

Aus der
Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin Tübingen
Abteilung Kinderheilkunde IV
(Schwerpunkt: Neonatologie, neonatologische
Intensivmedizin)

**Der Zusammenhang zwischen Parametern des
Cholinstoffwechsels und dem klinischen
Erscheinungsbild von Patienten mit Mukoviszidose**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen**

vorgelegt von

Boriga, Julia

2025

Dekan: Professor Dr. B. Pichler

1. Berichterstatter: Professor Dr. Dr. W. Bernhard

2. Berichterstatter: Professor Dr. A. Peter

Tag der Disputation: 05.05.2023

Gewidmet
meinen Eltern Renate und Remus
meiner Schwester Cora
meinen Großeltern
Moritz Frey

| | |
|------------------------------------------------------|-----------|
| <u>Inhaltsverzeichnis</u> | 1 |
| Abbildungsverzeichnis | 4 |
| Tabellenverzeichnis | 6 |
| Abkürzungsverzeichnis | 7 |
| 1. Einleitung | 10 |
| 1.1. Mukoviszidose - Genetik..... | 10 |
| 1.2. Mukoviszidose – klinische Manifestationen | 12 |
| 1.2.1. Pankreas | 12 |
| 1.2.2. Darm | 13 |
| 1.2.3. Leber | 13 |
| 1.2.4. Lunge | 14 |
| 1.3. Cholin und seine Metabolite..... | 15 |
| 1.3.1. Cholin | 15 |
| 1.3.2. Phosphatidylcholin..... | 16 |
| 1.3.3. Betain | 17 |
| 1.4. Cholinmetabolismus..... | 18 |
| 1.4.1. Phosphatidylcholin-Synthese..... | 18 |
| 1.4.2. CDP-Cholin-Stoffwechselweg..... | 18 |
| 1.4.3. PEMT-Stoffwechselweg..... | 19 |
| 1.4.4. Methionin-Homocystein-Zyklus..... | 20 |
| 1.4.5. Der bakterielle Abbau von Cholin..... | 22 |
| 1.4.6. Der Enterohepatische Kreislauf | 23 |
| 1.4.7. Wechselwirkung zwischen Leber und Lunge | 25 |
| 1.5. Cholin-Mangel bei Mukoviszidose | 26 |
| 1.5.1. Ursachen..... | 26 |
| 1.5.2. Plasma-Konzentrationen | 27 |
| 1.5.3. Auswirkungen auf die Leber | 28 |
| 1.5.4. Auswirkungen auf die Lunge..... | 28 |
| 1.5.5. Cholin-Supplementierung | 31 |
| 1.6. Zusammenfassung | 32 |
| 1.7. Zielsetzung | 32 |
| 2. Material und Methoden | 34 |

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 2.1. Rahmenbedingungen..... | 34 |
| 2.1.1. Ethikvotum..... | 34 |
| 2.1.2. Patientenkollektiv..... | 34 |
| 2.2. Datenerfassung | 35 |
| 2.2.1. Quellen | 35 |
| 2.2.2. Erhobene Parameter | 37 |
| 2.2.3. Beobachtungszeiträume | 42 |
| 2.2.4. Parameterspezifische Hinweise | 44 |
| 2.2.5. Ausschluss Cholin-Supplementierung | 45 |
| 2.3. Vorbereitung statistische Auswertung..... | 46 |
| 2.3.1. Datensatz Auswahl | 46 |
| 2.3.2. Beratung..... | 47 |
| 2.3.3. Datenaufbereitung | 47 |
| 2.3.4. Altersgewichtete Cholinkonzentration | 47 |
| 2.3.5. Einflussgrößen und Zielgrößen..... | 47 |
| 2.3.6. Dichotomisierung..... | 48 |
| 2.3.7. Bestimmung der Perzentilen..... | 49 |
| 2.3.8. Skalenniveau..... | 50 |
| 2.4. Statistische Auswertung..... | 50 |
| 2.4.1. Prüfung auf Normalverteilung | 50 |
| 2.4.2. Deskriptive Statistik | 51 |
| 2.4.3. Statistische Tests | 51 |
| 2.4.4. Methodik der einzelnen Analysen | 52 |
| 2.5. Sonstiges | 54 |
| 3. Ergebnisse | 55 |
| 3.1. Systematik | 55 |
| 3.2. Deskriptive Statistik | 55 |
| 3.3. Altersabhängigkeit der Cholin-Plasmakonzentration | 60 |
| 3.4. Beziehung zwischen Pankreasfunktion und Laborparametern des Cholinstoffwechsels | 61 |
| 3.5. Beziehung zwischen F508del-Mutation und exokriner Pankreasfunktion | 64 |
| 3.6. Beziehung zwischen F508del-Mutation und Laborparametern des Cholinstoffwechsels | 65 |

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 3.7. Laborparameter des Cholinstoffwechsels und Parameter der Lungenfunktion | 65 |
| 3.8. Laborparameter des Cholinstoffwechsels und Parameter der Leber | 69 |
| 3.9. Laborparameter des Cholinstoffwechsels und anthropometrische Parameter | 75 |
| 4. Diskussion | 79 |
| 4.1. Diskussion der Methoden | 79 |
| 4.1.1. Lückenhafte Datenlage aufgrund des retrospektiven Ansatzes | 79 |
| 4.1.2. Definition von Beobachtungszeiträumen | 79 |
| 4.1.3. Fehlende Objektivität sonografischer Befunde | 80 |
| 4.1.4. Informationsverlust aufgrund Voraussetzungen statistischer Tests | 80 |
| 4.1.5. Fraglicher Nüchternheitszustand | 80 |
| 4.1.6. Aussagekraft der Ergebnisse | 81 |
| 4.2. Diskussion der Ergebnisse | 81 |
| 4.2.1. Häufigkeitsverteilung der exokrinen Pankreasfunktion | 81 |
| 4.2.2. Altersabhängigkeit der Cholin-Plasmakonzentration | 82 |
| 4.2.3. Beziehung zwischen Pankreasfunktion und Laborparametern des Cholinstoffwechsels | 82 |
| 4.2.4. Beziehung zwischen F508del-Mutation und exokriner Pankreasfunktion .. | 84 |
| 4.2.5. Beziehung zwischen F508del-Mutation und Laborparametern des Cholinstoffwechsels | 85 |
| 4.2.6. Laborparameter des Cholinstoffwechsels und Parameter der Lungenfunktion | 86 |
| 4.2.7. Laborparameter des Cholinstoffwechsels und Parameter der Leber | 87 |
| 4.2.8. Laborparameter des Cholinstoffwechsels und anthropometrische Parameter | 89 |
| 4.2.9. Weitere Parameter mit möglicher klinischer Relevanz | 90 |
| 4.2.10. Schlussfolgerung | 91 |
| 5. Zusammenfassung | 92 |
| 6. Literaturverzeichnis | 94 |
| 7. Erklärungen zum Eigenanteil | 105 |
| 8. Anhang | 106 |
| 9. Danksagung | 107 |

Abbildungsverzeichnis

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Abbildung 1: Einfluss des CFTR auf Phagolysosomen | 15 |
| Abbildung 2: Der CDP-Cholin-Stoffwechselweg..... | 19 |
| Abbildung 3: Der PEMT-Stoffwechselweg..... | 20 |
| Abbildung 4: Der Methionin-Homocystein-Zyklus..... | 22 |
| Abbildung 5: Der bakterielle Abbau von Cholin | 23 |
| Abbildung 6: Der enterohepatische Kreislauf | 25 |
| Abbildung 7: Ceramid-Akkumulation in der Lunge | 30 |
| Abbildung 8: Übersicht einzelner Analysen der Dissertation | 33 |
| Abbildung 9: Ein- und Ausschlusskriterium des Patientenkollektivs | 36 |
| Abbildung 10: Farbgebungsschema des Ergebnisteils..... | 55 |
| Abbildung 11: Häufigkeitsverteilung der exokrinen Pankreasfunktion im Gesamtkollektiv | 56 |
| Abbildung 12: Altersverteilung in Abhängigkeit der Pankreasfunktion..... | 61 |
| Abbildung 13: Beziehung zwischen Cholin-Plasmakonzentration und Patientenalter bei a) Pankreassuffizienz und b) Pankreasinsuffizienz im Vergleich | 62 |
| Abbildung 14: Beziehung zwischen Pankreasfunktion und Laborparametern des Cholinstoffwechsels..... | 63 |
| Abbildung 15: Häufigkeitsverteilung der exokrinen Pankreasfunktion in Abhängigkeit der Genetik | 64 |
| Abbildung 16: Beziehung zwischen F508del-Mutation und Laborparametern des Cholinstoffwechsels..... | 66 |
| Abbildung 17: Häufigkeitsverteilung zwischen TMAO und klinischen Parametern der Leber | 71 |
| Abbildung 18: Häufigkeitsverteilung zwischen Laborparametern des Cholinstoffwechsels und Leberenzymen | 72 |
| Abbildung 19: Häufigkeitsverteilung zwischen Laborparametern des Cholinstoffwechsels und Leberechogenität | 73 |
| Abbildung 20: Häufigkeitsverteilung zwischen Laborparametern des Cholinstoffwechsels und Lebernodularität | 74 |

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Abbildung 21: Beziehung zwischen Größe und Laborparametern des Cholinstoffwechsels..... | 76 |
| Abbildung 22: Beziehung zwischen Gewicht und Laborparametern des Cholinstoffwechsels..... | 77 |
| Abbildung 23: Beziehung zwischen BMI und Laborparametern des Cholinstoffwechsels..... | 78 |

Tabellenverzeichnis

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabelle 1: CFTR-Expression unterschiedlicher Gewebe | 11 |
| Tabelle 2: Patientenbezogene Daten | 37 |
| Tabelle 3: Daten zur Organtransplantation | 37 |
| Tabelle 4: CF-Diagnose-Parameter | 38 |
| Tabelle 5: Anthropometrische Parameter | 38 |
| Tabelle 6: Lungenspezifische Parameter | 38 |
| Tabelle 7: Parameter der Lungenfunktionsuntersuchung | 39 |
| Tabelle 8: Parameter der Leberultraschalluntersuchung | 39 |
| Tabelle 9: Laborparameter des Cholinstoffwechsels | 40 |
| Tabelle 10: Laborchemische Routineparameter | 40 |
| Tabelle 11: Daten zu Nebendiagnosen | 41 |
| Tabelle 12: Parameter mikrobiologischer Befunde | 42 |
| Tabelle 13: Erweiterung der Beobachtungszeiträume | 43 |
| Tabelle 14: Einflussgrößen und Zielgrößen der einzelnen Analysen | 48 |
| Tabelle 15: Dichotomisierung der für die Auswertung relevanten Parameter | 49 |
| Tabelle 16: Skalenniveau der für die Auswertung relevanten Parameter | 50 |
| Tabelle 17: deskriptive Statistik patientenbezogener, anthropometrischer und krankheitsspezifischer Parameter | 57 |
| Tabelle 18: deskriptive Statistik der Laborparameter des Cholinstoffwechsels | 58 |
| Tabelle 19: deskriptive Statistik der klinischen Lungenfunktions-Parameter | 59 |
| Tabelle 20: deskriptive Statistik der klinischen Leber-Parameter | 60 |
| Tabelle 21: Lungenfunktion im Vergleich zwischen 1. und 4. Quartil der hydrophilen Laborparameter des Cholinstoffwechsels | 67 |
| Tabelle 22: Lungenfunktion im Vergleich zwischen 1. und 4. Quartil der hydrophoben Laborparameter des Cholinstoffwechsels | 68 |
| Tabelle 23: Ergebnisse des Cochran-Mantel-Haenszel-Tests zwischen Laborparametern des Cholinstoffwechsels und klinischen Parametern der Leber | 70 |

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|-----------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 5-MTHF | 5-Methyl-Tetrahydrofolat |
| 95%-KI | 95%-Konfidenzintervall |
| ABC | ATP-bindende Kasette (engl. ATP-binding cassette) |
| AI | angemessene Aufnahme (engl. Adequate intake) |
| ALT | Alanin-Aminotransferase (EC:2.6.1.2) |
| AP | Alkalische Phosphatase (EC:3.1.3.1) |
| ARA | Arachidonsäure |
| ARA-PC | arachidonsäurehaltiges Phosphatidylcholin |
| ARDIS2 | Arthritis und Rheumatologie Dokumentations- und Informationssystem 2 |
| AST | Aspartat-Aminotransferase (EC: 2.6.1.1) |
| ATP | Adenosintriphosphat |
| BAD | Betain-Aldehyd-Dehydrogenase (EC:1.2.1.8) |
| BHMT | Betain-Homocystein-S-Methyltransferase (EC:2.1.1.5) |
| cAMP | cyclisches Adenosinmonophosphat |
| CDP-Cholin | Cytidindiphosphocholin |
| CF | zystische Fibrose, Mukoviszidose (engl. Cystic Fibrosis) |
| CFLD | Cystische Fibrose assoziierte Lebererkrankung (engl. Cystic fibrosis-associated liver disease) |
| CFRD | Cystische Fibrose assoziierter Diabetes (engl. CF-related Diabetes mellitus) |
| CFTR | engl. Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator |
| CHD | Cholindehydrogenase (EC:1.1.99.1) |
| Cl ⁻ | Chlorid-Anion |
| CMP | Cytidinmonophosphat |
| CPCS | Zentrum für pädiatrische klinische Studien (engl. Center for Pediatric Clinical Studies) |
| CTP | Cytidintriphosphat |
| DHA | Docosahexaensäure |

| | |
|-------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|
| DHA-PC | docosahexaensäurehaltiges Phosphatidylcholin |
| DIOS | distales intestinales Obstruktionssyndrom (engl. distal intestinal obstruction syndrome) |
| DX | Datenextraktion |
| F508del | Deletion der drei Phenylalanin codierenden Nukleotide an Position 508 des CFTR-Gens |
| FFM | fettfreie Körpermasse (engl. fat-free mass) |
| FMO3 | Flavin-abhängige Monooxygenase 3 (EC:1.14.13.148) |
| FVC | forcierte Vitalkapazität (engl. forced vital capacity) |
| GGT | Gamma- Glutamyltransferase (EC: 2.3.2.2) |
| GSH | Glutathion (reduziertes Glutathion) |
| H ⁺ | Protonen |
| HCO ₃ ⁻ | Hydrogencarbonat-Anion |
| HDL | Lipoprotein hoher Dichte (engl. high-density lipoprotein) |
| IBM | engl. International Business Machines Corporation |
| IL-6 | Interleukin 6 |
| LC-PUFA | langkettige mehrfach ungesättigte Fettsäuren (engl. long-chain polyunsaturated fatty acids) |
| LPCAT3 | Lyso-PC-Acyl-CoA-Acyltransferase 3 (EC:2.3.1.23) |
| Lyso-PC | Lysophosphatidylcholin |
| MEF25 | maximale expiratorische Atemstromstärke bei 25% verbleibender Vitalkapazität |
| MEF2575 | mittlerer expiratorischer Fluss zwischen 75% und 25% verbleibender Vitalkapazität |
| MDR2 | Multiresistentes Protein 2 (engl. multiple drug-resistant protein 2) |
| MRT | Magnetresonanztomografie |
| MS | Methionin-Synthase (EC:2.1.1.13) |
| MSL | Massenspektrometrielabor |
| n | Anzahl der Fälle |
| Na ⁺ | Natriumionen |
| NAM | engl. National Academy of Medicine |

| | |
|----------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| p | Signifikanz |
| P25 | 25. Perzentil |
| P75 | 75. Perzentil |
| PC | Phosphatidylcholin |
| PE | Phosphatidylethanolamin |
| PEMT | Phosphatidylethanolamin-N-Methyltransferase (EC:2.1.1.17) |
| ppFEV1 | prozentuales vorhergesagtes forciertes Expirationsvolumen in einer Sekunde (engl. percent predicted forced expiratory volume in 1 second) |
| pPLA2iB | Pankreas-Phospholipase A2iB |
| PQQ | Pyrrlochinolinchinon |
| R ² | Bestimmtheitsmaß der linearen Regression |
| RR | relatives Risiko |
| S1P | Sphingosin-1-phosphat |
| SAH | S-Adenosylhomocystein |
| SAM | S-Adenosylmethionin |
| SAP | Systemanalyse Programmentwicklung |
| SIBO | bakterielle Fehlbesiedlung des Dünndarms (engl. small intestinal bacterial overgrowth) |
| SM | Sphingomyelin |
| SMS | Sphingomyelin-Synthase (EC:2.7.8.27) |
| SNP | singuläre Nukleotid-Polymorphismen (engl. single- nucleotide polymorphism) |
| SPSS | engl. Statistical Package for the Social Sciences |
| SQL | engl. Structured Query Language |
| SSM | saure Sphingomyelinase (EC: 3.1.4.12) |
| TMA | Trimethylamin |
| TMAO | Trimethylamin-N-Oxid |
| VLDL | Lipoprotein sehr niedriger Dichte (engl. very low density lipoprotein) |

1. Einleitung

1.1. Mukoviszidose - Genetik

Mukoviszidose (Zystische Fibrose, CF) ist eine genetisch bedingte Stoffwechselerkrankung mit einer Inzidenz von etwa 1:3500 in Deutschland bzw. weltweit in der kaukasischen Bevölkerung [1, 2]. Daraus lässt sich mithilfe der Hardy-Weinberg-Formel [3] eine Heterozygotenfrequenz von ca. 1:30 herleiten. In Anbetracht ihrer lebensbedrohlichen Organmanifestationen ist sie unter Kaukasiern die häufigste letal verlaufende Erkrankung auf Grundlage eines autosomal-rezessiven Erbgangs. Heterozygote Merkmalsträger erkranken nicht. Ursächlich sind über 2000 verschiedene Mutationen [4] im „cystic fibrosis transmembrane conductance regulator“ (CFTR)-Gen, welches auf dem langen Arm des Chromosoms 7 lokalisiert ist [5]. Bei dem codierten Protein handelt es sich primär um einen cAMP (cyclisches Adenosinmonophosphat)-abhängigen Chloridkanal [6], der neben Chlorid (Cl^-) auch weitere Ionen wie beispielsweise Natrium (Na^+) [7] und Hydrogencarbonat-Anionen (HCO_3^-) transportiert [8]. Darüber hinaus ist er dazu in der Lage, die Aufnahme von Sphingosin-1-phosphat (S1P) zu steuern, wodurch ihm eine entscheidende Rolle im Rahmen der Zelldifferenzierung und Apoptose zukommt [9]. Nicht zuletzt beeinflusst er durch den Transport von Glutathion (GSH) auch die antioxidativen Kapazität [10, 11]. Auf molekularer und zellbiologischer Ebene lassen sich sechs Mutations-Klassen des CFTR-Gens unterscheiden. Bei der am häufigsten auftretenden Mutation, handelt es sich um eine Deletion der drei Phenylalanin codierenden Nukleotide an Position 508 (F508del) des CFTR-Gens [12]. Sie gehört zur Klasse II [13]. Mutationsklasse I ist definiert als vollständig ausbleibende CFTR-Protein-Synthese aufgrund eines mutationsbedingten Stopcodons, während Mutationen der Klasse II durch eine beeinträchtigte Prozessierung dazu führen, dass kein fertiges CFTR zur Zellmembran gelangt [13]. Klasse-III-Mutationen hingegen, bewirken einen fehlenden Ionenfluss des korrekt platzierten CFTR, da eine gestörte Kanalfunktion vorliegt [13].

Dieses Kanalprotein ist an der apikalen Membran verschiedener sekretorischer Epithelien lokalisiert, sodass CF eine Multiorganerkrankung ist. Die folgende Tabelle 1 stellt dar, welche Gewebe CFTR exprimieren und welche nicht [14-20].

Tabelle 1: CFTR-Expression unterschiedlicher Gewebe
Informationen aus [14-20] zusammengefasst

| Expression von CFTR | Keine Expression von CFTR |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <ul style="list-style-type: none"> • Gallengangsepithel der Leber • Epithel kleiner sekretorischer Pankreasgänge • Epithel der Darmschleimhaut (Brunner-Drüsen, Duodenum, Jejunum, Kolon) • Epithel der Atemwege • Alveolarmakrophagen • Epithel des Magens • Epithel der Nierentubuli • Spermatozoen und Keimzellen anderer Reifungsstadien innerhalb des Keimepithels der Hoden • Schweißdrüsen • Speicheldrüsen | <ul style="list-style-type: none"> • Hepatozyten der Leber • Azinuszellen und Langerhanszellen des Pankreas • Ileum • Sammelkanälchen und Glomeruli der Niere • Sertoli-Zellen und Leydig-Zellen der Hoden • Muskulatur • Endothel |

Liegt ein genetischer Defekt vor, bedingt dies primär einen Mangel an apikaler HCO_3^- -Sekretion [21]. Der luminalen HCO_3^- -Mangel wiederum verhindert, dass Muzine vom Gel- in den Solzustand übergehen können, sodass die dadurch produzierten Sekrete eine abnorm erhöhte Viskosität und Adhäsivität aufweisen [22]. Studien an Mäusen lieferten ebenfalls Hinweise dafür, dass HCO_3^- für eine physiologische Muzin-Sekretion essenziell ist [23]. Je nach Lokalisation des gestörten Kanalproteins in den verschiedenen Organen (Tabelle 1) resultieren daraus unterschiedliche klinische Symptome.

1.2. Mukoviszidose – klinische Manifestationen

1.2.1. Pankreas

Zwischen 85 und 90 % der CF-Patienten sind von einer exokrinen Pankreasinsuffizienz betroffen, bei der zu wenig HCO_3^- und enzymhaltiges Sekret in das Duodenum sezerniert wird [24]. Dies geschieht auf Grundlage einer mutationsbedingten reduzierten Aktivität, des im Gangepithel des Pankreas befindlichen CFTR-Kanals [16]. Die Menge an sezerniertem HCO_3^- wird durch die Chloridkonzentration mitbestimmt [25].

Wilschanski und Durie fassen die pathophysiologischen Mechanismen zusammen: bei Gesunden gelangen HCO_3^- und Cl^- , sowohl über CFTR-Kanäle als auch über apikale $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ -Antiporter in den Ausführungsgang des Pankreas. Dieser Ionentransport zieht einen Flüssigkeitsstrom nach sich. Es entsteht eine basische wässrige Lösung (pH ~ 8), in der sich Pankreas(pro)enzyme gut lösen und ihr Funktionsoptimum haben. Im Gegensatz dazu ist der Transport von Anionen bei CF-Patienten infolge der bestehenden CFTR-Mutation eingeschränkt. Dadurch sinken pH-Wert und das Sekretvolumen, sowie die Proteinlöslichkeit und -aktivität. [26]

Letztlich wird die Magensäure aufgrund des mangelnden HCO_3^- im Duodenum nicht vollständig neutralisiert, sodass es bei CF-Patienten postprandial zu erniedrigten pH-Werten kommt [27]. Die Löslichkeit der Muzine ist vom HCO_3^- und damit vom pH abhängig und eingeschränkt [22]. Darüber hinaus behindert die duodenale Übersäuerung die Funktion der Verdauungsenzyme. Das gilt generell, aber insbesondere für die Aktivität der Pankreas-Phospholipase A2iB (pPLA2iB) [28]. Die dadurch bedingte Malabsorption von Fetten, welche die Spaltung des Phosphatidylcholin (PC) der Galle zu Lysophosphatidylcholin (Lyso-PC) voraussetzt [29], geht mit fäkalen PC-Verlusten [24], einer Steatorrhoe sowie einem Mangel an fettlöslichen Vitaminen einher und äußert sich ferner in Form eines geringen Körperwachstums [30]. Selbst durch eine Substitution mit Pankreasenzymen wird dieses Problem mangelhafter Fettaufnahme nicht vollständig behoben [31].

Durch die frühzeitige Aktivierung der Enzyme im Lumen des pankreatischen Gangsystems ergibt sich langfristig eine Autolyse des Pankreas, was zur Organfibrosierung und durch die entzündungsbedingte Zerstörung des endokrinen Organteils (Insulae pancreaticae) zum fortschreitenden Insulinmangel und damit zum Cystische Fibrose assoziiertem Diabetes (CFRD) führt [32].

1.2.2. Darm

In den ersten Lebensjahren stehen überwiegend Symptome im Vordergrund, die den Darm betreffen. Grundlage hierfür ist die fehlerhafte intestinale Expressierung des CFTR [19]. Liegt bei einer CF-Erkrankung eine eingeschränkte Aktivität dieses Kanals vor, wird der Mukus zähflüssiger und adhäriert an der Darmwand, da HCO_3^- den Mukus fluide macht [22] und der Transport des Darminhalts wird langsamer [33-36]. Bedingt durch den verlangsamten Transit, den zähen Mukus und den durchgängig zu niedrigen pH im Dünndarm entwickeln die Patienten allgemeine Obstipationsbeschwerden und CF-typische Erscheinungsbilder, die in Abhängigkeit des Alters entweder als Mekoniumileus oder als distales intestinales Obstruktionssyndrom (DIOS) manifestieren können [37].

1.2.3. Leber

Cystische Fibrose assoziierte Lebererkrankung (CFLD), ein pathophysiologisch uneinheitliches Krankheitsbild, umfasst ein weites Ausprägungsspektrum, von Steatose über multifokale Fibrose bis zur Leber-Zirrhose, schließt aber auch Pathologien der Gallenblase mit ein [38]. Dabei lassen sich zwei Ursachen differenzieren. CFTR-Proteine, welche in der apikalen Membran der Cholangiozyten in den Gallengängen lokalisiert sind, stellen einen Auslöser dar [15]. Mutationsbedingt kann deren sekretorische Kanalfunktion stark eingeschränkt sein, sodass die dadurch entstehende hochvisköse Galle den Gallenabfluss behindert, wobei die Obstruktion der Gallengänge wiederum entzündliche und proliferative Vorgänge auslöst [39]. Während eines immer weiter fortschreitenden Prozesses entwickelt sich zunächst eine fokale biliäre Fibrose, die im weiteren Verlauf in eine multilobuläre biliäre Zirrhose mit letztendlich portaler Hypertonie übergehen kann, bevor das Endstadium der

Leberinsuffizienz erreicht wird [40]. Auf der anderen Seite ist die Steatose zum Großteil wahrscheinlich durch einen Cholinmangel bedingt [41]. So ist eine totale parenterale Ernährungstherapie (TPN) grundsätzlich mit Cholinmangel vergesellschaftet, welcher wiederum eine Lebersteatose hervorruft [42-45].

1.2.4. Lunge

Am Ende stehen pulmonale Manifestationen mit zunehmender respiratorischen Insuffizienz, welche die Haupttodesursache unter CF-Patienten darstellen [46]. Erstens fehlt es mutationsbedingt im Wesentlichen an HCO_3^- , sodass die Muzine nicht quellen [22, 47]. Zweitens ist die Konzentration der beiden Surfactantproteine A und D in der Lunge von CF-Patienten reduziert [48]. Sowohl aufgrund ihrer Schlüsselrolle beim Schutz vor Krankheitserregern als auch hinsichtlich der Modulation des lokalen Immunsystems resultiert daraus eine eingeschränkte Abwehrfunktion der Lunge [49].

Ein weiterer Mechanismus (Abbildung 1) wurde von Di et al. beschrieben: Das CFTR-Protein ist für die Ansäuerung von Phagolysosomen in Makrophagen wichtig, indem es den dafür notwendigen Einstrom von Cl^- in die Lysosomen steuert. Ein ausreichend niedriger pH-Wert ist für die bakterizide Aktivität lysosomaler Proteasen unerlässlich und wird durch den Transport von Protonen (H^+) in die Phagolysosomen erzielt. Dieser Protonen-Einstrom wird durch die lysosomale H^+ -ATPase Typ V vermittelt und erfordert zur Aufrechterhaltung der Elektroneutralität einen Einstrom von Cl^- . Ist der Transport von Cl^- im Rahmen einer CF-Erkrankung mutationsbedingt blockiert, kann der lysosomale pH-Wert nicht ausreichend gesenkt werden. Dadurch wird eine effiziente Bekämpfung internalisierter Erreger verhindert, da lysosomale Proteasen ihre Aktivität nur bei saurem pH entfalten können. [20]

Aufgrund der Summe dieser Veränderungen ist ein Großteil der CF-Patienten von *Pseudomonas-aeruginosa*-Infektionen oder Besiedlung betroffen [46]. Aber auch chronische bakterielle Infektionen bzw. Besiedlung mit *Staphylokokkus aureus* und *Haemophilus influenzae* sind weit verbreitet [46]. Die resultierende chronische Bronchitis mit hoher Infektionsrate in Form von pulmonalen

Exazerbationen geht dem fibrotischen Umbau und Verlust der Lungenfunktion voraus [50].

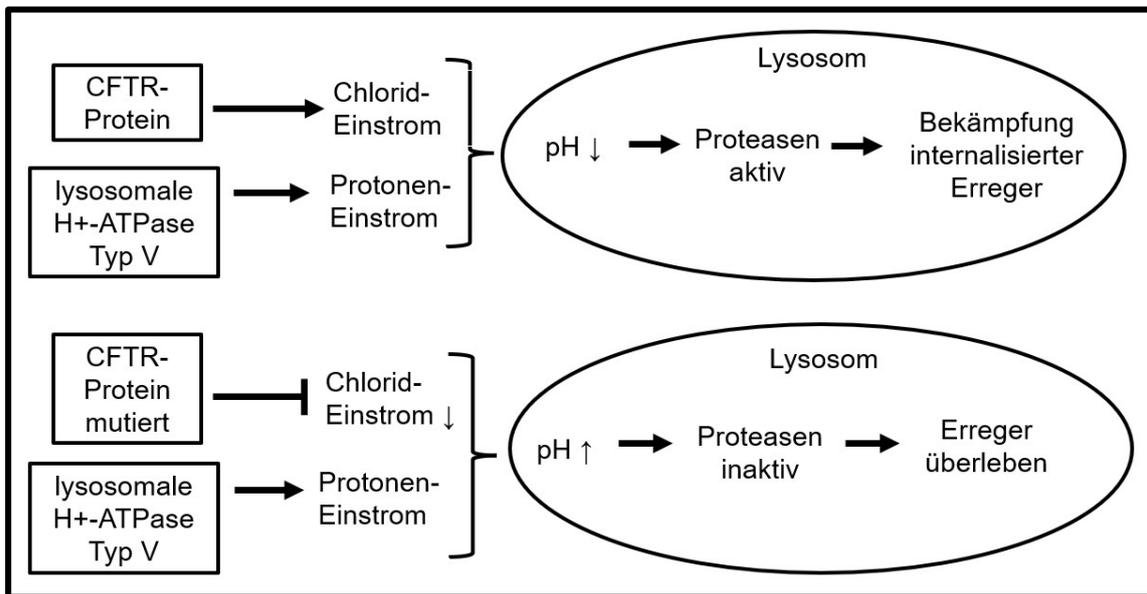


Abbildung 1: Einfluss des CFTR auf Phagolysosomen

Mechanismus zur Erklärung der eingeschränkten Bekämpfung internalisierter Erreger bei Patienten mit Mukoviszidose; der obere Teil der Abbildung zeigt den physiologischen Ablauf, während der untere Teil den mutationsbedingten pathologischen Ablauf darstellt; Abkürzungen: ATP = Adenosintriphosphat; CFTR = cystic fibrosis transmembrane conductance regulator; H^+ = Protonen; Quelle: eigene Darstellung nach [20]

1.3. Cholin und seine Metabolite

1.3.1. Cholin

Cholin ist ein essenzieller Nährstoff und für den Organismus konstitutiver Körperbaustein, der mit der Nahrung zugeführt werden muss [51]. Er liegt zu ca. 90% als PC und geringen Anteilen Sphingomyelin (SM) [52, 53] und wasserlöslichen Metaboliten vor, vorwiegend als Membranlipide mit besonders hohen Konzentrationen in Leber- und Lungenparenchym [54]. Die Essenzialität ergibt sich daraus, dass der tägliche Bedarf des Organismus durch die körpereigene Synthese nicht ausreichend gedeckt werden kann [55]. Cholin ist Baustein von PC und SM und damit ein wesentlicher Bestandteil aller Zellmembranen [56] und vieler Sekrete, insbesondere Galle, Lipoproteine und Surfactant [54]. Des Weiteren ist Cholin Baustein des Neurotransmitters Acetylcholin [57, 58]. Cholin ist zudem Ausgangssubstanz für die Bildung von

Betain als unmittelbar nachgeschaltetem hydrophilem Metabolit [59]. Ein erheblicher Teil (>40%) des aufgenommenen Cholins werden zu Betain metabolisiert [52]. Dieses, fungiert als Methylgruppen-Donor für verschiedene Methylierungsreaktionen, insbesondere der Methionin-Regeneration aus Homocystein [59].

Gesunde, nicht schwangere Frauen weisen typischerweise einen Plasmaspiegel von Cholin zwischen 5,7 und 11,2 $\mu\text{mol/L}$ (25. Perzentil - 75. Perzentil) auf [60]. Dieser wird jedoch postprandial in Abhängigkeit der aufgenommenen Nahrung erhöht [55]. Zeisel et al. kamen in einer klinischen Studie zu dem Ergebnis, dass eine dreiwöchige Cholinmangeldiät mit einer Abnahme der Cholinkonzentration im Plasma einhergeht [51]. Anderen Beobachtungen zufolge kann umgekehrt der Verzehr cholinhaltiger Nahrungsmittel eine vorübergehende Verdopplung der Plasmakonzentration bewirken [61]. Die einzelnen Cholinkomponenten, wie Cholinchlorid, Cholinbitartrat, Phosphocholin und PC weisen eine unterschiedliche Absorptionskinetik mit Plasmamaxima von 1-2h für die wasserlöslichen Komponenten und 3h für PC, nach Aufnahme auf [62]. Cholin wird nach der Stillphase hauptsächlich in Form von PC aufgenommen [59].

Laut Angaben der „National Academy of Medicine“ (NAM) liegt der Bedarf bzw. die angemessene Aufnahme (AI) von gesunden Erwachsenen bei 7-8mg/kg/Tag (ca. 550 mg/Tag für Männer und 420 mg/Tag für Frauen) und ist damit niedriger als die von Säuglingen welche 18mg/kg/Tag beträgt. Die AI ist neben dem Alter auch vom Geschlecht abhängig und steigt zusätzlich während Schwangerschaft und Stillzeit an. [55]

1.3.2. Phosphatidylcholin

Der größte Anteil des verfügbaren Cholins dient hauptsächlich der Synthese von PC [63]. Wie bereits erwähnt, handelt es sich dabei um ein wichtiges Strukturlipid der Zellmembran [64]. Die Konzentration von PC und SM ist in Geweben konstant und in Parenchymen von Leber und Lunge mit 21,8 bzw. 18,3 $\mu\text{mol/g}$ sehr hoch [54]. Ferner kann PC als eine wesentliche Komponente verschiedener Sekrete angesehen werden, da es sowohl in der Gallenflüssigkeit als auch im Lungen-Surfactant enthalten ist [65, 66]. Darüber hinaus zeigten Yao und Vance in ihrer

Arbeit, dass eine ausreichende Synthese von PC für die Sekretion von Lipoproteinen sehr niedriger Dichte (VLDL) der Leber erforderlich ist [67]. Dies ist nicht verwunderlich, da VLDL zu 20% aus PC [68] als Haupt-Phospholipid von Lipoproteinen besteht [69]. Die PC-Fraktion der VLDL versorgt die Gewebe zu 80% mit den langkettigen mehrfach ungesättigten Fettsäuren (LC-PUFA) Arachidonsäure (ARA) und Docosahexaensäure (DHA) [70]. Außerdem korrelieren die Plasmafraktionen von arachidonsäurehaltigem PC (ARA-PC) und docosahexaensäurehaltigem PC (DHA-PC) direkt mit der Lungenfunktion [71]. Überdies ist PC als Substrat essentiell für die Synthese von SM, dem zweiten cholinhaltigen Membranphospholipid [56], das über den Ceramid- und Sphingolipidstoffwechsel in enger Beziehung zu Apoptoseprozessen steht [72]. PC überträgt seine Phosphocholin-Gruppe dabei auf Ceramide [73]. Das katalysierende Enzym Sphingomyelin-Synthase (SMS, EC:2.7.8.27) ermöglicht diese Reaktion und damit gleichzeitig die Entfernung pro-apoptotischer Ceramide [72].

1.3.3. Betain

Insbesondere die Leber ist dazu in der Lage, Cholin weiter zu metabolisieren [59]. So wird ein erheblicher Anteil an exogen zugeführtem Cholin direkt zu seinem wasserlöslichen Metabolit Betain oxidiert [52]. Diese Umwandlung erfolgt durch eine zweistufige Reaktion und ist nicht reversibel: katalysiert wird sie durch die beiden Enzyme Cholin-Dehydrogenase (CHD, EC: 1.1.99.1) unter Verwendung des Cofaktors Pyrrolochinolinchinon (PQQ) und Betain-Aldehyd-Dehydrogenase (BAD, EC: 1.2.1.8), wobei als Zwischenprodukt Betain-Aldehyd entsteht [59, 74-76]. Hohe Betain-Spiegel sind vorwiegend in Leber und Plasma nachweisbar, wohingegen dessen Konzentration im Lungengewebe vergleichsweise niedrig ist [53]. Betain ist zu 50% verantwortlich für die Methionin-Synthese aus Homozystein [77], indem es seine Methylgruppe mittels Enzym Betain-Homocystein-S-Methyltransferase (BHMT, EC 2.1.1.5) auf Homocystein überträgt [59].

1.4. Cholinmetabolismus

1.4.1. Phosphatidylcholin-Synthese

Die PC-Synthese erfolgt über zwei verschiedene Stoffwechselwege, die als Cytidin-Diphospho-(CDP-) Cholin-Weg und als Phosphatidylethanolamin-N-Methyltransferase (PEMT; EC:2.1.1.17)-Weg bezeichnet werden [78]. Die Grundlage beim ubiquitären CDP-Cholin-Stoffwechselweg ist die Verwendung von freiem, meist exogenem, Cholin, während beim essenziellen aber quantitativ weniger bedeutsamen hepatischen PEMT-Weg Phosphatidylethanolamin (PE) dreifach durch aktiviertes Methionin methyliert wird und so via PC endogenes Cholin entsteht [78, 79].

1.4.2. CDP-Cholin-Stoffwechselweg

Im menschlichen Organismus wird der Großteil an PC über den CDP-Cholin-Stoffwechselweg gebildet, wobei dieser de novo PC-Syntheseweg aufgrund des Namens seines Erstbeschreibers, auch als ein Teil des Kennedy-Pathways bekannt ist. Alle drei Reaktionsschritte von Cholin zu PC (Abbildung 2) zeigen als ersten Schritt die Adenosintri-phosphat (ATP)-abhängige Phosphorylierung von Cholin zu Phosphocholin, gefolgt von dessen Cytidylierung durch Cytidintri-phosphat (CTP) zu CDP-Cholin. Dessen Phosphorylcholin-Gruppe wird unter Freisetzung von Cytidinmonophosphat (CMP) auf die 3-OH-Gruppe eines Diglycerids (1,2-Diacylglycerol) übertragen, sodass PC entsteht. [80]

Dieser Stoffwechselweg läuft in allen kernhaltigen Zellen ab [81]. Voraussetzung ist das Vorhandensein von Cholin, das (Abbildung 2) vorwiegend exogen über die Aufnahme von Nahrungsmitteln in den Körper gelangt oder zu geringen Teilen dem PEMT-Stoffwechselweg entstammt [79]. Damit steht am Anfang dieses PC-Synthesewegs die zelluläre Aufnahme von Cholin mittels Transporter, welche proportional zur Plasmakonzentration erfolgt [82].

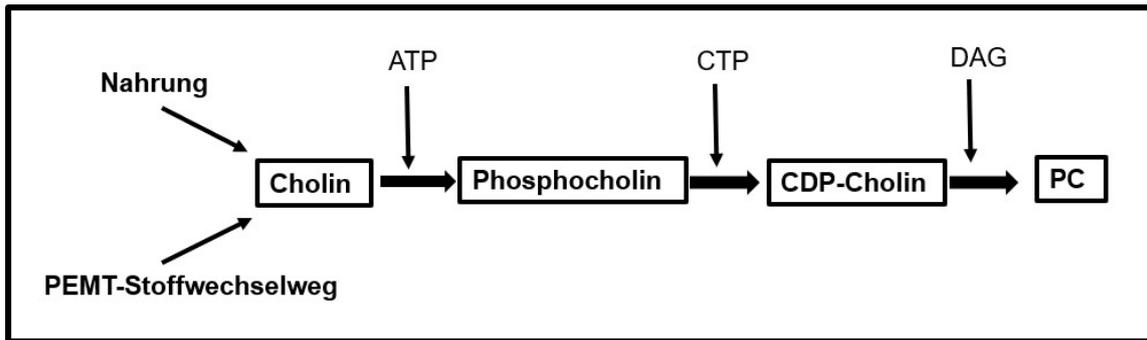


Abbildung 2: Der CDP-Cholin-Stoffwechselweg

Abkürzungen: ATP = Adenosintriphosphat; CDP-Cholin = Cytidin-Diphospho-Cholin; CTP = Cytidintriphosphat; DAG = Diglycerid; PC = Phosphatidylcholin; PEMT = Phosphatidylethanolamin-N-Methyltransferase; Quelle: eigene Darstellung nach [78]

1.4.3. PEMT-Stoffwechselweg

Der PEMT-Weg dient ebenfalls der PC-Synthese, läuft aber vorwiegend in der Leber ab [83]. Aus Abbildung 3 geht hervor, dass es sich dabei um eine dreischrittige Reaktion handelt, bei der alle drei aufeinanderfolgenden Methylierungen durch das namensgebende Enzym Phosphatidylethanolamin-N-Methyltransferase (PEMT; EC:2.1.1.17) katalysiert werden [84]. Das an dieser Reaktion beteiligte Co-Substrat S-Adenosylmethionin (SAM; aktiviertes Methionin) überträgt seine Methylgruppe auf PE, wobei S-Adenosyl-Homocystein (SAH) als Nebenprodukt entsteht [85]. Diese Methylierung wird am Substrat zweimal wiederholt [84], sodass aus einem PE unter Verbrauch von drei SAM ein PC und drei SAH entstehen [86]. Letztere werden im weiteren Verlauf enzymatisch zu Homocystein umgesetzt [24].

Noga et al. wiesen nach, dass ein enger Zusammenhang zwischen der PEMT-Aktivität und der Homocystein Konzentration im Plasma besteht [87]. Im Gegensatz zum CDP-Cholin-Weg, entstehen über diesen Methylierungsweg auch beim Menschen überwiegend PC-Moleküle, welche langkettige mehrfach ungesättigte Fettsäuren (ARA und DHA) enthalten [88, 89]. Abbildung 3 zeigt, dass das entstandene PC unter Beteiligung von Phospholipasen in Cholin umgewandelt werden kann [63]. Der PEMT-Stoffwechselweg gilt damit als ein endogener Mechanismus, aus dem neue Cholin-Moleküle hervorgehen [90]. Die auf dem ersten Blick scheinbar unabhängig voneinander ablaufenden Wege der endogenen Synthese und der exogenen Zufuhr von Cholin, sind nicht isoliert

voneinander zu betrachten [53]. Wie der Abbildung 4 zu entnehmen ist, beruht dies darauf, dass die Methylgruppen von SAM, welche für die endogene Synthese unabdingbar sind, teilweise selbst aus Betain abstammen, dessen Ursprung wiederum in exogenem zugeführtem Cholin liegt [89].

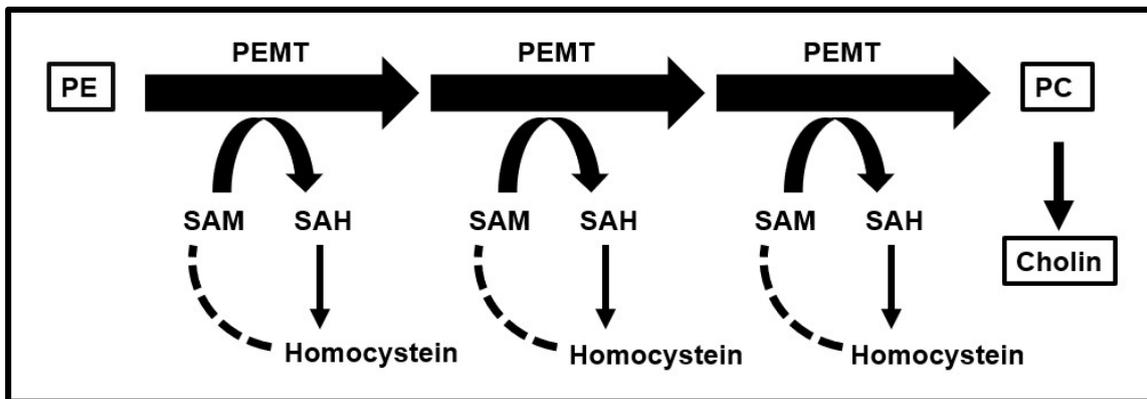


Abbildung 3: Der PEMT-Stoffwechselweg

Mit gestrichelten Linien ist der Methionin-Homocystein-Zyklus angedeutet; Abkürzungen: PE = Phosphatidylethanolamin; PEMT = Phosphatidylethanolamin-N-Methyltransferase; SAH = S-Adenosylhomocystein; SAM = S-Adenosylmethionin; PC = Phosphatidylcholin; Quelle: eigene Darstellung nach [78, 79]

1.4.4. Methionin-Homocystein-Zyklus

Dem Methionin-Homocystein-Kreislauf kommt im Hinblick auf den Cholin-Metabolismus eine besondere Bedeutung zu, da diese beiden Stoffwechselwege, wie in Abbildung 4 dargestellt, zwei gemeinsame Schnittstellen aufweisen [79]. Einerseits ist der von Methionin abstammende Methylgruppenüberträger SAM für den zuvor geschilderten PEMT-Stoffwechselweg unerlässlich [90]. Andererseits überschneiden sich die beiden Stoffwechselwege durch die im Folgenden erläuterte Reaktion, bei der Homocystein unter Beteiligung von Betain zu Methionin umgesetzt wird [91].

Weiterhin zeigt Abbildung 4, dass Homocystein über verschiedene Wege weiterreagieren kann [92]. Ist dies aufgrund einer stoffwechselbedingten Störung nur eingeschränkt möglich, erhöht sich die Homocystein-Konzentration im Plasma [79]. Entweder findet im Rahmen des Methionin-Homocystein-Kreislaufs eine Regeneration von Methionin statt, oder aber Homocystein wird über Cystathionin irreversibel zu der proteinogenen Aminosäure Cystein

verstoffwechselt, woraus im weiteren Verlauf GSH auch entsteht [92]. Insgesamt ist die Cysteinbildung cholinabhängig, da die Synthese von Cystathionin durch hohe SAM-Konzentrationen stimuliert wird [93] und die SAM-Synthese selbst Betain sowie weitere Downstream-Produkte von Cholin benötigt [94].

Die Regeneration von Methionin beschreibt eine Methylierungsreaktion, die je nach Ursprung der Methylgruppen auf zwei unterschiedliche Arten ablaufen kann [95]. Beide Stoffwechselwege sind gleichwichtig [77]. Wie in Abbildung 4 dargestellt, besteht eine Möglichkeit darin, Methionin mithilfe des Enzyms Methionin-Synthase (MS; EC:2.1.1.13) in Abhängigkeit von 5-Methyl-Tetrahydrofolat (5-MTHF) zu bilden [77]. Die Methylgruppe zur Synthese von 5-MTHF entstammt dabei unter anderem den beiden Produkten des Downstream-Metabolismus von Betain, Dimethylglycin und Sarcosin [96]. Alternativ wird die Reaktion durch das vorwiegend in der Leber vorkommende Enzym [97] BHMT folat-unabhängig unter direkter Verwendung von Betain katalysiert [77].

Bei verminderter Folat-Verfügbarkeit kann der MS-Weg nur begrenzt ablaufen, sodass sich die Aktivität des folat-unabhängigen Wegs mit Betain als Methylspender und damit einhergehend auch der Cholin-Bedarf kompensatorisch erhöht [95]. Da das Enzym BHMT die Methylgruppe von Betain, verwendet die ursprünglich von Cholin abstammt (Abbildung 4), kommt es während Cholin-Mangel-Zuständen zum verstärkten Ablauf der alternativen Reaktion mit Folsäure als Methylgruppen-Spender [95]. Diese ausgleichenden Wechselwirkungen der beiden Methionin regenerierenden Wege zeigen, dass Cholin und das Vitamin Folat im Methylgruppenstoffwechsel in einer engen Beziehung zueinander stehen [41].

Etwa 80% des Methionins wird entsprechend Abbildung 4 zum aktiven Metaboliten SAM umgesetzt, während die verbleibenden 20% der Proteinbiosynthese dienen [54]. SAM ist an einer Vielzahl von Methylierungsreaktionen beteiligt: So spielt es eine wichtige Rolle bei der Keratinsynthese [98, 99] und moduliert durch DNA/Histon-Methylierung die Genexpression (epigenetische Kontrolle) [94]. Außerdem macht Abbildung 4 deutlich, dass SAM auch im Rahmen des PEMT-Stoffwechselwegs unabdingbar ist, wodurch sich der Kreis schließt [85].

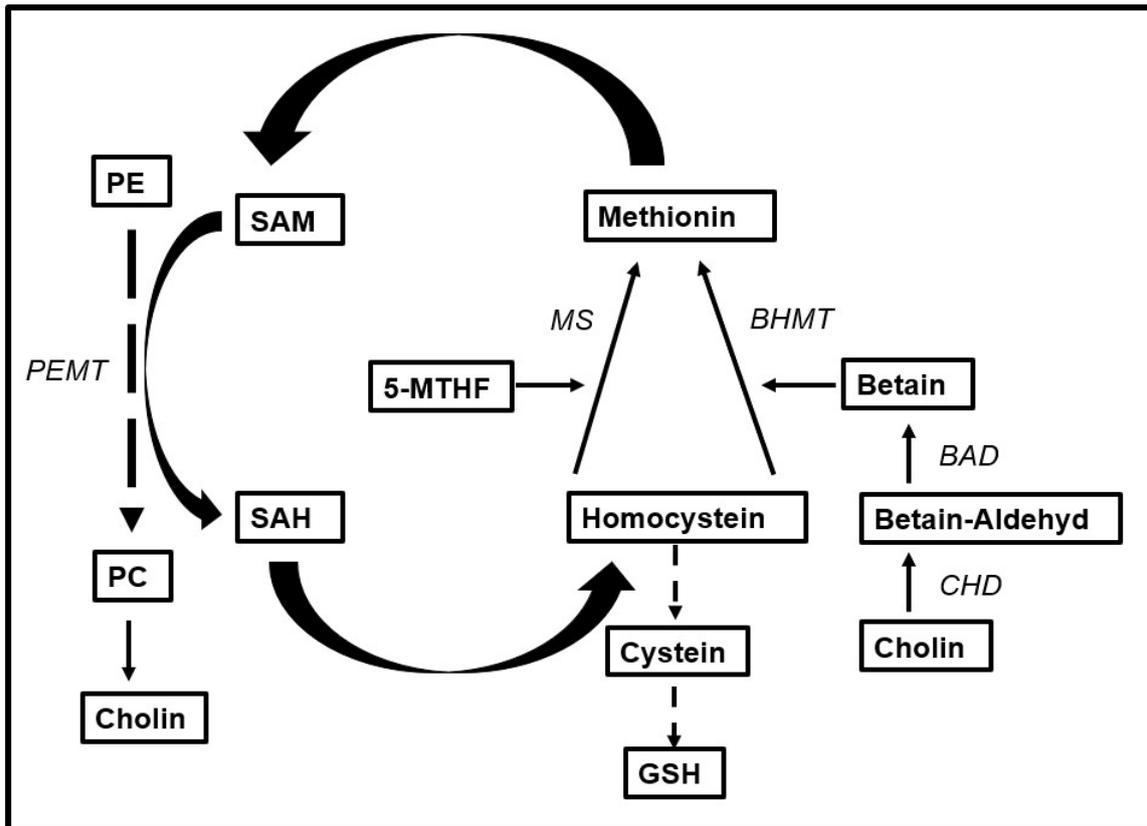


Abbildung 4: Der Methionin-Homocystein-Zyklus

Enzyme sind kursiv dargestellt; mit gestrichelten Linien sind Zwischenreaktionsschritte angedeutet; Abkürzungen: 5-MTHF = 5-Methyl-Tetrahydrofolat; BAD = Betain-Aldehyd-Dehydrogenase; BHMT = Betain-Homocystein-S-Methyltransferase; CHD = Cholin-Dehydrogenase; GSH = Glutathion; MS = Methionin-Synthase; PC = Phosphatidylcholin; PE = Phosphatidylethanolamin; PEMT = Phosphatidylethanolamin-N-Methyltransferase; SAH = S-Adenosylhomocystein; SAM = S-Adenosylmethionin; Quelle: eigene Darstellung nach [79]

1.4.5. Der bakterielle Abbau von Cholin

Bereits in der Darmschleimhaut wird ein Teil des Cholins zu Betain umgesetzt [59, 100]. Außerdem nutzen viele Darmbakterien Cholin als Energie- und Kohlenstoffquelle, wobei der Metabolit Trimethylamin (TMA) entstehen kann [29, 101]. Stremmel et al. kamen im Rahmen ihrer Arbeit zu dem Ergebnis, dass diese Umwandlung hauptsächlich im Dünndarm stattfindet [102]. Schließlich katalysiert nach Transport zur Leber die dortige Flavin-abhängige Monooxygenase 3 (FMO3, EC:1.14.13.148) [103] die TMA-Oxidation zu Trimethylamin-N-oxid (TMAO) (Abbildung 5) [104]. Ein erhöhter TMAO-Spiegel scheint sich möglicherweise auf das Herz-Kreislauf-System negativ auszuwirken, zumindest treten kardiovaskuläre Ereignisse bei erhöhten TMAO-Spiegeln häufiger auf

[105]. Die Absorption von Lyso-PC ist bestimmend für die dem Mikrobiom verfügbare Menge an Cholin und ist damit bestimmender Faktor der TMA(O)-Synthese [29].

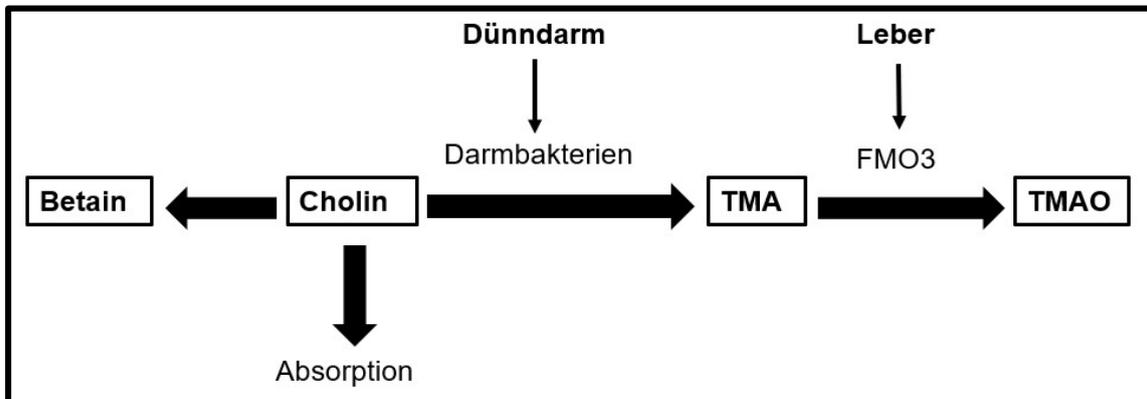


Abbildung 5: Der bakterielle Abbau von Cholin

Abkürzungen: FMO3 = Flavin-abhängige Monooxygenase 3; TMA = Trimethylamin; TMAO = Trimethylamin-N-oxid; Quelle: eigene Darstellung nach [101]

1.4.6. Der Enterohepatische Kreislauf

Ohne effiziente PC-Absorption kann die Cholin-Homöostase im menschlichen Organismus nicht aufrechterhalten werden [29], weil PC der hauptsächliche Cholinträger der Nahrung ist [59] und über den enterohepatischen Kreislauf der Galle täglich ca. 50% des hepatischen PC-Pools umgesetzt werden, d. h. ca. 11g [29, 53]. Um eine effiziente Absorption zu ermöglichen, muss PC durch intestinale Phospholipasen zu Lyso-PC gespalten werden [54].

Nilsson und Duan zufolge ergibt sich entsprechend Abbildung 6 eine Einteilung in zwei Phasen: In der P-Phase erreichen die Phospholipasen das Darmlumen über Pankreassekrete, während sie in der M-Phase direkt der Darmschleimhaut entstammen. Für PC aus Galle und Nahrung kommt der pPLA2iB während der P-Phase eine besondere Bedeutung zu. Die Spaltprodukte Lyso-PC und freie Fettsäure werden von Enterozyten resorbiert, um im weiteren Verlauf über zwei unterschiedliche Wege weitermetabolisiert zu werden. [29]

Ein Teil des Lyso-PC wird mittels Enzym Lyso-PC-AcylCoA-Acyltransferase 3 (LPCAT3; EC: 2.3.1.23) zu polyunsaturiertem [106] PC umgewandelt, das sich an der Bildung von Chylomikronen beteiligt [107]. Im Gegensatz dazu produziert die LPCAT1 der Lunge disaturiertes PC für den Surfactant [108, 109]. Die PC

enthaltenden Chylomikronen werden daraufhin vom Darm ausgehend über das Lymphsystem in die Peripherie transportiert (Abbildung 6), um die dort befindlichen Organe, darunter auch die Lunge, mit Lipiden zu versorgen [54]. So konnten Wang et al. im Rahmen ihrer Arbeit zeigen, dass zwischen dem Vorhandensein des Enzyms LPCAT3 und der Sekretion von Chylomikronen ein Zusammenhang besteht [110]. Wie Abbildung 6 zeigt, entsteht aus dem anderen Teil absorbierter Lyso-PC-Moleküle (ca. 50%) unter Beteiligung verschiedener Hydrolasen freies Cholin [29, 54]. Während geringe Mengen an Cholin über den CDP-Cholin-Stoffwechselweg ebenfalls zu PC umgesetzt werden, gelangt der Großteil dieses wasserlöslichen Metaboliten über die Pfortader zur Leber und teils weiter in den großen Kreislauf [29, 59]. Entscheidend ist, dass ein Teil des in der Leber synthetisierten PCs mittels ABC(ATP-bindende Kasette)-Transporter vom Typ B4 (ABC-B4-Transporter, früher MDR3 P-Glykoprotein) in die Galle abgegeben wird [111, 112]. Täglich gelangen so ca. 50% des Leber-PC erneut in den Darm [29, 53], sodass der Kreislauf, wie in Abbildung 6 dargestellt, von vorne beginnt.

Physiologischerweise durchläuft der gesamte enterohepatische Phosphatidylcholin-Pool den Zyklus 5-10 Mal täglich [113]. Wie bereits erwähnt, wird Cholin dem Körper überwiegend in Form von PC enthaltenden Nahrungsmitteln zugeführt und zusätzlich durch eine nur begrenzt ablaufende, endogene Cholin-Synthese der Leber ergänzt [59]. Von entscheidender Bedeutung ist, dass eine effektive Wiederverwertung über den enterohepatischen Kreislauf zwingend erforderlich ist, da die Zufuhr nicht ausreicht, um den Verlust über die Gallensekretion zu kompensieren [29]. Walkey et al. haben gezeigt, dass PEMT-knockout-Mäuse unter Cholinmangel bereits nach drei Tagen schwere Leberschäden entwickelt hatten [81]. Später kamen Li et al. zu dem Ergebnis, dass das Überleben dieser Mäuse durch ein zusätzliches Ausknocken des biliären PC-Transporters „multiresistentes Protein 2“ (MDR2) verlängert werden kann [114]. Die Erklärung ist, dass bei MDR2-knockout-Mäusen keine PC-Sekretion in die Galle erfolgt [112]. Eine derartige Eindämmung des enterohepatischen Turnovers scheint die Leber vor großen

PC-Verlusten zu schützen und damit das akute Leberversagen zu verhindern [114].

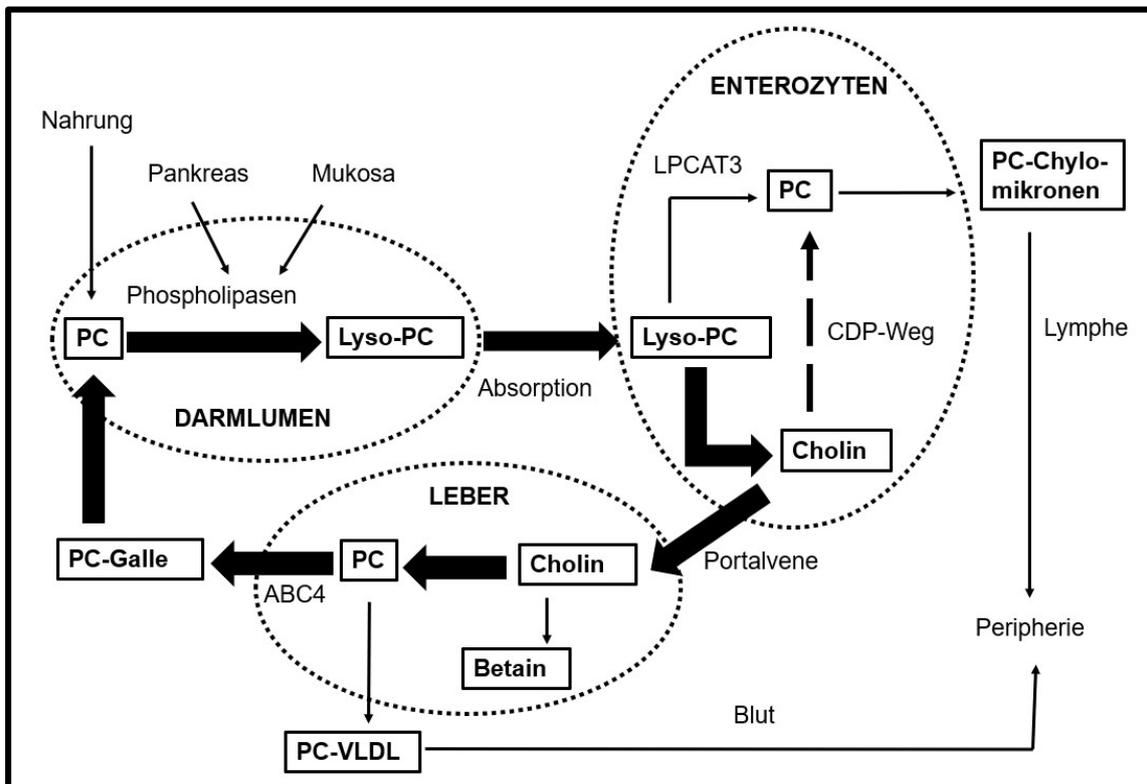


Abbildung 6: Der enterohepatische Kreislauf

dicke Pfeile kennzeichnen den enterohepatischen Kreislauf; Kreise markieren die Lokalisation der jeweiligen Reaktion innerhalb des Organismus; gestrichelte Pfeile deuten Zwischenreaktionsschritte an; Abkürzungen: ABC-B4 = ATP-bindende Kassetten-B4-Transporter; CDP-Weg = Cytidin-Diphospho-Cholin-Stoffwechselweg; LPCAT3 = Lyso-PC-AcylCoA-Acyltransferase 3; Lyso-PC = Lysophosphatidylcholin; PC = Phosphatidylcholin; VLDL = Lipoproteine sehr niedriger Dichte (engl. very low density lipoprotein); Quelle: eigene Darstellung nach [29]

1.4.7. Wechselwirkung zwischen Leber und Lunge

Die Leber ist Zentralorgan des Lipidstoffwechsels, da sie PC in Form von VLDL sezerniert, um die Versorgung peripherer Organe zu gewährleisten [67, 71]. Aber auch die Lunge sezerniert PC als Bestandteil von Lipoproteinen hoher Dichte (HDL), um die systemische Lipoprotein- und Cholin/PC-Homöostase aufrechtzuerhalten [115, 116]. Die basolaterale PC-Sekretion der Lunge [117], und damit ihr systemischer Beitrag, geschieht mittels ABC-A1-Transporter [115]. Steht der Leber nicht ausreichend Cholin zu Verfügung, wird via ABC-A1-abhängige PC-Sekretion ihre Versorgung auf Kosten anderer Organen wie

beispielweise der Lunge sichergestellt [115, 116]. Damit können sowohl die Leber als auch die Lunge, als zentrale Organe im Hinblick auf die Cholin-Homöostase bezeichnet werden [118]. Bemerkenswert ist hierbei, dass der Cholin/PC-Pool der Lunge als Reservoir für die Leber als „Großverbraucher“ nur $\frac{1}{4}$ dessen der Leber beträgt [52, 53].

1.5. Cholin-Mangel bei Mukoviszidose

1.5.1. Ursachen

Wie bereits oben beschrieben, entwickelt der Großteil aller CF-Patienten eine exokrine Pankreasinsuffizienz, die mit einer verminderten Sekretion von HCO_3^- und Pankreasenzymen einhergeht [26]. Die Enzymaktivität wird selbst bei Enzymsubstitution [31] in dem daraus resultierenden sauren Milieu stark beeinträchtigt, da besonders die Funktionsfähigkeit der pPLA2iB eine ausreichende Alkalisierung des Duodenums voraussetzt [28]. Infolgedessen kann die für die Cholin-Rückresorption erforderliche enzymatische Umwandlung von PC zu Lyso-PC als notwendiger Mechanismus des enterohepatischen Kreislaufs von Galle-PC nicht effizient ablaufen [29, 118]. Vor dem Hintergrund eines hohen enterohepatischen Turnovers von täglich ca. 50% des hepatischen PCs (ca. 23g PC entsprechend 3g Cholin) [29, 53], kommt es bedingt durch den gestörten Recycling-Prozess von ca. 1,5g Cholin/Tag [53] bei CF-Patienten zu erhöhten fäkalen Verlusten von PC [24] und gleichzeitig zu einer behinderten Fettverdauung, weil die Lyso-PC-Bildung durch pPLA2iB für die Aktivität der Pankreaslipase nötig ist [53].

Zwei weitere Aspekte sind im Rahmen des daraus resultierenden Cholinmangels zu bedenken: Grundsätzlich leiden CF-Patienten an einer bakteriellen Dysbiose mit verminderter Diversität [119]. Hinzu kommt jedoch, dass es durch die pathognomonische Motilitätsstörung des Darms und Muzin-Plugs oftmals auch zu einer Fehlbesiedlung des Dünndarms (SIBO) kommt [120]. Viele dieser Bakterien z. B. *Escherichia coli* besitzen die Fähigkeit, Cholin-Moleküle noch vor deren Resorption abzubauen [101, 121]. Zweitens nehmen singuläre Nukleotid-Polymorphismen (SNP) des PEMT-Gens durch Beeinträchtigung der

körpereigenen Cholin-Synthese ebenfalls Einfluss auf den individuellen Bedarf an Cholin [122]. Beispielsweise neigen Träger des SNP rs12325817 eher dazu bedingt durch einen Cholin-Mangel Leberdysfunktionen inklusive Steatosis hepatis zu entwickeln [122].

In summa kann der pathognomonische Cholin-Mangel bei Patienten mit Mukoviszidose mit exokriner Pankreasinsuffizienz durch die Dysfunktion des enterohepatischen Kreislaufs von Galle-Phosphatidylcholin und eine erhöhte fäkale Ausscheidung von Cholin erklärt werden. Dies wird potenziell aggraviert durch Fehlbesiedlung des Dünndarms und häufige SNP im Cholinstoffwechsel, insbesondere des PEMT-Gens [53]. Daraus lässt sich ableiten, dass Cholin-Mangel bei CF-Patienten [79] aufgrund der meist schon bei Geburt vorliegenden exokrinen Pankreasinsuffizienz häufig ist und durch zusätzliche Faktoren beeinflusst wird [53].

1.5.2. Plasma-Konzentrationen

Innis und Hasman untersuchten die Plasmakonzentrationen von Cholin und dessen Downstream-Metaboliten bei gesunden Kindern und CF-Patienten im Vergleich. Dabei wiesen sie nach, dass die Cholin-Konzentration im Plasma von CF-Patienten mit $6,48 \pm 0,35 \mu\text{mol/L}$ im Vergleich zu dem der Kontrollen mit $8,98 \pm 0,46 \mu\text{mol/L}$ erniedrigt ist. Hinsichtlich der Downstream-Metabolite Betain- und Dimethylglycin wurde ebenfalls eine signifikante Erniedrigung der Plasmakonzentrationen bei CF-Patienten festgestellt. [79]

Aus Untersuchungen an erwachsenen CF-Patienten geht hervor, dass neben dem erniedrigten Cholin-Spiegel im Vergleich zu gesunden Probanden, eine geringere PC-Konzentration im Plasma vorliegt [71].

Darüber hinaus belegte eine weitere Studie, dass CF-Patienten um ca. 30% niedrigere Plasmakonzentrationen ($1,45 \pm 0,13 \mu\text{mol/L}$ anstatt $2,07 \pm 0,17 \mu\text{mol/L}$) des antioxidativ wirkenden Glutathions aufweisen [91].

Bereits zu einem früheren Zeitpunkt zeigten Innis et al. durch ein ähnliches Studiendesign, dass sich CF-Patienten ferner durch eine niedrige Methionin-Konzentration im Plasma auszeichnen, der Plasmaspiegel von Homocystein, SAH und PE hingegen erhöht war [123]. Dies bedeutet, dass nicht genügend

Methylgruppendonor ausgehend von Cholin zur Umwandlung von Homocystein in Methionin zur Verfügung stehen. Später wurden diese Erkenntnisse durch weitere Studien bestätigt [24, 79, 91].

1.5.3. Auswirkungen auf die Leber

Grothe et al zeigten mit Deuterium-markiertem Cholin beim Menschen, dass die PC-Sekretion der Leber ins Plasma bei CF-Patienten erniedrigt ist, insbesondere der Anteil an PC aus dem PEMT-Pathway [71]. Wie bereits erwähnt, ist eine funktionierende PC-Synthese essentiell, um die VLDL-Sekretion der Leber aufrechtzuerhalten [67]. Die PC-Sekretion in die Galle hat jedoch Priorität [114]. Ist die VLDL-Sekretion aufgrund eines Cholinmangels gestört, kann folglich die Versorgung peripherer Gewebe nicht mehr sichergestellt werden [71]. Bedingt durch den reduzierten Export, reichern sich Triglyceride in der Leber an [41, 124]. Das ist im Einklang damit, dass bis zu 60% der CF-Patienten eine Steatose entwickeln [125]. Experimente mit PEMT-knockout-Mäusen, die kein Cholin über die Nahrung erhalten und endogen keinerlei Cholin bilden können, machten deutlich, dass schwere Leberschäden durch Cholin-Unterversorgung bereits nach 3 Tagen auftreten, was eine Kausalität nahelegt [81, 114].

1.5.4. Auswirkungen auf die Lunge

Bei der Lungen-Erkrankung von CF-Patienten scheinen Ceramide von besonderer Bedeutung zu sein [50]. SM wird hier vermehrt mittels des Enzyms saure Sphingomyelinase (SSM, EC: 3.1.4.12) hydrolysiert (Abbildung 7), wobei Phosphocholin und Ceramid als Reaktionsprodukte entstehen [126]. Die weitere Umwandlung zu Sphingosin wird entsprechend Abbildung 7 durch das Enzym Ceramidase (EC: 3.5.1.23) katalysiert [127]. In den Lungen CFTR-defizienter Mäuse liegt eine erhöhte Ceramid-Konzentration vor [128]. Ursächlich hierfür ist einerseits der gestörte CFTR-abhängige Transport von S1P in die Zelle [9], sodass es zum Rückstau und damit zur Ceramidanreicherung (Apoptosesignal) kommt [72]. Andererseits, geht wie bereits oben beschriebenen (Abbildung 1), ein CFTR-Mangel mit einer Erhöhung des lysosomalen pH-Werts in Makrophagen [20] und einem gestörtem Ceramidabbau einher.

So ist es Teichgräber et al. gelungen, im Rahmen verschiedener Experimente mit CFTR-defizienten Mäusen dieses Phänomen zu bestätigen. Zusätzlich kamen sie zu dem Ergebnis, dass Enzyme bei einem erhöhten pH-Wert sehr unterschiedliche Aktivitäten aufweisen. Während die Ceramid abbauende saure Ceramidase bei einem pH von $\geq 5,9$ annähernd inaktiv ist, weist die Ceramid synthetisierende SSM eine Restaktivität von ca. 65% auf. Dieses unausgeglichene Verhältnis der beiden Enzymaktivitäten, ist in Abbildung 7 dargestellt und führt letztlich zur Ceramid-Anreicherung in der Lunge. [128]

Wie bereits oben erwähnt, benötigt die Erniedrigung von Ceramid durch die entgegengesetzte Reaktion, also seine Resynthese zu SM durch das Enzym SMS, PC als Substrat, um der übermäßigen Ceramid-Produktion entgegenwirken zu können [72, 73]. Da ein Cholinmangel jedoch mit einer erniedrigten PC-Synthese und -Verfügbarkeit einhergeht [129], ist unter Umständen auch der Ceramid-Abbau in einer solchen Situation beeinträchtigt [118], was dessen Akkumulation entsprechend Abbildung 7 begünstigt.

Da Ceramide pro-apoptotisch wirksam sind [72], ist es nicht verwunderlich, dass in den Atemwegen CFTR-defizienter Mäuse eine verstärkte Ablagerung von DNA nachgewiesen werden konnte [128]. Diese viskösen Ablagerungen stehen der Bekämpfung von Krankheitserregern im Weg, indem sich die Anfälligkeit gegenüber *Pseudomonas aeruginosa*-Infektionen aufgrund einer eingeschränkten mukoziliäre Clearance erhöht [128, 130]. Zusätzlich wurde bei CF-Mäusen eine erhöhte Konzentration proinflammatorischer Zytokine, Makrophagen und neutrophiler Granulozyten beobachtet, wobei weitere Versuche zeigten, dass die Entzündungsreaktion der Lunge ebenfalls auf den abnorm hohen Ceramid-Spiegel zurückzuführen ist [128].

Grothe et al. kamen im Rahmen Ihrer Studie zu dem Ergebnis, dass ein niedriger Cholin- bzw. PC-Spiegel mit einem erniedrigten prozentual vorhergesagtem forciertem Expirationsvolumen in einer Sekunde (pppFEV1) assoziiert ist, was auf eine schlechte Lungenfunktion hindeutet. Im Gegensatz dazu konnte ein umgekehrter Zusammenhang zwischen der vorliegenden Konzentration dieser beiden Metabolite und dem Entzündungsmarker Interleukin 6 (IL-6) nachgewiesen werden. Aus diesen Daten geht hervor, dass auch klinische

Parameter, welche nicht die Leber betreffen, mit dem Cholin-Status von CF-Patienten korrelieren könnten [71]

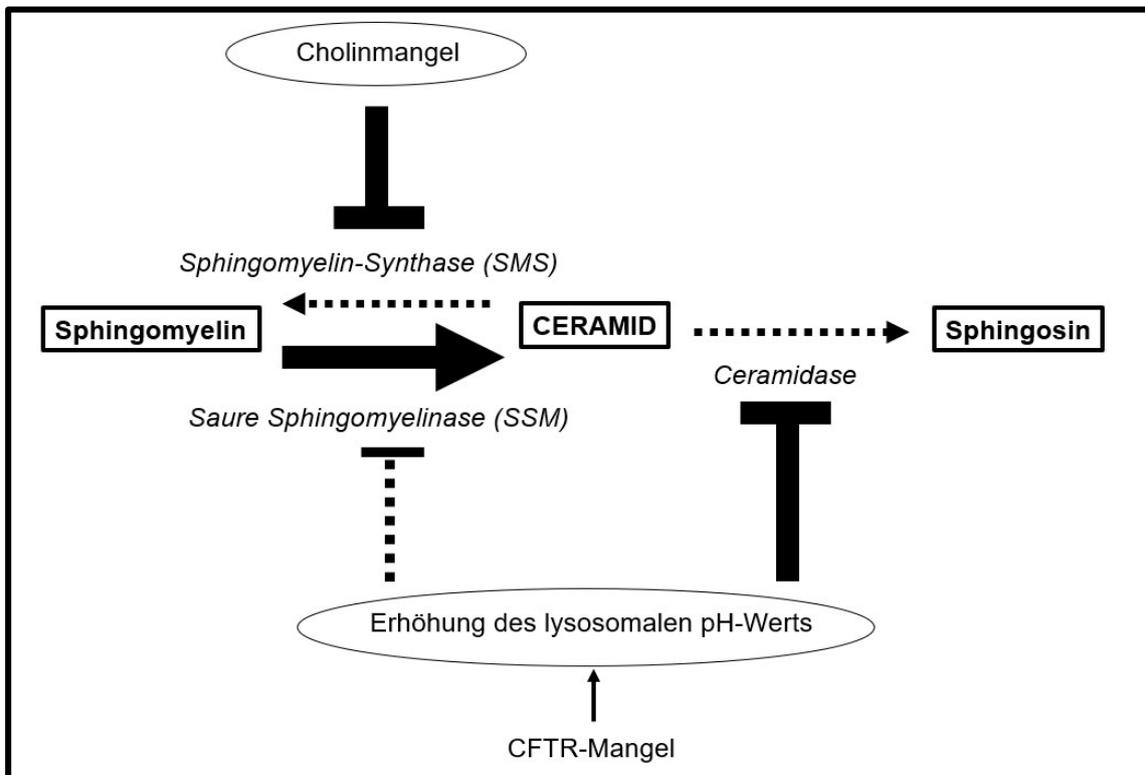


Abbildung 7: Ceramid-Akkumulation in der Lunge

Das unausgeglichene Verhältnis der Enzymaktivitäten bedingt die Ceramid-Anreicherung in der Lunge; Enzymnamen sind kursiv dargestellt; dicke schwarze Balken symbolisieren eine starke Hemmung bzw. ein verstärktes Ablaufen der Reaktion; gestrichelte Linien symbolisieren eine weniger starke Hemmung bzw. ein eingeschränktes Ablaufen der Reaktion; Quelle: eigene Darstellung nach [50]

Üblicherweise gelangt Cholin ausgehend von der Leber in die Peripherie [54]. Während eines Cholin-Mangels muss jedoch primär die Funktion der Leber und die des Gehirns sichergestellt werden, sodass wie bereits geschildert, eine Umverteilung von Cholin aus anderen Organen erfolgt [116]. Dies geschieht insbesondere zu Lasten der Lunge, um sowohl die Gallensekretion als auch die VLDL-Sekretion der Leber weiterhin gewährleisten zu können [54]. Daraus lässt sich ableiten, dass die Lunge im Rahmen einer CF-Erkrankung nicht nur chronisch belastet und entzündet ist [128], sondern als Folge des gestörten Cholin-Metabolismus einem zusätzlichen Cholin-Entzug unterliegt, indem sie ihr PC im Rahmen der HDL-Bildung sezerniert, um die Leber zu versorgen [115].

Daher könnte der bei CF-Patienten auftretende Cholinmangel auch mit einer eingeschränkten Lungenfunktion zusammenhängen [53].

1.5.5. Cholin-Supplementierung

Angesichts dieser Erkenntnisse führten Bernhard et al. eine Studie durch, um mit einer hochdosierten Cholin-Supplementierung die Plasmakonzentrationen zu normalisieren und die klinischen Parameter Lungenfunktion und Leberfettgehalt neben anderen Sekundärparametern zu prüfen. Dazu wurden 10 erwachsene männliche CF-Patienten mit Pankreasinsuffizienz (5 Patienten homozygot für Phe508del, 5 Patienten compound-heterozygot) täglich mit 2,2g Cholin in Form von 3 x 1g Cholin-Chlorid supplementiert. Die Ergebnisse wurden als Mediane und Interquartilgrenzwerte angegeben. Durch 84-tägige Intervention stieg die anfängliche Cholin-Plasma-Konzentration von 4,8 [4,1–6,2] $\mu\text{mol/L}$ auf 10,5 [8,5–15,5] $\mu\text{mol/L}$ an. Es resultierte eine Abnahme des Leberfettgehalts von 1,58 [0,37–8,82] % auf 0,84 [0,56–1,17] %. Insbesondere der Maximalwert von 8,8% wurde auf 2,1% gesenkt. In 9 von 10 Fällen resultierte eine Steigerung des ppFEV1-Werts von 70,0 [50,9–74,8] % auf 78,3 [60,1–83,9] % als Lungenfunktionsparameter. Der Proband ohne ppFEV1-Verbesserung hatte zum Studienende einen akuten Bronchialinfekt. Somit liefern diese Daten Hinweise dafür, dass eine Korrektur des bestehenden Cholinmangels für den klinischen Verlauf bei CF-Patienten relevant ist. [118]

Innis et al. zeigten bereits Jahre zuvor bei Kindern, dass eine 14-tägige Nahrungsergänzung entweder mit 1,85g Cholin oder 3g Betain, das Verhältnis zwischen GSH und Glutathiondisulfid (GSSG) und damit auch die antioxidative Kapazität deutlich erhöht. Außerdem wurde durch diese Intervention sowohl der niedrige Methionin-Spiegel, als auch das reduzierte Verhältnis von SAM zu SAH im Plasma teilweise kompensiert. [91]

Bei einer 22-jährigen CF-Patientin, die seit Vorschulkindalter von einer progredienten schweren Steatose und Hepatomegalie betroffen war, konnten Bernhard et al. durch Behandlung mit 3x1g Cholinchlorid täglich die Steatose mit Hepatomegalie, Transaminasenerhöhung und Abdominalschmerzen heilen. Bereits nach 3 Monaten wurde eine Reduzierung des Leberfettgehalts von 27%

auf 8,2% und eine Abnahme des Leber Volumens von 2385ml auf 1912ml nachgewiesen. Auch die Leberenzyme normalisierten sich. Langfristig wurde eine Komplettremission erreicht und der Auslassversuch bestätigte die Kausalität zwischen Cholinmangel und Symptomatik. [131]

1.6. Zusammenfassung

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Organe Leber, Lunge und Pankreas im Hinblick auf den Cholin-Stoffwechsel eine wichtige Rolle spielen. Das exokrine Pankreas hat einen entscheidenden Einfluss auf den enterohepatischen Kreislauf von Cholin, die Leber ist an der Assimilation und peripheren Versorgung via VLDL beteiligt und die Lunge leistet einen relevanten Beitrag zur Leberversorgung im Cholinmangel via HDL. Der bei CF-Patienten häufig auftretende Cholinmangel ist unter anderem auf eine erhöhte fäkale Ausscheidung zurückzuführen, welche durch eine verminderte exokrine Pankreasfunktion bedingt wird. Das Cholindefizit, repräsentiert durch niedrige Cholin- und Betain-Konzentrationen im Plasma, ist zumindest für die Leber, vielleicht auch für die Lunge klinisch relevant. So gibt es erste Hinweise, dass ein alimentärer Ausgleich des Cholindefizits mit Cholin-Chlorid nicht nur dessen Plasmaspiegel normalisieren, sondern auch die Steatose beseitigen als auch die Lungenfunktion verbessern kann.

1.7. Zielsetzung

Ziel dieser Arbeit ist es, auf Basis retrospektiver klinischer Daten eine Grundlage für eine therapeutische Cholin-Supplementierung bei CF-Patienten zu schaffen. Dabei gilt es zu überprüfen, ob erstens die Plasmakonzentrationen von Cholin, Betain und PC bei pankreasinsuffizienten CF-Patienten niedriger sind als bei pankreassuffizienten Patienten, zweitens ob die Erniedrigung dieser Metabolite altersunabhängig vorliegt, drittens ob das Vorhandensein einer F508del-Mutation die Wahrscheinlichkeit erhöht einen Cholinmangel zu entwickeln und viertens, ob sich ein Zusammenhang zwischen F508del-Mutation und Pankreasfunktion nachweisen lässt. Zusätzlich gilt es zu untersuchen, ob die derzeitig routinemäßig erhobenen klinischen Parameter einen Zusammenhang zwischen

den Plasmakonzentrationen von Cholin, Betain und PC und dem Schweregrad der CF-Erkrankung erkennen lassen. Dazu wurden bereits erhobene klinische und laborchemische Daten erfasst und den Laborparametern des Cholinstoffwechsels gegenübergestellt. Entsprechend Abbildung 8 standen folgende Untersuchungen im Zentrum der Auswertung:

1. Frage nach Altersabhängigkeit der Cholin-Plasmakonzentration
2. Beziehung zwischen Pankreasfunktion und Laborparametern des Cholinstoffwechsels
3. Beziehung zwischen F508del-Mutation und exokriner Pankreasfunktion
4. Beziehung zwischen F508del-Mutation und Laborparametern des Cholinstoffwechsels
5. Zusammenhang zwischen Laborparametern des Cholinstoffwechsels und klinisch erhobenen Parametern der Lungenfunktion
6. Zusammenhang zwischen Laborparametern des Cholinstoffwechsels und Indikatoren einer Leberpathologie
7. Zusammenhang zwischen Laborparametern des Cholinstoffwechsels und anthropometrischen Parametern

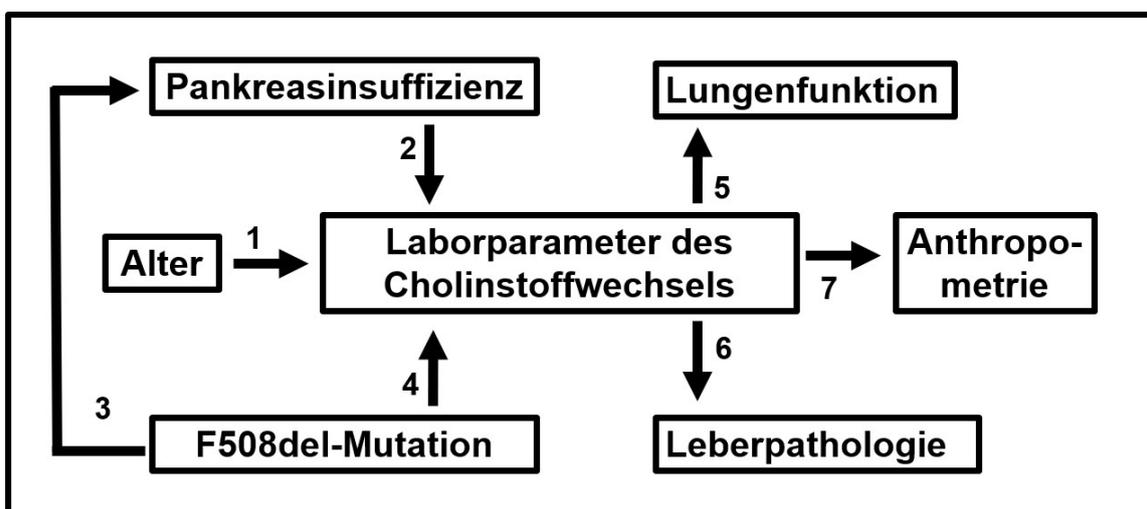


Abbildung 8: Übersicht einzelner Analysen der Dissertation

Darstellung der einzelnen Analysen, die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführt wurden; die Nummerierung entspricht der Reihenfolge, wie sie im Ergebnisteil und Diskussionsteil aufgeführt sind; Abkürzungen: F508del = Deletion der drei Phenylalanin codierenden Nukleotide an Position 508 des CFTR-Gens; PC = Phosphatidylcholin

2. Material und Methoden

2.1. Rahmenbedingungen

2.1.1. Ethikvotum

Das positive Votum zur Durchführung der retrospektiven Datenanalyse durch die Ethikkommission der medizinischen Fakultät Tübingen liegt vor (121/2020BO2). Eine Patienteneinwilligung war aufgrund der Datenschutzauflagen (Anonymisierung) nicht notwendig. Die Patienten wurden aber über ihre Beteiligung im Hinblick auf Nachfrage informiert.

2.1.2. Patientenkollektiv

Dies ist eine retrospektive deskriptive Studie, basierend auf der Datenanalyse pädiatrischer und erwachsener Patienten mit der Diagnose Mukoviszidose mit und ohne exokriner Pankreasinsuffizienz. Das Patientenkollektiv umfasst primär alle CF-Patienten unter 25 Jahren, welche im Zeitraum von 2015 bis 2020 in der Mukoviszidoseambulanz der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin in Tübingen vorstellig wurden. Als Voraussetzung musste mindestens eine Blutentnahme zur Bestimmung der Laborparameter des Cholinstoffwechsels erfolgt sein. Weiteres Einschlusskriterium war das Vorhandensein klinischer sowie laborchemischer Daten, welche im Rahmen von Routine-Untersuchungen der Ambulanz erhoben wurden. Sämtliche Patienten, welche diese Kriterien erfüllten, wurden in die retrospektive Studie eingeschlossen (Abbildung 9).

Als Ausschlusskriterium galt das Fehlen der genetisch gesicherten Diagnose Mukoviszidose. Von der Analyse ausgeschlossen wurden weiterhin Patienten mit einer unzureichenden Datenlage, wie beispielsweise externe Ambulanzpatienten. Patienten ab 25 Jahren wurden nicht in die Auswertung eingeschlossen, da sie nicht repräsentativ für die Grundgesamtheit sind. Nicht berücksichtigt wurden des Weiteren Patienten, die zum Zeitpunkt der Blutentnahme Cholin- oder Lecithinpräparate supplementierten.

Unter Beachtung der Zielkriterien wurden insgesamt 130 Patienten in die Auswertung eingeschlossen (Abbildung 9). Zu diesem Thema handelt es sich um die bislang größte Kohorte von CF-Patienten.

2.2. Datenerfassung

2.2.1. Quellen

Die Datenerfassung erfolgte mittels der Kliniksoftware „Systemanalyse Programmentwicklung“, kurz SAP (Version 2020 & 2021, SAP Deutschland SE & Co. KG, Walldorf, Deutschland) in Form von Arztbriefen, radiologischen Untersuchungsbefunden, sowie gespeicherten Labordaten. Darüber hinaus diente das Dokumentationssystem der Mukoviszidoseambulanz „Arthritis und Rheumatologie Dokumentations- und Informationssystem 2“, kurz ARDIS2 (Version 1.52.2, 2009-2022, axaris-software & systeme GmbH, Dornstadt, Deutschland) der Erhebung weiterer patientenbezogener Daten. Vereinzelt Lücken wurden anhand handschriftlicher Patientenakten vervollständigt und Untersuchungsergebnisse, die noch nicht in digitaler Form vorlagen, unter Zuhilfenahme der Ambulanzordner ergänzt. Die Laborwerte von Cholin, seinen Metaboliten und Phospholipiden im Plasma entspringen zwei separaten Analysedateien des Massenspektrometrielabors (MSL) der Arbeitsgruppe Neonatale Ernährung und Entwicklung (Apl. Prof. Dr. med. Dr. rer. physiol. W. Bernhard, Abt. Neonatologie und Neonatologische Intensivmedizin der Universitätskinderklinik Tübingen). Basierend auf einer Datenextraktion (DX) aus ARDIS2 und der Onlineregistersoftware MUKO.web (Version 3.4.1 – 3.4.2, 2015-2022, axaris-software & systeme GmbH, Dornstadt), mittels der Daten für das Deutsche Mukoviszidose-Register erhoben werden, erstellte Iris Bergmann (Medizininformatikerin der Kinderklinik Tübingen) mittels des Programms „Structured Query Language Developer“, kurz SQL Developer (Version 19.2.1.247, 2005-2019, Oracle, Austin, Texas, USA) Tabellen in Microsoft Excel (Microsoft Office Professional Plus 2010, Microsoft Corporation, Redmond, Washington, USA), aus denen zur leichteren Übernahme ebenfalls Daten erfasst wurden. Dabei handelte es sich um eine übersichtliche Darstellung aller

Patienten mit einer CF-Diagnose, sowie wenigstens einer Untersuchung ab dem 01.01.2015.

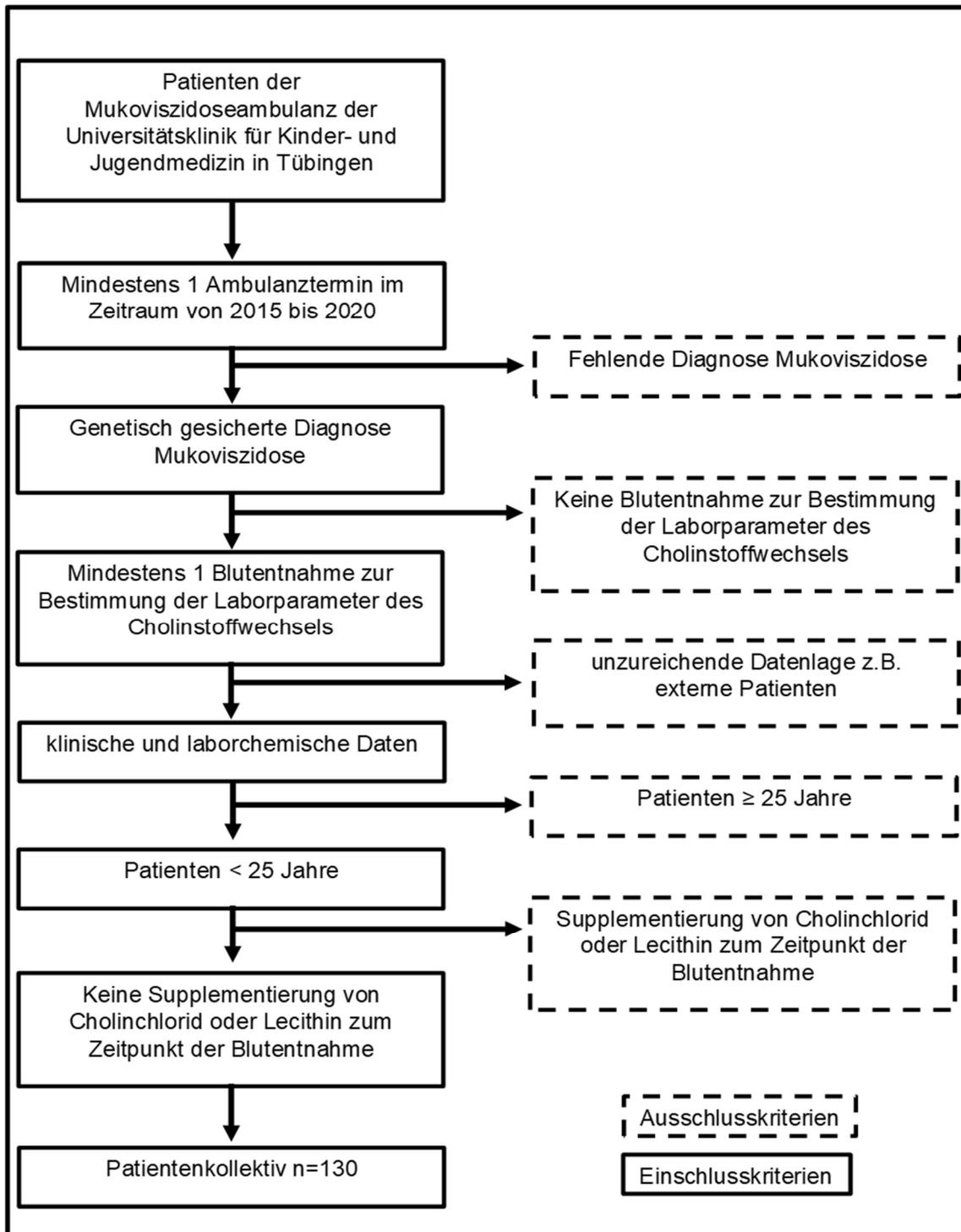


Abbildung 9: Ein- und Ausschlusskriterium des Patientenkollektivs

Einschlusskriterien (links) mit durchgezogener Umrandung aufgeführt; Ausschlusskriterien (rechts) mit gestrichelter Umrandung dargestellt; Abkürzung: n = Anzahl der Fälle

2.2.2. Erhobene Parameter

Die Datensammlung erfolgte in tabellarischer Form durch Verwendung der Software Microsoft Excel (Microsoft Office Professional Plus 2019, Microsoft Corporation, Redmond, Washington, USA). Gespeichert wurde die Datentabelle in elektronischer Form. Die Pseudonymisierung erfolgte durch Vergabe einer numerischen Zahl, sodass die Identität der Patienten zu jedem Zeitpunkt geschützt blieb. Jeweils ein Datensatz bezog sich dabei auf eine Blutentnahme zur Bestimmung der Laborparameter des Cholinstoffwechsels im Plasma. Jede Zeile der Microsoft Excel-Tabelle repräsentiert einen patientenspezifischen Datensatz. Die erhobenen Parameter entsprechen einzelnen Spalten. Im Folgenden sind die erhobenen Parameter inklusive deren Quellen, Kodierungen, Einheiten und Variablenbezeichnungen wie sie in der Originaltabelle aufgeführt sind, tabellarisch dargestellt (Tabellen 2 bis 12).

Tabelle 2: Patientenbezogene Daten

Abkürzungen: ARDIS2 = Arthritis und Rheumatologie Dokumentations- und Informationssystem 2; MSL = Massenspektrometrielabor; SAP = Systemanalyse Programmentwicklung

| Variable | Beschreibung | Einheit | Kodierung | Quelle |
|------------|--------------------------------------------------------------|---------|------------------------------|---------------------------------------------|
| Patient | Patientennummer zur Anonymisierung | | | |
| Probe | Nummer des Datensatzes bezogen auf einen einzelnen Patienten | | | |
| Alter | Alter des Patienten zum Zeitpunkt der Blutentnahme | Jahre | | MSL-Tabellen, ARDIS2, SAP, Excel-Berechnung |
| Geschlecht | | | 1 = weiblich 2 = männlich | ARDIS2, SAP |

Tabelle 3: Daten zur Organtransplantation

Abkürzung: DX = Datenextraktion

| Variable | Beschreibung | Kodierung | Quelle |
|----------|-----------------------|--------------------|-------------|
| LE-TX | Lebertransplantation | 1 = nein 2 = ja | DX-Tabellen |
| LU-TX | Lungentransplantation | 1 = nein 2 = ja | DX-Tabellen |

Tabelle 4: CF-Diagnose-Parameter

Abkürzungen: DX = Datenextraktion; CF = zystische Fibrose; CFTR = engl. Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator; F508del = Deletion der drei Phenylalanin codierenden Nukleotide an Position 508 des CFTR-Gens

| Variable | Beschreibung | Einheit | Kodierung | Quelle |
|------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|---------|----------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|
| D-Alter | Alter des Patienten zum Zeitpunkt der Diagnosestellung | Jahre | | DX-Tabellen, Genetikbefund, Excel-Berechnung |
| Mutation 1 | Mutation 1 des CFTR-Gens | | | DX-Tabellen |
| Mutation 2 | Mutation 2 des CFTR-Gens | | | DX-Tabellen |
| F508del-Mutation | Deletion der drei Phenylalanin codierenden Nukleotide an Position 508 des CFTR-Gens | | 1 = homozygot 2 = heterozygot 3 = keine F508del-Mutation | Abgeleitet aus Mutation 1 und Mutation 2 |

Tabelle 5: Anthropometrische Parameter

Abkürzung: DX = Datenextraktion

| Variable | Beschreibung | Einheit | Quelle |
|-----------|---------------------------|-------------------|-----------------------------|
| U-Datum | Datum der Untersuchung | | DX-Tabellen, Patientenakten |
| Größe | Körpergröße | cm | DX-Tabellen, Patientenakten |
| Größen-P | Größen-Perzentil | Perzentil | DX-Tabellen, Patientenakten |
| Gewicht | Körpergewicht | kg | DX-Tabellen, Patientenakten |
| Gewicht-P | Gewichts-Perzentil | Perzentil | DX-Tabellen, Patientenakten |
| BMI | Body-Mass-Index | kg/m ² | DX-Tabellen, Patientenakten |
| BMI-P | Body-Mass-Index-Perzentil | Perzentil | DX-Tabellen, Patientenakten |

Tabelle 6: Lungenspezifische Parameter

Abkürzungen: CF = zystische Fibrose; DX = Datenextraktion; LCI = Lung Clearance Index; MRT = Magnetresonanztomografie; SAP = Systemanalyse Programmentwicklung

| Variable | Beschreibung | Quelle |
|-----------|---------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|
| LCI-Datum | Datum der LCI-Bestimmung | DX-Tabellen, Ambulanzordner |
| LCI | Lung Clearance Index, Bestwert | DX-Tabellen, Ambulanzordner |
| MRT-Datum | Datum der MRT-Thorax-Untersuchung | SAP |
| MRT-Score | Gesamtpunktzahl des standardisierten Tübinger MRT-Scores bei CF-Patienten | SAP |

Tabelle 7: Parameter der Lungenfunktionsuntersuchung

Abkürzung: DX = Datenextraktion

| Variable | Beschreibung | Einheit | Quelle |
|----------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|------------------------------|
| L-Datum | Datum der jeweiligen Lungenfunktionsuntersuchung Nummerierung entsprechend Messreihe 1-8 | | DX-Tabellen |
| ppFEV1 | prozentuales vorhergesagtes forciertes Expirationsvolumen in einer Sekunde der jeweiligen Messreihe 1-8 | % | DX-Tabellen |
| FVC | forcierte Vitalkapazität der jeweiligen Messreihe 1-8 | % | DX-Tabellen |
| MEF25 | maximal expiratorische Atemstromstärke bei 25% verbleibender Vitalkapazität der jeweiligen Messreihe 1-8 | % | DX-Tabellen |
| MEF2575 | mittlerer expiratorischer Fluss zwischen 75% und 25% verbleibender Vitalkapazität der jeweiligen Messreihe 1-8 | % | DX-Tabellen |
| MAX | Maximalwert aller Messreihen 1-8 bezogen auf einen Parameter | % | Maximalwert-Bestimmung Excel |
| MED | Median aller Messreihen 1-8 bezogen auf einen Parameter | % | Median-Bestimmung Excel |

Tabelle 8: Parameter der Lebersonografie

Abkürzung: SAP = Systemanalyse Programmentwicklung

| Variable | Beschreibung | Kodierung | Quelle |
|----------|---------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| S-Datum | Datum der Sonographie | | SAP |
| Sono-G | Leber-Sonographie, Beurteilung der Größe | 1 = innerhalb des Normbereichs, normal groß, unauffällig 2 = vergrößert, oberhalb des Normbereichs 3 = verkleinert, unterhalb des Normbereichs 4 = unbekannt | SAP |
| Sono-E | Leber-Sonographie, Beurteilung der Echogenität | 1 = strukturell unauffällig, Echogenität normal, homogen strukturiert 2 = verändert, inhomogen, Steatosis, echogenitäts angehoben, verfettet 3 = unbekannt | SAP |
| Sono-N | Leber-Sonographie, Beurteilung der nodulären Strukturen | 1 = strukturell unauffällig, normal, homogen strukturiert 2 = verändert, knotig, Zirrhose, Fibrose 3 = unbekannt | SAP |

Tabelle 9: Laborparameter des Cholinstoffwechsels

Abkürzung: MSL = Massenspektrometrielabor; PC = Phosphatidylcholin

| Variable | Beschreibung | Einheit | Quelle |
|----------|----------------------------------------------------------|-----------------|--------------|
| C-Datum | Datum des Blutabnahme-Zeitpunkts | | MSL-Tabellen |
| Typ | Probentyp | | MSL-Tabellen |
| Cholin | | µmol/L | MSL-Tabellen |
| Betain | | µmol/L | MSL-Tabellen |
| TMAO | Trimethylamin-N-Oxid | µmol/L | MSL-Tabellen |
| PC | Phosphatidylcholin | mmol/L | MSL-Tabellen |
| ARA-PC | arachidonsäurehaltiges Phosphatidylcholin | Mol-% von PC | MSL-Tabellen |
| DHA-PC | docosahexaensäurehaltiges Phosphatidylcholin | Mol-% von PC | MSL-Tabellen |
| ARA-DHA | Verhältnis zwischen Arachidonsäure und Docosahexaensäure | Mol-%/ Mol-% | MSL-Tabellen |

Tabelle 10: Laborchemische Routineparameter

Abkürzung: SAP = Systemanalyse Programmentwicklung

| Variable | Beschreibung | Einheit | Quelle |
|-------------|--------------------------------------------------------|------------------------------|--------|
| B-Datum | Datum der Blutentnahme | | SAP |
| min | zum vorherigen Parameter der untere Referenz-Grenzwert | entsprechend Bezugsparameter | SAP |
| max | zum vorherigen Parameter der obere Referenz-Grenzwert | entsprechend Bezugsparameter | SAP |
| Quick | | % | SAP |
| Cholesterin | | mg/dl | SAP |
| TAGs | Triglyceride | mg/dl | SAP |
| ALB | Albumin | g/dl | SAP |
| AST | Aspartat-Aminotransferase | U/l | SAP |
| ALT | Alanin-Aminotransferase | U/l | SAP |
| AP | Alkalische Phosphatase | U/l | SAP |
| GGT | Gamma- Glutamyltransferase | U/l | SAP |
| Vit-A | Vitamin A | µmol/L | SAP |
| Vit-E | Vitamin E | µmol/L | SAP |
| Vit-D | Vitamin D | nmol/L | SAP |
| THRO | Thrombozyten | 10 ³ /µL | SAP |

Tabelle 11: Daten zu Nebendiagnosen

Abkürzungen: ARDIS2 = Arthritis und Rheumatologie Dokumentations- und Informationssystem 2; SAP = Systemanalyse Programmentwicklung; DIOS = distales intestinales Obstruktionssyndrom

| Variable | Beschreibung | Kodierung | Quelle |
|---------------|----------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|
| ePI | Exokrine Pankreasinsuffizienz | 1 = nein 2 = ja | ARDIS2 |
| Leber-D | Leberdiagnose | 1 = keine Leberdiagnose 2 = Fibrose 3 = Zirrhose 4 = Steatosis Hepatis 5 = Hepatopathie ohne sonographisches Korrelat | ARDIS2, Beurteilung einzelner Sonographie- Befunde in SAP |
| Diabetes | | 1 = nein 2 = ja | ARDIS2 |
| Zöliakie | | 1 = nein 2 = ja | ARDIS2 |
| N-Datum | Datum der Diagnosestellung | | ARDIS2 |
| MI | Mekonium-Ileus | 1 = nein 2 = ja 3 = unbekannt | ARDIS2 |
| DIOS | distales intestinales Obstruktionssyndrom | 1 = nein 2 = ja | ARDIS2 |
| DIOS- Jahr | Jahre in denen ein DIOS auftrat | | ARDIS2 |

Tabelle 12: Parameter mikrobiologischer Befunde

Abkürzungen: MRSA = Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus*; SAP = Systemanalyse Programmentwicklung

| Variable | Beschreibung | Kodierung | Quelle |
|------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| M-Zeitraum | Zeitraum der betrachteten mikrobiologischen Befunde | | |
| Mibi | mikrobiologische Befunde nummeriert 1-11 mit entsprechenden Kodierungen für nachgewiesene Erreger | 1 = <i>Staphylococcus aureus</i> 2 = <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ; 3 = <i>Haemophilus influenza</i> 4 = <i>Burkholderia</i> 5 = Mykobakterien 6 = <i>Achromobacter</i> 7 = <i>Stenotrophomonas</i> 8 = MRSA 9 = alle Pilze 0 = keine Keime oder keine der kodierten Erreger | SAP |
| Gesamt | Gesamtanzahl an mikrobiologischen Befunden im 1-Jahres-Zeitraum | | SAP |
| Erreger-X | Anzahl der Befunde in denen der kodierte Erreger X nachgewiesen wurde | | SAP |

2.2.3. Beobachtungszeiträume

Der Erfassungszeitraum des MSL ist 07/2015-11/2020. Anthropometrische Parameter (Größe, Gewicht, BMI, sowie deren entsprechenden Perzentilen) und klinische Laborparameter wurden nur übernommen, wenn sie am selben Tag erfasst wurden, an denen auch die Blutentnahme zur Bestimmung der Laborparameter des Cholinstoffwechsels im Plasma erfolgte. Der Einschluss anderer Parameter (Organtransplantationen, Nebendiagnosen wie das distale intestinale Obstruktionssyndrom (DIOS)) bezogen sich hingegen auf das gesamte Leben des Patienten. Für klinische Parameter, die im Ambulanzsetting nur selten erfasst werden, musste der zu betrachtende Zeitraum einheitlich erweitert werden, um ausreichend Daten zu erhalten. Daher endet der Zeitraum für die übrigen Parameter am 28.02.2021. Die Bestimmung der Länge des Zeitraums orientierte sich daran, wie häufig die jeweiligen Untersuchungen routinemäßig durchgeführt werden. Als Bezugspunkt wurde der Blutentnahmezeitpunkt zur Bestimmung der Laborparameter des Cholinstoffwechsels im

Plasma festgelegt. Aufgrund von Wochenenden und Monatslängenunterschieden betrug die Toleranz drei Tage. Die erweiterten Zeiträume der jeweiligen Parameter sind in folgender Übersicht dargestellt (Tabelle 13).

Tabelle 13: Erweiterung der Beobachtungszeiträume

Als Bezugspunkt wurde der Blutentnahme-Zeitpunkt zur Bestimmung der Laborparameter des Cholinstoffwechsels im Plasma festgelegt; Abkürzungen: LCI = Lung Clearance Index; MRT = Magnetresonanztomografie

| Parameter | Zeitlicher Abstand zur Blutentnahme | Beobachtungszeitraum | Toleranz | Sonstige Hinweise |
|-----------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------------|----------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Lungenfunktionsuntersuchung | +/- 3 Monate | 6 Monate | 3 Tage | alle Daten im Beobachtungszeitraum wurden erfasst |
| LCI | +/- 6 Monate | 1 Jahr | 3 Tage | der dem Blutabnahme-Zeitpunkt am nächsten liegende Befund wurde erfasst |
| MRT-Score | +/- 6 Monate | 1 Jahr | 3 Tage | der dem Blutabnahme-Zeitpunkt am nächsten liegende Befund wurde erfasst |
| Neben-diagnosen | + 6 Monate | Geburt bis 6 Monate nach er Blutabnahme | 3 Tage | erfasst, wenn Diagnose zum Zeitpunkt der Blutabnahme bereits bestand oder spätestens 6 Monate danach diagnostiziert wurde |
| Leber-Sonographie | +/- 6 Monate | 1 Jahr | 3 Tage | der dem Blutabnahme-Zeitpunkt am nächsten liegende Befund wurde erfasst |
| Mikrobiologie | +/- 6 Monate | 1 Jahr | Keine Toleranz | Liegt der 1-Jahreszeitraum in der Zukunft, wurde dieser so verschoben, dass der Blutabnahme-Zeitpunkt nicht mehr mittig liegt, der Gesamtzeitraum aber dennoch genau 1 Jahr beträgt |

2.2.4. Parameterspezifische Hinweise

Unter einem Alter von 18 Jahren werden die anthropometrischer Parameter Gewicht, Größe und BMI in Perzentilen angegeben. Für erwachsene Patienten existieren keine Perzentilen-Angaben [132]. Das Perzentil gibt definitionsgemäß an, welcher Anteil der Werteverteilung unter diesem Wert liegt. Befindet sich ein Kind beispielsweise im 25. Perzentil bedeutet dies, dass 25% der anderen Kinder seiner Altersgruppe einen kleineren oder gleich großen Wert haben.

Als Lungenfunktionsparameter wurden vier Größen erfasst: ppFEV1, die forcierte Vitalkapazität (FVC), die maximale expiratorische Atemstromstärke bei 25% verbleibender Vitalkapazität (MEF25) und der mittlere expiratorische Fluss zwischen 75% und 25% verbleibender Vitalkapazität (MEF2575). Dabei war für jeden Patienten bis zu 8 Messreihen vorhanden, da bei auffälligen Befunden häufigere Kontrollen durchgeführt werden. Um eine Vergleichbarkeit zwischen Patienten gewährleisten zu können, wurden Absolutwerte in geschlechtsabhängige und altersgewichtete Prozentwerte umgerechnet übernommen. Um Parameterverslechterungen durch akute Infekte zu umgehen, wurde der Median und Maximalwert aller Messreihen dokumentiert. Diese Lungenfunktionsuntersuchungen wurden erst ab einem Alter von 4 Jahren durchgeführt. Aufgrund fehlender Patientencompliance existieren Werte zum „Lung Clearance Index“ (LCI) und zu Magnetresonanztomografischen (MRT-) Untersuchungen in der Regel ab einem Alter von 5 Jahren. Der standardisierte Tübinger MRT-Score beurteilt jeden Lungenlappen hinsichtlich 6 Aspekte (Bronchiektasen mit Verdickung der Bronchialwand, Mucus plugging, Gewebekonsolidierungen, Sakkulationen, Air trapping und zentrilobuläre Bereiche mit höherem Signal) jeweils mit Punktezahlen von 0 bis 2 [133]. Bei 6 Lungenlappen ergibt sich daraus insgesamt eine Mindestpunktzahl von 0 und eine maximale Punktzahl von 72, wobei der Zahlenwert mit dem Ausmaß pathologischer Veränderungen ansteigt [133].

Zur Beurteilung der laborchemischen Routineparameter wurden die altersabhängigen Referenzwerte berücksichtigt, um die Patienten vergleichen zu können. Die Thrombozyten-Referenzwerte von Patienten unter einem Jahr wurden separat dem Leistungsverzeichnis des Labors entnommen. Dazu wurden

die Angaben des Geräteherstellers durch Prof. Dr. Rainer Lehmann (Stellvertretende Leitung des Instituts für klinische Chemie und Pathobiochemie, Universitätsklinikum Tübingen) zur Verfügung gestellt. Die laborchemischen Daten des Massenspektrometrielabors wurden in Form zweier Microsoft Excel-Tabellen übermittelt. Vier Datensätze wurden gelöscht, da keine Zuordnung zum Blutentnahmetag der Ambulanz möglich war.

Um die Sonographie-Befunde der Leber einheitlich zu dokumentieren, wurde mit Unterstützung von Dr. Ute Graepler-Mainka (Funktionsoberärztin und Leiterin der Mukoviszidose-Ambulanz, Universitätskinderklinik Tübingen) eine Systematik zur Kodierung entwickelt (Tabelle 8). In deren Fokus stehen Organgröße, Echogenität und Nodularität, wobei davon ausgegangen wurde, dass der Untersucher im Befund alle Auffälligkeiten dokumentiert hat.

Die mikrobiologischen Befunde wurden hinsichtlich Art und Häufigkeitsnachweis bestimmter Erreger (Tabelle 12) innerhalb eines Jahres dokumentiert. Diese wurden aus Sputum, Rachenabstrich oder Bronchoalveoläre Lavageflüssigkeit, nicht aber sonstigen Sekreten, Nasenabstrichen oder Serum erfasst.

2.2.5. Ausschluss Cholin-Supplementierung

Da bezüglich des Ausschlusskriteriums einer bereits bestehenden Cholin-Supplementierung zum Zeitpunkt der Blutentnahme (Abbildung 9) keine Informationen vorlagen, wurde das gesamte Patientenkollektiv diesbezüglich überprüft. Dazu wurden die Patientenakten auf die Verordnung von Cholinchlorid ärztlicherseits und die Ambulanz-Bestellungen der Versandapotheke Rainfarn München (Rainfarnstr. 36, 80935 München) überprüft.

Zusätzlich wurde am 12.03.2021 mit Unterstützung und Zustimmung der CF-Ambulanz eine Umfrage an den E-Mail-Verteiler aller Patienten verschickt, um Patienten mit selbständiger Cholineinnahme herauszufiltern. Anschließend wurden die Familien der Patienten, die sich nicht per E-Mail zurückgemeldet hatten, telefonisch kontaktiert. Über diesen Weg wurden 96 Patienten erreicht, 13 hingegen nicht. Die übrig gebliebenen Patienten wurden von Ulrike Rassow-Schlanke (Mukoviszidose Pflegefachkraft, CF-Ambulanz Tübingen) wiederholt

kontaktiert und verbleibende Lücken durch Einschätzung der Ambulanzmitarbeiterin, welche die Patienten gut kennt, vervollständigt.

Drei weitere Patienten hatten an einer Studie (11/2014-1/2016) teilgenommen, bei der Cholin eingenommen wurde. Da jedoch die hier ausgewerteten Daten mindestens 6 Monate nach Ende der Cholineinnahme lagen, wurden die Datensätze ab 2016 bei der Auswertung berücksichtigt. Dies lässt sich durch die Tatsache begründen, dass die Wirkung von Cholin nach Supplementierung nur vorübergehend (< 3 Monate) anhält [131].

Aufgrund dieser Analyse der genauen Zeiträume bei einer stattgefundenen Supplementierung wurden 15 Datensätze gestrichen.

2.3. Vorbereitung statistische Auswertung

2.3.1. Datensatz Auswahl

Um zu gewährleisten, dass alle in die Auswertung einfließenden Daten unabhängig voneinander sind, wurde nur ein Datensatz je Patient analysiert. Von ursprünglich 317 Datensätzen, blieben durch dieses Vorgehen 130 übrig. Es wurde für jeden Patienten der Datensatz mit der umfassendsten Begleitdiagnostik gewählt. Waren mehrere Datensätze im Hinblick auf die für die Auswertung relevanten Parameter gleichwertig, wurde der älteste Datensatz ausgewählt.

Unter diesen wurden 8 Datensätze aufgrund der Wertekonstellation von Cholin und Betain als unplausibel erklärt. Apl. Prof. Dr. med. Dr. rer. physiol. W. Bernhard zufolge (persönliche Mitteilung, 26.07.2022) gilt eine hohe Cholinkonzentration bei niedriger Betainkonzentration als Indikator einer durch Hämolyse oder Messfehler bedingten Cholinerhöhung [60]. Die Laborwerte wurden zusätzlich durch den Vergleich anderer Cholin-Messwerte desselben Patienten bewertet, sodass nur ein Datensatz vor diesem Hintergrund inkludiert wurde. In fünf Fällen wurde dem Patienten ein alternativer Datensatz nach der bereits beschriebenen Systematik zugeordnet. Zwei Datensätze wurden inkludiert, da es sich bei diesen Patienten um den einzigen Datensatz handelte.

2.3.2. Beratung

Zur statistischen Auswertung wurde die biometrische Beratung durch Dr. Corinna Engel des „Zentrums für pädiatrische klinische Studien“ (CPCS) der Kinderklinik in Anspruch genommen. Ergänzend wurden Anregungen von Apl. Prof. Dr. med. Dr. rer. physiol. W. Bernhard umgesetzt.

2.3.3. Datenaufbereitung

Zur Implementierung der Daten in das Statistikprogramm „International Business Machines Corporation Statistical Package for the Social Sciences Statistics“, kurz IBM SPSS Statistics (Version 28, IBM, Armonk, New York, USA) wurden die Variablen der Microsoft Excel-Tabelle auf die essenziellen Daten reduziert, teils in ein binäres System überführt und pseudonymisiert.

2.3.4. Altersgewichtete Cholinkonzentration

Da die Plasmakonzentration von Cholin altersabhängig ist [134], wurde ergänzend ein Parameter mittels Microsoft Excel berechnet, welcher die Cholinkonzentration als Prozentsatz vom altersgewichteten Normwert beschreibt. Die altersgewichteten Mediane wurden dabei einer durch Guerrero et al. berechneten und online zur Verfügung gestellten Tabelle entnommen, die sich auf Patienten unter 12 Jahren beschränkt [134]. Als Referenzwert wurde das Alter gewählt, welches erreicht war.

2.3.5. Einflussgrößen und Zielgrößen

Im Hinblick auf die einzelnen Analysen der statistischen Auswertung (Abbildung 8) wurden die Einflussvariablen und Zielvariablen definiert (Tabelle 14). Für die Parameter der Lungenfunktionsuntersuchungen wurde jeweils der Median verwendet, da dieser im Gegensatz zum Maximalwert Extremwerte ausgrenzt. Um die Patienten altersunabhängig hinsichtlich der anthropometrischen Daten (Größe, Gewicht, BMI) vergleichen zu können wurden die jeweiligen Perzentilen benutzt.

Tabelle 14: Einflussgrößen und Zielgrößen der einzelnen Analysen

Abkürzungen: ARA-PC = arachidonsäurehaltiges Phosphatidylcholin; BMI = Body-Mass-Index; DHA-PC = docosahexaensäurehaltiges Phosphatidylcholin; F508del = Deletion der drei Phenylalanin codierenden Nukleotide an Position 508 des CFTR-Gens; FVC = forcierte Vitalkapazität; LCI = Lung Clearance Index; MEF25 = maximale expiratorische Atemstromstärke bei 25% verbleibender Vitalkapazität; MEF2575 = mittlerer expiratorischer Fluss zwischen 75% und 25% verbleibender Vitalkapazität; MRT = Magnetresonanztomografie; PC = Phosphatidylcholin; ppFEV1 = prozentuales vorhergesagtes forciertes Expirationsvolumen in einer Sekunde; TMAO = Trimethylamin-N-Oxid

| Analyse | Einflussgröße | Zielgröße |
|---------|-----------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|
| 1 | Alter | Cholin |
| 2 | Exokrine Pankreasinsuffizienz | Cholin, Cholin altersabhängig, Betain, PC, ARA-PC, DHA-PC |
| 3 | F508del-Mutation | Exokrine Pankreasfunktion |
| 4 | F508del-Mutation | Cholin, Cholin altersabhängig, Betain, PC, ARA-PC, DHA-PC |
| 5 | Cholin, Cholin altersabhängig, Betain, PC, ARA-PC, DHA-PC | ppFEV1, FVC, MEF25, MEF2575, LCI, MRT-Score |
| 6 | Cholin, Cholin altersabhängig, Betain, PC, ARA-PC, DHA-PC, TMAO | Leber-Enzyme, Leber-Echogenität, Leber-Nodularität |
| 7 | Cholin, Cholin altersabhängig, Betain, PC, ARA-PC, DHA-PC | Größen-Perzentil, Gewichts-Perzentil, BMI-Perzentil |

2.3.6. Dichotomisierung

Anschließend wurde das Skalenniveau der Variablen bestimmt. Dabei ergab sich, dass ein Teil der Variablen dichotomisiert werden musste, um den Mann-Whitney-U-Test und den Cochran-Mantel-Haenszel-Test anwenden zu können. Das Ergebnis der Dichotomisierung ist in Tabelle 15 dargestellt.

Dazu gehörte wie bereits zuvor beschrieben [118] die Subsummierung der Patienten mit homozygoter und compound-heterozygoter F508del-Mutation in eine Gruppe (1 = F508del-Mutation; 2 = keine F508del-Mutation).

Um Patienten verschiedenen Alters hinsichtlich ihrer Leberenzyme Aspartat-Aminotransferase (AST; EC:2.6.1.1), Alanin-Aminotransferase (ALT; EC:2.6.1.2), Alkalische Phosphatase (AP; EC:3.1.3.1) und Gamma-Glutamyltransferase (GGT; EC:2.3.2.2) vergleichen zu können, wurden drei Rechenoperationen mit Microsoft Excel durchgeführt. Dazu wurden alle Laborparameter zusammengefasst und zwei Kategorien (1 = alle vier

Leberenzyme innerhalb des Referenzbereichs; 2 = mindestens ein Enzym außerhalb des Referenzbereichs) zugeordnet. Zunächst wurde beurteilt, ob die Laborparameter innerhalb oder außerhalb des Normbereichs lagen (1 = unauffällig; 2 = auffällig). Anschließend wurde deren Summe als numerische Abweichung von der Norm bestimmt (Summe > 4 bedeutet mindestens eins der Enzyme befindet sich außerhalb des Referenzbereichs).

Auch im Hinblick auf Echogenität und Nodularität bei der leberultrasonografischen Diagnostik wurde eine Dichotomisierung durchgeführt (1 = unauffällig; 2 = auffällig).

Zur Dichotomisierung der TMAO-Werte wurde 10 µmol/L als 3-fache Überschreitung des Grenzwertes festgelegt. Apl. Prof. Dr. med. Dr. rer. physiol. W. Bernhard zufolge (persönliche Mitteilung, 26.07.2022) liegen die oberen Messwerte im Rahmen der Kontrolluntersuchungen bei der Ambulanzroutine bei 3,3 µmol/L.

Tabelle 15: Dichotomisierung der für die Auswertung relevanten Parameter

Abkürzungen: F508del = Deletion der drei Phenylalanin codierenden Nukleotide an Position 508 des CFTR-Gens; TMAO = Trimethylamin-N-Oxid

| Variable | Kategorie 1 | Kategorie 2 |
|-------------------|----------------------------------------------|---------------------------------------------------|
| Genetik | F508del-Mutation | Keine F508del-Mutation |
| Leberenzyme | alle 4 Enzyme innerhalb des Referenzbereichs | mindestens 1 Enzym außerhalb des Referenzbereichs |
| Leber-Echogenität | unauffällig | auffällig |
| Leber-Nodularität | unauffällig | auffällig |
| TMAO | < 10 µmol/L | ≥ 10 µmol/L |

2.3.7. Bestimmung der Perzentilen

Alle für die Auswertung relevanten ordinalskalierten und metrischen Parameter wurden jeweils separat für das Gesamtkollektiv, für alle pankreasinsuffizienten Patienten und für alle pankreassuffizienten Patienten als Mediane dargestellt und die Interquartilgrenzen mit Microsoft Excel mittels der „QUARTILE.INKL-Funktion“ bestimmt. Anschließend wurden die Datensätze der pankreasinsuffizienten Patienten hinsichtlich jeder dieser Variablen in drei Kategorien eingeteilt (1 ≤ 25.Perzentil; 2 = Werte zwischen dem 25. und 75.

Perzentil; $3 \geq 75$.Perzentil). Dichotomisiert im Hinblick auf die Auswertung wurden unteres und oberes Quartil.

2.3.8. Skalenniveau

Alle Variablen, die im Rahmen der statistischen Auswertung berücksichtigt wurden, sind in Tabelle 16 dargestellt und entsprechend ihrem Skalenniveau sortiert.

Tabelle 16: Skalenniveau der für die Auswertung relevanten Parameter

Abkürzungen: ARA-PC = arachidonsäurehaltiges Phosphatidylcholin; BMI = Body-Mass-Index; DHA-PC = docosahexaensäurehaltiges Phosphatidylcholin; F508del = Deletion der drei Phenylalanin codierenden Nukleotide an Position 508 des CFTR-Gens; FVC = forcierte Vitalkapazität; LCI = Lung Clearance Index; MEF25 = maximale expiratorische Atemstromstärke bei 25% verbleibender Vitalkapazität; MEF2575 = mittlerer expiratorischer Fluss zwischen 75% und 25% verbleibender Vitalkapazität; MRT = Magnetresonanztomografie; PC = Phosphatidylcholin; ppFEV1 = prozentuales vorhergesagtes forciertes Expirationsvolumen in einer Sekunde; TMAO = Trimethylamin-N-Oxid

| nominal (dichotom) | ordinal | metrisch |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <ul style="list-style-type: none"> • Geschlecht (weiblich/männlich) • F508del-Mutation (ja/nein) • Exokrine Pankreasfunktion (suffizient/insuffizient) • Leberenzyme (unauffällig/auffällig) • Leber-Echogenität (unauffällig/auffällig) • Leber-Nodularität (unauffällig/auffällig) • TMAO ($<10/ \geq 10$) • Cholin (1./4.Quartil) • Cholin altersabhängig (1./4.Quartil) • Betain (1./4.Quartil) • PC (1./4.Quartil) • ARA-PC (1./4.Quartil) • DHA-PC (1./4.Quartil) | <ul style="list-style-type: none"> • MRT-Score • Größen-Perzentil • Gewichts-Perzentil • BMI-Perzentil | <ul style="list-style-type: none"> • Alter • ppFEV1 • FVC • MEF25 • MEF2575 • LCI • Cholin • Cholin altersnormiert • Betain • PC • ARA-PC • DHA-PC |

2.4. Statistische Auswertung

2.4.1. Prüfung auf Normalverteilung

Die metrischen Parameter wurden mithilfe des Shapiro-Wilk-Tests auf Normalverteilung geprüft. Ein Teil der Daten zeigten mit einer Signifikanz (p) $< 0,05$ keine, andere hingegen eine gute Anpassung an die Normalverteilung. Ferner gab es Grenzfälle, die nicht eindeutig beurteilt werden konnten. Um eine

einheitliche Darstellung der Ergebnisse aller metrischen, sowie ordinalskalierten Variablen zu ermöglichen, wurden die entsprechenden nicht-parametrischen Tests durchgeführt. Grundsätzlich wurden Mediane, sowie das 25. Perzentil (P25) und 75. Perzentil (P75) (Median [P25-P75]) angegeben.

2.4.2. Deskriptive Statistik

Als erstes erfolgte eine rein deskriptive Basisauswertung des Patientenkollektivs hinsichtlich Geschlecht, Alter, Anthropometrie, Genetik, exokriner Pankreasfunktion, Lungenfunktionsparameter, Parameter der Leber und Laborparameter des Cholinstoffwechsels mit Microsoft Excel und dem Statistikprogramm IBM SPSS Statistics. Die Auswertung wurde für das gesamte Patientenkollektiv, pankreasinsuffiziente Patienten und pankreassuffiziente Patienten separat durchgeführt. Dabei wurden für nominale Variablen die absoluten und relativen Häufigkeiten und für mindestens ordinalskalierte Variablen der Median, P25 und P75, Minimal- und Maximalwert, sowie die Anzahl fehlender Werte angegeben. Die Ergebnisse wurden bei zwei Stellen vor dem Komma auf eine Dezimalstelle und bei einer Stelle vor dem Komma auf zwei Dezimalstellen gerundet, wobei Konsistenz innerhalb einer Kategorie beibehalten wurde. Die Angaben der relativen Häufigkeiten wurden auf eine Stelle nach dem Komma gerundet angegeben.

2.4.3. Statistische Tests

Zur weiteren statistischen Analyse der Daten wurde das Statistikprogramm IBM SPSS Statistics verwendet und dazu aus Microsoft Excel importiert.

Die statistischen Testverfahren wurden anhand der Abhängigkeit und Größe der Stichproben und des Skalenniveaus der Variablen ausgewählt. Um zwischen zwei unabhängigen Gruppen Unterschiede einer mindestens ordinalskalierten Variable nachzuweisen, wurde der nicht-parametrische Mann-Whitney-U-Test eingesetzt. Zur einheitlichen Darstellung und Vergleichbarkeit der Ergebnisse wurde für alle Variablen ausschließlich dieser Test verwendet. Bei zwei nominal skalierten Parametern mit jeweils zwei Ausprägungen erfolgte die statistische Auswertung mittels Cochran-Mantel-Haenszel-Test.

Ein p-Wert $< 0,05$ wurde als statistisch signifikant gewertet. Das Ergebnis des Mann-Whitney-U-Test wurde mittels Median, P25, P75 beider Stichproben, und p-Wert angegeben. Bei einer Gesamtstichprobengröße über 30 wurde die asymptotische, im Falle kleinerer Stichproben die exakte Signifikanz berichtet. Das Ergebnis des Cochran-Mantel-Haenszel-Tests beinhaltet die Abschätzung des relativen Risikos (RR), das zugehörige 95%-Konfidenzintervall (95%-KI), sowie den p-Wert. Die p-Werte und das 95%-KI wurden auf drei Stellen nach dem Komma gerundet angegeben. Die Rundung der Werte RR, Median, P25, P75 erfolgte bei zwei Stellen vor dem Komma auf eine und bei einer Stelle vor dem Komma auf zwei Dezimalstellen.

Die Ergebnisse sind in Form von Box-Plot-Grafiken, Streudiagrammen, Kreisdiagrammen und Tabellen dargestellt, welche durch die beiden Programme IBM SPSS Statistics und Microsoft Word (Microsoft 365 MSO, Version 2206, Microsoft Corporation, Redmond, Washington, USA) erstellt wurden.

2.4.4. Methodik der einzelnen Analysen

Um die Frage zu beantworten, ob Erniedrigungen der CholinKonzentration altersabhängig sind, wurden die pankreasinsuffizienten und pankreassuffizienten Patienten getrennt in Form zweier Streudiagramme mit Anpassungslinie gegenübergestellt. Zur Überprüfung, ob sich die beiden Gruppen hinsichtlich der Altersverteilung voneinander unterscheiden, kam der Mann-Whitney-U-Test im Gesamtkollektiv zur Anwendung. Die Gruppenunterteilung basierte auf der Gegenüberstellung von Patienten mit und ohne Pankreasinsuffizienz.

Um zu überprüfen, ob die Plasmakonzentrationen von Cholin, Betain und PC bei pankreasinsuffizienten CF-Patienten niedriger sind als bei pankreassuffizienten Patienten, wurde der Man-Whitney-U-Test im Gesamtkollektiv eingesetzt. Die Gruppenunterteilung basierte auf der Gegenüberstellung von Patienten mit und ohne Pankreasinsuffizienz.

Um zu untersuchen, ob sich bei den Patienten der Mukoviszidoseambulanz Tübingen ein Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein einer F508del-Mutation und einer Pankreasinsuffizienz nachweisen lässt, wurde eine Kreuztabelle des Gesamtkollektivs zur Ermittlung der relativen Häufigkeiten

erstellt, sowie der Cochran-Mantel-Haenszel-Test zur Bestimmung des RR durchgeführt.

Um zu überprüfen, ob das Vorhandensein einer F508del-Mutation die Wahrscheinlichkeit erhöht, einen Cholinmangel zu entwickeln, wurde der Man-Whitney-U-Test im Gesamtkollektiv durchgeführt. Die Gruppenunterteilung basierte auf der Gegenüberstellung von Patienten, die mindestens eine F508del-Mutation besitzen und Patienten ohne F508del-Mutation. Getestet wurde auf Unterschiedlichkeit beider Gruppen hinsichtlich der Laborparameter des Cholinstoffwechsels.

Um zu untersuchen, ob die derzeitig routinemäßig erhobenen klinischen Lungenfunktionsparameter (ppFEV1, FVC, MEF25, MEF2575, LCI und MRT-Score) einen Zusammenhang zwischen den Laborparametern des Cholinstoffwechsels und dem Schweregrad der CF-Erkrankung erkennen lassen, kam der Man-Whitney-U-Test zur Anwendung. Dabei wurde lediglich das Kollektiv der pankreasinsuffizienten Patienten in die Auswertung mit einbezogen. Es wurden das untere und obere Quartil des untersuchten Laborparameters miteinander verglichen.

Um zu überprüfen, ob die derzeitig routinemäßig erhobenen klinischen Indikatoren einer Leberpathologie (Leberenzyme, Leberechogenität, Lebernodularität) einen Zusammenhang zwischen den Plasmakonzentrationen von Cholin, Betain, PC, TMAO und dem Schweregrad der CF-Erkrankung erkennen lassen, wurden Kreuztabellen erstellt und der Cochran-Mantel-Haenszel-Test zur Bestimmung des RR durchgeführt. Dabei wurde lediglich das Kollektiv der pankreasinsuffizienten Patienten in die Auswertung mit einbezogen. Die Laborparameter des Cholinstoffwechsels wurden durch Zuordnung zum ersten sowie zum vierten Quartil in jeweils zwei Gruppen unterteilt. Die Dichotomisierungen der Leber-Parameter, sowie die der TMAO-Konzentration im Plasma sind Tabelle 15 zu entnehmen.

Um zu untersuchen, ob die derzeitig routinemäßig erhobenen klinische anthropometrischen Parameter (Größen-Perzentil, Gewichts-Perzentil, BMI-Perzentil) einen Zusammenhang zwischen ihnen und den Plasmakonzentrationen von Cholin, Betain und PC erkennen lassen, kam der

Man-Whitney-U-Test zur Anwendung. Dabei wurde lediglich das Kollektiv der pankreasinsuffizienten Patienten in die Auswertung mit einbezogen. Die Gruppenunterteilung basierte auf der Gegenüberstellung des unteren und oberen Quartils des untersuchten Laborparameters.

2.5. Sonstiges

Die Abbildungen der Einleitung wurden mit dem Programm Microsoft PowerPoint (Microsoft 365 MSO, Version 2206, Microsoft Corporation, Redmond, Washington, USA) und das Literaturverzeichnis durch Anwendung des Literaturverwaltungsprogramms EndNote (Version X9.3.3, Clarivate Analytics, Philadelphia, Pennsylvania, USA) erstellt. Die Dissertation wurde mithilfe des Textverarbeitungsprogramms Microsoft Word verfasst.

3. Ergebnisse

3.1. Systematik

Entsprechend der einzelnen Analysen (Abbildung 8) ist der Ergebnisteil in 8 Abschnitte gegliedert. Auf die deskriptive Statistik folgt die Frage nach einer Altersabhängigkeit erniedrigter CholinKonzentrationen im Blutplasma. Der dritte und fünfte Abschnitt stellt den Einfluss einer Pankreasinsuffizienz bzw. der Genetik auf die Plasmakonzentrationen von Cholin, Betain und PC dar. In Abschnitt 4 wird der Einfluss einer F508del-Mutation auf die Pankreasfunktion untersucht. In den Abschnitten 6-8 wird der potenzielle Zusammenhang zwischen den Laborparametern des Cholinstoffwechsels und klinischen Parametern beschrieben, namentlich die Parameter der Lungen- und Leberfunktion, sowie der Anthropometrie.

Zur Übersichtlichkeit wird für die Darstellung der Ergebnisse ein einheitliches Farbschema angewandt, das sich an den Laborparametern des Cholinstoffwechsels orientiert (Abbildung 10).

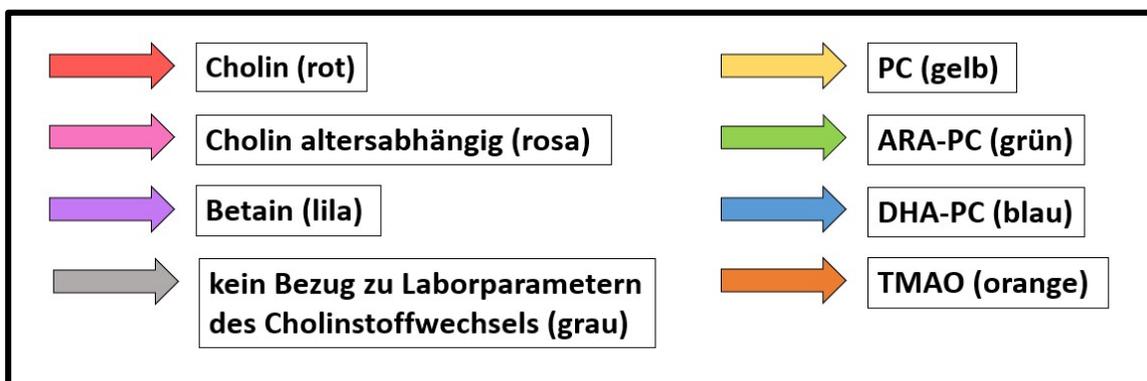


Abbildung 10: Farbgebungsschema des Ergebnisteils

Die Farbgebung unterscheidet die einzelnen Laborparameter des Cholinstoffwechsels voneinander; Abkürzungen: ARA-PC = arachidonsäurehaltiges Phosphatidylcholin; DHA-PC = docosahexaensäurehaltiges Phosphatidylcholin; PC = Phosphatidylcholin; TMAO = Trimethylamin-N-Oxid

3.2. Deskriptive Statistik

Abbildung 11 stellt die Häufigkeitsverteilung der exokrinen Pankreasfunktion im Gesamtkollektiv (Anzahl der Fälle (n) = 130) dar. Das Kreisdiagramm zeigt, dass

bei mehr als 90% der CF-Patienten eine diagnostizierte Pankreasinsuffizienz vorliegt.

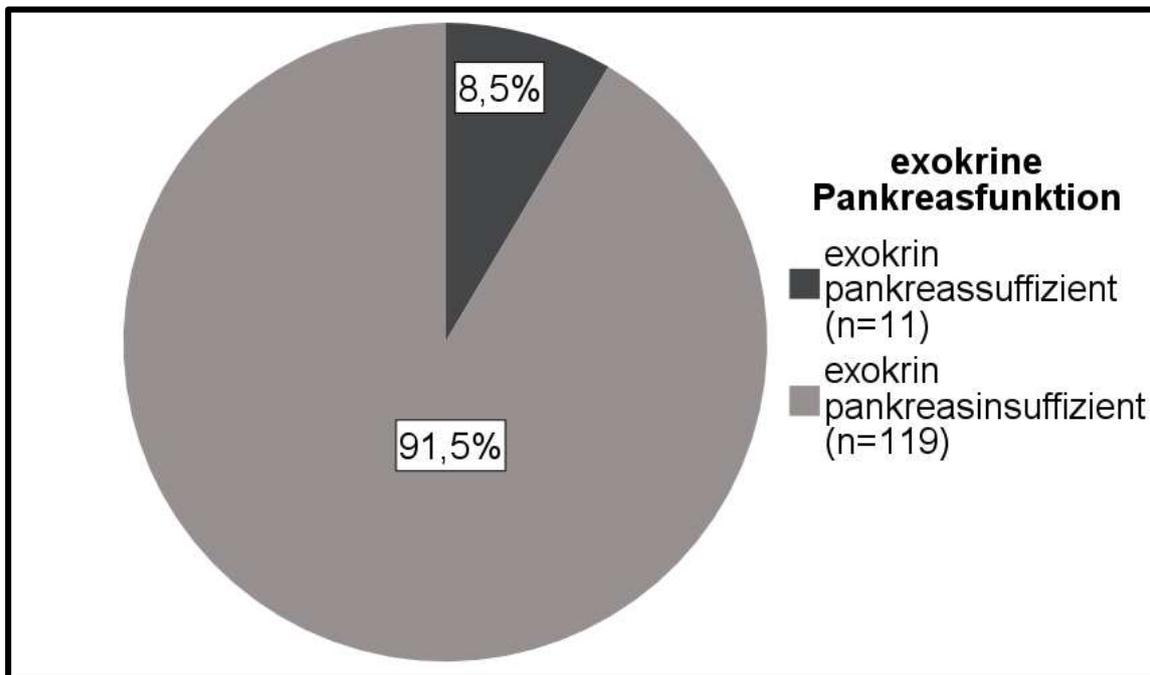


Abbildung 11: Häufigkeitsverteilung der exokrinen Pankreasfunktion im Gesamtkollektiv

die relativen Häufigkeiten sind in der Grafik angegeben; betrachtet wurde das Gesamtkollektiv ($n = 130$); Abkürzung: $n = \text{Anzahl der Fälle}$

Daher wurden das Gesamtkollektiv sowie die beiden Untergruppen in Abgrenzung zueinander analysiert. Tabelle 17 bis Tabelle 20 stellen die Gruppenunterschiede dar. In Tabelle 17 sind patientenbezogene und anthropometrische Daten, sowie krankheitsspezifische Parameter dargestellt. Tabelle 18 enthält die Laborparameter des Cholinstoffwechsels. Die klinischen Parameter der Lunge sind in Tabelle 19 und die der Leber in Tabelle 20 beschrieben.

Tabelle 17: deskriptive Statistik patientenbezogener, anthropometrischer und krankheitsspezifischer Parameter

Darstellung der Gruppenunterschiede zwischen dem Gesamtkollektiv, exokrin pankreasinsuffizienten und exokrin pankreassuffizienten Mukoviszidose-Patienten; für nominale Variablen sind jeweils die absoluten Häufigkeiten ohne und die relativen Häufigkeiten mit Klammer angegeben; Abkürzungen: BMI = Body-Mass-Index; F508del = Deletion der drei Phenylalanin codierenden Nukleotide an Position 508 des CFTR-Gens; fehlend = Anzahl der Fälle ohne Angaben; Max = Maximalwert; Min = Minimalwert; n = Anzahl der Fälle; P25 = 25. Perzentil; P75 = 75. Perzentil

| | Gesamtkollektiv (n = 130) | Pankreas- insuffizienz (n = 119) | Pankreas- suffizienz (n = 11) |
|--------------------------------------|--------------------------------------|-------------------------------------------------|----------------------------------------------|
| Alter (Jahre) | | | |
| Median | 12,80 | 12,89 | 9,17 |
| (P25 ; P75) | (7,49 ; 15,95) | (7,55 ; 16,07) | (6,65 ; 13,91) |
| [Min - Max] | [0,50 - 22,37] | [0,50 - 22,37] | [0,89 - 17,11] |
| fehlend | 0 | 0 | 0 |
| Geschlecht | | | |
| weiblich | 72 (55,4%) | 68 (57,1%) | 4 (36,4%) |
| männlich | 58 (44,6%) | 51 (42,9%) | 7 (63,6%) |
| Größen-Perzentil | | | |
| Median | 34,00 | 35,50 | 25,00 |
| (P25 ; P75) | (19,00 ; 53,00) | (20,00 ; 53,00) | (11,00 ; 49,50) |
| [Min - Max] | [1,00 - 95,00] | [1,00 - 95,00] | [5,00 - 81,00] |
| fehlend | 21 | 21 | 0 |
| Gewichts-Perzentil | | | |
| Median | 32,00 | 31,50 | 33,00 |
| (P25 ; P75) | (14,00 ; 52,00) | (12,50 ; 51,75) | (18,50 ; 51,00) |
| [Min - Max] | [0,00 - 96,00] | [0,00 - 96,00] | [1,00 - 77,00] |
| fehlend | 21 | 21 | 0 |
| BMI-Perzentil | | | |
| Median | 34,00 | 33,50 | 56,00 |
| (P25 ; P75) | (16,00 ; 62,00) | (16,50 ; 61,00) | (20,00 ; 70,00) |
| [Min - Max] | [0,00 - 96,00] | [0,00 - 96,00] | [5,00 - 81,00] |
| fehlend | 21 | 21 | 0 |
| F508del-Mutation | | | |
| ja | 111 (85,4%) | 107 (89,9%) | 4 (36,4%) |
| nein | 19 (14,6%) | 12 (10,1%) | 7 (63,6%) |
| exokrine Pankreasfunktion | | | |
| suffizient | 11 (8,5%) | 0 (0%) | 11 (100%) |
| insuffizient | 119 (91,5%) | 119 (100%) | 0 (0%) |

Tabelle 18: deskriptive Statistik der Laborparameter des Cholinstoffwechsels

Darstellung der Gruppenunterschiede zwischen dem Gesamtkollektiv, exokrin pankreasinsuffizienten und exokrin pankreassuffizienten Mukoviszidose-Patienten; Abkürzungen: ARA-PC = arachidonsäurehaltiges Phosphatidylcholin; DHA-PC = docosahexaensäurehaltiges Phosphatidylcholin; fehlend = Anzahl der Fälle ohne Angaben; Max = Maximalwert; Min = Minimalwert; n = Anzahl der Fälle; P25 = 25. Perzentil; P75 = 75. Perzentil; PC = Phosphatidylcholin; TMAO = Trimethylamin-N-Oxid

| | Gesamtkollektiv (n = 130) | Pankreas- insuffizienz (n = 119) | Pankreas- suffizienz (n = 11) |
|-----------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|-------------------------------------------------|-----------------------------------------------|
| Cholin (µmol/L) Median (P25 ; P75) [Min - Max] fehlend | 6,17 (4,79 ; 7,77) [2,22 - 17,91] 0 | 6,03 (4,76 ; 7,61) [2,22 - 13,77] 0 | 8,75 (6,89 ; 10,34) [4,61 - 17,91] 0 |
| Cholin altersabhängig (%) Median (P25 ; P75) [Min - Max] fehlend | 54,3 (45,1 ; 69,4) [26,1 - 102,1] 69 | 53,2 (45,1 ; 67,8) [26,1 - 102,1] 64 | 69,6 (49,4 ; 87,9) [37,2-91,4] 5 |
| Betain (µmol/L) Median (P25 ; P75) [Min - Max] fehlend | 16,61 (11,92 ; 22,50) [3,00 - 44,51] 0 | 16,50 (11,58 ; 22,05) [3,00 - 44,51] 0 | 21,2 (18,8 ; 27,2) [14,5 - 44,4] 0 |
| PC (mmol/L) Median (P25 ; P75) [Min - Max] fehlend | 1,29 (1,07 ; 1,48) [0,57 - 2,59] 0 | 1,28 (1,07 ; 1,49) [0,57 - 2,59] 0 | 1,37 (1,15 ; 1,45) [0,91 - 1,72] 0 |
| ARA-PC (Mol-% von PC) Median (P25 ; P75) [Min - Max] fehlend | 20,9 (19,0 ; 23,2) [14,7 - 31,1] 0 | 21,1 (19,0 ; 23,3) [14,7 - 31,1] 0 | 20,0 (19,3 ; 21,5) [17,5 - 24,6] 0 |
| DHA-PC (Mol-% von PC) Median (P25 ; P75) [Min - Max] fehlend | 5,03 (4,38 ; 6,21) [2,17 - 9,41] 0 | 5,04 (4,37 ; 6,28) [2,17 - 9,41] 0 | 5,03 (4,58 ; 5,41) [2,41 - 7,85] 0 |
| TMAO (µmol/L) Median (P25 ; P75) [Min - Max] fehlend | 4,22 (1,93 ; 7,85) [0,01 - 40,95] 0 | 4,70 (2,54 ; 8,94) [0,01 - 40,95] 0 | 1,26 (1,13 ; 2,12) [0,47 - 4,26] 0 |

Tabelle 19: deskriptive Statistik der klinischen Lungenfunktions-Parameter

Darstellung der Gruppenunterschiede zwischen dem Gesamtkollektiv, exokrin pankreasinsuffizienten und exokrin pankreassuffizienten Mukoviszidose-Patienten; Abkürzungen: fehlend = Anzahl der Fälle ohne Angaben; FVC = forcierte Vitalkapazität; LCI = Lung Clearance Index; Max = Maximalwert; MEF25 = maximale expiratorische Atemstromstärke bei 25% verbleibender Vitalkapazität; MEF2575 = mittlerer expiratorischer Fluss zwischen 75% und 25% verbleibender Vitalkapazität; Min = Minimalwert; MRT = Magnetresonanztomografie; n = Anzahl der Fälle; P25 = 25. Perzentil; P75 = 75. Perzentil; ppFEV1 = prozentuales vorhergesagtes forciertes Expirationsvolumen in einer Sekunde

| | Gesamtkollektiv (n = 130) | Pankreas- insuffizienz (n = 119) | Pankreas- suffizienz (n = 11) |
|-----------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|-------------------------------------------------|------------------------------------------------|
| ppFEV1 (%) Median (P25 ; P75) [Min - Max] fehlend | 92,3 (83,0 ; 102,4) [31,0 - 127,5] 16 | 92,5 (82,0 ; 102,5) [31,0 - 127,5] 14 | 91,5 (88,0 ; 101,0) [74,0 - 118,0] 2 |
| FVC (%) Median (P25 ; P75) [Min - Max] fehlend | 98,8 (88,3 ; 106,0) [57,0 - 129,0] 16 | 100,0 (89,0 ; 106,0) [57,0 - 129,0] 14 | 97,0 (87,0 ; 102,0) [78,0 - 126,0] 2 |
| MEF25 (%) Median (P25 ; P75) [Min - Max] fehlend | 79,8 (55,6 ; 98,0) [12,0 - 228,0] 16 | 79,0 (52,0 ; 94,0) [12,0 - 228,0] 14 | 101,0 (77,0 ; 117,0) [61,0 - 166,0] 2 |
| MEF2575 (%) Median (P25 ; P75) [Min - Max] fehlend | 81,5 (64,0 ; 96,0) [14,0 - 147,5] 16 | 81,0 (64,0 ; 96,0) [14,0 - 147,5] 14 | 87,5 (64,0 ; 102,0) [63,0 - 126,0] 2 |
| LCI Median (P25 ; P75) [Min - Max] fehlend | 9,60 (8,08 ; 10,70) [6,67 - 17,01] 79 | 9,61 (8,15 ; 10,71) [6,67 - 17,01] 71 | 7,20 (7,13 ; 8,95) [7,05 - 10,70] 8 |
| MRT-Score Median (P25 ; P75) [Min - Max] fehlend | 7,00 (3,00 ; 13,75) [0,00 - 30,00] 48 | 8,00 (3,50 ; 14,00) [0,00 - 30,00] 40 | 1,00 (0,50 ; 2,00) [0,00 - 3,00] 8 |

Tabelle 20: deskriptive Statistik der klinischen Leber-Parameter

Darstellung der Gruppenunterschiede zwischen dem Gesamtkollektiv, exokrin pankreasinsuffizienten und exokrin pankreassuffizienten Mukoviszidose-Patienten; die absoluten Häufigkeiten sind ohne und die relativen Häufigkeiten mit Klammer angegeben; Abkürzungen: fehlend = Anzahl der Fälle ohne Angaben; n = Anzahl der Fälle

| | Gesamtkollektiv (n = 130) | Pankreas- insuffizienz (n = 119) | Pankreas- suffizienz (n = 11) |
|-------------------------|--------------------------------------|-------------------------------------------------|----------------------------------------------|
| Leberenzyme | | | |
| unauffällig | 84 (64,6%) | 74 (62,2%) | 10 (90,9%) |
| auffällig | 43 (33,1%) | 42 (35,3%) | 1 (9,1%) |
| fehlend | 3 (2,3%) | 3 (2,5%) | 0 (0,0%) |
| Leberechogenität | | | |
| unauffällig | 86 (66,2%) | 77 (64,7%) | 9 (81,8%) |
| auffällig | 15 (11,5%) | 15 (12,6%) | 0 (0,0%) |
| fehlend | 29 (22,3%) | 27 (22,7%) | 2 (18,2%) |
| Lebernodularität | | | |
| unauffällig | 81 (62,3%) | 73 (61,3%) | 8 (72,7%) |
| auffällig | 14 (10,8%) | 14 (11,8%) | 0 (0,0%) |
| fehlend | 35 (26,9%) | 32 (26,9%) | 3 (27,3%) |

3.3. Altersabhängigkeit der Cholin-Plasmakonzentration

Um die Frage zu beantworten, ob Erniedrigungen der Cholin-Konzentration altersabhängig sind, wurden beide Patientengruppen getrennt in Form zweier Streudiagramme mit Anpassungslinie gegenübergestellt (Abbildung 13).

Abbildung 12 zeigt, dass zwischen pankreasinsuffizienten und suffizienten Patienten kein signifikanter Altersunterschied besteht (12,89 [7,55-16,07] vs. 9,17 [6,65-13,91]; $p = 0,313$) (Median [P25-P75]). Hingegen zeigt Abbildung 13, dass die Cholin-Konzentration im Plasma bei pankreassuffizienten Patienten mit zunehmendem Alter ansteigt (Bestimmtheitsmaß der linearen Regression (R^2) = 0,314; $n = 11$), während sie bei pankreasinsuffizienten Patienten sinkt ($R^2 = 0,106$; $n = 119$).

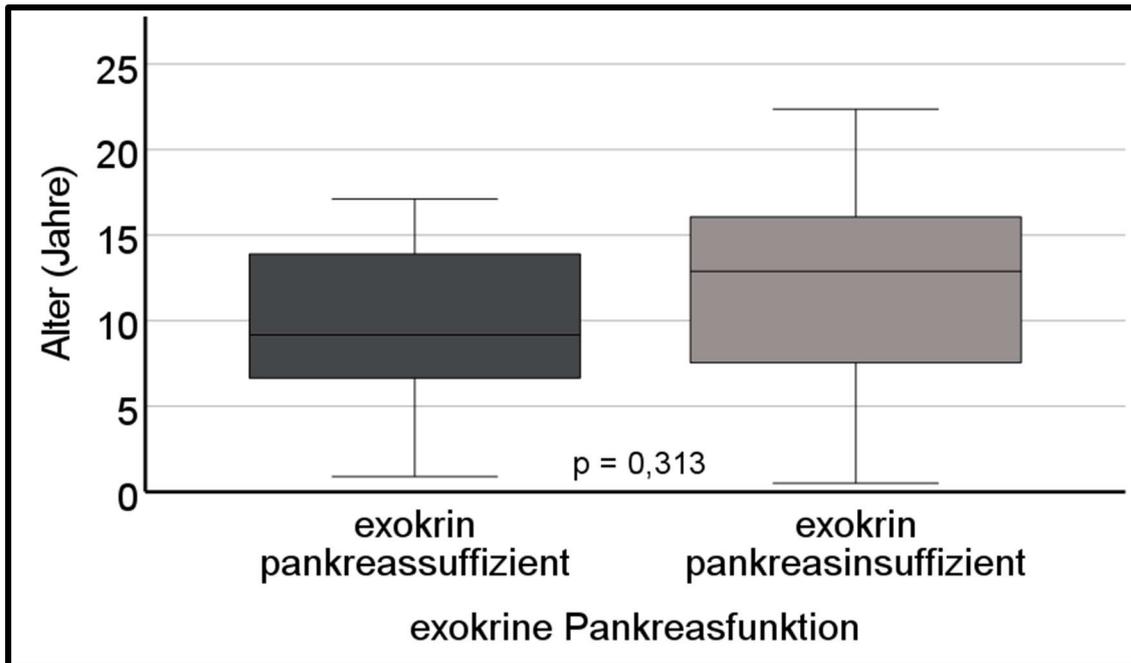


Abbildung 12: Altersverteilung in Abhängigkeit der Pankreasfunktion

Überprüfung auf Unterschiedlichkeit der Altersverteilung zwischen Patienten mit und ohne Pankreasinsuffizienz mittels Mann-Whitney-U-Test; Betrachtung des Gesamtkollektivs ($n = 130$); n (exokrin pankreassuffizient) = 11; n (exokrin pankreasinsuffizient) = 119; Abkürzungen: n = Anzahl der Fälle; p -Wert = Signifikanz gemäß Mann-Whitney-U-Test

3.4. Beziehung zwischen Pankreasfunktion und Laborparametern des Cholinstoffwechsels

Abbildung 14 zeigt die Beziehung zwischen exokriner Pankreasfunktion und den Laborparametern des Cholinstoffwechsels. Die Daten geben zu erkennen, dass Patienten mit Pankreasinsuffizienz im Median eine niedrigere Cholinkonzentration im Plasma aufweisen ($6,03 [4,76-7,61] \mu\text{mol/L}$) als solche mit normaler Pankreasfunktion ($8,75 [6,89-10,34] \mu\text{mol/L}$) ($p = 0,002$), wobei dieser Unterschied gemäß Abbildung 13 mit dem Alter zunimmt. Dasselbe gilt für die Plasmakonzentration von Betain ($16,5 [11,6-22,1]$ vs. $21,2 [18,8-27,2] \mu\text{mol/L}$, $p = 0,018$). Die Daten zur altersnormierten Cholinkonzentration sowie der Konzentrationen von Gesamt-PC und der Anteile an ARA-PC und DHA-PC sind nicht signifikant verschieden ($p > 0,05$). Jedoch liegt bei Patienten mit einer Pankreasinsuffizienz eine auffällig große Spannweite der Konzentrationen von Gesamt-PC sowie der Anteile von ARA-PC und DHA-PC vor. Auch weisen diese

Patienten eine größere Spannweite hinsichtlich der CholinKonzentrationen mit Werten von 2,22 bis zu 13,77 $\mu\text{mol/L}$ auf (Tabelle 18).

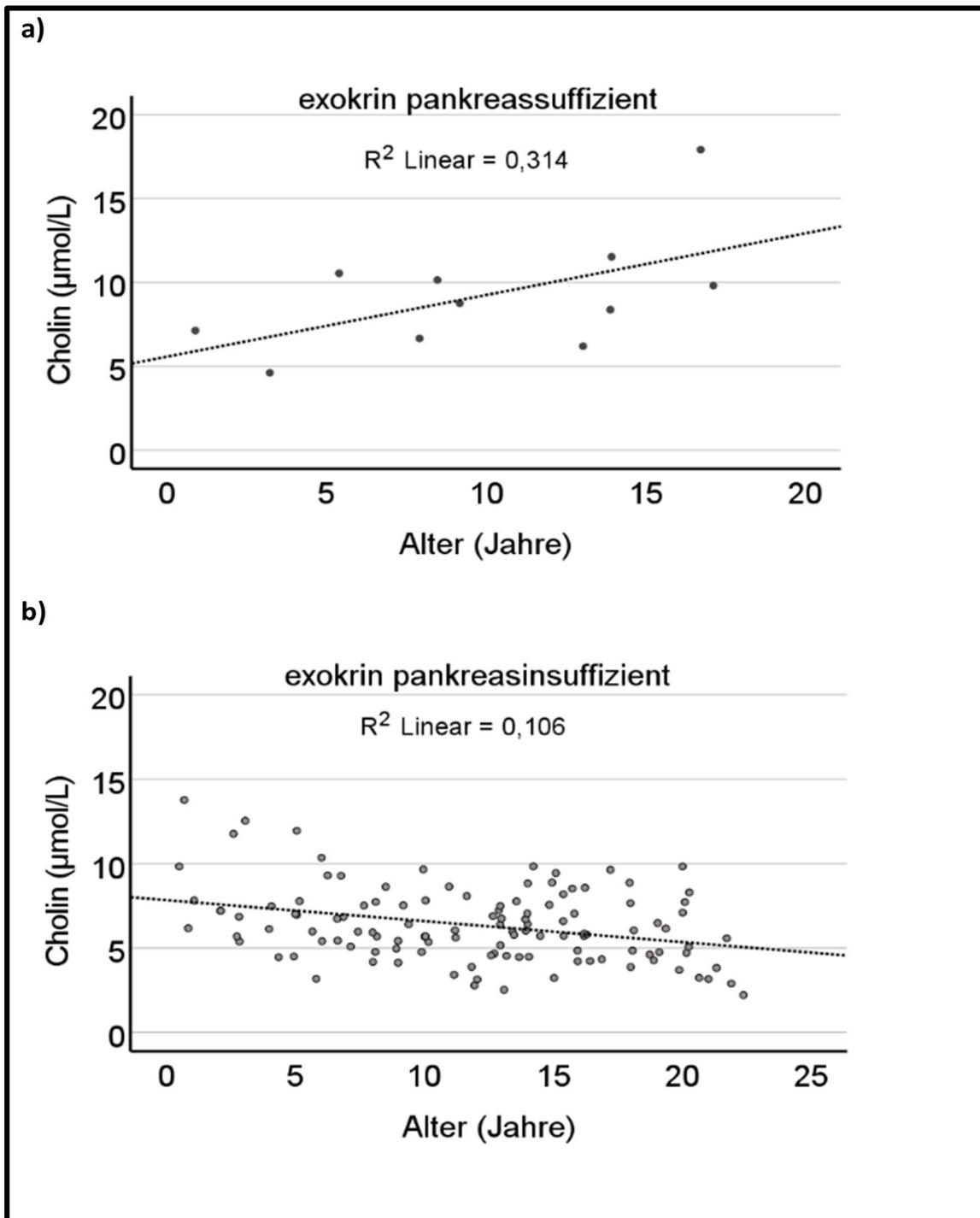


Abbildung 13: Beziehung zwischen Cholin-Plasmakonzentration und Patientenalter bei a) Pankreassuffizienz und b) Pankreasinsuffizienz im Vergleich
a) $n = 11$; b) $n = 119$; die einzelnen Daten sind als Punkte in Form eines Streudiagramms dargestellt; die gestrichelte Linie entspricht der Anpassungslinie; Abkürzungen: n = Anzahl der Fälle; R^2 = Bestimmtheitsmaß der linearen Regression

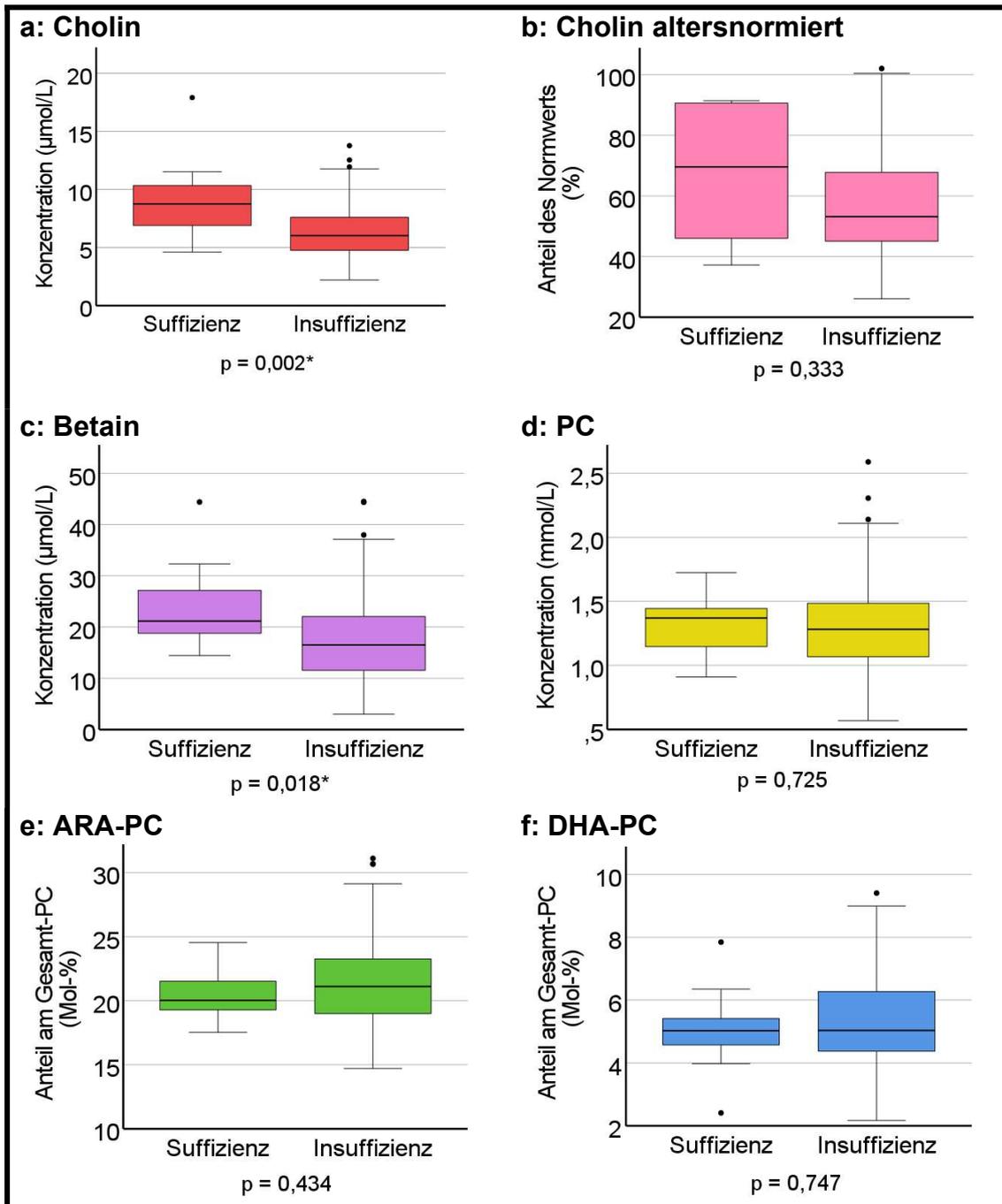


Abbildung 14: Beziehung zwischen Pankreasfunktion und Laborparametern des Cholinstoffwechsels

Darstellung der Ergebnisse des Mann-Whitney-U-Tests; Betrachtung des Gesamtkollektivs ($n = 130$); Gegenüberstellung von Patienten mit und ohne Pankreasinsuffizienz; Pankreasfunktion auf der Abszisse aufgetragen; für Schaubild a,c,d,e,f gilt n (Suffizienz) = 11 und n (Insuffizienz) = 119; für Schaubild b gilt n (Suffizienz) = 6 und n (Insuffizienz) = 55; Ausreißer (mehr als das 1,5-Fache des Interquartilsabstands) sind durch schwarze Punkte gekennzeichnet; $p^* = p\text{-Wert} < 0,05$; Abkürzungen: ARA-PC = arachidonsäurehaltiges Phosphatidylcholin; DHA-PC = docosahexaensäurehaltiges Phosphatidylcholin; n = Anzahl der Fälle; $p\text{-Wert}$ = Signifikanz gemäß Mann-Whitney-U-Test; PC = Phosphatidylcholin

3.5. Beziehung zwischen F508del-Mutation und exokriner Pankreasfunktion

Abbildung 15 zeigt die Häufigkeitsverteilung der exokrinen Pankreasfunktion bei homozygoten und compound-heterozygoten F508del-Trägern im Vergleich zu Patienten ohne F508del-Mutation. Demgemäß sind Patienten mit mindestens einer F508del-Mutation fast ausschließlich pankreasinsuffizient (96,4%; 107 von 111 Fälle), während es bei Patienten ohne F508del-Mutation nur 63,2% (12 von 19 Fälle) sind. Das bedeutet entsprechend dem Cochran-Mantel-Haenszel-Test, dass Patienten mit mindestens einer F508del-Mutation ein 1,526-fach (95%-KI: 1,081-2,156) höheres Risiko besitzen, gleichzeitig auch von einer exokrinen Pankreasinsuffizienz betroffen zu sein, verglichen mit CF-Patienten ohne F508del-Mutation ($p < 0,001$).

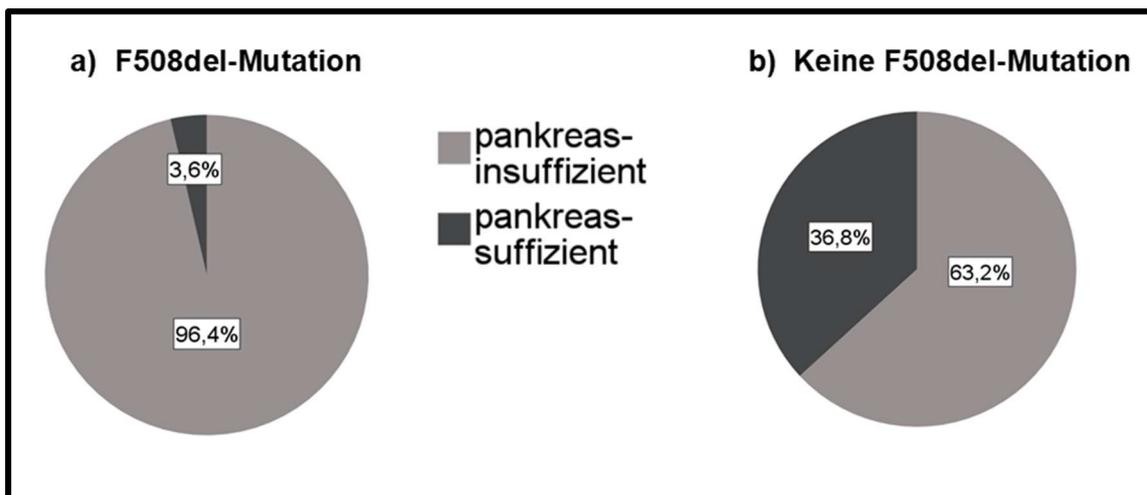


Abbildung 15: Häufigkeitsverteilung der exokrinen Pankreasfunktion in Abhängigkeit der Genetik

Ergebnisse der Kreuztabelle sind als Kreisdiagramme dargestellt; betrachtet wurde das Gesamtkollektiv ($n = 130$); die relativen Häufigkeiten sind in der Grafik angegeben; homozygote und compound-heterozygote F508del-Träger wurden zusammengefasst; n (F508del-Mutation) = 111; n (keine F508del-Mutation) = 19; Abkürzungen: F508del = Deletion der drei Phenylalanin codierenden Nukleotide an Position 508 des CFTR-Gens; n = Anzahl der Fälle

3.6. Beziehung zwischen F508del-Mutation und Laborparametern des Cholinstoffwechsels

Abbildung 16 zeigt, dass bei Patienten mit mindestens einer F508del-Mutation die CholinKonzentration mit 5,98 [4,76- 7,53] $\mu\text{mol/L}$ im Unterschied zu 7,82 [6,05-9,66] $\mu\text{mol/L}$ bei Patienten ohne F508del-Mutation deutlich erniedrigt ist ($p = 0,008$). Dasselbe gilt für den altersnormierten Cholinwert. Der Anteil vom altersgewichteten Normwert beträgt bei Patienten mit mindestens einer F508del-Mutation 53,1 [44,2-67,8] %, während Patienten ohne F508del-Mutation einen Median von 70,5 [52,8-90,1] % aufweisen ($p = 0,047$). Im Hinblick auf Betain und PC lässt sich kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen nachweisen. Daraus lässt sich schlussfolgern, dass eine F508del-Mutation bei CF-Patienten die Wahrscheinlichkeit einen Cholinmangel zu entwickeln erhöht, während beide Subgruppen gleichermaßen von einer Erniedrigung der Plasma-PC-Konzentration betroffen sind (siehe Diskussion).

3.7. Laborparameter des Cholinstoffwechsels und Parameter der Lungenfunktion

Hier wurde lediglich das Kollektiv der pankreasinsuffizienten Patienten ($n = 119$) in die Auswertung einbezogen, aufgrund des pathophysiologischen Phänomens, dass CF-Patienten mit exokriner Pankreasinsuffizienz von einem Cholinmangel betroffen sind.

Die Ergebnisse der Subgruppenvergleiche sind in Tabelle 21 für hydrophile Metaboliten und in Tabelle 22 für hydrophobe Metabolite zusammengefasst. Auffällig waren lediglich die Unterschiede zwischen Patienten des unteren und oberen DHA-PC-Quartils hinsichtlich ihrer altersgewichteten FVC-Prozentwerte ($p = 0,026$). Während Patienten bis P25 (DHA-PC $\leq 4,37$ Mol-% von PC) FVC-Werte von 102,0 [95,0-107,0] % aufwiesen, lagen die FVC-Werte bei Patienten ab P75 (DHA-PC $\geq 6,28$ Mol-% von PC) bei 92,5 [86,0-100,5] %. Die Ergebnisse liefern keinen Hinweis auf eine Beziehung zwischen Plasmakonzentrationen von Cholin, Betain sowie Gesamt-PC und den routinemäßig erhobenen Lungenfunktionsparametern.

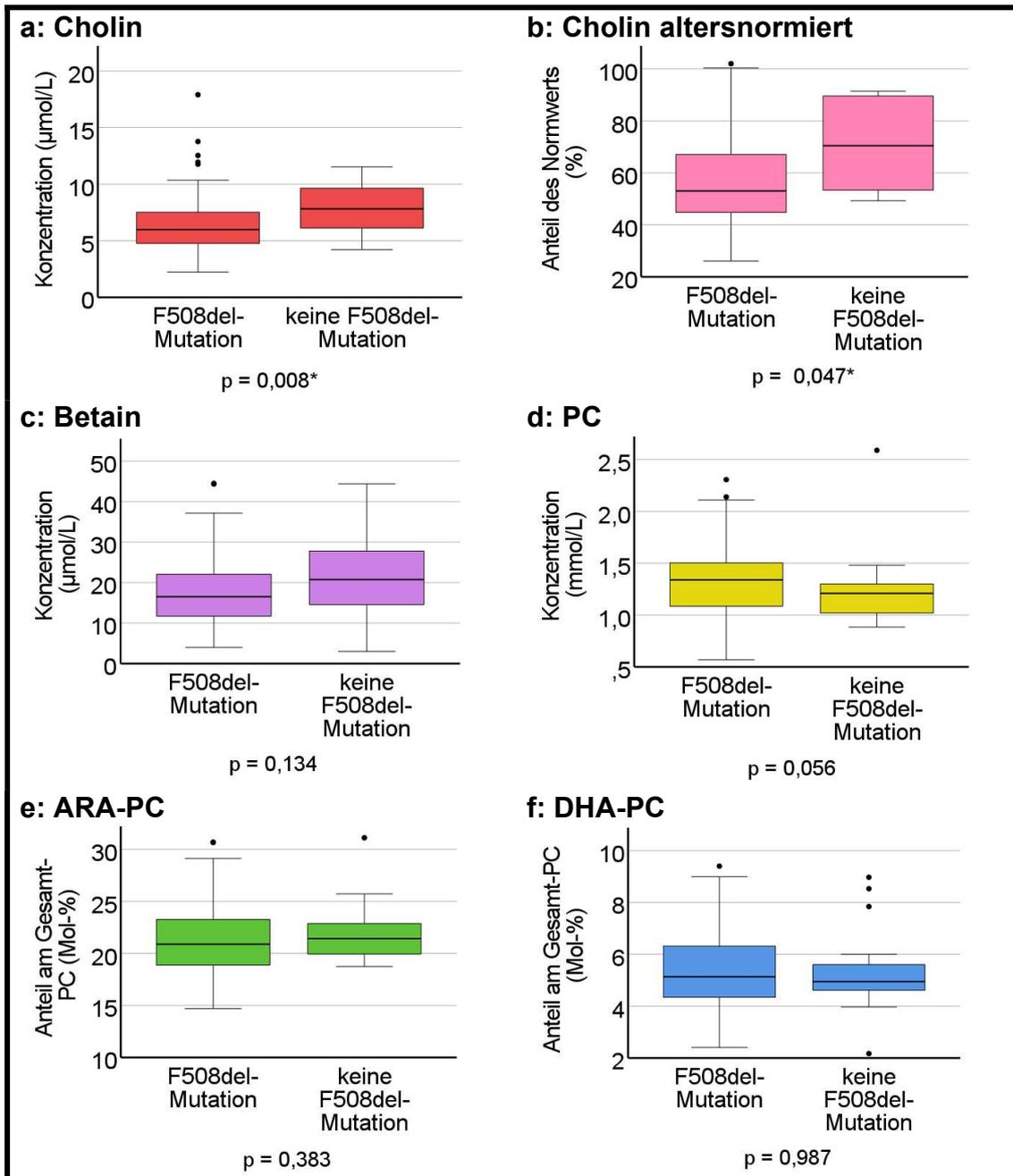


Abbildung 16: Beziehung zwischen F508del-Mutation und Laborparametern des Cholinstoffwechsels

Darstellung der Ergebnisse des Mann-Whitney-U-Tests; Betrachtung des Gesamtkollektivs ($n = 130$); Gegenüberstellung von Patienten mit und ohne F508del-Mutation; für Schaubild a,c,d,e,f gilt n (F508del-Mutation) = 111 und n (keine F508del-Mutation) = 19; für Schaubild b gilt n (F508del-Mutation) = 53 und n (keine F508del-Mutation) = 8; Ausreißer (mehr als das 1,5-Fache des Interquartilsabstands) sind durch schwarze Punkte gekennzeichnet; $p^* = p\text{-Wert} < 0,05$; Abkürzungen: ARA-PC = arachidonsäurehaltiges Phosphatidylcholin; DHA-PC = docosahexaensäurehaltiges Phosphatidylcholin; F508del = Deletion der drei Phenylalanin codierenden Nukleotide an Position 508 des CFTR-Gens; n = Anzahl der Fälle; $p\text{-Wert}$ = Signifikanz gemäß Mann-Whitney-U-Test; PC = Phosphatidylcholin

Tabelle 21: Lungenfunktion im Vergleich zwischen 1. und 4. Quartil der hydrophilen Laborparameter des Cholinstoffwechsels

Darstellung der Ergebnisse des Mann-Whitney-U-Tests; alleinige Betrachtung der pankreasinsuffizienten Patienten (n = 119); die zu vergleichenden Gruppen sind spaltenweise angeordnet; jede Zeile entspricht einer Analyse; leeres Feld aufgrund mangelnder Daten; Abkürzungen: FVC = forcierte Vitalkapazität; LCI = Lung Clearance Index; MEF25 = maximale expiratorische Atemstromstärke bei 25% verbleibender Vitalkapazität; MEF2575 = mittlerer expiratorischer Fluss zwischen 75% und 25% verbleibender Vitalkapazität; MRT = Magnetresonanztomografie; n = Anzahl der Fälle; P25 = 25. Perzentil; P50 = 50. Perzentil (Median); P75 = 75. Perzentil; ppFEV1 = prozentuales vorhergesagtes forciertes Expirationsvolumen in einer Sekunde; p-Wert = Signifikanz gemäß Mann-Whitney-U-Test

| Lungenfunktionsparameter | p-Wert | Gruppe 1: 1. Quartil | | | | Gruppe 2: 4. Quartil | | | |
|--------------------------|--------|------------------------------------|------|-------|-------|------------------------------------|------|-------|-------|
| | | n | P25 | P50 | P75 | n | P25 | P50 | P75 |
| | | Cholin ≤ 4,76 µmol/L | | | | Cholin ≥ 7,61 µmol/L | | | |
| ppFEV1 (%) | 0,729 | 29 | 74,5 | 86,5 | 104,5 | 25 | 78,8 | 92,0 | 100,5 |
| FVC (%) | 0,544 | 29 | 86,3 | 95,0 | 107,8 | 25 | 91,3 | 100,5 | 106,0 |
| MEF25 (%) | 0,627 | 29 | 41,0 | 63,0 | 94,0 | 25 | 52,3 | 73,5 | 89,3 |
| MEF2575 (%) | 0,615 | 29 | 55,8 | 73,0 | 92,0 | 25 | 57,3 | 76,0 | 91,0 |
| LCI | 0,931 | 10 | 8,06 | 10,24 | 12,19 | 14 | 8,37 | 9,92 | 11,55 |
| MRT-Score | 0,989 | 19 | 3,00 | 8,00 | 14,00 | 20 | 4,00 | 8,00 | 13,00 |
| | | Cholin altersnormiert ≤ 45,06 % | | | | Cholin altersnormiert ≥ 67,80 % | | | |
| ppFEV1 (%) | 0,099 | 11 | 77,0 | 103,0 | 111,0 | 10 | 74,3 | 94,0 | 101,4 |
| FVC (%) | 0,197 | 11 | 89,5 | 104,0 | 112,5 | 10 | 77,1 | 97,8 | 104,3 |
| MEF25 (%) | 0,223 | 11 | 73,0 | 90,0 | 109,0 | 10 | 56,8 | 81,0 | 92,3 |
| MEF2575 (%) | 0,426 | 11 | 74,0 | 84,0 | 96,0 | 10 | 63,1 | 83,8 | 90,8 |
| LCI | 0,095 | 2 | 7,53 | 7,63 | | 5 | 9,28 | 10,74 | 11,58 |
| MRT-Score | 0,318 | 7 | 1,00 | 3,00 | 6,00 | 7 | 2,00 | 4,00 | 8,00 |
| | | Betain ≤ 11,58 µmol/L | | | | Betain ≥ 22,05 µmol/L | | | |
| ppFEV1 (%) | 0,548 | 30 | 77,8 | 97,3 | 105,6 | 25 | 83,8 | 92,5 | 101,5 |
| FVC (%) | 0,202 | 30 | 89,4 | 99,8 | 110,0 | 25 | 87,8 | 96,0 | 103,0 |
| MEF25 (%) | 0,980 | 30 | 50,0 | 69,0 | 101,5 | 25 | 51,5 | 81,0 | 93,5 |
| MEF2575 (%) | 0,543 | 30 | 59,4 | 77,8 | 96,0 | 25 | 68,8 | 89,0 | 97,0 |
| LCI | 0,494 | 13 | 7,80 | 9,26 | 10,47 | 11 | 8,17 | 9,60 | 10,74 |
| MRT-Score | 0,896 | 24 | 2,00 | 7,00 | 17,00 | 15 | 5,00 | 6,00 | 10,00 |

Tabelle 22: Lungenfunktion im Vergleich zwischen 1. und 4. Quartil der hydrophoben Laborparameter des Cholinstoffwechsels

Darstellung der Ergebnisse des Mann-Whitney-U-Tests; alleinige Betrachtung der pankreasinsuffizienten Patienten (n = 119); die zu vergleichenden Gruppen sind spaltenweise angeordnet; jede Zeile entspricht einer Analyse; p* = p-Wert < 0,05; Abkürzungen: ARA-PC = arachidonsäurehaltiges Phosphatidylcholin; DHA-PC = docosahexaensäurehaltiges Phosphatidylcholin; FVC = forcierte Vitalkapazität; LCI = Lung Clearance Index; MEF25 = maximale expiratorische Atemstromstärke bei 25% verbleibender Vitalkapazität; MEF2575 = mittlerer expiratorischer Fluss zwischen 75% und 25% verbleibender Vitalkapazität; MRT = Magnetresonanztomografie; n = Anzahl der Fälle; P25 = 25. Perzentil; P50 = 50. Perzentil (Median); P75 = 75. Perzentil; PC = Phosphatidylcholin; ppFEV1 = prozentuales vorhergesagtes forciertes Expirationsvolumen in einer Sekunde; p-Wert = Signifikanz gemäß Mann-Whitney-U-Test

| Lungenfunktionsparameter | p-Wert | Gruppe 1: 1. Quartil | | | | Gruppe 2: 4. Quartil | | | |
|--------------------------|--------|-----------------------------|------|-------|-------|-----------------------------|------|-------|-------|
| | | n | P25 | P50 | P75 | n | P25 | P50 | P75 |
| | | PC ≤ 1,07 mmol/L | | | | PC ≥ 1,49 mmol/L | | | |
| ppFEV1 (%) | 0,487 | 29 | 83,0 | 96,0 | 102,5 | 28 | 75,0 | 90,8 | 103,0 |
| FVC (%) | 0,453 | 29 | 90,0 | 102,0 | 108,0 | 28 | 87,9 | 95,0 | 107,9 |
| MEF25 (%) | 0,638 | 29 | 52,5 | 73,5 | 93,5 | 28 | 35,8 | 73,5 | 98,0 |
| MEF2575 (%) | 0,560 | 29 | 62,0 | 72,5 | 94,5 | 28 | 47,3 | 78,3 | 94,6 |
| LCI | 0,417 | 16 | 8,50 | 9,74 | 10,44 | 8 | 7,39 | 8,94 | 11,15 |
| MRT-Score | 0,146 | 21 | 5,00 | 9,00 | 14,00 | 19 | 2,00 | 4,00 | 16,00 |
| | | ARA-PC ≤ 19,00 Mol-% von PC | | | | ARA-PC ≥ 23,27 Mol-% von PC | | | |
| ppFEV1 (%) | 0,601 | 24 | 85,5 | 99,0 | 104,1 | 28 | 85,6 | 93,3 | 101,9 |
| FVC (%) | 0,378 | 24 | 89,1 | 102,5 | 108,6 | 28 | 90,8 | 97,0 | 104,0 |
| MEF25 (%) | 0,978 | 24 | 60,0 | 85,0 | 104,8 | 28 | 63,3 | 80,3 | 96,0 |
| MEF2575 (%) | 0,956 | 24 | 69,1 | 89,0 | 96,0 | 28 | 71,3 | 84,5 | 96,0 |
| LCI | 0,845 | 9 | 7,94 | 8,43 | 12,29 | 13 | 8,04 | 8,96 | 10,42 |
| MRT-Score | 0,966 | 17 | 4,00 | 6,00 | 12,00 | 22 | 3,75 | 7,00 | 11,50 |
| | | DHA-PC ≤ 4,37 Mol-% von PC | | | | DHA-PC ≥ 6,28 Mol-% von PC | | | |
| ppFEV1 (%) | 0,117 | 27 | 86,0 | 96,0 | 102,5 | 27 | 78,5 | 88,0 | 97,5 |
| FVC (%) | 0,026* | 27 | 95,0 | 102,0 | 107,0 | 27 | 86,0 | 92,5 | 100,5 |
| MEF25 (%) | 0,183 | 27 | 56,0 | 81,0 | 104,0 | 27 | 48,5 | 75,0 | 89,0 |
| MEF2575 (%) | 0,697 | 27 | 69,5 | 80,0 | 93,0 | 27 | 59,0 | 82,0 | 96,0 |
| LCI | 0,721 | 15 | 8,43 | 10,16 | 12,71 | 11 | 8,92 | 10,02 | 12,21 |
| MRT-Score | 0,370 | 21 | 2,50 | 6,00 | 11,00 | 21 | 2,50 | 10,00 | 14,00 |

3.8. Laborparameter des Cholinstoffwechsels und Parameter der Leber

Tabelle 23 fasst die Ergebnisse des Cochran-Mantel-Haenszel-Test zusammen. Abbildung 17 bis Abbildung 20 stellen die Häufigkeitsverteilungen der Kreuztabellen als Kreisdiagramme dar.

Patienten mit einer PC-Konzentration von $\leq 1,07$ mmol/L besitzen ein 4,30-faches Risiko, gleichzeitig auch eine sonografisch auffällige Leberechogenität aufzuweisen im Vergleich zu Patienten mit einer PC-Konzentration von $\geq 1,49$ mmol/L (95%-KI: 1,044-17,742; $p = 0,019$). Die prozentualen Anteile der PC-Subgruppen ARA-PC (RR:1,00; 95%-KI:0,226-4,425; $p = 1,000$) und DHA-PC (RR:0,25; 95%-KI:0,443-3,034; $p = 0,826$) hingegen zeigen keinen Zusammenhang zur Leberechogenität. Patienten mit einer TMAO-Konzentration von ≥ 10 $\mu\text{mol/L}$ besitzen ein 2,63-fach höheres Risiko, gleichzeitig auch eine sonografisch auffällige Leberechogenität aufzuweisen im Vergleich zu Patienten mit einer TMAO-Konzentration von < 10 $\mu\text{mol/L}$ (95%-KI: 1,069-6,443; $p = 0,034$). Die Daten zeigen tendenziell darüber hinaus, dass 33,3% der Patienten mit einer Cholin-Konzentration von $\leq 4,76$ $\mu\text{mol/L}$ auch eine sonografisch auffällige Leberechogenität haben, während nur 9,5% der Patienten mit einer Cholin-Konzentration von $\geq 7,61$ $\mu\text{mol/L}$ eine von der Norm abweichende Leberechogenität aufweisen ($p = 0,055$).

Eine weitere Tendenz lässt sich im Hinblick auf einen möglichen Zusammenhang zwischen Betain und der Lebernodularität erkennen. Nur 10,0% der Patienten mit einer Betain-Konzentration von $\leq 11,58$ $\mu\text{mol/L}$ zeigen tendenziell eine sonografisch auffällige Lebernodularität, während 31,8% der Patienten mit einer Betain-Konzentration von $\geq 22,05$ $\mu\text{mol/L}$ eine veränderte Lebernodularität aufweisen ($p = 0,085$).

Zwischen den Konzentrationen von Cholin, Betain, PC, TMAO und erhöhten Plasmakonzentrationen von Leberenzymen wurde kein Zusammenhang nachgewiesen ($p > 0,05$).

Tabelle 23: Ergebnisse des Cochran-Mantel-Haenszel-Tests zwischen Laborparametern des Cholinstoffwechsels und klinischen Parametern der Leber

alleinige Betrachtung der pankreasinsuffizienten Patienten (n = 119); einzelne Analysen sind zeilenweise angeordnet; Metabolite des Cholinstoffwechsels wurden in 1. und 4. Quartil unterteilt; Dichotomisierungen der Leber-Parameter erfolgte entsprechend Tabelle 15; p* = p-Wert < 0,05; leere Felder aufgrund mangelnder Daten; Abkürzungen: ARA-PC = arachidonsäurehaltiges Phosphatidylcholin; DHA-PC = docosahexaensäurehaltiges Phosphatidylcholin; PC = Phosphatidylcholin; p-Wert = Signifikanz des Cochran-Mantel-Haenszel-Tests; TMAO = Trimethylamin-N-Oxid

| Einflussvariable | Zielvariable | Relatives Risiko | 95%-Konfidenzintervall | p-Wert |
|-----------------------|------------------|------------------|------------------------|--------|
| Cholin | Leberenzyme | 1,35 | 0,686-2,651 | 0,380 |
| Cholin | Leberechogenität | 3,50 | 0,834-14,692 | 0,055 |
| Cholin | Lebernodularität | 0,55 | 0,114-2,683 | 0,451 |
| Cholin altersnormiert | Leberenzyme | 1,60 | 0,502-5,101 | 0,411 |
| Cholin altersnormiert | Leberechogenität | 1,67 | 0,176-15,797 | 0,650 |
| Cholin altersnormiert | Lebernodularität | | | |
| Betain | Leberenzyme | 1,00 | 0,561-1,784 | 1,000 |
| Betain | Leberechogenität | 1,31 | 0,428-4,024 | 0,632 |
| Betain | Lebernodularität | 0,31 | 0,074-1,340 | 0,085 |
| PC | Leberenzyme | 1,11 | 0,667-1,829 | 0,698 |
| PC | Leberechogenität | 4,30 | 1,044-17,742 | 0,019* |
| PC | Lebernodularität | 1,63 | 0,418-6,357 | 0,477 |
| ARA-PC | Leberenzyme | 1,40 | 0,674-2,909 | 0,360 |
| ARA-PC | Leberechogenität | 1,00 | 0,226-4,425 | 1,000 |
| ARA-PC | Lebernodularität | 0,46 | 0,101-2,119 | 0,301 |
| DHA-PC | Leberenzyme | 0,93 | 0,443-1,955 | 0,850 |
| DHA-PC | Leberechogenität | 0,25 | 0,443-3,034 | 0,826 |
| DHA-PC | Lebernodularität | 0,79 | 0,205-3,057 | 0,734 |
| TMAO | Leberenzyme | 0,81 | 0,432-1,536 | 0,512 |
| TMAO | Leberechogenität | 2,63 | 1,069-6,443 | 0,034* |
| TMAO | Lebernodularität | 0,60 | 0,146-2,438 | 0,455 |

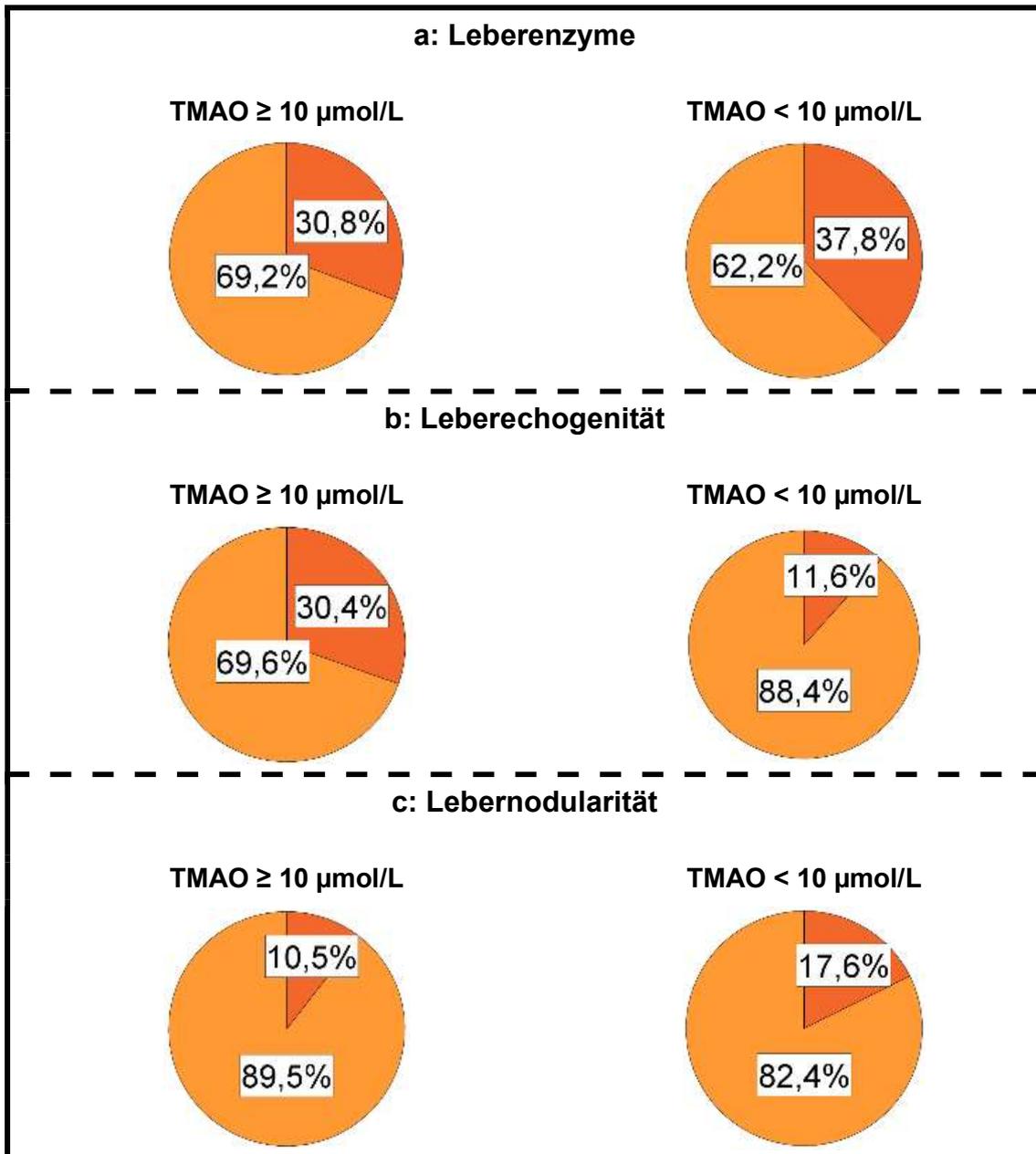


Abbildung 17: Häufigkeitsverteilung zwischen TMAO und klinischen Parametern der Leber

Darstellung der 2x2-Kreuztabellen in Form von Kreisdiagrammen; die relativen Häufigkeiten sind in der Grafik angegeben; alleinige Betrachtung der pankreasinsuffizienten Patienten (n = 119); Patienten mit TMAO-Werten $\geq 10 \mu\text{mol/L}$ und mit TMAO-Werten $< 10 \mu\text{mol/L}$ wurden miteinander verglichen; Dichotomisierungen der Leber-Parameter erfolgte entsprechend Tabelle 15; a) dunkle Farbe (rechts) = mindestens 1 Enzym außerhalb des Referenzbereichs & helle Farbe (links) = alle 4 Enzyme innerhalb des Referenzbereichs; b) dunkle Farbe (rechts) = Leberechogenität sonografisch auffällig & helle Farbe (links) = Leberechogenität sonografisch unauffällig; c) dunkle Farbe (rechts) = Lebernodularität sonografisch auffällig & helle Farbe (links) = Lebernodularität sonografisch unauffällig; Abkürzungen: n = Anzahl der Fälle; TMAO = Trimethylamin-N-Oxid

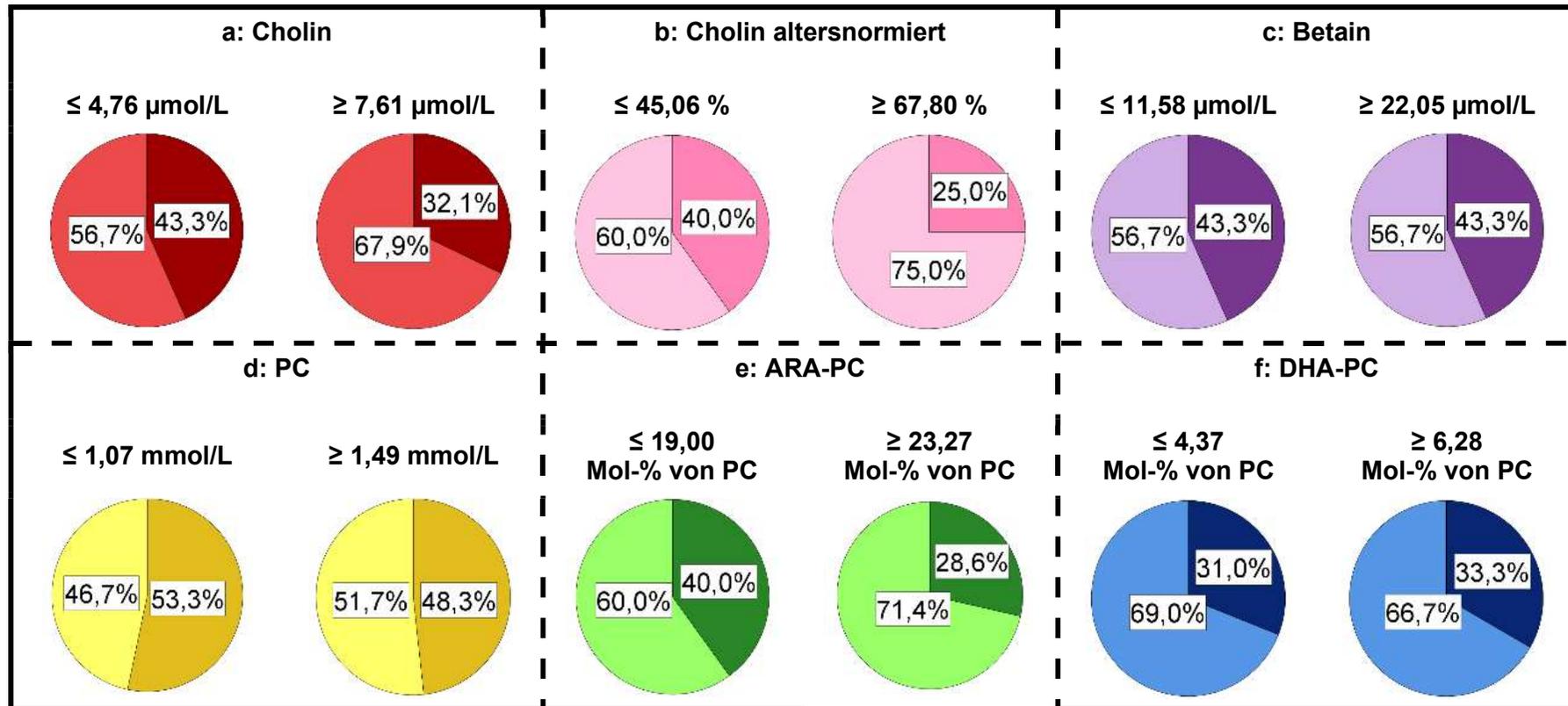


Abbildung 18: Häufigkeitsverteilung zwischen Laborparametern des Cholinstoffwechsels und Leberenzymen

Darstellung der 2x2-Kreuztabellen in Form von Kreisdiagrammen; die relativen Häufigkeiten sind in der Grafik angegeben. Dunkle Farbe (rechts) = mindestens 1 Enzym außerhalb des Referenzbereichs; helle Farbe (links) = alle 4 Enzyme innerhalb des Referenzbereichs bei ; alleiniger Betrachtung der pankreasinsuffizienten Patienten ($n = 119$); Metabolite des Cholinstoffwechsels wurden in 1. und 4. Quartil unterteilt; Werte der Interquartilgrenzen sind in der Grafik angegeben; Dichotomisierungen der Leber-Enzyme erfolgte entsprechend Tabelle 15; Abkürzungen: ARA-PC = arachidonsäurehaltiges Phosphatidylcholin; DHA-PC = docosahexaensäurehaltiges Phosphatidylcholin; n = Anzahl der Fälle; PC = Phosphatidylcholin

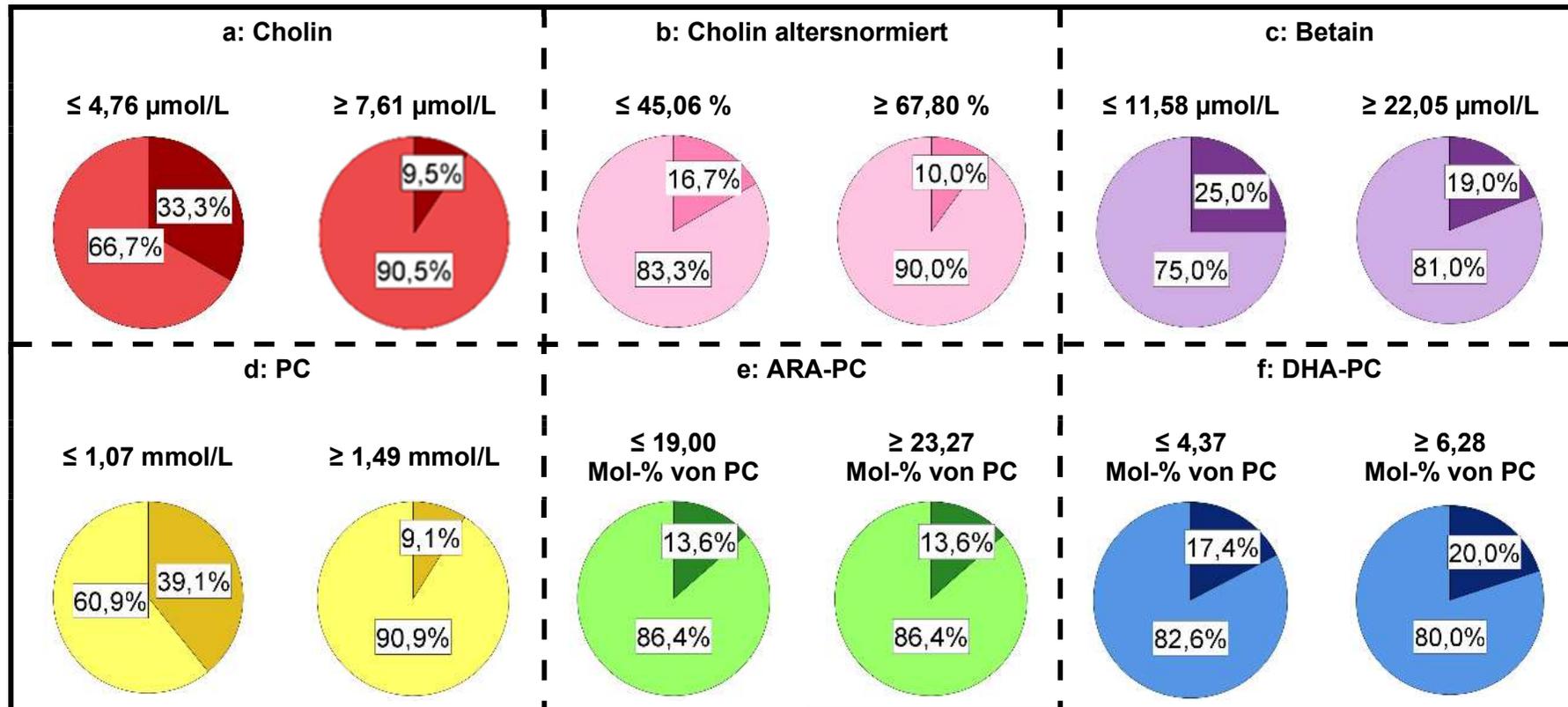


Abbildung 19: Häufigkeitsverteilung zwischen Laborparametern des Cholinstoffwechsels und Leberechogenität

Darstellung der 2x2-Kreuztabellen in Form von Kreisdiagrammen; die relativen Häufigkeiten sind in der Grafik angegeben. Dunkle Farbe (rechts) = Leberechogenität sonografisch auffällig; helle Farbe (links) = Leberechogenität sonografisch unauffällig bei alleiniger Betrachtung der pankreasinsuffizienten Patienten (n = 119); Metabolite des Cholinstoffwechsels wurden in 1. und 4. Quartil unterteilt; Werte der Interquartilgrenzen sind in der Grafik angegeben; Dichotomisierungen der Leberechogenität erfolgte entsprechend Tabelle 15; Abkürzungen: siehe Legende zu Abbildung 18

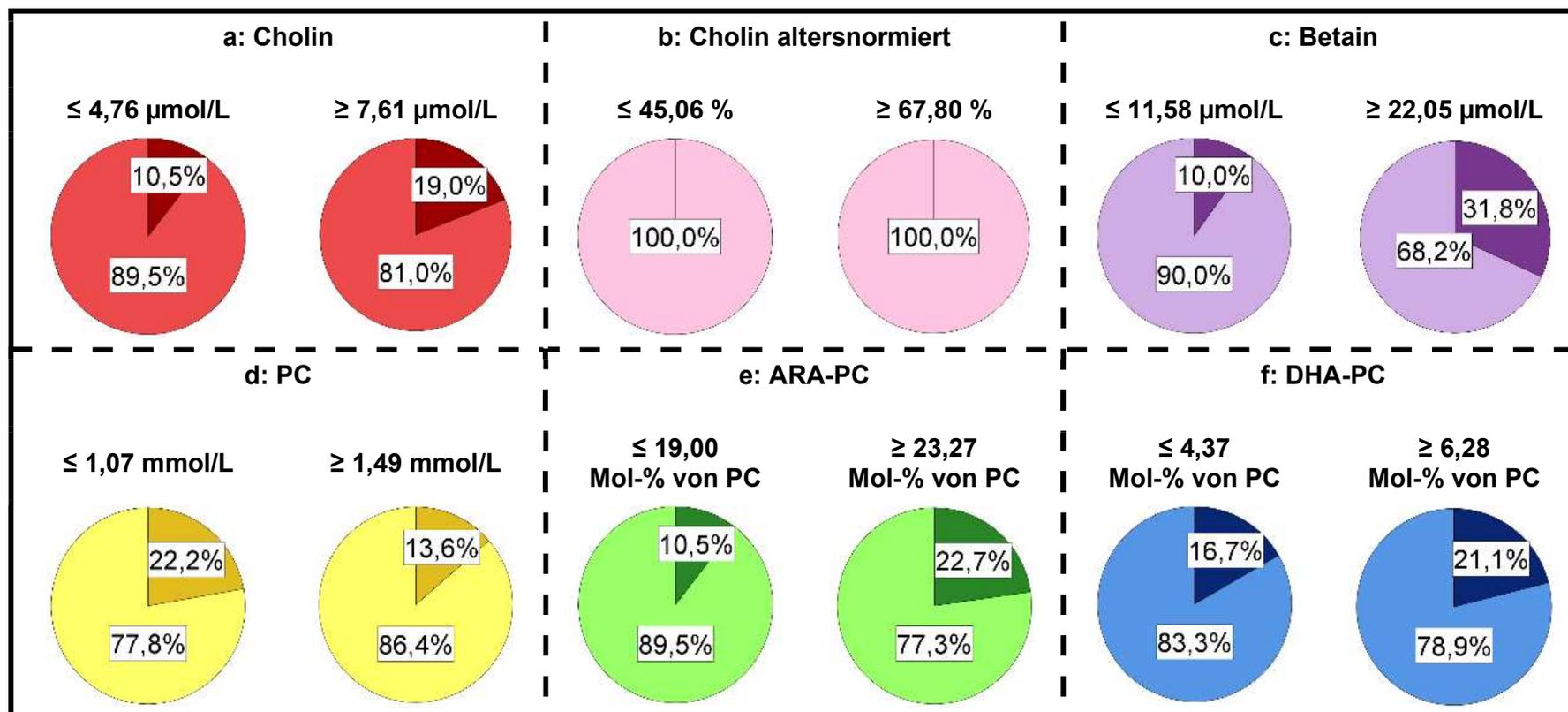


Abbildung 20: Häufigkeitsverteilung zwischen Laborparametern des Cholinstoffwechsels und Lebernodularität

Darstellung der 2x2-Kreuztabellen in Form von Kreisdiagrammen; die relativen Häufigkeiten sind in der Grafik angegeben. Dunkle Farbe (rechts) = Lebernodularität sonografisch auffällig; helle Farbe (links) = Lebernodularität sonografisch unauffällig bei alleiniger Betrachtung der pankreasinsuffizienten Patienten (n = 119); Metabolite des Cholinstoffwechsels wurden in 1. und 4. Quartil unterteilt; Werte der Interquartilgrenzen sind in der Grafik angegeben; Dichotomisierungen der Lebernodularität erfolgte entsprechend Tabelle 15; Abkürzungen: siehe Legende zu Abbildung 18

3.9. Laborparameter des Cholinstoffwechsels und anthropometrische Parameter

Abbildung 21 bis Abbildung 23 zeigen den Vergleich zwischen unterem und oberem Quartil der Laborparameter des Cholinstoffwechsels hinsichtlich Größen-Perzentil, Gewichts-Perzentil und BMI-Perzentil. In keiner der 18 durchgeführten Analysen wurde mittels Mann-Whitney-U-Test ein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen festgestellt ($p > 0,05$).

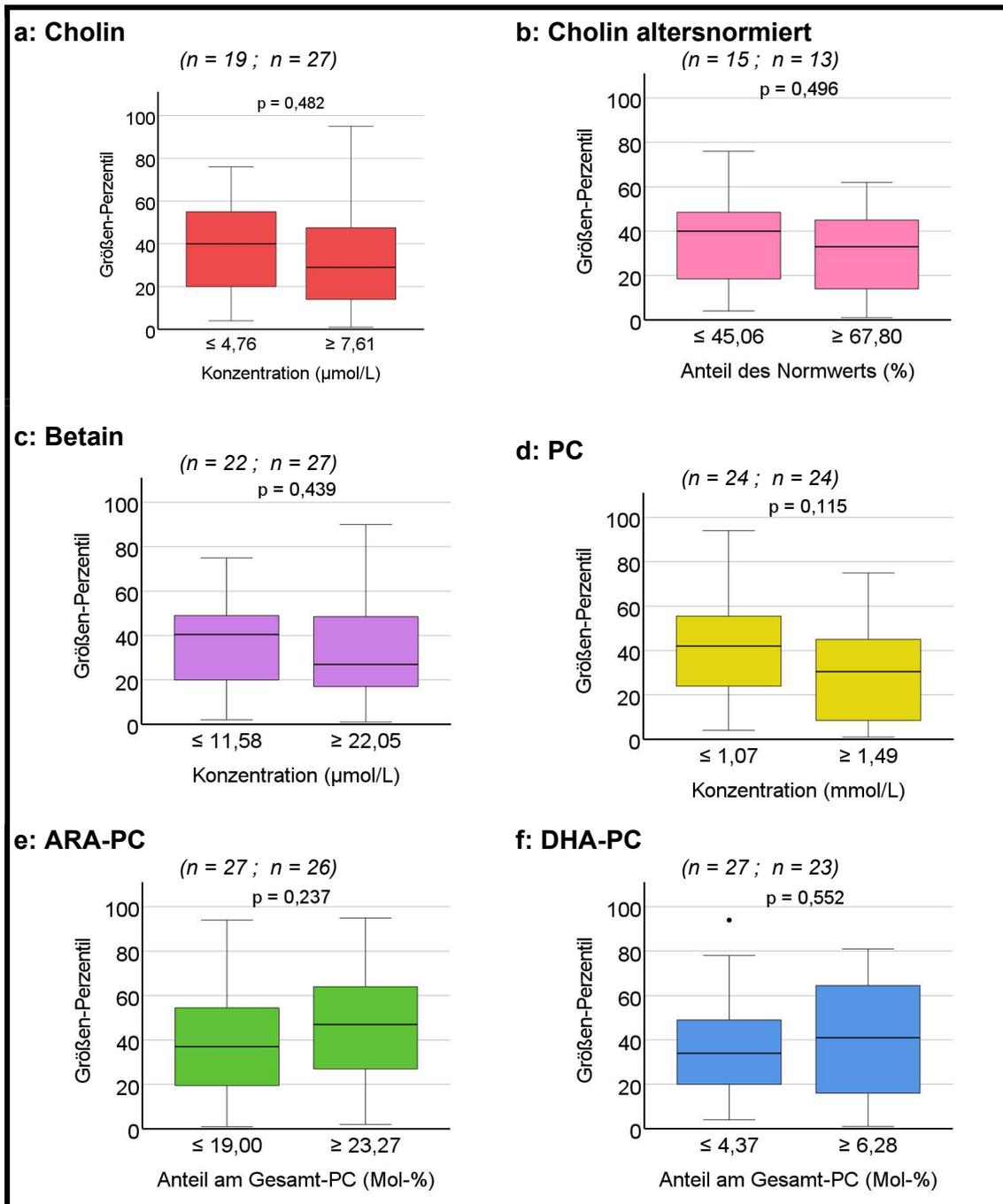


Abbildung 21: Beziehung zwischen Größe und Laborparametern des Cholinstoffwechsels

Darstellung der Ergebnisse des Mann-Whitney-U-Tests; Betrachtung pankreasinsuffizienter Patienten (n = 119); Gegenüberstellung des unteren und oberen Quartils der Laborparameter des Cholinstoffwechsels; Interquartilgrenzwerte sind in der Grafik angegeben; Anzahl der Fälle sind in der Grafik angegeben; Ausreißer (mehr als das 1,5-Fache des Interquartilsabstands) sind durch schwarze Punkte gekennzeichnet; p-Wert = Signifikanz gemäß Mann-Whitney-U-Test; ein Perzentil gibt definitionsgemäß an, welcher Anteil der Werteverteilung unter diesem Wert liegt; Abkürzungen: ARA-PC = arachidonsäurehaltiges Phosphatidylcholin; DHA-PC = docosahexaensäurehaltiges Phosphatidylcholin; n = Anzahl der Fälle; PC = Phosphatidylcholin

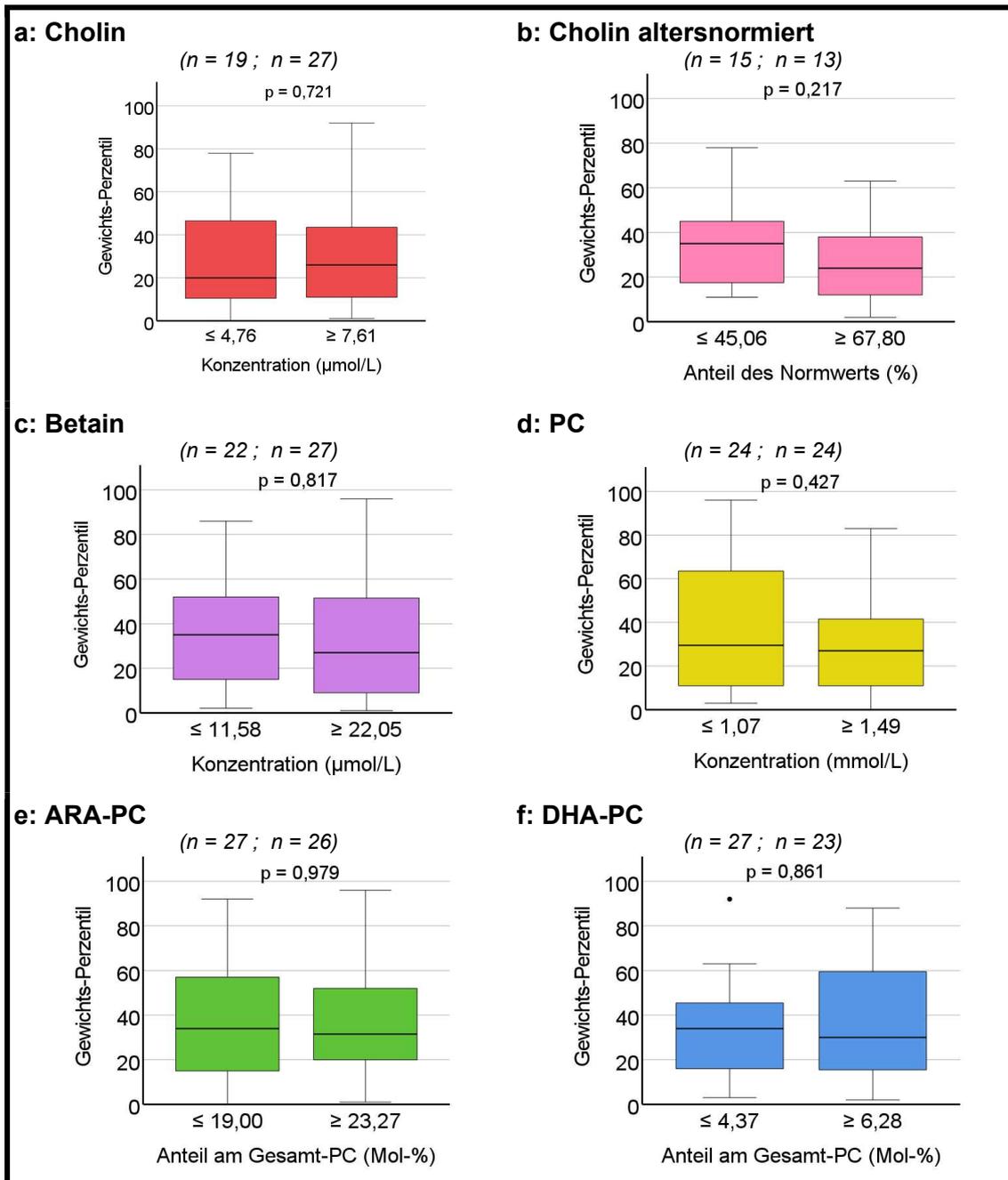


Abbildung 22: Beziehung zwischen Gewicht und Laborparametern des Cholinstoffwechsels

Darstellung der Ergebnisse des Mann-Whitney-U-Tests; Betrachtung pankreasinsuffizienter Patienten (n = 119); Gegenüberstellung des unteren und oberen Quartils der Laborparameter des Cholinstoffwechsels; Interquartilgrenzwerte sind in der Grafik angegeben; Anzahl der Fälle sind in der Grafik angegeben; Ausreißer (mehr als das 1,5-Fache des Interquartilsabstands) sind durch schwarze Punkte gekennzeichnet; p-Wert = Signifikanz gemäß Mann-Whitney-U-Test; ein Perzentil gibt definitionsgemäß an, welcher Anteil der Werteverteilung unter diesem Wert liegt; Abkürzungen: ARA-PC = arachidonsäurehaltiges Phosphatidylcholin; DHA-PC = docosahexaensäurehaltiges Phosphatidylcholin; n = Anzahl der Fälle; PC = Phosphatidylcholin

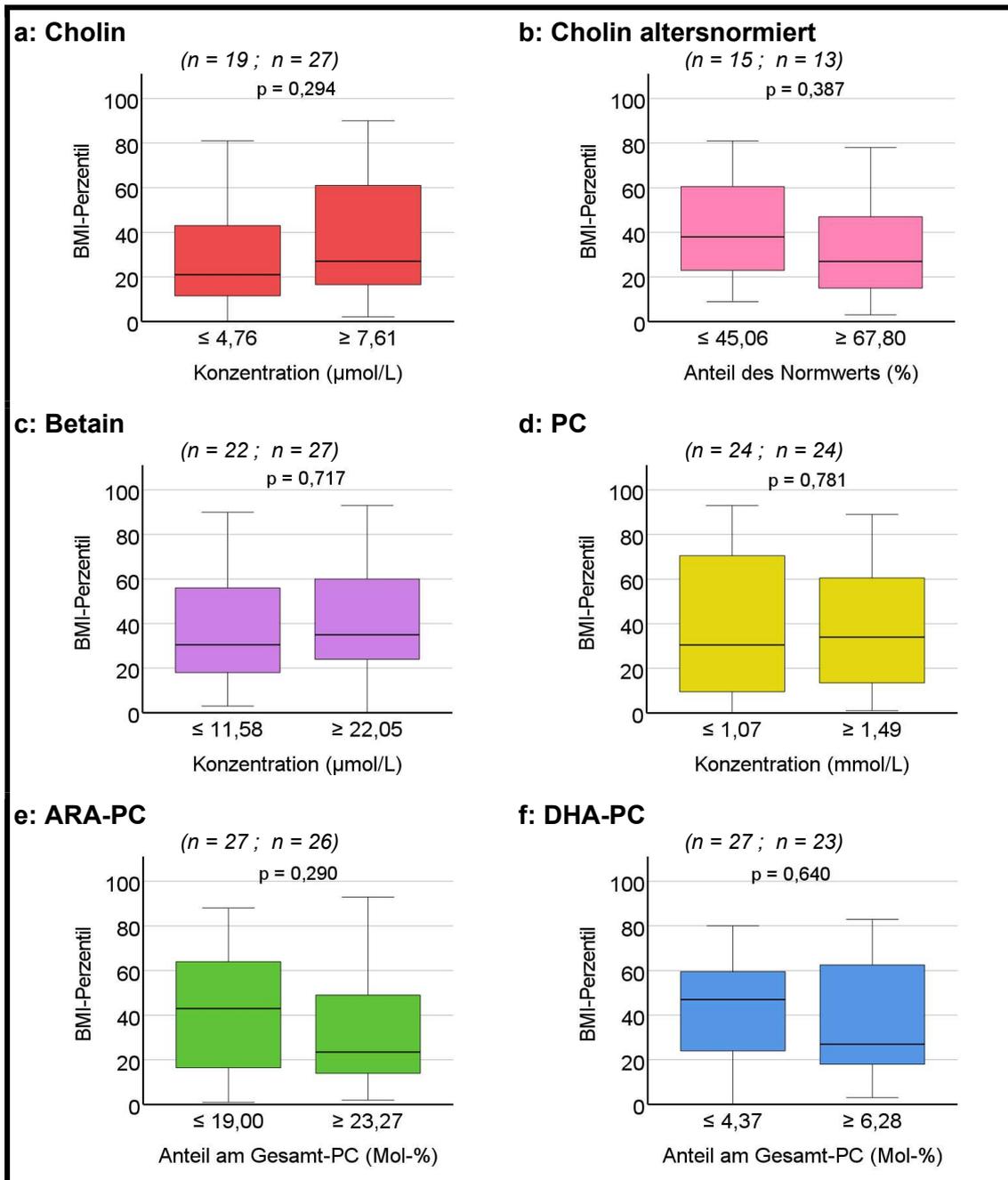


Abbildung 23: Beziehung zwischen BMI und Laborparametern des Cholinstoffwechsels

Darstellung der Ergebnisse des Mann-Whitney-U-Tests; Betrachtung pankreasinsuffizienter Patienten (n = 119); Gegenüberstellung des unteren und oberen Quartils der Laborparameter des Cholinstoffwechsels; Interquartilgrenzwerte sind in der Grafik angegeben; Anzahl der Fälle sind in der Grafik angegeben; Ausreißer (mehr als das 1,5-Fache des Interquartilsabstands) sind durch schwarze Punkte gekennzeichnet; p-Wert = Signifikanz gemäß Mann-Whitney-U-Test; ein Perzentil gibt definitionsgemäß an, welcher Anteil der Werteverteilung unter diesem Wert liegt; Abkürzungen: ARA-PC = arachidonsäurehaltiges Phosphatidylcholin; DHA-PC = docosahexaensäurehaltiges Phosphatidylcholin; n = Anzahl der Fälle; PC = Phosphatidylcholin

4. Diskussion

Die folgende Diskussion lässt sich in zwei Abschnitte gliedern. Im ersten Teil werden mögliche Einschränkungen und Limitationen der Methodik diskutiert, während im zweiten Teil die Ergebnisse dieser Arbeit interpretiert und in den aktuellen Forschungsstand eingeordnet werden.

4.1. Diskussion der Methoden

4.1.1. Lückenhafte Datenlage aufgrund des retrospektiven Ansatzes

Da es sich in dieser explorativen Studie um eine Auswertung retrospektiver Daten handelt, weist der Datensatz Lücken auf. Das hat formale und strukturelle Gründe. So gibt es für Patienten ab 18 Jahren generell keine Perzentilen anthropometrischer Daten [132]. Aber auch die Bestimmung der spirometrischen Lungenfunktionsparameter sowie des pulmonalen MRT-Scores und LCI-Werts sind aufgrund der fehlenden Patientencompliance nicht vollständig. Außerdem wurden die HDL-Cholesterin- und Triglycerid-Bestimmung erst zum Ende des Untersuchungszeitraums in die Routineuntersuchungen der Mukoviszidoseambulanz implementiert. Diese Parameter konnten deswegen nicht in die Auswertung einbezogen werden. Diese Limitationen beeinträchtigen eine umfassende Aussagekraft dieser Studie.

4.1.2. Definition von Beobachtungszeiträumen

Da aufgrund der Klinikroutine nicht alle Untersuchungen an dem Tag stattfanden, an denen die Blutprobe zur Bestimmung der Cholinparameter gewonnen wurde, wurden zur Datenerfassung Beobachtungszeiträume entsprechend der Häufigkeit der Untersuchungen definiert. Der maximale Abstand zum Zeitpunkt der Blutentnahme wurde dabei auf +/- 6 Monate festgelegt, da Untersuchungen wie beispielsweise die Abdomensonografie routinemäßig nur einmal jährlich durchgeführt werden. Es muss jedoch hinterfragt werden, ob Daten mit einem solchen Zeitabstand repräsentativ sind, da viele Parameter im zeitlichen Verlauf Veränderungen unterliegen. So zeigt der MRT-Score eine Anfälligkeit gegenüber

Infektionen, während sonografische Veränderungen der Leber einem eher langfristigen Prozess unterliegen.

4.1.3. Fehlende Objektivität sonografischer Befunde

Die sonografischen Textbefunde der Leber waren sehr subjektiv und uneinheitlich verfasst, sodass eine eigene Systematik zur Kodierung entwickelt werden musste, um eine Vergleichbarkeit der Befunde zu ermöglichen. Wie gut diese Einteilung den tatsächlichen Zustand widerspiegelt, ist aufgrund der unterschiedlichen Formulierungen und der Vielzahl an Untersuchern unsicher. Es wurde davon ausgegangen, dass alle Auffälligkeiten dokumentiert wurden und daraus geschlossen, dass die Leber bei einer Nichterwähnung unauffällig ist. Die fehlende Quantifizierbarkeit der Befunde, ist jedoch eine mögliche Fehlerquelle.

4.1.4. Informationsverlust aufgrund Voraussetzungen statistischer Tests

Um die Anforderungen bestimmter statistischer Tests (Mann-Whitney-U-Test und Cochran-Mantel-Haenszel-Test) zu erfüllen, mussten Veränderungen der Originaldaten vorgenommen werden. Die Dichotomisierung numerischer Variablen, die Reduzierung auf einen Datensatz je Patient, um eine Unabhängigkeit der Daten zu gewährleisten, sowie der Vergleich lediglich zwischen der ersten und vierten Quartile gingen mit zusätzlichen Informationsverlusten einher. Ein Großteil der erfassten Originaldaten, insbesondere individuelle Verläufe, wurde somit in der statistischen Auswertung nicht berücksichtigt.

4.1.5. Fraglicher Nüchternheitszustand

Einen weiteren potenziell negativen Einfluss auf die Aussagekraft dieser Studie hat die Qualität der Datenerhebung hinsichtlich des Nüchternheitszustands der Patienten. In der Praxis wurde anfänglich nicht konsequent auf die Einhaltung der Nüchternblutabnahme geachtet, was sich insbesondere für Säuglinge und Kleinkinder bei ambulanten Terminen zur Mittagszeit schwierig gestaltet, und dies anfänglich nicht dokumentiert. Dies ist dem innovativen Charakter der Cholinbestimmung in der klinischen Routine geschuldet. Dies ist jedoch wichtig,

weil die CholinKonzentration im Plasma postprandial in Abhängigkeit der aufgenommenen Nahrung ansteigt [55]. Je nach Cholingehalt einer Mahlzeit kann es vorübergehend zu einer Verdopplung der Plasmakonzentration kommen [61]. Vor diesem Hintergrund sind insbesondere hohe Werte unter Umständen einer vorhergehenden Nahrungsaufnahme zuzuordnen, während gegenüber Gesunden und pankreassuffizienten Patienten erniedrigte Werte dennoch einen Cholinmangel repräsentieren. Durch verschiedene klinische Studien wurde gezeigt, dass die Plasmakonzentration von Cholin generell ein stark schwankender Parameter ist und im Gegensatz zu PC, ARA-PC und DHA-PC leichter fluktuiert [60, 71].

4.1.6. Aussagekraft der Ergebnisse

Aufgrund dieser Einschränkungen der Datenqualität, ist die Arbeit als explorative Studie mit vorwiegend deskriptivem Charakter zu werten. Da es sich um eine hypothesengenerierende Arbeit handelt, ist der Verlust an Power durch die ausschließliche Verwendung des Mann-Whitney-U-Tests gegenüber dem t-Test hinnehmbar. Entsprechend des festgelegten Signifikanzniveaus prospektiver Studien sind p-Werte $< 0,05$ als statistisch auffällig zu werten. Jedoch ist es sinnvoll aufgrund des retrospektiven Studiendesigns p-Werte $< 0,05$ nur als Hinweise zu deuten, sodass es lohnenswert ist diesen Aspekt bei vorhandener klinischen Relevanz in einer prospektiven Studie zu überprüfen.

4.2. Diskussion der Ergebnisse

4.2.1. Häufigkeitsverteilung der exokrinen Pankreasfunktion

Das Verhältnis zwischen der Häufigkeit pankreassuffizienter und pankreasinsuffizienter Patienten in der Mukoviszidoseambulanz der Universitätskinderklinik Tübingen weicht nur minimal von den Literaturangaben der Grundgesamtheit ab. Laut Literatur sind zwischen 85 und 90% der CF-Patienten von einer exokrinen Pankreasinsuffizienz betroffen [24]. Im Gesamtkollektiv dieser Arbeit ($n = 130$) liegt bei 91,5% der CF-Patienten eine diagnostizierte Pankreasinsuffizienz vor (siehe Kapitel 7.2., Abbildung 11,

Tabelle 17). Demnach repräsentiert das untersuchte Patientenkollektiv die CF-Grundgesamtheit hinsichtlich der exokrinen Pankreasfunktion.

4.2.2. Altersabhängigkeit der Cholin-Plasmakonzentration

Unsere Ergebnisse zeigen, dass die Cholinkonzentration im Plasma mit zunehmendem Alter bei pankreassuffizienten Patienten ansteigt, während sie bei pankreasinsuffizienten Patienten sinkt (siehe Kapitel 7.3., Abbildung 13). Dies kann als Hinweis darauf gedeutet werden, dass eine Altersabhängigkeit hinsichtlich des Cholinmangels vorliegt. Die sehr geringe Anzahl an Fällen in der Gruppe der Pankreasinsuffizienten ($n = 11$) könnte jedoch der Grund für ein verzerrtes Ergebnis sein. Interessant wäre es im nächsten Schritt diese Altersabhängigkeit in einem größeren Patientenkollektiv zu untersuchen.

4.2.3. Beziehung zwischen Pankreasfunktion und Laborparametern des Cholinstoffwechsels

Die Auswertung der Daten bestätigt jedoch, dass eine erniedrigte Cholin-Plasmakonzentration pathognomonisch für eine Pankreasinsuffizienz bei CF-Patienten ist. Die Ergebnisse zeigen, dass die Cholinkonzentration bei exokriner Pankreasinsuffizienz im Unterschied zu pankreassuffizienten Patienten um 31 [13-46] % erniedrigt ist ($p = 0,002$) (siehe Kapitel 7.4.). Die Ergebnisse untermauern die bereits 2006 von Innis und Hasman veröffentlichten Daten über die Erniedrigung des Cholinpiegels bei Kindern mit CF [79]. Dabei zeigte sich, dass der Cholin-Spiegel im Plasma von CF-Patienten ($n = 34$) mit $6,48 \pm 0,35$ $\mu\text{mol/L}$ verglichen zu dem gesunder Kontrollen ($n = 15$) mit $8,98 \pm 0,46$ $\mu\text{mol/L}$ erniedrigt war ($p < 0,01$) [79]. Hier wurden zusätzlich die Plasmakonzentrationen von Cholin und Betain sowie PC in Beziehung zur exokrinen Pankreasfunktion untersucht. Die Ergebnisse von Innis und Hasman werden durch die vorliegende Studie somit nicht nur im Rahmen eines größeren Patientenkollektivs bestätigt, sondern dahingehend erweitert, dass die exokrine Pankreasfunktion der Patienten entscheidender Faktor ist. Zudem wird die hohe Spanne der Cholinkonzentrationen aufgezeigt und lässt erkennen, dass der Cholinmangel bei pankreasinsuffizienten Patienten mit Plasmakonzentrationen von $2,22$ $\mu\text{mol/L}$ bis zu $13,77$ $\mu\text{mol/L}$ (siehe Kapitel 7.4., Abbildung 14, Tabelle 18) zum Teil extrem

ist, teilweise jedoch vernachlässigbar sein könnte. Die hohen Werte können letztlich durch mangelnden Nüchternheitszustands hervorgerufen sein, während dies bei niedrigen Werten nicht möglich ist. Grothe et al. zeigten ebenfalls einen statistisch signifikanten Unterschied ($p < 0,05$) hinsichtlich der CholinKonzentrationen im Plasma, mit $8,51 \pm 0,61 \mu\text{mol/L}$ bei CF-Patienten ($n = 11$) und $10,85 \pm 0,96 \mu\text{mol/L}$ bei den Kontrollen ($n = 10$), jedoch wurden diese Untersuchungen an einem kleinen Kollektiv ($n = 11$) erwachsener Patienten gegenüber 10 Kontrollpersonen durchgeführt, was die Erklärung dafür sein könnte warum die Absolutwerte der CholinKonzentration von den hier vorliegenden Ergebnissen um ca. $2 \mu\text{mol/L}$ abweichen [71].

Auch ist unklar, warum für altersgewichtete CholinKonzentrationen kein Unterscheid zwischen beiden Gruppen gezeigt werden konnte (siehe Kapitel 7.4., Abbildung 14). Die geringe Anzahl an Patienten (6 pankreassuffiziente vs. 55 pankreasinsuffiziente Patienten), die daraus resultiert, dass altersgewichtete Referenzwerte nur für Patienten unter 12 Jahren existieren [134], könnten der Grund dafür sein.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen im Hinblick auf die Plasmakonzentrationen von Betain ebenfalls einen auffälligen Unterschied zwischen beiden Gruppen, was die vorhandenen Literaturdaten stützt. Die Betain-Konzentration ist bei Patienten mit einer Pankreasinsuffizienz niedriger als bei pankreassuffiziente Patienten ($p = 0,018$) (siehe Kapitel 7.4.). Sowohl Innis und Hasman als auch Grothe et al. stellten hinsichtlich des Downstream-Metaboliten Betain ebenfalls eine signifikante Erniedrigung der Plasmakonzentrationen bei CF-Patienten fest, jedoch lagen die absoluten Konzentrationen vergleichsweise höher [71, 79]. Bei Innis und Hasman betrug die Betain-Konzentration im Plasma der Kontrollen ($n = 15$) $37,3 \pm 1,84 \mu\text{mol/L}$, während die Betain-Konzentration bei pankreasinsuffizienten CF-Patienten ($n = 34$) mit $24,24 \pm 1,53 \mu\text{mol/L}$ um 35% erniedrigt war ($p < 0,01$) [79]. Die Daten der vorliegenden Studie zeigen mit 22% eine Erniedrigung von vergleichsweise geringerem Ausmaß an (siehe Kapitel 7.4.). Die Betain-Konzentrationen in der Arbeit von Grothe et al. unterschieden sich mit $20,88 \pm 2,09 \mu\text{mol/L}$ bei CF-

Patienten ($n = 11$) und $30,28 \pm 4,15 \mu\text{mol/L}$ bei den Kontrollen ($n = 10$) ebenfalls signifikant voneinander ($p < 0,05$) [71].

Die Daten der vorliegenden Studie weisen keinen ausreichend großen Unterschied hinsichtlich der Plasmakonzentration von PC in beiden Gruppen von CF-Patienten auf ($p > 0,05$) (siehe Kapitel 7.4., Abbildung 14). Sie bestätigen damit die Hypothese, dass die Gesamtkonzentration an PC im Plasma von der generell beeinträchtigten Leberfunktion bei CF-Patienten abhängt. Dies lässt sich aus den Ergebnissen von Grothe et al. schließen, welche zeigen, dass nicht nur die PC-Konzentration, sondern auch die PC-Sekretion bei CF-Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollen signifikant erniedrigt ist [71]. Die Ergebnisse der vorliegenden Studie bestätigen dies, indem sie zeigen, dass die PC-Konzentration, entgegen der von Cholin und Betain unabhängig von der Pankreasfunktion ist.

Auffällig bei pankreasinsuffizienten Patienten sind jedoch, wie auch bei Cholin, die große Spannbreiten der PC-Konzentrationen und der Anteile von ARA-PC und DHA-PC (Kapitel 7.4., Abbildung 14), welche die pankreassuffizienter CF-Patienten weit übersteigen. Es ist unklar, ob die Ursache dafür in der stark heterogenen Leberfunktion oder primär in der gestörten Pankreasfunktion und dem dadurch beeinträchtigten enterohepatischen Kreislauf des biliären PC liegt.

4.2.4. Beziehung zwischen F508del-Mutation und exokriner Pankreasfunktion

Die Häufigkeitsverteilung der F508-Deletion bei CF-Patienten mit und ohne Pankreasinsuffizienz wurde bereits im Jahr 1990 publiziert. Im Gegensatz zu unseren Ergebnissen wurde in der Studie von Borgo et al. differenziert, ob eine bestehende 508del-Mutation heterozygot oder homozygot vorliegt [135]. Fasst man diese beiden Gruppen zusammen, wie zuvor bei Cholinsupplementation mit identischer Wirksamkeit geschehen [118], lassen sich die Ergebnisse, mit denen der vorliegenden Studie vergleichen. Borgo et al. zeigten, dass von 72 Patienten, die mindestens ein F508del-Allel aufwiesen, 65% pankreasinsuffizient waren, während ohne F508del-Mutation ($n = 46$) der Anteil pankreasinsuffizienter Patienten 50% betrug [135]. Unsere Daten zeigen 96% Pankreasinsuffizienz bei

508del-Mutationsträgern, bei Patienten ohne F508del-Mutation hingegen 63% (siehe Kapitel 7.5., Abbildung 15). Trotz der Werteunterschiede zeigen beide Studien, dass die F508del-Mutation und das Vorliegen einer Pankreasinsuffizienz eng miteinander zusammenhängen. Dementsprechend ist das RR eine exokrine Pankreasinsuffizienz und damit einen Cholinmangel zu haben bei homozygoten und compound-heterozygoten F508del-Patienten um das Anderthalbfache höher als bei anderen CFTR-Defekten ($p < 0,001$) (siehe Kapitel 7.5.).

In einer durch Ooi und Durie durchgeführten Studie wurde ebenfalls der Anteil an Patienten mit mindestens einer F508del-Mutation bestimmt, die gleichzeitig von einer Pankreasinsuffizienz betroffen waren [136]. Von 1324 Patienten mit einer F508del-Mutation, wiesen 1276 eine Pankreasinsuffizienz auf, was einem Anteil von 96,4% entspricht [136]. Die vorliegende Arbeit zeigt ein komplett übereinstimmendes Ergebnis (siehe Kapitel 7.5., Abbildung 15).

4.2.5. Beziehung zwischen F508del-Mutation und Laborparametern des Cholinstoffwechsels

Die vorliegende Studie zeigt, dass bei Patienten mit mindestens einer F508del-Mutation sowohl die Cholinkonzentration als auch der altersgewichtete Normwert von Cholin deutlich erniedrigt sind ($p < 0,05$) (siehe Kapitel 7.6., Abbildung 16). Daraus ergibt sich, dass eine F508del-Mutation bei CF-Patienten die Wahrscheinlichkeit einen Cholinmangel zu entwickeln erhöht. In der Literatur gibt es keine vergleichbaren Angaben dazu, jedoch ist dieses Ergebnis als logische Schlussfolgerung aus den vorausgegangenen Ergebnissen (siehe Kapitel 7.4. und 7.5.) erklärbar: Wenn eine F508del-Mutation das Risiko, eine Pankreasinsuffizienz zu entwickeln erhöht und eine Pankreasinsuffizienz wiederum ursächlich für die bei CF-Patienten zu beobachtende erniedrigte Cholin-Plasmakonzentration ist, so ist zu erwarten, dass das Vorhandensein mindestens einer F508del-Mutation mit einer erniedrigten Cholinkonzentration im assoziiert ist.

4.2.6. Laborparameter des Cholinstoffwechsels und Parameter der Lungenfunktion

In der vorliegenden Studie wurde untersucht, ob die Schwere des Cholinmangels mit dem klinischen Verlauf der Lungenfunktion assoziiert ist. Im Gegensatz zu der vorhandenen Literatur, zeigen die Ergebnisse jedoch keine Beziehung zwischen den Plasmakonzentrationen von Cholin, Betain sowie PC und routinemäßig zeitnah erhobenen Lungenfunktionsparametern (siehe Kapitel 7.7., Tabelle 21 und Tabelle 22). Die vorliegenden Daten liefern somit keinen Hinweis dafür, dass Cholin und PC im Plasma nützliche Screening-Parameter für den klinischen Verlauf der Lungenfunktion sein könnten. Dies steht vorherigen Daten entgegen, die an erwachsenen CF-Patienten zeigten, dass sowohl die Konzentrationen von Cholin und PC, als auch die Anteile von ARA-PC und DHA-PC positiv mit dem ppFEV1-Wert korrelieren [71]. Ebenso zeigte Cholinsupplementierung eine Verbesserung der Lungenfunktion [118]. Bernhard et al. wiesen im Rahmen einer Hochdosis-Cholin-Supplementierungs-Studie anhand eines ausgewählten Patientenkollektivs (männlich, erwachsen, ppFEV1 35-95%) nach, dass eine Steigerung der Cholin-Plasmakonzentration von 4,8 [4,1–6,2] $\mu\text{mol/L}$ auf 10,5 [8,5–15,5] $\mu\text{mol/L}$ in 9 von 10 Patientenfällen gleichzeitig zur Erhöhung der ppFEV1 von 70,0 [50,9–74,8] % auf 78,3 [60,1–83,9] % führte [118]. Die vorliegende Studie steht im Widerspruch dazu, da die Ergebnisse keine Assoziation zwischen Lungenfunktionsparametern und Cholin sowie seinen Metaboliten aufzeigen. Ob das an der Heterogenität der CF-Gesamtpopulation dieser Studie entgegen den selektierten erwachsenen Patienten der Vorstudien liegt, ist unklar. Die Mediane des ppFEV1 in der vorliegenden Studie sind mit 92,5% wesentlich höher (siehe Tabelle 19) im Vergleich zu 70,0% bei der Supplementierungsstudie [118].

In der vorliegenden Studie zeigte sich jedoch eine auffällige Beziehung zwischen Patienten mit niedrigem und hohem DHA-PC-Anteil hinsichtlich ihrer altersgewichteten FVC-Prozentwerte ($p = 0,026$) (siehe Kapitel 7.7., Tabelle 22). Patienten mit einem geringen Anteil an DHA-PC am Gesamt-PC wiesen höhere FCV-Werte und damit eine bessere Lungenfunktion auf. Interessant ist das Ergebnis insofern, als dass es der gängigen Theorie, hohe DHA-Werte wären für

den klinischen Zustand der CF-Patienten förderlich, widerspricht. In der Literatur finden sich unstimmgige Daten hinsichtlich klinischer Verbesserungen der Lungenfunktion durch DHA. Grothe et al zeigten an einem ausgesuchten Kollektiv erwachsener Patienten, dass sowohl ARA-PC als auch DHA-PC bei Patienten mit einer gute Lungenfunktion erhöht sind [71]. Die Ergebnisse der vorliegenden Studie, die Kinder und Säuglinge mit einbezieht stehen im Widerspruch dazu. Ob dies an Altersunterschieden und weiterer Heterogenität beider Studienkollektive liegt, ist unklar. Auch an CF-Patienten durchgeführte DHA-Supplementierungsstudien kamen zu unterschiedlichen Ergebnissen. Eine Studie zeigte eine Verbesserung der Entzündungsparameter [137], während eine andere keine Verbesserung der Lungenfunktion nachweisen konnte [138]. Zu Beginn der durch Alicandro et al. durchgeführten Interventionsstudie wiesen die Patienten einen medianen FVC-Wert von 87 % auf [138]. Nach einem Jahr konnte kein statistisch signifikanter Unterschied hinsichtlich einer FCV-Veränderung zwischen Interventions- und Kontrollgruppe nachgewiesen werden ($p= 0,32$) [138]. Das Ergebnis der vorliegenden Studie bestätigt nicht nur die Tatsache, dass ein erhöhter Anteil an DHA-PC nicht mit einem hohen FVC, als Parameter der Lungenfunktion assoziiert ist, sondern zeigt eine Tendenz in die entgegengesetzte Richtung.

4.2.7. Laborparameter des Cholinstoffwechsels und Parameter der Leber

Die Ergebnisse dieser Arbeit weisen auf Zusammenhänge zwischen den Plasmakonzentrationen von Cholin, Betain, PC, TMAO und klinischen Indikatoren einer Leberpathologie hin.

Die Daten zeigen, dass bei CF-Patienten eine niedrige PC-Konzentration im Plasma mit einem mehrfach höheres Risiko einer sonografisch auffälligen Leberechogenität assoziiert ist ($p = 0,019$) (siehe Kapitel 7.8., Tabelle 23, Abbildung 19). Daraus lässt sich ableiten, dass eine niedrige Gesamt-PC-Konzentration im Plasma Indikator für eine erhöhte Leberechogenität und damit für eine gestörte Leberfunktion ist. Vor diesem Hintergrund könnte es im klinischen Setting sinnvoll sein, bei Patienten mit niedrigen PC-Plasmakonzentrationen die klinischen Leberparameter konsequent zu

untersuchen. Das Ergebnis zur Abhängigkeit zwischen PC-Plasmakonzentration und Leberfunktion steht damit im Einklang zu den von Grothe et al publizierten Daten, die zeigen, dass die PC-Sekretion bei CF-Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollen trotz Cholin-Chlorid-Gabe erniedrigt ist [71].

Im Gegensatz zum Gesamt-PC zeigen die einzelnen Komponenten ARA-PC und DHA-PC jedoch keine Beziehung zur Leberechogenität ($p > 0,05$) (siehe Kapitel 7.8., Tabelle 23, Abbildung 19). Die Daten liefern keinen Hinweis dafür, dass die Parameter ARA-PC und DHA-PC, als Indikatoren des Arachidonsäure- und Docosahexaensäure-Status, hinsichtlich der Leberpathologie relevant sind und in die klinische Routine implementiert werden sollten. Vor dem Hintergrund, publizierter Ergebnisse war jedoch zu erwarten, dass keine Beziehung zur Leberfunktion nachzuweisen ist. Die durch Watkins et al. formulierte Hypothese, die Synthese von ARA-PC und DHA-PC würde von der Funktion des PEMT abhängen [139], wurde durch die vorliegende Studie indirekt untermauert.

Die Daten zeigen darüber hinaus, dass Patienten mit einer niedrigen Cholin-Konzentration die Tendenz zeigen, ebenfalls eine sonografisch auffällige Leberechogenität aufzuweisen ($p = 0,055$) (siehe Kapitel 7.8., Tabelle 23, Abbildung 19). Die häufigste Ursache einer erhöhten Leberechogenität, auch bei CF-Patienten, ist eine Steatosis hepatis [140]. Vor diesem Hintergrund steht das Ergebnis im Einklang mit bereits publizierten Daten, die einen Zusammenhang zwischen der Cholinkonzentration und dem Fettgehalt der Leber aufzeigen. Bernhard et al. zeigten in einer Cholin-Supplementierung-Studie mit 10 erwachsenen, pankreasinsuffizienten CF-Patienten, dass ein Anstieg der Cholin-Plasma-Konzentration von 4,8 [4,1–6,2] $\mu\text{mol/L}$ auf 10,5 [8,5–15,5] $\mu\text{mol/L}$, mit einer Abnahme des Leberfettgehalts von 1,58 [0,37–8,82] % auf 0,84 [0,56–1,17] % einherging [118]. Bei einer 22-jährigen CF-Patientin mit schwerer Steatose konnte durch Behandlung mit Cholinchlorid eine schnelle Reduzierung des Leberfettgehalts von 27% auf 8,2% und eine Normalisierung der Leberenzyme erzielt werden [131]. Der Auslassversuch war beweisend für die Kausalität zwischen Cholinmangel und Steatose [131]. Im Gegensatz zu diesem Fallbericht zeigt die vorliegende Studie keine Assoziation zwischen Cholin und Leberenzymen ($p > 0,05$) (siehe Kapitel 7.8., Tabelle 23, Abbildung 18), wobei

die Patienten dieser Studie nicht an einer symptomatischen Steatose mit schwerer Erhöhung der Leberenzyme litten.

Die Daten zeigen außerdem die Tendenz, dass Patienten mit einer erhöhten Betain-Konzentration gehäuft eine auffällige Lebernodularität aufweisen ($p = 0,085$) (siehe Kapitel 7.8., Tabelle 23, Abbildung 20). Eine niedrige Betain-Konzentration lässt nicht unbedingt auf einen Betain-Mangel schließen. Es kann auch dadurch erklärt werden, dass die Leber der Patienten vermehrt in der Lage ist Betain zu metabolisieren. Insgesamt weisen die Ergebnisse der vorliegenden Studie darauf hin, dass Cholin und seine wasserlöslichen Metabolite allein nicht gut geeignet sind, um eine auffällige Lebernodularität vorherzusagen.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen außerdem, dass bei Patienten mit einer TMAO-Konzentration von $\geq 10 \mu\text{mol/L}$ das Risiko einer sonografisch auffälligen Leber mehr als verdoppelt ist ($p = 0,034$) (siehe Kapitel 7.8., Tabelle 23, Abbildung 17). TMAO wird in der Leber produziert, setzt jedoch die bakterielle TMA-Synthese im Dünndarm voraus [29]. Bei erhöhten TMAO-Konzentrationen bedeutet dies, dass eine mögliche Ursache in der mikrobiellen Besiedlung des Dünndarms liegt. Daraus geht hervor, dass erhöhte TMAO-Konzentrationen im Plasma als prädiktiver Parameter für eine gestörte Darmfunktion und eine langfristige Gefährdung der Leber betrachtet werden können. Vor diesem Hintergrund erscheint es sinnvoll, auch die TMAO-Plasmakonzentration in die Klinikalltagroutine mit einzubeziehen.

Zuletzt gilt es zu hinterfragen, ob Lebernodularität und Leberechogenität ausreichende diagnostische Parameter sind. Schließlich sind sie weder altersgewichtet noch quantifizierbar und unterliegen zusätzlich einem langfristigen Veränderungsprozess. Die Leberechogenität wurde in dieser Arbeit als indirekter Parameter für die Leberfunktion interpretiert.

4.2.8. Laborparameter des Cholinstoffwechsels und anthropometrische Parameter

Im Rahmen dieser retrospektiven Studie konnte keine Beziehung zwischen den Plasmakonzentrationen von Cholin, Betain sowie PC und den routinemäßig erhobenen anthropometrischen Parametern Größen-Perzentile, Gewichts-

Perzentile und BMI-Perzentile nachgewiesen werden (siehe Kapitel 7.9., Abbildung 21, Abbildung 22, Abbildung 23). Vor dem Hintergrund der bereits vorhandenen Literatur war jedoch zu erwarten, dass Cholin nicht mit den anthropometrischen Parametern korreliert. Dies lässt sich dadurch begründen, dass Cholin für die Homöostase und das Wachstum des Parenchyms, nicht für Gesamtwachstum und Gewichtsverlauf verantwortlich ist [54]. Daraus geht hervor, dass Patienten mit einer ausreichenden Cholinversorgung nicht unbedingt größer oder schwerer sind. Der Grund, warum die vorliegende Arbeit keine Ergebnisse zeigt, könnte darin liegen, dass die im Rahmen der Klinikroutine erhobenen Parameter nicht dazu geeignet sind die Parenchymgesundheit eines Patienten darzustellen. Als wichtiger Parameter fehlt die Bestimmung der fettfreien Körpermasse (FFM). Interessant wäre im Folgenden zu untersuchen, ob sich mittels Bioimpedanzanalysen zur Bestimmung der Körperzusammensetzung und damit der FFM Gruppenunterschiede nachweisen lassen [141].

4.2.9. Weitere Parameter mit möglicher klinischer Relevanz

Die Literatur zeigt, dass noch weitere Parameter neben der Diagnose einer exokrinen Pankreasinsuffizienz einen Cholinmangel begünstigen könnten. Der Einzelfallbericht des erfolgreichen Heilversuchs einer 22-jährigen Patientin, die neben einem häufigen SNP des PEMT-Gens (rs12325817) zusätzlich eine massiven Fehlbesiedlung des Dünndarms aufwies, macht auf zwei weitere Faktoren aufmerksam [131]. Da das SNP rs12325817 den exogenen Cholinbedarf erhöht [122], in ca. 1/3 der Allgemeinbevölkerung auftritt [53] und mit einem erhöhten Risiko zur Steatosis hepatis assoziiert ist, erscheint es sinnvoll die entsprechende genetische Diagnostik in die Klinikroutine zu implementieren, um auf kritische Mutationen frühzeitig aufmerksam zu werden [142]. Eine bakterielle Fehlbesiedlung kann durch zu langen Antibiotikagebrauch und zähen Schleim begünstigt werden und verursacht einen Abbau von Cholin noch vor dessen Resorption, was wiederum die Entstehung eines Cholinmangels begünstigt [53]. Somit können durch bakterielle Fehlbesiedlung des Dünndarms und genetische Polymorphismen auch Patienten mit einer

Pankreassuffizienz einen Cholinmangel entwickeln. Die niedrigste CholinKonzentration in unserem Kollektiv pankreassuffizienter Patienten betrug 4,61 $\mu\text{mol/L}$ (siehe Tabelle 18). Vor diesem Hintergrund scheint es sinnvoll die Bestimmung der TMAO-Konzentration und Polymorphismen des Cholinstoffwechsels bei unklarem Cholinmangel in die Klinikroutine einzuführen.

4.2.10. Schlussfolgerung

Abschließend lassen sich aus der Diskussion verschiedene Schlüsse ziehen. Bestimmte Rahmenbedingungen wie beispielsweise das konsequente Einhalten der Nüchternblutentnahme wurden anfänglich nicht hinreichend beachtet. Wichtige Parameter wie die FFM wurden nicht erhoben, da sie keinen Bestandteil der Klinikroutine darstellen. Mit den üblicherweise dokumentierten klinischen Routineparameter ist die Aussagekraft eingeschränkt, insbesondere hinsichtlich der Lungenfunktion, die bei hohem therapeutischen Standard keine Beziehung zu Parametern des Cholinstoffwechsels aufwies. Die hepatologischen Daten stehen jedoch im Einklang mit den bisherigen Befunden. Auch wenn das Patientenkollektiv nicht groß genug und das Studiendesign für eine statistische Absicherung nicht hinreichend ist, sind die Ergebnisse dennoch richtungsweisend. Es besteht dringender Handlungsbedarf weitere prospektive randomisierte Untersuchungen anzuschließen. Außerdem sollten Cholin, PC und TMAO in die Routineuntersuchung von Patienten implementiert werden, weil es deutliche Hinweise einer klinischen Relevanz gibt.

5. Zusammenfassung

Die Organe Leber, Lunge und Pankreas spielen im Hinblick auf den Cholin-Stoffwechsel eine wichtige Rolle. Das exokrine Pankreas hat einen entscheidenden Einfluss auf den enterohepatischen Kreislauf von Cholin, die Leber ist an der Assimilation und peripheren Versorgung via VLDL beteiligt und die Lunge leistet einen relevanten Beitrag zur Leberversorgung im Cholinmangel via HDL. Der bei CF-Patienten häufig auftretende Cholinmangel ist pathognomonisch durch eine verminderte exokrine Pankreasfunktion, zuzüglich bakterieller Dünndarmfehlbesiedlung und genetischer Polymorphismen des Cholinstoffwechsels, bedingt. Das Cholindefizit, repräsentiert durch niedrige Cholin- und Betain-Konzentrationen im Plasma, ist zumindest für die Leber, vielleicht auch für die Lunge klinisch relevant. So gibt es erste Hinweise, dass ein alimentärer Ausgleich des Cholindefizits mit Cholin-Chlorid nicht nur dessen Plasmaspiegel normalisieren, sondern auch die Steatose beseitigen als auch die Lungenfunktion verbessern kann.

Ziel dieser Arbeit war es, auf Basis retrospektiver klinischer Daten eine Grundlage für eine therapeutische Cholin-Supplementierung bei CF-Patienten zu schaffen. Dazu wurden bereits erhobene klinische und laborchemische Daten erfasst und den Laborparametern des Cholinstoffwechsels gegenübergestellt. Das Patientenkollektiv umfasste 130 pädiatrische und erwachsene Patienten unter 25 Jahren mit der Diagnose Mukoviszidose, mit und ohne Pankreasinsuffizienz, welche im Zeitraum von 2015 bis 2020 in der Mukoviszidoseambulanz der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin in Tübingen vorstellig wurden und kein Cholin supplementierten. Als Voraussetzung musste mindestens eine Blutentnahme zur Bestimmung von Cholin sowie seiner Metabolite Betain, PC, ARA-PC, DHA-PC und TMAO erfolgt sein.

Die Ergebnisse zeigen, dass eine Altersabhängigkeit hinsichtlich des Cholinmangels bei CF-Patienten vorliegt und dieser schon in früher Kindheit vorliegen kann. Die Daten bestätigen zudem, dass bei Patienten mit einer Pankreasinsuffizienz der Cholinmangel und niedrige Betain-Konzentrationen im Plasma pathognomonisch sind. Außerdem wurde gezeigt, dass Patienten mit

mindestens einer F508del-Mutation ein 1,5-faches Risiko besitzen, von einer exokrinen Pankreasinsuffizienz und damit einem Cholinmangel betroffen zu sein. Im Hinblick auf die klinischen Parameter liefern die Ergebnisse des Kollektivs pankreasinsuffizienter Patienten keine Hinweise dafür, dass eine Beziehung zwischen den Parametern des Cholinstoffwechsels und routinemäßig erhobenen Lungenfunktionsparametern besteht. Es wurde allerdings gezeigt, dass ein niedriger Anteil an DHA-PC am Gesamt-PC mit einer besseren Lungenfunktion assoziiert ist. Hingegen wurde gezeigt, dass sowohl eine niedrige PC-Konzentration als auch hohe TMAO-Konzentration ($\geq 10 \mu\text{mol/L}$) im Plasma Indikatoren einer erhöhten Leberechogenität und damit einer gestörten Leberfunktion sind. Es gibt keinen Hinweis darauf, dass eine Beziehung zwischen den Plasmakonzentrationen von Cholin, Betain sowie PC und den routinemäßig erhobenen anthropometrischen Parametern (Gewicht, Größe, BMI) besteht. Fehlende Signifikanzen hinsichtlich der Lungenfunktion widersprechen bisherigen Befunden, während die hepatologischen Daten im Einklang damit stehen.

Da bestimmte Rahmenbedingungen wie die konsequente Dokumentation der Nüchternblutabnahme anfänglich nicht beachtet und einzelne Parameter wie fettfreie Körpermasse, Cholesterin etc. nicht routinemäßig erhoben wurden, ist die Aussagekraft der Ergebnisse limitiert, aber ermutigend. Die Ergebnisse sind richtungsweisend und es besteht dringender Handlungsbedarf, weitere Untersuchungen anzuschließen. Es sollte die Versorgung von CF-Patienten angepasst und Cholin, PC und TMAO in die Routineuntersuchung von CF-Patienten implementiert werden, weil es Hinweise einer klinischen Relevanz gibt.

6. Literaturverzeichnis

1. Southern K.W., Munck A., Pollitt R., Travert G., Zanolla L., Dankert-Roelse J. and Castellani C. (2007) A survey of newborn screening for cystic fibrosis in Europe. *Journal of Cystic Fibros* 6(1): 57-65.
2. Farrell P.M. (2008) The prevalence of cystic fibrosis in the European Union. *Journal of Cystic Fibrosis* 7(5): 450-453.
3. Schaaf C.P. and Zschocke J. (2018) Basiswissen Humangenetik (3. überarbeitete und erweiterte Auflage). 183-184. Berlin: Springer.
4. Rommens J.M. (o.D.) CFMDB Statistics. Cystic Fibrosis Mutation Database. <http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/StatisticsPage.html> [Zugriff 31.07.2022]
5. Riordan J.R., Rommens J.M., Kerem B., Alon N., Rozmahel R., Grzelczak Z., Zielenski J., Lok S., Plavsic N., Chou J.L., Drumm M.L., Iannuzzi M.C., Collins F.S. and Tsui L.C. (1989) Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. *Science* 245(4922): 1066-1073.
6. Anderson M.P., Gregory R.J., Thompson S., Souza D.W., Paul S., Mulligan R.C., Smith A.E. and Welsh M.J. (1991) Demonstration that CFTR is a chloride channel by alteration of its anion selectivity. *Science* 253(5016): 202-205.
7. Stutts M.J., Canessa C.M., Olsen J.C., Hamrick M., Cohn J.A., Rossier B.C. and Boucher R.C. (1995) CFTR as a cAMP-dependent regulator of sodium channels. *Science* 269(5225): 847-850.
8. Smith J.J. and Welsh M.J. (1992) cAMP stimulates bicarbonate secretion across normal, but not cystic fibrosis airway epithelia. *The Journal of clinical investigation* 89(4): 1148-1153.
9. Boujaoude L.C., Bradshaw-Wilder C., Mao C., Cohn J., Ogretmen B., Hannun Y.A. and Obeid L.M. (2001) Cystic fibrosis transmembrane regulator regulates uptake of sphingoid base phosphates and lysophosphatidic acid: modulation of cellular activity of sphingosine 1-phosphate. *The Journal of biological chemistry* 276(38): 35258-35264.
10. Kogan I., Ramjeesingh M., Li C., Kidd J.F., Wang Y., Leslie E.M., Cole S.P. and Bear C.E. (2003) CFTR directly mediates nucleotide-regulated glutathione flux. *The EMBO Journal* 22(9): 1981-1989.
11. Linsdell P. and Hanrahan J.W. (1998) Glutathione permeability of CFTR. *American Journal of Physiology* 275(1): C323-C326.
12. Kerem B., Rommens J.M., Buchanan J.A., Markiewicz D., Cox T.K., Chakravarti A., Buchwald M. and Tsui L.C. (1989) Identification of the cystic fibrosis gene: genetic analysis. *Science* 245(4922): 1073-1080.
13. Welsh M.J. and Smith A.E. (1993) Molecular mechanisms of CFTR chloride channel dysfunction in cystic fibrosis. *Cell* 73(7): 1251-1254.
14. Trezise A.E. and Buchwald M. (1991) In vivo cell-specific expression of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator. *Nature* 353(6343): 434-437.
15. Cohn J.A., Strong T.V., Picciotto M.R., Nairn A.C., Collins F.S. and Fitz J.G. (1993) Localization of the cystic fibrosis transmembrane conductance

- regulator in human bile duct epithelial cells. *Gastroenterology* 105(6): 1857-1864.
16. Marino C.R., Matovcik L.M., Gorelick F.S. and Cohn J.A. (1991) Localization of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator in pancreas. *The Journal of Clinical Investigation* 88(2): 712-716.
 17. Trapnell B.C., Chu C.S., Paakko P.K., Banks T.C., Yoshimura K., Ferrans V.J., Chernick M.S. and Crystal R.G. (1991) Expression of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene in the respiratory tract of normal individuals and individuals with cystic fibrosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 88(15): 6565-6569.
 18. Crawford I., Maloney P.C., Zeitlin P.L., Guggino W.B., Hyde S.C., Turley H., Gatter K.C., Harris A. and Higgins C.F. (1991) Immunocytochemical localization of the cystic fibrosis gene product CFTR. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 88(20): 9262-9266.
 19. Strong T.V., Boehm K. and Collins F.S. (1994) Localization of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator mRNA in the human gastrointestinal tract by in situ hybridization. *The Journal of clinical investigation* 93(1): 347-354.
 20. Di A., Brown M.E., Deriy L.V., Li C., Szeto F.L., Chen Y., Huang P., Tong J., Naren A.P., Bindokas V., Palfrey H.C. and Nelson D.J. (2006) CFTR regulates phagosome acidification in macrophages and alters bactericidal activity. *Nature cell biology* 8(9): 933-944.
 21. Borowitz D. (2015) CFTR, bicarbonate, and the pathophysiology of cystic fibrosis. *Pediatric pulmonology* 50(40): 24-30.
 22. Chen E.Y., Yang N., Quinton P.M. and Chin W.C. (2010) A new role for bicarbonate in mucus formation. *American journal of physiology. Lung cellular and molecular physiology* 299(4): L542-L549.
 23. Gustafsson J.K., Ermund A., Ambort D., Johansson M.E., Nilsson H.E., Thorell K., Hebert H., Sjövall H. and Hansson G.C. (2012) Bicarbonate and functional CFTR channel are required for proper mucin secretion and link cystic fibrosis with its mucus phenotype. *The Journal of experimental medicine* 209(7): 1263-1272.
 24. Chen A.H., Innis S.M., Davidson A.G.F. and James S.J. (2005) Phosphatidylcholine and lysophosphatidylcholine excretion is increased in children with cystic fibrosis and is associated with plasma homocysteine, S-adenosylhomocysteine, and S-adenosylmethionine. *American Journal of Clinical Nutrition* 81(3): 686-691.
 25. Park H.W., Nam J.H., Kim J.Y., Namkung W., Yoon J.S., Lee J.S., Kim K.S., Venglovecz V., Gray M.A., Kim K.H. and Lee M.G. (2010) Dynamic regulation of CFTR bicarbonate permeability by [Cl⁻]_i and its role in pancreatic bicarbonate secretion. *Gastroenterology* 139(2): 620-631.
 26. Wilschanski M. and Durie P.R. (2007) Patterns of GI disease in adulthood associated with mutations in the CFTR gene. *Gut* 56(8): 1153-1163.
 27. Youngberg C.A., Berardi R.R., Howatt W.F., Hyneck M.L., Amidon G.L., Meyer J.H. and Dressman J.B. (1987) Comparison of gastrointestinal pH

- in cystic fibrosis and healthy subjects. *Digestive diseases and sciences*. 32(5): 472-480.
28. Dressman J.B., Shtohryn L.V. and Diokno D. (1985) Effects of product formulation on in vitro activity of pancreatic enzymes. *American journal of hospital pharmacy*. 42(11): 2502-2506.
 29. Nilsson A. and Duan R.D. (2019) Pancreatic and mucosal enzymes in choline phospholipid digestion. *American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology* 316(4): G425-G445.
 30. Moskowitz S.M., Chmiel J.F., Sternes D.L., Cheng E., Gibson R.L., Marshall S.G. and Cutting G.R. (2008) Clinical practice and genetic counseling for cystic fibrosis and CFTR-related disorders. *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics* 10(12): 851-68.
 31. Burdge G.C., Goodale A.J., Hill C.M., Halford P.J., Lambert E.J., Postle A.D. and Rolles C.J. (1994) Plasma lipid concentrations in children with cystic fibrosis: the value of a high-fat diet and pancreatic supplementation. *The British journal of nutrition* 71(6): 959-964.
 32. Hart N.J., Aramandla R., Poffenberger G., Fayolle C., Thames A.H., Bautista A., Spigelman A.F., Babon J.A.B., DeNicola M.E., Dadi P.K., Bush W.S., Balamurugan A.N., Brissova M., Dai C., Prasad N., Bottino R., Jacobson D.A., Drumm M.L., Kent S.C., MacDonald P.E. and Powers A.C. (2018) Cystic fibrosis-related diabetes is caused by islet loss and inflammation. *JCI Insight* 3(8).
 33. Bali A., Stableforth D.E. and Asquith P. (1983) Prolonged small-intestinal transit time in cystic fibrosis. *British medical journal (Clinical research ed.)* 287(6398): 1011-1013.
 34. Escobar H., Perdomo M., Vasconez F., Camarero C., del Olmo M.T. and Suárez L. (1992) Intestinal permeability to ⁵¹Cr-EDTA and orocecal transit time in cystic fibrosis. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* 14(2): 204-207.
 35. Hedsund C., Gregersen T., Joensson I.M., Olesen H.V. and Krogh K. (2012) Gastrointestinal transit times and motility in patients with cystic fibrosis. *Scandinavian journal of gastroenterology* 47(8-9): 920-926.
 36. Rovner A.J., Schall J.I., Mondick J.T., Zhuang H. and Mascarenhas M.R. (2013) Delayed small bowel transit in children with cystic fibrosis and pancreatic insufficiency. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* 57(1): 81-84.
 37. van der Doef H.P., Kokke F.T., van der Ent C.K. and Houwen R.H. (2011) Intestinal obstruction syndromes in cystic fibrosis: meconium ileus, distal intestinal obstruction syndrome, and constipation. *Current gastroenterology reports* 13(3): 265-270.
 38. Kopelman H. (1991) Cystic fibrosis. 6. Gastrointestinal and nutritional aspects. *Thorax* 46(4): 261-267.
 39. Staufer K., Halilbasic E., Trauner M. and Kazemi-Shirazi L. (2014) Cystic fibrosis related liver disease-another black box in hepatology. *International journal of molecular sciences*. 15(8): 13529-13549.

40. Colombo C. and Battezzati P.M. (2004) Liver involvement in cystic fibrosis: primary organ damage or innocent bystander?. *Journal of hepatology* 41(6): 1041-4.
41. Zeisel S.H. and Blusztajn J.K. (1994) Choline and human nutrition. *Annual review of nutrition* 14: 269-296.
42. Buchman A.L., Dubin M., Jenden D., Moukarzel A., Roch M.H., Rice K., Gornbein J., Ament M.E. and Eckhert C.D. (1992) Lecithin increases plasma free choline and decreases hepatic steatosis in long-term total parenteral nutrition patients. *Gastroenterology* 102(4): 1363-1370.
43. Buchman A.L., Ament M.E., Sohel M., Dubin M., Jenden D.J., Roch M., Pownall H., Farley W., Awal M. and Ahn C. (2001) Choline deficiency causes reversible hepatic abnormalities in patients receiving parenteral nutrition: proof of a human choline requirement: a placebo-controlled trial. *Journal of parenteral and enteral nutrition* 25(5): 260-268.
44. Buchman A.L., Dubin M.D., Moukarzel A.A., Jenden D.J., Roch M., Rice K.M., Gornbein J. and Ament M.E. (1995) Choline deficiency: a cause of hepatic steatosis during parenteral nutrition that can be reversed with intravenous choline supplementation. *Hepatology* 22(5): 1399-1403.
45. Misra S., Ahn C., Ament M.E., Choi H.J., Jenden D.J., Roch M. and Buchman A.L. (1999) Plasma choline concentrations in children requiring long-term home parenteral nutrition: a case control study. *Journal of parenteral and enteral nutrition* 23(5): 305-308.
46. Orenti A., Zolin A., Jung A. and van Rens J. (2021) ECFSPR Annual Report 2019.
47. Quinton P.M. (2008) Cystic fibrosis: impaired bicarbonate secretion and mucoviscidosis. *Lancet* 372(9636): 415-417.
48. Postle A.D., Mander A., Reid K.B., Wang J.Y., Wright S.M., Moustaki M. and Warner J.O. (1999) Deficient hydrophilic lung surfactant proteins A and D with normal surfactant phospholipid molecular species in cystic fibrosis. *American journal of respiratory cell and molecular biology* 20(1): 90-98.
49. Clark H. and Reid K. (2003) The potential of recombinant surfactant protein D therapy to reduce inflammation in neonatal chronic lung disease, cystic fibrosis, and emphysema. *Archives of disease in childhood* 88(11): 981-984.
50. Becker K.A., Riethmuller J., Zhang Y. and Gulbins E. (2010) The role of sphingolipids and ceramide in pulmonary inflammation in cystic fibrosis. *The open respiratory medicine journal* 4: 39-47.
51. Zeisel S.H., Da Costa K.A., Franklin P.D., Alexander E.A., Lamont J.T., Sheard N.F. and Beiser A. (1991) Choline, an essential nutrient for humans. *Federation of American Societies for Experimental Biology journal* 5(7): 2093-2098.
52. Bernhard W., Raith M., Shunova A., Lorenz S., Böckmann K., Minarski M., Poets C.F. and Franz A.R. (2022) Choline Kinetics in Neonatal Liver, Brain and Lung-Lessons from a Rodent Model for Neonatal Care. *Nutrients* 14(3): 720. doi: 10.3390/nu14030720.

53. Bernhard W. (2021) Choline in cystic fibrosis: relations to pancreas insufficiency, enterohepatic cycle, PEMT and intestinal microbiota. *European journal of nutrition* 60(4): 1737-1759.
54. Bernhard W., Poets C.F. and Franz A.R. (2019) Choline and choline-related nutrients in regular and preterm infant growth. *European journal of nutrition* 58(3): 931-945.
55. Institute of Medicine (US) Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes and its Panel on Folate, Other B Vitamins, and Choline. *Dietary Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B6, Folate, Vitamin B12, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline*. Washington (DC). National Academies Press (US). 1998. 390–422.
56. Zeisel S.H. (1990) Choline deficiency. *The Journal of nutritional biochemistry* 1(7): 332-349.
57. Cohen E.L. and Wurtman R.J. (1975) Brain acetylcholine: increase after systemic choline administration. *Life Sciences* 16(7): 1095-1102.
58. Haubrich D.R., Wedeking P.W. and Wang P.F. (1974) Increase in tissue concentration of acetylcholine in guinea pigs in vivo induced by administration of choline. *Life Sciences* 14(5): 921-927.
59. Zeisel S.H. (1981) Dietary choline: biochemistry, physiology, and pharmacology. *Annual review of nutrition* 1: 95-121.
60. Bernhard W., Raith M., Kunze R., Koch V., Heni M., Maas C., Abele H., Poets C.F. and Franz A.R. (2015) Choline concentrations are lower in postnatal plasma of preterm infants than in cord plasma. *European journal of nutrition* 54(5): 733-741.
61. Zeisel S.H., Growdon J.H., Wurtman R.J., Magil S.G. and Logue M. (1980) Normal plasma choline responses to ingested lecithin. *Neurology* 30(11): 1226-1229.
62. Böckmann K.A., Franz A.R., Minarski M., Shunova A., Maiwald C.A., Schwarz J., Gross M., Poets C.F. and Bernhard W. (2022) Differential metabolism of choline supplements in adult volunteers. *European journal of nutrition* 61(1): 219-230.
63. Li Z. and Vance D.E. (2008) Phosphatidylcholine and choline homeostasis. *Journal of lipid research* 49(6): 1187-1194.
64. van Meer G., Voelker D.R. and Feigenson G.W. (2008) Membrane lipids: where they are and how they behave. *Nature reviews. Molecular cell biology* 9(2): 112-124.
65. Alvaro D., Cantafora A., Attili A.F., Ginanni Corradini S., De Luca C., Minervini G., Di Biase A. and Angelico M. (1986) Relationships between bile salts hydrophilicity and phospholipid composition in bile of various animal species. *Comparative biochemistry and physiology. B, Comparative biochemistry* 83(3): 551-554.
66. Creuwels L.A., van Golde L.M. and Haagsman H.P. (1997) The pulmonary surfactant system: biochemical and clinical aspects. *Lung* 175(1): 1-39.
67. Yao Z.M. and Vance D.E. (1988) The active synthesis of phosphatidylcholine is required for very low density lipoprotein secretion from rat hepatocytes. *World journal of biological chemistry* 263(6): 2998-3004.

68. Christie W.W. (o.D.). Plasma Lipoproteins. The LipidWeb. https://lipidmaps.org/resources/lipidweb/lipidweb_html/lipids/simple/lipoprot/index.htm [Zugriff 31.07.2022]
69. Skipski V.P., Barclay M., Barclay R.K., Fetzer V.A., Good J.J. and Archibald F.M. (1967) Lipid composition of human serum lipoproteins. *The Biochemical journal* 104(2): 340-352.
70. Bernhard W., Maas C., Shunova A., Mathes M., Böckmann K., Bleeker C., Vek J., Poets C.F., Schleicher E. and Franz A.R. (2018) Transport of long-chain polyunsaturated fatty acids in preterm infant plasma is dominated by phosphatidylcholine. *European journal of nutrition* 57(6): 2105-2112.
71. Grothe J., Riethmuller J., Tschurtz S.M., Raith M., Pynn C.J., Stoll D. and Bernhard W. (2015) Plasma phosphatidylcholine alterations in cystic fibrosis patients: impaired metabolism and correlation with lung function and inflammation. *Cellular physiology and biochemistry: international journal of experimental cellular physiology, biochemistry, and pharmacology* 35(4): 1437-1453.
72. Tafesse F.G., Ternes P. and Holthuis J.C. (2006) The multigenic sphingomyelin synthase family. *The Journal of biological chemistry* 281(40): 29421-29425.
73. Voelker D.R. and Kennedy E.P. (1982) Cellular and enzymic synthesis of sphingomyelin. *Biochemistry* 21(11): 2753-2759.
74. Lin C. and Wu R. (1986) Choline oxidation and choline dehydrogenase. *Journal of protein chemistry* 5: 193-200.
75. Rothschild H.A. and Barron E.S. (1954) The oxidation of betaine aldehyde by betaine aldehyde dehydrogenase. *The Journal of biological chemistry* 209(2): 511-523.
76. Ameyama M., Shinagawa E., Matsushita K., Takimoto K., Nakashima K. and Adachi O. (1985) Mammalian Choline Dehydrogenase Is a Quinoprotein. *Agricultural and Biological Chemistry* 49(12): 3623-3626.
77. Finkelstein J.D. (1990) Methionine metabolism in mammals. *The Journal of nutritional biochemistry* 1(5): 228-237.
78. Cole L.K., Vance J.E. and Vance D.E. (2012) Phosphatidylcholine biosynthesis and lipoprotein metabolism. *Biochimica et biophysica acta* 1821(5): 754-761.
79. Innis S.M. and Hasman D. (2006) Evidence of choline depletion and reduced betaine and dimethylglycine with increased homocysteine in plasma of children with cystic fibrosis. *The Journal of nutrition* 136(8): 2226-2231.
80. Kennedy E.P. and Weiss S.B. (1956) The function of cytidine coenzymes in the biosynthesis of phospholipides. *The Journal of biological chemistry* 222(1): 193-214.
81. Walkey C.J., Yu L., Agellon L.B. and Vance D.E. (1998) Biochemical and evolutionary significance of phospholipid methylation. *The Journal of biological chemistry* 273(42): 27043-27046.
82. Lockman P.R. and Allen D.D. (2002) The transport of choline. *Drug development and industrial pharmacy* 28(7): 749-771.

83. Jon Bremer and David M. Greenberg (1961) Methyl transferring enzyme system of microsomes in the biosynthesis of lecithin (phosphatidylcholine). *Biochimica et Biophysica Acta* 46(2): 205-216.
84. Ridgway N.D. and Vance D.E. (1987) Purification of phosphatidylethanolamine N-methyltransferase from rat liver. *The Journal of biological chemistry* 262(35): 17231-17239.
85. Vance D.E. and Ridgway N.D. (1988) The methylation of phosphatidylethanolamine. *Progress in lipid research* 27(1): 61-79.
86. Ueland P.M. (2011) Choline and betaine in health and disease. *Journal of inherited metabolic disease* 34(1): 3-15.
87. Noga A.A., Stead L.M., Zhao Y., Brosnan M.E., Brosnan J.T. and Vance D.E. (2003) Plasma homocysteine is regulated by phospholipid methylation. *The Journal of biological chemistry* 278(8): 5952-5955.
88. DeLong C.J., Shen Y.J., Thomas M.J. and Cui Z. (1999) Molecular distinction of phosphatidylcholine synthesis between the CDP-choline pathway and phosphatidylethanolamine methylation pathway. *The Journal of biological chemistry* 274(42): 29683-29688.
89. Pynn C.J., Henderson N.G., Clark H., Koster G., Bernhard W. and Postle A.D. (2011) Specificity and rate of human and mouse liver and plasma phosphatidylcholine synthesis analyzed in vivo. *Journal of lipid research* 52(2): 399-407.
90. Bjørnstad P. and Bremer J. (1966) In vivo studies on pathways for the biosynthesis of lecithin in the rat. *Journal of lipid research* 7(1): 38-45.
91. Innis S.M., Davidson A.G., Melynck S. and James S.J. (2007) Choline-related supplements improve abnormal plasma methionine-homocysteine metabolites and glutathione status in children with cystic fibrosis. *The American journal of clinical nutrition* 85(3): 702-708.
92. Zou C.G. and Banerjee R. (2005) Homocysteine and redox signaling. *Antioxidants & redox signaling* 7(5-6): 547-559.
93. Finkelstein J.D., Kyle W.E., Martin J.L. and Pick A.M. (1975) Activation of cystathionine synthase by adenosylmethionine and adenosylethionine. *Biochemical and biophysical research communications* 66(1): 81-87.
94. Mato J.M., Alvarez L., Ortiz P. and Pajares M.A. (1997) S-adenosylmethionine synthesis: molecular mechanisms and clinical implications. *Pharmacology & therapeutics* 73(3): 265-280.
95. Niculescu M.D. and Zeisel S.H. (2002) Diet, methyl donors and DNA methylation: interactions between dietary folate, methionine and choline. *The Journal of nutrition* 132(8 Suppl): 2333-2335.
96. Luka Z., Mudd S.H. and Wagner C. (2009) Glycine N-methyltransferase and regulation of S-adenosylmethionine levels. *The Journal of biological chemistry* 284(34): 22507-22511.
97. Sunden S.L., Renduchintala M.S., Park E.I., Miklasz S.D. and Garrow T.A. (1997) Betaine-homocysteine methyltransferase expression in porcine and human tissues and chromosomal localization of the human gene. *Archives of biochemistry and biophysics* 345(1): 171-174.
98. Brosnan J.T., da Silva R.P. and Brosnan M.E. (2011) The metabolic burden of creatine synthesis. *Amino Acids* 40(5): 1325-1331.

99. da Silva R.P., Nissim I., Brosnan M.E. and Brosnan J.T. (2009) Creatine synthesis: hepatic metabolism of guanidinoacetate and creatine in the rat in vitro and in vivo. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism* 296(2): E256-261.
100. Flower R.J., Pollitt R.J., Sanford P.A. and Smyth D.H. (1972) Metabolism and transfer of choline in hamster small intestine. *The Journal of physiology* 226(2): 473-489.
101. Asatoor A.M. and Simenhoff M.L. (1965) The origin of urinary dimethylamine. *Biochimica et biophysica acta* 111(2): 384-392.
102. Stremmel W., Schmidt K.V., Schuhmann V., Kratzer F., Garbade S.F., Langhans C.D., Fricker G. and Okun J.G. (2017) Blood Trimethylamine-N-Oxide Originates from Microbiota Mediated Breakdown of Phosphatidylcholine and Absorption from Small Intestine. *Public Library of Science one* 12(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170742>.
103. Dolphin C.T., Cullingford T.E., Shephard E.A., Smith R.L. and Phillips I.R. (1996) Differential developmental and tissue-specific regulation of expression of the genes encoding three members of the flavin-containing monooxygenase family of man, FMO1, FMO3 and FMO4. *European journal of biochemistry* 235(3): 683-689.
104. Lang D.H., Yeung C.K., Peter R.M., Ibarra C., Gasser R., Itagaki K., Philpot R.M. and Rettie A.E. (1998) Isoform specificity of trimethylamine N-oxygenation by human flavin-containing monooxygenase (FMO) and P450 enzymes: selective catalysis by FMO3. *Biochemical pharmacology* 56(8): 1005-1012.
105. Tang W.H., Wang Z., Levison B.S., Koeth R.A., Britt E.B., Fu X., Wu Y. and Hazen S.L. (2013) Intestinal microbial metabolism of phosphatidylcholine and cardiovascular risk. *The New England journal of medicine* 368(17): 1575-1584.
106. Zhao Y., Chen Y.Q., Bonacci T.M., Bredt D.S., Li S., Bensch W.R., Moller D.E., Kowala M., Konrad R.J. and Cao G. (2008) Identification and characterization of a major liver lysophosphatidylcholine acyltransferase. *The Journal of biological chemistry* 283(13): 8258-8265.
107. Hui D.Y. (2016) Intestinal phospholipid and lysophospholipid metabolism in cardiometabolic disease. *Current opinion in lipidology* 27(5): 507-512.
108. Bridges J.P., Ikegami M., Brill L.L., Chen X., Mason R.J. and Shannon J.M. (2010) LPCAT1 regulates surfactant phospholipid synthesis and is required for transitioning to air breathing in mice. *The Journal of clinical investigation* 120(5): 1736-1748.
109. Nakanishi H., Shindou H., Hishikawa D., Harayama T., Ogasawara R., Suwabe A., Taguchi R. and Shimizu T. (2006) Cloning and characterization of mouse lung-type acyl-CoA:lysophosphatidylcholine acyltransferase 1 (LPCAT1). Expression in alveolar type II cells and possible involvement in surfactant production. *The Journal of biological chemistry* 281(29): 20140-20147.
110. Wang B., Rong X., Duerr M.A., Hermanson D.J., Hedde P.N., Wong J.S., Vallim T.Q., Cravatt B.F., Gratton E., Ford D.A. and Tontonoz P. (2016) Intestinal Phospholipid Remodeling Is Required for Dietary-Lipid Uptake and Survival on a High-Fat Diet. *Cell metabolism* 23(3): 492-504.

111. Oude Elferink R.P. and Paulusma C.C. (2007) Function and pathophysiological importance of ABCB4 (MDR3 P-glycoprotein). *Pflügers Archiv : European journal of physiology* 453(5): 601-610.
112. Smit J.J., Schinkel A.H., Oude Elferink R.P., Groen A.K., Wagenaar E., van Deemter L., Mol C.A., Ottenhoff R., van der Lugt N.M., van Roon M.A. and et al. (1993) Homozygous disruption of the murine *mdr2* P-glycoprotein gene leads to a complete absence of phospholipid from bile and to liver disease. *Cell* 75(3): 451-462.
113. Greenberger N.J. and Isselbacher K.J. (1998) Diseases of the gallbladder and bile ducts. In Fauci A., Braunwald E., Isselbacher K.J., Wilson J.D., Martin J.B., Kasper D., Hauser S. and Longo D. (Editors). *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 1725–1726. McGraw-Hill: New York, USA.
114. Li Z., Agellon L.B. and Vance D.E. (2005) Phosphatidylcholine homeostasis and liver failure. *The Journal of biological chemistry* 280(45): 37798-37802.
115. Bates S.R., Tao J.Q., Yu K.J., Borok Z., Crandall E.D., Collins H.L. and Rothblat G.H. (2008) Expression and biological activity of ABCA1 in alveolar epithelial cells. *American journal of respiratory cell and molecular biology* 38(3): 283-292.
116. Li Z., Agellon L.B. and Vance D.E. (2007) Choline redistribution during adaptation to choline deprivation. *The Journal of biological chemistry* 282(14): 10283-10289.
117. Agassandian M., Mathur S.N., Zhou J., Field F.J. and Mallampalli R.K. (2004) Oxysterols trigger ABCA1-mediated basolateral surfactant efflux. *American journal of respiratory cell and molecular biology* 31(2): 227-233.
118. Bernhard W., Lange R., Graepler-Mainka U., Engel C., Machann J., Hund V., Shunova A., Hector A. and Riethmuller J. (2019) Choline Supplementation in Cystic Fibrosis-The Metabolic and Clinical Impact. *Nutrients* 11(3): 656. doi: 10.3390/nu11030656.
119. Burke D.G., Fouhy F., Harrison M.J., Rea M.C., Cotter P.D., O'Sullivan O., Stanton C., Hill C., Shanahan F., Plant B.J. and Ross R.P. (2017) The altered gut microbiota in adults with cystic fibrosis. *BMC microbiology* 17(1): 58. doi: 10.1186/s12866-017-0968-8.
120. Fridge J.L., Conrad C., Gerson L., Castillo R.O. and Cox K. (2007) Risk factors for small bowel bacterial overgrowth in cystic fibrosis. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* 44(2): 212-218.
121. Rath S., Heidrich B., Pieper D.H. and Vital M. (2017) Uncovering the trimethylamine-producing bacteria of the human gut microbiota. *Microbiome* 5(1): 54. doi: 10.1186/s40168-017-0271-9.
122. da Costa K.A., Kozyreva O.G., Song J., Galanko J.A., Fischer L.M. and Zeisel S.H. (2006) Common genetic polymorphisms affect the human requirement for the nutrient choline. *Federation of American Societies for Experimental Biology journal* 20(9): 1336-1344.
123. Innis S.M., Davidson A.G., Chen A., Dyer R., Melnyk S. and James S.J. (2003) Increased plasma homocysteine and S-adenosylhomocysteine and decreased methionine is associated with altered phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine in cystic fibrosis. *The Journal of pediatrics* 143(3): 351-356.

124. Schneider W.J. and Vance D.E. (1978) Effect of choline deficiency on the enzymes that synthesize phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine in rat liver. *European journal of biochemistry* 85(1): 181-187.
125. Debray D., Kelly D., Houwen R., Strandvik B. and Colombo C. (2011) Best practice guidance for the diagnosis and management of cystic fibrosis-associated liver disease. *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society* 10 Suppl 2: 29-36.
126. Jenkins R.W., Canals D. and Hannun Y.A. (2009) Roles and regulation of secretory and lysosomal acid sphingomyelinase. *Cellular signalling* 21(6): 836-846.
127. Perry D.K. and Hannun Y.A. (1998) The role of ceramide in cell signaling. *Biochimica et biophysica acta* 1436(1-2): 233-243.
128. Teichgräber V., Ulrich M., Endlich N., Riethmüller J., Wilker B., De Oliveira-Munding C.C., van Heeckeren A.M., Barr M.L., von Kürthy G., Schmid K.W., Weller M., Tümmler B., Lang F., Grassme H., Döring G. and Gulbins E. (2008) Ceramide accumulation mediates inflammation, cell death and infection susceptibility in cystic fibrosis. *Nature medicine* 14(4): 382-391.
129. Hollenbeck C.B. (2012) An introduction to the nutrition and metabolism of choline. *Central nervous system agents in medicinal chemistry* 12(2): 100-113.
130. Becker K.A., Grassme H., Zhang Y. and Gulbins E. (2010) Ceramide in *Pseudomonas aeruginosa* infections and cystic fibrosis. *Cellular physiology and biochemistry : international journal of experimental cellular physiology, biochemistry, and pharmacology* 26(1): 57-66.
131. Bernhard W., Shunova A., Machann J., Grimm M., Haack T.B., Utz P. and Graepler-Mainka U. (2021) Resolution of severe hepatosteatosis in a cystic fibrosis patient with multifactorial choline deficiency: A case report. *Nutrition* 89: 111348. doi: 10.1016/j.nut.2021.111348.
132. Kromeyer-Hauschild K., Wabitsch M., Kunze D., Geller F.C., Geiss H.C., Hesse V., von Hippel A., Jaeger U., Johnsen D., Korte W.D., Menner K., Müller G., Müller J., Niemann-Pilatus A., Remer T., Schaefer F., Wittchen H.U., Zabransky S., Zellner K., Ziegler A. and Hebebrand J. (2001) Perzentile für den Body-mass-Index für das Kindes- und Jugendalter unter Heranziehung verschiedener deutscher Stichproben. *Monatsschrift Kinderheilkunde* 149: 807-818.
133. Schaefer J.F., Hector A., Schmidt K., Teufel M., Fleischer S., Graepler-Mainka U., Riethmueller J., Gatidis S., Schaefer S., Nikolaou K., Hartl D. and Tsiflikas I. (2018) A semiquantitative MRI-Score can predict loss of lung function in patients with cystic fibrosis: Preliminary results. *European radiology* 28(1): 74-84.
134. Guerrero A.L., Mattis L., Conner K.G., Hampsey J., Stasinopoulos D.M., DeJong R., Boctor E.M., Sheth S., Hamper U.M. and Scheimann A.O. (2011) Oral choline supplementation in children with intestinal failure. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* 53(1): 115-119.

135. Borgo G., Mastella G., Gasparini P., Zorzanello A., Doro R. and Pignatti P.F. (1990) Pancreatic function and gene deletion F508 in cystic fibrosis. *Journal of medical genetics* 27(11): 665-669.
136. Ooi C.Y. and Durie P.R. (2012) Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) gene mutations in pancreatitis. *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society* 11(5): 355-362.
137. Leggieri E., De Biase R.V., Savi D., Zullo S., Halili I. and Quattrucci S. (2013) Clinical effects of diet supplementation with DHA in pediatric patients suffering from cystic fibrosis. *Minerva pediatrica* 65(4): 389-398.
138. Alicandro G., Faelli N., Gagliardini R., Santini B., Magazzù G., Biffi A., Risé P., Galli C., Tirelli A.S., Loi S., Valmarana L., Cirilli N., Palmas T., Vieni G., Bianchi M.L., Agostoni C. and Colombo C. (2013) A randomized placebo-controlled study on high-dose oral algal docosahexaenoic acid supplementation in children with cystic fibrosis. *Prostaglandins, leukotrienes, and essential fatty acids* 88(2): 163-169.
139. Watkins S.M., Zhu X. and Zeisel S.H. (2003) Phosphatidylethanolamine-N-methyltransferase activity and dietary choline regulate liver-plasma lipid flux and essential fatty acid metabolism in mice. *The Journal of nutrition* 133(11): 3386-3391.
140. Wu M., Sharma P.G. and Grajo J.R. (2020) The Echogenic Liver: Steatosis and Beyond. *Ultrasound quarterly* 37(4): 308-314.
141. Khalil S.F., Mohktar M.S. and Ibrahim F. (2014) The theory and fundamentals of bioimpedance analysis in clinical status monitoring and diagnosis of diseases. *Sensors* 14(6): 10895-10928.
142. Corbin K.D., Abdelmalek M.F., Spencer M.D., da Costa K.A., Galanko J.A., Sha W., Suzuki A., Guy C.D., Cardona D.M., Torquati A., Diehl A.M. and Zeisel S.H. (2013) Genetic signatures in choline and 1-carbon metabolism are associated with the severity of hepatic steatosis. *Faseb j* 27(4): 1674-89.

7. Erklärungen zum Eigenanteil

Die Arbeit wurde in der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin Tübingen, in den Abteilungen Kinderheilkunde I (Schwerpunkt Mukoviszidose) und Kinderheilkunde IV (Schwerpunkt Neonatologie) unter der Betreuung von Apl. Prof. Dr. med. Dr. rer. physiol. W. Bernhard durchgeführt. Die Konzeption der retrospektiven Studie erfolgte in Zusammenarbeit mit Dr. Ute Graepler-Mainka (Funktionsoberärztin und Leiterin der Mukoviszidose-Ambulanz Tübingen) und Dr. Philipp Utz, (Funktionsoberarzt und Stellvertretender Leiter der Mukoviszidose-Ambulanz Tübingen). Die Messergebnisse der Laborparameter des Cholinstoffwechsels wurden durch das Massenspektrometrielabor der Arbeitsgruppe Neonatale Ernährung und Entwicklung (Apl. Prof. Dr. med. Dr. rer. physiol. W. Bernhard Abt. Neonatologie und Neonatologische Intensivmedizin der Universitätskinderklinik Tübingen) zur Verfügung gestellt. Die bereits erhobenen klinischen Daten wurden nach Einarbeitung durch Dr. Philipp Utz von mir eigenständig in einer Tabelle erfasst. Datenextraktionstabellen zur leichteren Übernahme einzelner Werte wurden durch Iris Bergmann erstellt. Kodierungsschemata der einzelnen Parameter wurden durch Apl. Prof. Dr. med. Dr. rer. physiol. W. Bernhard, Dr. Ute Graepler-Mainka, Dr. Philipp Utz und mir gemeinsam entwickelt. Um die Frage nach einer bereits vorhandenen Supplementierung zu beantworten, kontaktierte ich mit Zustimmung der CF-Ambulanz 109 Patienten telefonisch. Die 13 Patienten welche nicht erreichbar waren, wurden wiederholt von Ulrike Rassow-Schlanke kontaktiert. Die statistische Auswertung erfolgte durch mich unter Anleitung von Apl. Prof. Dr. med. Dr. rer. physiol. W. Bernhard nach Beratung durch Dr. Corinna Engel des CPCS (Center for Pediatric Clinical Studies) der Kinderklinik. Die Literaturrecherche wurde von mir selbstständig durchgeführt. Hiermit versichere ich, das vorliegende Manuskript selbstständig verfasst, keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet, sowie Zitate kenntlich gemacht zu haben.

8. Anhang

Die Originaldaten sind pseudonymisiert in Form einer Microsoft Excel-Tabelle im Intranet des Universitätsklinikum Tübingen zweifach abgespeichert.

- Speicherort 1:
Q:\KI\Mukoviszidose\CF-Studien\Cholin_Tübingen\Doktorarbeit Julia Boriga\Datentabelle_JuliaBoriga.xlsx
(Ansprechpartner Dr. Ute Graepler-Mainka)
- Speicherort 2:
Q:\KI\Neo\Allgemein\Mitarbeiter\Bernhard\DOKTORARBEITEN\Julia Boriga\AMBULANZ-retrospektive Studie Cholin2015-2020\Datentabelle_JuliaBoriga.xlsx
(Ansprechpartner Apl. Prof. Dr. med. Dr. rer. physiol. W. Bernhard)

Die Daten stehen für weitere Verwendungen und Auswertungen zur Verfügung. Die Identifikationsliste zur Rückverfolgung einzelner Patienten liegt der Mukoviszidoseambulanz der Universitätsklinik Tübingen vor.

9. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen recht herzlich bedanken, die mich bei der Durchführung dieser Arbeit unterstützt haben.

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Apl. Prof. Dr. med. Dr. rer. physiol. W. Bernhard, nicht nur für die Überlassung des Dissertationsthemas, sondern auch für die hervorragende Betreuung, die entscheidend zum Gelingen meiner Arbeit beigetragen hat. Er stand mir jederzeit für Fragen und Rat zu Seite und brachte mir in allen Phasen der Arbeit viel Geduld und Verständnis entgegen. Ich bedanke mich für das stets zeitnahe Feedback und die vielen Hilfestellungen, Anregungen und Denkanstöße. Ebenso danke ich den beiden betreuenden Ärzten der CF-Ambulanz Dr. Ute Graepler-Mainka und Dr. Philipp Utz für die gute Zusammenarbeit. Als immer zuverlässige Ansprechpartner in Bezug auf klinische Fragen, waren sie eine große Unterstützung, ohne die diese Arbeit ebenfalls nicht möglich gewesen wäre. Mein Dank richtet sich außerdem an die Pflegekräfte der CF-Ambulanz, für ihre ständige Bereitschaft mir bei Fragen weiterzuhelfen. Für die Kommunikation zwischen CF-Patienten und mir möchte ich mich besonders bei Ulrike Rassow bedanken. Für die Bereitstellung der verwendeten Daten möchte ich sowohl der CF-Ambulanz als auch den Mitarbeitern des Massenspektrometrielabors der Arbeitsgruppe Neonatale Ernährung und Entwicklung danken. Ein besonderer Dank gilt in diesem Zusammenhang der MTA-L Anna Shunova für ihre außerordentliche Hilfsbereitschaft im Hinblick auf die Rückverfolgung einzelner Blutproben. Des Weiteren geht ein großes Dankeschön an die Medizininformatikerin Iris Bergmann für die Erstellung von Datenextraktionstabellen zur leichteren Übernahme einzelner Daten und ihr Bemühen mir bei jeglichen Fragen weiterzuhelfen. Zur Vorbereitung auf die statistische Auswertung wurde die biometrische Beratung des CPCS der Kinderklinik in Anspruch genommen. In diesem Sinne möchte ich mich für die kompetente Unterstützung und sehr ausführliche Beratung durch Dr. Corinna Engel ebenfalls herzlich bedanken.

Ganz besonders danke ich meinem Freund Moritz Frey, der mich in Zeiten schwindender Motivation stets ermutigt und motiviert hat und mich immer daran

erinnert hat, dass es für jedes Problem eine Lösung gibt. Zu guter Letzt danke ich meiner Familie dafür, dass sie immer an mich geglaubt und sich mit mir über jeden kleinen Fortschritt gefreut hat. Insbesondere möchte ich meinen Eltern für ihre uneingeschränkte Unterstützung während der Promotion, aber auch weit darüber hinaus, danken. Danke, dass ihr mir mein Studium ermöglicht habt.