraj Basu, Phyllis A Gimotty, Andres J Klein-Szanto, J Alan Diehl, Hiroshi Nakagawa (2014): IGFBP3 promotes esophageal cancer growth by suppressing oxidative stress in hypoxic tumor microenvironment. In: *American Journal of Cancer Research* 4 (1), S. 29.

Nawa T; Nakagawa T; Kusano S; Kawasaki Y; Sugawara Y; Nakata H (2002): Lung cancer screening using low-dose spiral CT: results of baseline and 1-year follow-up studies. In: *Chest*. 122 (1), S. 15–20.

Neragi-Miandoab, Siyamek (2006): Malignant pleural effusion, current and evolving approaches for its diagnosis and management. In: *Lung cancer (Amsterdam, Netherlands)* 54 (1), S. 1–9. DOI: 10.1016/j.lungcan.2006.04.016.

Ng, Marie; Freeman, Michael K.; Fleming, Thomas D.; Robinson, Margaret; Dwyer-Lindgren, Laura; Thomson, Blake et al. (2014): Smoking Prevalence and Cigarette Consumption in 187 Countries, 1980-2012. In: *JAMA* 311 (2), S. 183. DOI: 10.1001/jama.2013.284692.

Novello, S.; Barlesi, F.; Califano, R.; Cufer, T.; Ekman, S.; Levra, M. Gij et al. (2016): Metastatic non-small-cell lung cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. In: *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology* 27 (suppl 5), S. v1-v27. DOI: 10.1093/annonc/mdw326.

Office on Smoking and Health (2006): Introduction, Summary, and Conclusions: Centers for Disease Control and Prevention (US).

Olchovsky, David; Shimon, Ilan; Goldberg, Iris; Shulimzon, Tiberiu; Lubetsky, Aharon; Yellin, Alon et al. (2002): Elevated Insulin-Like Growth Factor-1 and Insulin-Like Growth Factor Binding Protein-2 in Malignant Pleural Effusion. In: *Acta oncologica (Stockholm, Sweden)* 41. DOI: 10.1080/028418602753669571.

- Ost, David E.; Jim Yeung, Sai-Ching; Tanoue, Lynn T.; Gould, Michael K. (2013): Clinical and Organizational Factors in the Initial Evaluation of Patients With Lung Cancer. In: *Chest* 143 (5), S. e121S-e141S. DOI: 10.1378/chest.12-2352.
- Pandolfi, F.; Cianci, R.; Pagliari, D.; Casciano, F.; Bagalà, C.; Astone, A. et al. (2011): The Immune Response to Tumors as a Tool toward Immunotherapy. In: *Journal of Immunology Research* 2011. DOI: 10.1155/2011/894704.
- Pao, William; Miller, Vincent; Zakowski, Maureen; Doherty, Jennifer; Politi, Katerina; Sarkaria, Inderpal et al. (2004): EGF receptor gene mutations are common in lung cancers from “never smokers” and are associated with sensitivity of tumors to gefitinib and erlotinib. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101 (36), S. 13306–13311. DOI: 10.1073/pnas.0405220101.
- Patz, Edward F.; Pinsky, Paul; Gatsonis, Constantine; Sicks, JoRean D.; Kramer, Barnett S.; Tammemägi, Martin C. et al. (2014): Overdiagnosis in Low-Dose Computed Tomography Screening for Lung Cancer. In: *JAMA Intern Med* 174 (2), S. 269. DOI: 10.1001/jamainternmed.2013.12738.
- Pignon, Jean-Pierre; Tribodet, Hélène; Scagliotti, Giorgio V.; Douillard, Jean-Yves; Shepherd, Frances A.; Stephens, Richard J. et al. (2008): Lung adjuvant cisplatin evaluation: a pooled analysis by the LACE Collaborative Group. In: *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 26 (21), S. 3552–3559. DOI: 10.1200/JCO.2007.13.9030.
- Pine, S. R.; Mechanic, L. E.; Enewold, L.; Chaturvedi, A. K.; Katki, H. A.; Zheng, Y.-L. et al. (2011): Increased Levels of Circulating Interleukin 6, Interleukin 8, C-Reactive Protein, and Risk of Lung Cancer. In: *JNCI Journal of the National Cancer Institute* 103 (14), S. 1112–1122. DOI: 10.1093/jnci/djr216.
- Popp, Walter; Brüning, Thomas; Straif, Kurt (2003): Krebserkrankungen durch den Beruf. In: *Dtsch Arztebl International* 100 (1-2), S. 35–40. Online verfügbar unter <http://www.aerzteblatt.de/int/article.asp?id=35056>.
- Porcel, Jose M.; Gasol, Ariadna; Bielsa, Silvia; Civit, Carme; Light, Richard W.; Salud, Antonieta (2015): Clinical features and survival of lung cancer patients with pleural effusions. In: *Respirology* 20 (4), S. 654–659. DOI: 10.1111/resp.12496.

- Power, C. A.; Furness, R. B.; Brawand, C.; Wells, T. N. (1994): Cloning of a full-length cDNA encoding the neutrophil-activating peptide ENA-78 from human platelets. In: *Gene* 151 (1-2), S. 333–334.
- Qu, Yiqing (2012): Increased trefoil factor 3 levels in the serum of patients with three major histological subtypes of lung cancer. In: *Oncol Rep.* DOI: 10.3892/or.2012.1627.
- Rajdev, Kartikeya; Siddiqui, Abdul Hasan; Ibrahim, Uroosa; Patibandla, Prateek; Khan, Tahir; El-Sayegh, Dany (2018): An Unusually Aggressive Large Cell Carcinoma of the Lung: Undiagnosed until Autopsy. In: *Cureus* 10 (2). DOI: 10.7759/cureus.2202.
- Reck, Martin; Rodríguez-Abreu, Delvys; Robinson, Andrew G.; Hui, Rina; Csőszi, Tibor; Fülöp, Andrea et al. (2016): Pembrolizumab versus Chemotherapy for PD-L1-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. In: *The New England journal of medicine* 375 (19), S. 1823–1833. DOI: 10.1056/NEJMoa1606774.
- Reed, S. G. (1999): TGF-beta in infections and infectious diseases. In: *Microbes and infection* 1 (15), S. 1313–1325.
- Rivat C; Rodrigues S; Bruyneel E; Piétu G; Robert A; Redeuilh G et al. (2005): Implication of STAT3 signaling in human colonic cancer cells during intestinal trefoil factor 3 (TFF3) -- and vascular endothelial growth factor-mediated cellular invasion and tumor growth. In: *Cancer Research*, S. 195–202.
- RKI; GEKID (Hg.) (2012): Krebs in Deutschland 2007/2008. Robert Koch Institut (Berlin). 8. Aufl. Berlin.
- Roberts, M. E.; Neville, E.; Berrisford, R. G.; Antunes, G.; Ali, N. J. (2010): Management of a malignant pleural effusion. British Thoracic Society pleural disease guideline 2010. In: *Thorax* 65 (Suppl 2), S. ii32-ii40. DOI: 10.1136/thx.2010.136994.
- Roitt, Ivan M.; Brostoff, Jonathan; Male, David (1995): Kurzes Lehrbuch der Immunologie. 3. Aufl. Stuttgart: Thieme.
- Rozman, Ales; Silar, Mira; Kosnik, Mitja (2012): Angiogenin and vascular endothelial growth factor expression in lungs of lung cancer patients. In: *Radiology and Oncology* 46 (4). DOI: 10.2478/v10019-012-0031-1.
- Rudolf Virchow (1863): Die krankhaften Geschwülste. Berlin.

S., G.; M., B. (1999): Interleukine. Hg. v. Spektrum Akademischer Verlag. Heidelberg. Online verfügbar unter <http://www.spektrum.de/lexikon/biologie/interleukine/34299>, zuletzt geprüft am 17.03.2018.

Sadagopan, S.; Veetil, M. V.; Chakraborty, S.; Sharma-Walia, N.; Paudel, N.; Bottero, V.; Chandran, B. (2012): Angiogenin functionally interacts with p53 and regulates p53-mediated apoptosis and cell survival. In: *Oncogene* 31 (46), S. 4835–4847. DOI: 10.1038/onc.2011.648.

Schirmacher, P. (2015): Lungenkarzinom. Electronic Learning. Hg. v. Universität Heidelberg. Pathologisches Institut der Universität (Heidelberg). Online verfügbar unter https://eliph.klinikum.uni-heidelberg.de/texte_s/651/bronchialkarzinom, zuletzt aktualisiert am 14.06.2015.

Schmid, K.; Kuwert, T.; Drexler, H. (2010): Radon in Indoor Spaces: An Underestimated Risk Factor for Lung Cancer in Environmental Medicine. In: *Deutsches Arzteblatt International* 107 (11), S. 181–186. DOI: 10.3238/arztebl.2010.0181.

Schnyder-Candrian, S.; Walz, A. (1997): Neutrophil-activating protein ENA-78 and IL-8 exhibit different patterns of expression in lipopolysaccharide- and cytokine-stimulated human monocytes. In: *The Journal of Immunology* 158 (8), S. 3888–3894.

Schütt, Christine; Bröker, Barbara (2011): Grundwissen Immunologie. Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag.

Sequist, Lecia V.; Yang, James Chih-Hsin; Yamamoto, Nobuyuki; O'Byrne, Kenneth; Hirsh, Vera; Mok, Tony et al. (2013): Phase III study of afatinib or cisplatin plus pemetrexed in patients with metastatic lung adenocarcinoma with EGFR mutations. In: *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 31 (27), S. 3327–3334. DOI: 10.1200/JCO.2012.44.2806.

Shiels, M. S.; Pfeiffer, R. M.; Hildesheim, A.; Engels, E. A.; Kemp, T. J.; Park, J.-H. et al. (2013): Circulating Inflammation Markers and Prospective Risk for Lung Cancer. In: *JNCI Journal of the National Cancer Institute* 105 (24), S. 1871–1880. DOI: 10.1093/jnci/djt309.

Siegel, Rebecca; Ma, Jiemin; Zou, Zhaohui; Jemal, Ahmedin (2014): Cancer statistics, 2014. In: *CA: A Cancer Journal for Clinicians* 64 (1), S. 9–29. DOI: 10.3322/caac.21208.

Siegel, Rebecca L.; Miller, Kimberly D.; Jemal, Ahmedin (2015): Cancer statistics, 2015. In: *CA: A Cancer Journal for Clinicians* 65 (1), S. 5–29. DOI: 10.3322/caac.21254.

Siegel, Rebecca L.; Miller, Kimberly D.; Jemal, Ahmedin (2017): Cancer statistics, 2017. In: *CA: A Cancer Journal for Clinicians* 67 (1), S. 7–30. DOI: 10.3322/caac.21387.

Socinski, Mark A.; Jotte, Robert M.; Cappuzzo, Federico; Orlandi, Francisco; Stroyakovskiy, Daniil; Nogami, Naoyuki et al. (2018): Atezolizumab for First-Line Treatment of Metastatic Nonsquamous NSCLC. In: *The New England journal of medicine* 378 (24), S. 2288–2301. DOI: 10.1056/NEJMoa1716948.

Song, Lanxi; Smith, Matthew A.; Doshi, Parul; Sasser, Kate; Fulp, William; Altioek, Soner; Haura, Eric B. (2014): Antitumor Efficacy of the Anti-Interleukin-6 (IL-6) Antibody Siltuximab in Mouse Xenograft Models of Lung Cancer. In: *Journal of Thoracic Oncology* 9 (7), S. 974–982. DOI: 10.1097/JTO.000000000000193.

Statistisches Bundesamt (Destatis) (2017): Die 10 häufigsten Todesfälle durch Krebs. Datenlizenz Deutschland Version 2.0. Hg. v. Genesis-Online. Online verfügbar unter <https://www.destatis.de/DE/Themen/Gesellschaft-Umwelt/Gesundheit/Todesursachen/Tabellen/sterbefaelle-krebs-insgesamt.html>, zuletzt geprüft am 05.07.2019.

Sticherling, M.; Sautier, W.; Schroder, J. M.; Christophers, E. (1999): Interleukin-8 plays its role at local level in psoriasis vulgaris. In: *Acta dermato-venereologica* 79 (1), S. 4–8.

Sunaga, N.; Kaira, K.; Tomizawa, Y.; Shimizu, K.; Imai, H.; Takahashi, G. et al. (2014): Clinicopathological and prognostic significance of interleukin-8 expression and its relationship to KRAS mutation in lung adenocarcinoma. In: *Br J Cancer* 110 (8), S. 2047–2053. DOI: 10.1038/bjc.2014.110.

Swensen SJ; Jett JR; Hartman TE; Midthun DE; Sloan JA; Sykes AM et al. (2003): Lung cancer screening with CT: Mayo Clinic experience. In: *Radiology*. 226 (3), S. 756–761.

Tomasetto, Catherine (2001): TFF3 trefoil factor 3 (intestinal). In: *Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology*. Online verfügbar unter <http://atlasgeneticsoncology.org/Genes/TFF3ID265.html>.

Travis, William D.; Brambilla, Elisabeth; Nicholson, Andrew G.; Yatabe, Yasushi; Austin, John H. M.; Beasley, Mary Beth et al. (2015): The 2015 World Health Organization Classification of Lung Tumors: Impact of Genetic, Clinical and Radiologic Advances Since the 2004 Classification. In: *Journal of thoracic oncology : official publication of the International Association for the Study of Lung Cancer* 10 (9), S. 1243–1260. DOI: 10.1097/JTO.0000000000000630.

Tufman, Amanda; Huber, Rudolf Maria; Völk, Stefanie; Aigner, Frederic; Edelmann, Martin; Gamarra, Fernando et al. (2016): Interleukin-22 is elevated in lavage from patients with lung cancer and other pulmonary diseases. In: *BMC cancer* 16, S. 409. DOI: 10.1186/s12885-016-2471-2.

Tumeh, Paul C.; Hellmann, Matthew D.; Hamid, Omid; Tsai, Katy K.; Loo, Kimberly L.; Gubens, Matthew A. et al. (2017): Liver Metastasis and Treatment Outcome with Anti-PD-1 Monoclonal Antibody in Patients with Melanoma and NSCLC. In: *Cancer immunology research* 5 (5), S. 417–424. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-16-0325.

Tumorzentrum München; Huber, Rudolf Maria (2017): Tumoren der Lunge und des Mediastinums. Empfehlungen zur Diagnostik, Therapie und Nachsorge. 11th ed. Germering bei München: W. Zuckschwerdt Verlag (Manuale Tumorzentrum München). Online verfügbar unter <https://ebookcentral.proquest.com/lib/gbv/detail.action?docID=4822762>.

Vansteenkiste, J.; Crino, L.; Doooms, C.; Douillard, J. Y.; Faivre-Finn, C.; Lim, E. et al. (2014): 2nd ESMO Consensus Conference on Lung Cancer: early-stage non-small-cell lung cancer consensus on diagnosis, treatment and follow-up. In: *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO* 25 (8), S. 1462–1474. DOI: 10.1093/annonc/mdu089.

Wahl, Sharon (2007): Transforming growth factor- β : innately bipolar. In: *Current Opinion in Immunology* 19 (1), S. 55–62. DOI: 10.1016/j.coi.2006.11.008.

Wang, Xiao-Nan; Wang, Shu-Jing; Pandey, Vijay; Chen, Ping; Li, Qing; Wu, Zheng-Sheng et al. (2015): Trefoil Factor 3 as a Novel Biomarker to Distinguish Between Adenocarcinoma and Squamous Cell Carcinoma. In: *Medicine* 94 (20), S. e860. DOI: 10.1097/MD.0000000000000860.

Waugh, D. J.J.; Wilson, C. (2008): The Interleukin-8 Pathway in Cancer. In: *Clinical Cancer Research* 14 (21), S. 6735–6741. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-07-4843.

- Whiteside, Theresa L. (2002): Tumor-induced death of immune cells: its mechanisms and consequences. In: *Seminars in cancer biology* 12 (1), S. 43–50. DOI: 10.1006/scbi.2001.0402.
- Whiteside, Theresa L. (2010): Immune responses to malignancies. In: *The Journal of allergy and clinical immunology* 125 (202), S. S272-83. DOI: 10.1016/j.jaci.2009.09.045.
- WIEDE, ANTJE; JAGLA, WOLFGANG; WELTE, TOBIAS; KÖHNLEIN, THOMAS; BUSK, HENNING; HOFFMANN, WERNER (1999): Localization of TFF3, a New Mucus-associated Peptide of the Human Respiratory Tract. In: *Am J Respir Crit Care Med* 159 (4), S. 1330–1335. DOI: 10.1164/ajrccm.159.4.9804149.
- William D. Travis; Elisabeth Brambilla; Masayuki Noguchi; Andrew G. Nicholson (2011): International Association for the Study of LungCancer/American Thoracic Society/EuropeanRespiratory Society International MultidisciplinaryClassification of Lung Adenocarcinoma. In: *Journal of Thoracic Oncology* 6 (2).
- Wolk, Kerstin; Witte, Ellen; Witte, Katrin; Warszawska, Katarzyna; Sabat, Robert (2010): Biology of interleukin-22. In: *Semin Immunopathol* 32 (1), S. 17–31. DOI: 10.1007/s00281-009-0188-x.
- Yabluchanskiy, A.; Ma, Y.; Iyer, R. P.; Hall, M. E.; Lindsey, M. L. (2013): Matrix Metalloproteinase-9. Many Shades of Function in Cardiovascular Disease. In: *Physiology* 28 (6), S. 391–403. DOI: 10.1152/physiol.00029.2013.
- Yeh, H-H; Lai, W-W; Chen, H. H. W.; Liu, H-S; Su, W-C (2006): Autocrine IL-6-induced Stat3 activation contributes to the pathogenesis of lung adenocarcinoma and malignant pleural effusion. In: *Oncogene* 25 (31), S. 4300–4309. DOI: 10.1038/sj.onc.1209464.
- Yuan, Yang; Wang, Feng; Liu, Xiao-Hong; Gong, De-jun; Cheng, He-zhong; Huang, Sheng-dong (2009): Angiogenin is involved in lung adenocarcinoma cell proliferation and angiogenesis. In: *Lung Cancer* 66 (1), S. 28–36. DOI: 10.1016/j.lungcan.2008.12.027.
- Zaki, Sanaa M.; Ashour, Laila (2007): Pleural fluid IL-8 as an inflammatory mediator for discriminating transudates and exudates. In: *The Egyptian journal of immunology* 14 (2), S. 83–92.

Zenewicz, L. A.; Flavell, R. A. (2011): Recent advances in IL-22 biology. In: *International Immunology* 23 (3), S. 159–163. DOI: 10.1093/intimm/dxr001.

Zentrum für Krebsregisterdaten - RKI (2017): Zahl der Krebsneuerkrankungen. Hg. v. Robert-Koch-Institut. Berlin, zuletzt geprüft am 05.07.2019.

Zhang, Long Jiang; Yang, Gui Fen; Wu, Sheng Yong; Xu, Jian; Lu, Guang Ming; Schoepf, U. Joseph (2013): Dual-energy CT imaging of thoracic malignancies. In: *Cancer Imaging* 13 (1), S. 81–91. DOI: 10.1102/1470-7330.2013.0009.

Zhang, S.; Smartt, H.; Holgate, S. T.; Roche, W. R. (1999): Growth factors secreted by bronchial epithelial cells control myofibroblast proliferation: an in vitro co-culture model of airway remodeling in asthma. In: *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology* 79 (4), S. 395–405.

Zhang, W.; Chen, Y.; Wei, H.; Zheng, C.; Sun, R.; Zhang, J.; Tian, Z. (2008): Antiapoptotic Activity of Autocrine Interleukin-22 and Therapeutic Effects of Interleukin-22-Small Interfering RNA on Human Lung Cancer Xenografts. In: *Clinical Cancer Research* 14 (20), S. 6432–6439. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-07-4401.

Zhang, Yong; Wang, Linyan; Zhang, Miaomiao; Jin, Meiling; Bai, Chunxue; Wang, Xiangdong (2012): Potential mechanism of interleukin-8 production from lung cancer cells. An involvement of EGF-EGFR-PI3K-Akt-Erk pathway. In: *J. Cell. Physiol.* 227 (1), S. 35–43. DOI: 10.1002/jcp.22722.

Zhao, Mingjing; Gao, Ying; Wang, Lingling; Liu, Shuo; Han, Bing; Ma, Lie et al. (2013): Overexpression of Integrin-linked Kinase Promotes Lung Cancer Cell Migration and Invasion via NF- κ B-mediated Upregulation of Matrix Metalloproteinase-9. In: *Int. J. Med. Sci.* 10 (8), S. 995–1002. DOI: 10.7150/ijms.5963.

9 Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meinen Eltern und meinem Bruder, die es mir mit all ihrer Unterstützung ermöglicht haben, meine Ziele zu erreichen und mir auch in schwierigen Zeiten stets Rückhalt und Geborgenheit schenkten. Doch sie vergaßen auch nie, mich mit passender Kritik wieder auf den Boden und den richtigen Weg zu holen.

Für ihre schier unendliche Geduld und einen stetig freien Rücken danke ich meiner Freundin Denise.

Desweiteren danke ich Herrn Prof. Dr. med. Rudolf Maria Huber, für die Aufnahme als Doktorand und stetige Unterstützung in allen wissenschaftlichen und menschlichen Belangen.

Ein großer Dank gilt auch Frau Dr. med. Amanda Tufman, die es mir durch ihre hervorragende und intensive Betreuung ermöglicht hat, diese Arbeit fertig zustellen und stets ein offenes Ohr für jegliche Probleme zeigt.

Ferner danke ich Frau Rosemarie Kiefl, Marina Schaule und Julia Stump, die mich tatkräftig in allen Schritten der Labortechnik unterstützt haben und meine Zeit im Labor, trotz engster Platzverhältnisse, zu einer besonderen gemacht haben.

Abschliessend möchte ich dem gesamten Team der Medizinischen Klinik V, insbesondere allen Ärzten und Pflegekräften der Station 4, die mich während der letzten Jahre begleitet haben, danken. Ich wurde stets mit einem Lächeln empfangen und ging nie ohne die Lösung meiner Probleme nach Hause.

Eidesstaatliche Versicherung

Ich erkläre hiermit an Eides statt,

dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel

Pleurale und systemische Zytokinexpressionsprofile bei Patienten mit Lungenkarzinom

selbstständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, 31.03.2021

David Betz