

Lipoproteine und inflammatorische Zytokine in Abhängigkeit vom
klinischen Schweregrad bei Patienten mit zystischer Fibrose

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
Bonn

Valérie Juliette Hippe
Düsseldorf

2007

Anfertigung mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1.Gutachter: Professor Dr. Zielen
2.Gutachter: Professor Dr. Stüber

Tag der Mündlichen Prüfung: 24.04.2007

Abteilung für Allgemeine Pädiatrie der Universitätskinderklinik, Bonn
Direktor: Prof. Dr. M. J. Lentze
Adenauerallee 119
53113 Bonn

Diese Dissertation ist auf dem Hochschulschriftenserver der ULB Bonn
http://hss.ulb.uni-bonn.de/diss_online elektronisch publiziert

Ich widme diese Arbeit meinen Eltern und meiner Schwester.

Inhaltsverzeichnis

	Abkürzungsverzeichnis	9
1	Einleitung	12
1.1	Definition und Epidemiologie	12
1.2	Genetik und Pathophysiologie	13
1.3	Diagnose und klinische Symptomatik	24
1.4	Stellenwert der proinflammatorischen Zytokine und Leukotriene	28
1.5	Protektiver Einfluss der Lipoproteine	29
1.6	Leptin	32
1.7	Ziel der Studie	35
2	Patienten und Methoden	36
2.1	Patienten	36
2.1.1	Gruppierung der Patienten	36
2.1.2	Kontrollpersonen	39
2.2	Methoden	39
2.2.1	Lungenfunktionsuntersuchung	39

2.2.1.1	Spirometrie	39
2.2.1.2	Bodyplethysmographie	40
2.2.2	Laborchemische Parameter	40
2.2.2.1	Ex vivo Lipopolysaccharid (LPS)-Stimulation	40
2.2.2.2	Messung der Zytokine und Akut-Phase-Proteine	41
2.2.2.3	Lipoproteine und Triglyceride	42
2.2.2.4	Leptin	43
2.2.2.5	Übrige Parameter	44
2.2.3	Ernährung	44
2.2.3.1	Orale Kalorien- und Fettaufnahme	44
2.2.4	Statistik	45
2.2.5	Ethikkommission	45
3	Ergebnisse	46
3.1	Patienten	46
3.1.1	Patientencharakteristika	46
3.1.2	Matching	46
3.2	LBP- Produktion/Zytokinproduktion	47
3.2.1	Lipopolysaccharide binding portein (LBP)	47
3.2.2	Interleukin-8 (IL-8) und Tumor necrosis factor alpha (TNF- α)	47

3.3	Kalorien- und Fettaufnahme	48
3.4	Lipoproteine und Triglyceride	48
3.4.1	Triglyceride (TRG), Very low density lipoproteins (VLDL) und High density lipoproteins (HDL)	48
3.4.2	Cholesterin und Low density lipoproteins (LDL)	49
3.5	Zytokine und Lipoproteine in bezug auf die Lungenfunktion	49
3.5.1	Einfluss von Pseudomonas aeruginosa	49
3.6	General linear model	53
3.7	Leptin	53
3.8	Body mass index (BMI)	54
3.9	Nahrungsaufnahme (kalorisch)	55
3.10	Orale Fettaufnahme	55
3.11	Zytokinproduktion nach ex vivo- Stimulation mit LPS	55
3.12	Leptin und Zytokine im Verhältnis zum klinischen Status und Ernährungszustand	56
4	Diskussion	58
4.1	Lipoproteine	58
4.1.1	Einfluss von Lipoproteinen auf den klinischen Verlauf	58
4.1.2	Zusammenhang von Lipoproteinen und der oralen Fettaufnahme	60

4.2	Lipopolysaccharid bindendes Protein (LBP)	61
4.2.1	Bedeutung von LBP als Entzündungsparameter	61
4.3	Stellenwert der Zytokine im Vollblut	62
4.4	Leptin	63
4.4.1	Regulierung der Leptinsekretion bei CF	63
4.5	Zusammenhang der Zytokinproduktion mit dem Ernährungszustand der CF-Patienten	65
5	Zusammenfassung	66
6	Literaturverzeichnis	67
7	Anhang Tabellen	79
8	Danksagung	86
9	Lebenslauf	88

Abkürzungsverzeichnis

ASL	:	Airway Surface Liquid
ATP	:	Adenosintriphosphat
BAL	:	Bronchoalveoläre Lavage
BMI	:	Body Mass Index
B. cepacia	:	Burkholderia cepacia
C	:	Celsius
cAMP	:	cyclisches-Adenosinmonophosphat
CD14	:	cluster of differentiation
CF	:	Cystische Fibrose
CFQA	:	cystic fibrosis quality assurance
CFTR	:	Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator
Cl ⁻	:	Chlorid
CO ₂	:	Kohlenstoffdioxid
COPD	:	chronic obstructive lung disease
CRP	:	C-reaktives Protein
DGE	:	deutsche Gesellschaft für Ernährung
DIOS	:	distales intestinales Obstruktionssyndrom
DNS	:	Desoxyribonukleinsäure
ΔF-508	:	delta-F508
E. coli	:	Escherichia coli
EDTA	:	ethylenediaminetetraacetic acid
ELISA	:	enzyme-linked immunosorbent assay
ENaC	:	epithelialer Natriumkanal
Fa	:	Firma
FEV ₁	:	Einsekundenkapazität

GLM	:	General Linear Modell
HCO ₃ ⁻	:	Bikarbonat
HDL	:	high density lipoprotein
H ₂ O	:	Wasserstoffdioxid/Wasser
IgE	:	Immunglobulin E
IGF I	:	Insulinlike growth factor I
IgG	:	Immunglobulin G
IRT	:	immunoreaktives Trypsin/Trypsinogen
IL-1	:	Interleukin-1
IL-6	:	Interleukin-6
IL-8	:	Interleukin-8
kcal	:	Kilokalorie
kDa	:	Kilodalton
kg	:	Kilogramm
KG	:	Körpergewicht
klin.	:	klinisch
LBP	:	Lipoproteinbindenes Protein
LDL	:	low density lipoprotein
LPS	:	Lipopolysaccharid
MEF ₂₅	:	Maximaler expiratorischer Flow bei 25% der forcierten Vitalkapazität
µg	:	Mikrogramm
ml	:	Milliliter
mRNA	:	messenger ribonuclein acid
Na ⁺	:	Natrium
NFκB	:	nucleus factor κ B
ng	:	Nanogramm

n.s.	:	nicht signifikant
ob	:	obese
P. a.	:	Pseudomonas aeruginosa
PEG	:	Polyethylenglykol
pg	:	Pikogramm
PMN	:	Polymorphkernige Leukozyten
pO ₂	:	Sauerstoffpartialdruck
RPMI	:	Roswell Park Memorial Institute
R tot	:	totale Restistance
S. aureus	:	Staphylococcus aureus
SPSS	:	statistical package for the social sciences
TLR4	:	Toll Like Rezeptor 4
TNF- α	:	Tumornekrosefaktor- α
TRG	:	Triglyceride
VC	:	Vitalkapazität
VLDL	:	very low density lipoprotein
vs.	:	versus

1 Einleitung

1.1 Definition und Epidemiologie

Mukoviszidose oder zystische Fibrose (Cystic Fibrosis, CF) ist eine Erkrankung, die aufgrund eines Gendefekts zu einer Fehlfunktion der exokrinen Drüsen des menschlichen Körpers führt. Folge dieses genetischen Defektes ist eine Elektrolyttransportstörung, die eine Viskositätszunahme der körpereigenen Sekrete bewirkt. Die betroffenen Drüsenausführungsgänge werden verlegt und es kommt zu charakteristischen zystisch-fibrösen Umbauvorgängen des Drüsengewebes (Lentze 2001). Manifestationsorte dieses Multiorgansyndroms sind Respirationstrakt, Pankreas, Magen-Darm-Trakt, Leber, Gallengangsysteme und das reproduktive System.

Zystische Fibrose ist die häufigste angeborene Stoffwechselerkrankung der weißen Rasse mit einer durchschnittlichen Inzidenz von 1: 2.500 Lebendgeborenen (Gallati 2001). Die Inzidenz variiert jedoch erheblich zwischen verschiedenen Bevölkerungsgruppen. Allein im nordeuropäischen Raum beträgt die Inzidenz zwischen 1:1.700 (Nordirland) und 1:7.700 (Schweden) (Tsui 1992). Bei Asiaten (Imalzumi 1995) und Afroamerikanern (Hamosh et al 1998) ist die Häufigkeit weitaus geringer (1:32.000 bzw. 1:15.000).

In den letzten Jahren konnte, bei verbesserten Therapiemöglichkeiten, die Lebenserwartung erheblich erhöht werden. Vor allem im Kindesalter ist die Sterblichkeitsrate gesunken. Zwischen 1985 und 1999 fiel die Mortalitätsrate der 2- bis 5-jährigen um 61%, der 6- bis 10-jährigen um 70% und der 11- bis 15-jährigen um 45% (Kulich et al 2003). Neue therapeutische Ansätze sind weniger wirksam, wenn sie erst in höherem Alter begonnen werden. Dies erklärt, dass bei erwachsenen CF-Patienten die Sterblichkeit nicht vergleichbar sank (Goss und Rosenfeld 2004). Das durchschnittliche Überlebensalter bei Mukoviszidose stieg in den USA von 18

Jahren im Jahr 1976 (Davis et al., 1996) auf 33,4 Jahren im Jahr 2001 (Gibson et al 2003). In Deutschland betrug im Jahr 2004 die mediane Überlebenszeit 36,4 Jahre (Stern et al 2005).

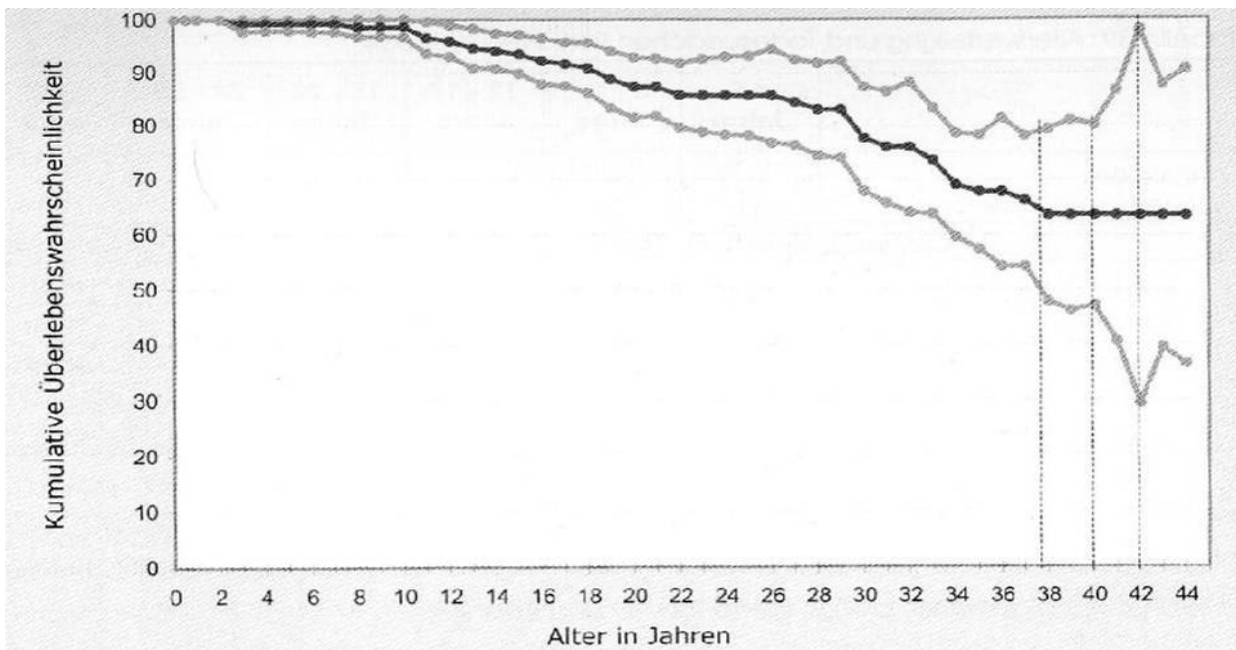


Abb. 1 Kumulative Überlebenswahrscheinlichkeit im Jahr 2004 in Deutschland mit einem Konfidenzintervall von 95% (Stern et al 2005)

1.2 Genetik und Pathophysiologie

CF wird autosomal rezessiv vererbt und durch Mutationen im „Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator“-Gen (CFTR-Gen) verursacht (Riordan et al 1993). Im Jahr 1989 gelang es erstmalig das CFTR-Gen zu isolieren (Kerem et al 1989). Es ist in der Bande 7q31.2 auf dem langen Arm von Chromosom 7 lokalisiert und erstreckt sich über eine Region von 190.000 Basenpaaren genomischer DNS (Ellsworth et al 2000). Siebenundzwanzig Exons kodieren für ein aus 1480 Aminosäuren bestehendes Protein von ca. 168 kDa (Riordan et al 1993).

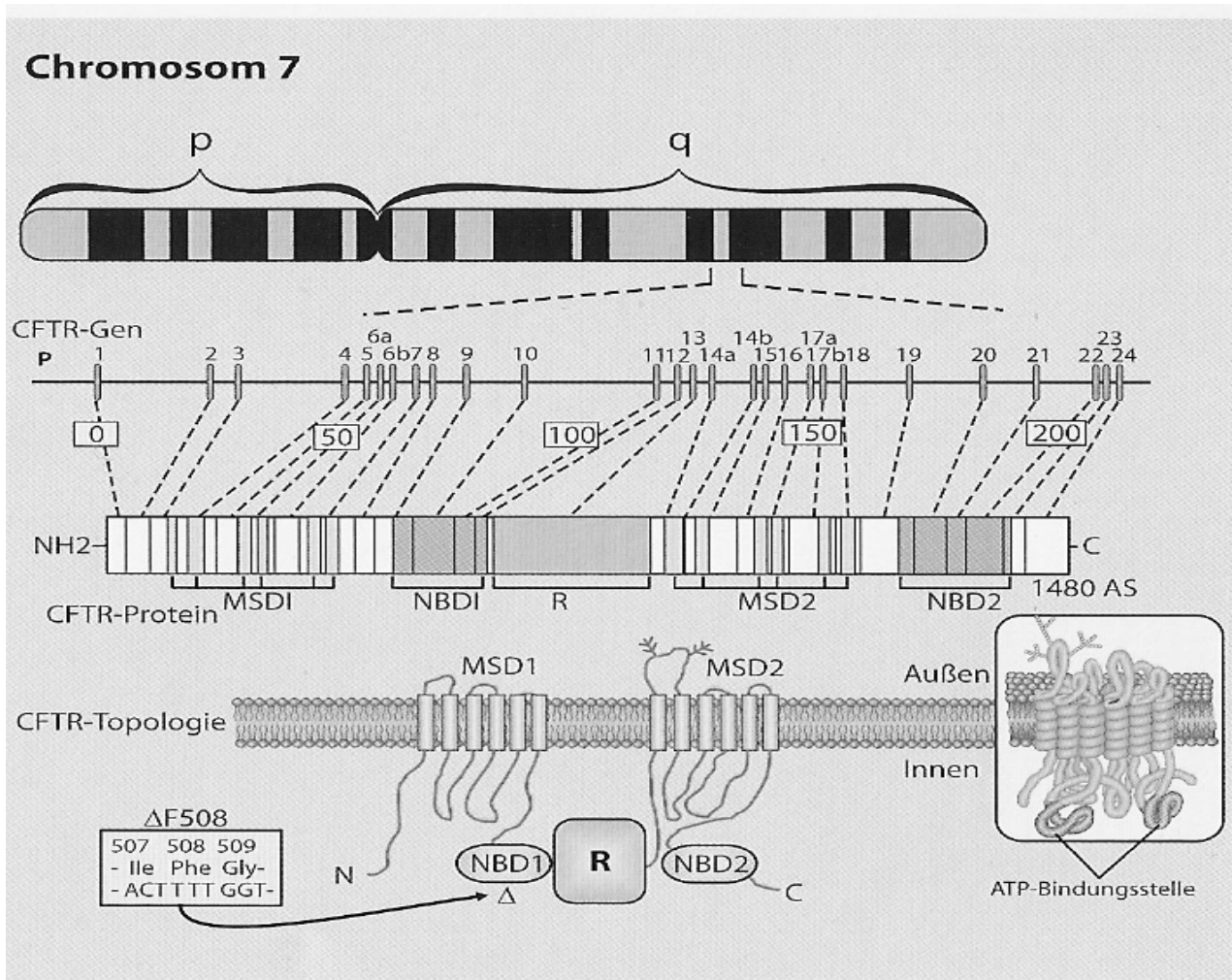


Abb. 5 Molekulare Grundlagen bei zystischer Fibrose und Topographie des CFTR-Proteins (Ratjen 2004)

Bislang sind über 1300 Mutationen im CFTR-Gen identifiziert worden. Eine ständig aktualisierte Datenbank mit CF-Mutationen findet sich im Internet unter der Adresse <http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/>. Diese Mutationen sind zwar über die gesamte kodierende Region sowie die Promotorregion des Gens verteilt, dabei gibt es jedoch Abschnitte, in denen gehäuft Mutationen vorkommen. Die Delta F508-Mutation ist mit 70% die häufigste Mutation der CF weltweit, bei der auf der Position 508 die Kodierung der Basenpaare für Phenylalanin (F508del) fehlt. Die Frequenz der meisten anderen CF-Mutationen ist verhältnismäßig gering (meist unter 1-2%) (Cystic Fibrosis Genetic Analysis Consortium 1999).

Das CFTR-Protein besteht aus zwei homologen Hälften. Es enthält zwei Transmembran-Regionen mit je 6 hydrophoben Untereinheiten (Loops), zwei nukleotidbindenden Domänen (NBD1 und NBD2) und einer zytoplasmatischen regulatorischen Domäne (R) (Akabas 2000). CFTR funktioniert als cAMP-abhängiger Chloridkanal, der eine wichtige Rolle bei dem Transport von Chlorid durch die apikale Membran der Epithelzelle spielt.

Das bedeutet, dass Chlorid aktiv unter Verbrauch von cAMP aus der Zelle herastransportiert wird. Darüber hinaus scheint CFTR auch andere Stoffe, wie zum Beispiel Bicarbonat zu transportieren (Choi et al 2001). Es wird auch vermutet, dass CFTR regulatorische Aufgaben beim Ionentransport übernimmt, wie die Interaktion mit dem epithelialen Natriumkanal (ENaC) zeigt (Schwiebert et al 1999). Dabei wird über den ENaC vermehrt Na^+ in die Zelle absorbiert, wodurch es zu einer massiven Verminderung des ASL (airway surface liquid) kommt (Boucher 2004; Mall et al 2004). Als ASL (airway surface liquid) wird eine dünne Flüssigkeitsschicht bezeichnet, die auf den zilientragenden Epithelzellen liegt und diese um ca. $10\mu\text{m}$ überdeckt. Zusammen mit einer darüberliegenden Mukusschicht ist eine optimale Konzentration der ASL die Voraussetzung für eine normale Zilientätigkeit der Epithelzellen. Ziel ist dabei der Abtransport des Mukus oralwärts und die gleichzeitige Sekretion von Muzinen zum Abfangen inhalierter Bakterien.

Beim Gesunden werden vom Gen bis zum funktionsfähigen Chloridkanal verschiedene Stadien durchlaufen. So wird zunächst das Gen abgelesen und in messenger-RNA (mRNA) transkribiert. Die genetische Information der mRNA wird an die Ribosomen des endoplasmatischen Retikulums weitergegeben, wo das eigentliche Protein aus Aminosäuren zusammengesetzt wird (Translation). Im Golgi-Apparat wird es glykosyliert, gefaltet (Prozessierung) und an die Zelloberfläche transportiert. An der apikalen Zellmembran unterliegt das CFTR-Protein einer ATP-abhängigen Aktivierung (Regulation).

Die Expression des CFTR-Proteins bei CF ist aufgrund von verschiedenen Mutationen gestört. Diese Mutationen werden, in Abhängigkeit der Mechanismen mit denen sie die CFTR-Proteinfunktion beeinträchtigen, in 5 Klassen (I bis V) unterteilt (siehe Abbildung 6).

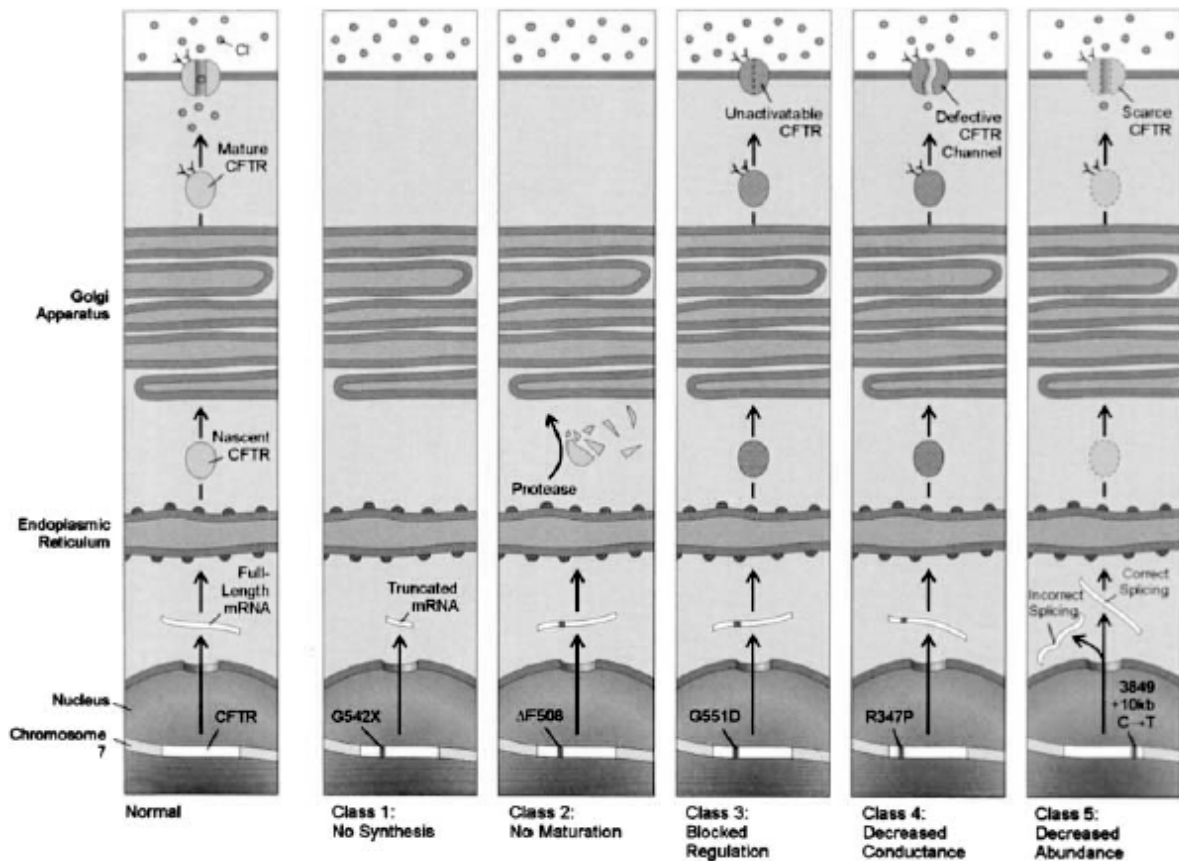


Abb. 6

Die funktionellen Effekte der verschiedenen Mutationsklassen des CFTR-Gens: Fünf Mutationsklassen sind neben dem normalen Reifungsprozess des CFTR-Proteins dargestellt. Klasse I Mutationen, mit dem Beispiel der G542X-Mutation, beinhalten eine vorzeitige Stopmutation. Klasse II Mutationen, mit der am häufigsten auftretenden $\Delta F508$ Mutation, sind fehlgefaltet und können nicht nach Expressierung aus dem endoplasmatischen Retikulum freigesetzt werden. CFTR-Klasse III Mutationen, wie G551D, erreichen die Zellmembran, können aber dort nicht aktiviert werden. Bei der Klasse IV Mutation (zum Beispiel R347P) wird der Kanal zwar aktiviert, dennoch kommt es zu einer verringerten Chloriddurchlässigkeit. Klasse V Mutationen, wie 3849+10kb C->T, zeichnen sich durch eine erniedrigte Häufigkeit des CFTR-Proteins aus. Betroffene Patienten verfügen über eine CFTR-Restfunktion mit milder ausgeprägtem Phänotyp (Gibson 2003)

Unter Klasse I werden Mutationen zusammengefasst, bei denen die Synthese des CFTR-Proteins durch Nonsense-Mutation, Frameshift oder Splicingstörung fehlt oder gestört ist. Klasse-II-Mutanten sind in Reifung und intrazellulärem Transport des CFTR-Proteins gestört (zu dieser Gruppe gehören Missense-Mutationen und die häufigste Mutation Delta F508). Bei der Klasse III ist die Regulation des CFTR-Ionenkanals defekt. Bei Klasse IV-Mutationen ist die Kanalleitfähigkeit verändert. Bei Klasse V-Mutanten verlaufen Synthese und Prozessierung regelrecht. Es kommt jedoch durch einen Verlust bestimmter Aminosäuren zu einer Labilität und verkürzten Halbwertszeit des CFTR-Proteins.

Das klinische Krankheitsbild bei Mukoviszidose lässt sich durch die pathophysiologischen Vorgänge im Bereich des Verdauungstraktes und in den Atemwegen erklären. Der hohe Gehalt an CFTR-Protein in der apikalen Plasmamembran der Epithelzellen der Pankreasgänge bewirkt die pathologische Beteiligung des Pankreas. Die von den azinären Zellen des exokrinen Drüsengewebes produzierten Zymogengranula speichern Proenzyme normaler Funktionsfähigkeit. Da das CFTR-Protein für den Bicarbonat- und Wassergehalt verantwortlich ist, kommt es durch die CFTR-Dysfunktion zu hochviskösen Sekreten, die nicht in das Duodenum abfließen können und zu einer progredienten Fibrose und Destruktion der Drüsenzini führen. Dies führt konsekutiv zur Pankreasinsuffizienz. Eine biliäre Zirrhose kann sich durch eine gestörte Expression des CFTR in der apikalen Zellmembran der Gallengangsepithelzellen entwickeln. Die unphysiologische Zusammensetzung von Gallensekreten fördert die Entstehung von Cholangiolithiasis, periportaler Fibrose und multilobulärer biliärer Zirrhose.

Die pathophysiologischen Vorgänge an den Verdauungsorganen lassen sich nicht isoliert betrachten. Wegen der gestörten Expression des CFTR-Gens kann es in der Folge zu einem Mekoniumileus, einem distalen intestinalen Obstruktionssyndrom (DIOS) in Kombination mit einer Lipasesubstitution und/oder zu einer Störung der

Darmmotilität und zu gastroösophagealer Refluxsymptomatik kommen (Dockter 2004). Die Ausprägung dieser klinischen Symptome und pathophysiologischen Veränderungen ist jedoch sehr variabel und lassen sich wenig durch die zugrundeliegenden Mutationen des CFTR-Gens erklären. Allein der Befall des exokrinen Pankreas ist weitgehend genetisch determiniert. Patienten mit Mutationen der Klassen I, II, und III zeigen in der Regel eine Pankreasinsuffizienz, während Mutationen der Klassen IV und V mit ausreichender Pankreasfunktion assoziiert sind (Wilchanski et al 1995).

So konnte eine Genotyp-Phänotyp-Korrelation mit prädiktivem Betroffenheitsgrad nur bei Pankreas, Schweißdrüsen und dem reproduktiven System gezeigt werden (Cutting 1994; Zielenski 1995).

Im Gegensatz dazu kann bei Patienten mit identischem CFTR-Mutationsgenotyp vor allem der pulmonale Befall sehr unterschiedlich ausgeprägt sein (Kerem 1990; Santis 1990).

Obwohl gerade die pulmonale Beteiligung bei CF die Lebensqualität und Lebenserwartung maßgeblich bestimmt, gibt es bislang nur Hypothesen über den Zusammenhang der Fehlfunktion des CFTR-Chloridkanals und der Bildung des viskösen Mukus in den Atemwegen der Lunge (Donaldson and Boucher 2003).

Die „low volume“-Hypothese begründet die Beeinträchtigung des Mukustransports mit einer Reduktion des ASL-Volumens. Die Koordination des ASL-Volumens unterliegt komplexen Regulationsmechanismen der verminderten Cl^- -Sekretion und der erhöhten Na^+ -Absorption, die über den CFTR-Kanal gesteuert werden. Wird nun bei den CF-Mutationen vermindert oder gar kein CFTR-Protein exprimiert kommt es zur Volumenminderung und erhöhten Viskosität der ASL (Matsui et al 1998). Es folgt eine vermehrte Mukusstase in den Atemwegen mit verstärkter Bakterienbesiedlung.

Hypothese zwei, „high salt“-Hypothese genannt, geht von einer erhöhten Salzkonzentration in der ASL aus, die durch eine fehlende Chloridabsorption über den Chloridkanal erklärt wird (Zabner et al 1998). Wegen der Hypertonizität werden körpereigene Defensine in ihrer antibiotischen Wirkung eingeschränkt. Es resultiert ein Funktionsverlust der antimikrobiellen Abwehr mit verstärkter bakterieller Besiedlung.

Mehrere neuere Untersuchungen konnten jedoch zeigen, dass kein Unterschied in Bezug auf die Salzkonzentration der ASL bei Gesunden und CF-Patienten besteht (Jayaraman et al 2001, Matsui et al 1998). Auch nehmen Defensine eine untergeordnete Rolle im Hinblick auf die körpereigene antibiotische Abwehr ein, sodass wenig für die „high salt“-Hypothese als Ursache für die chronische Lungenbeteiligung bei CF spricht.

Die dritte Hypothese („abnormal gland secretion“-Hypothese) beruht auf der Annahme, dass die CFTR-Fehlfunktion innerhalb der submukösen Drüsen für die CF-Lungenerkrankung verantwortlich ist. Die produzierten Sekrete sind ungewöhnlich viskös, verlegen die Drüsenausführungsgänge und führen so zu einer vermehrten Adhäsion von Mukusplaques an der Oberfläche der Atemwege (Ballard et al 2002, Jayaraman et al 2001). Sowohl bei Hypothese eins als auch bei Hypothese drei wird von einer Mukusstase und Verringerung des ASL-Flüssigkeitsvolumens ausgegangen. Der wesentliche Unterschied zwischen den beiden Hypothesen besteht allerdings darin, dass die „low volume“-Hypothese eine vermehrte Absorption der ASL durch die Epithelzellen in den Atemwegen postuliert, während die „abnormal gland secretion“-Hypothese eine Verringerung der ASL durch eine Reduktion der CFTR-abhängigen Drüsensekretion annimmt. Dieser Unterschied hätte gegebenenfalls eine Konsequenz bei einer medikamentösen Therapie des Epithels oder der Drüsenzellen (Ratjen et al 2004b). Bislang konnte jedoch keine vollständige Erklärung für die Auswirkungen der CFTR-Fehlfunktion gefunden werden. Auch zur Frage

nach dem Einfluss des CFTR-Defekts auf die Entstehung bakterieller Infektionen der Lunge existieren nur Theorien. Während beim Gesunden eingedrungene Bakterien, ohne Ausbildung einer pulmonalen Infektion, aus der Lunge wieder entfernt werden, kommt es bei CF-Patienten häufig zu chronischen Pneumonien. Verschiedene Theorien versuchen zu erklären, wie es zu der speziellen Bakterienbesiedlung und dem entstehenden Entzündungsgeschehen kommen kann.

Die pulmonalen Infektionen bei CF werden am häufigsten durch gramnegative Bakterien wie *Pseudomonas aeruginosa* getragen. Es kommen aber auch Infektionen mit *Staphylococcus aureus*, *Burkholderia cepacia*, *Haemophilus influenzae* oder *Stenotrophomonas maltophilia* vor. Die Keimbesiedlung ist unterschiedlich abhängig vom Alter der Patienten. Während bis zum ersten Lebensjahr vorwiegend *Staphylococcus aureus* und *Haemophilus influenzae* vorkommen, ist später die Besiedlung mit *Pseudomonas aeruginosa* und *Burkholderia cepacia* wahrscheinlicher. Für die überragende Bedeutung von *P.aeruginosa* als Pathogen, könnte die Fähigkeit des CFTR-Proteins, als Rezeptor zur Internalisation von *P.aeruginosa* zu wirken, verantwortlich sein. Die CFTR-Rezeptor-Theorie besagt, dass *P. aeruginosa* beim Gesunden durch die CFTR-Proteine an den Epithelzellen gebunden und phagozytiert werden kann (Pier 2000). Bei fehlender Expression des CFTR-Proteins und daraus begründeter mangelnder Phagozytose kann es daher leichter zur chronischen *P.aeruginosa*-Besiedlung kommen. Bei *in vitro* Studien konnte gezeigt werden, dass die Rezeptorzellzahl für *Pseudomonas aeruginosa* an der luminalen Epithelseite durch die CFTR-Proteine beeinflusst wird. *P. aeruginosa* bindet an das Glykolipid-asialo-Gangliosid M1 (aGM1) nicht aber an homologe sialysierte Rezeptoren (De Rose, 2002). Die Anzahl der Ganglioside ist an der Oberfläche der Epithelzellen mit dysfunktionellen CFTR-Proteinen erhöht und führt somit zu einer verstärkten Adhärenz von pathogenen Bakterien wie *P. aeruginosa* (Ratjen und Döring, 2003). Allerdings lässt die Theorie die Infektionen durch andere Bakterien

unberücksichtigt. Zudem zeigen Experimente, dass *P.aeruginosa* vorrangig an den Mukus in den Atemwegen, nicht aber direkt an das Epithel adhärert (Worlitzsch et al 2002).

Bei der chronischen Inflammation der Lunge bei CF wird ursächlich ein endogener und ein exogener Anteil unterschieden. Tirouvanziam und Mitarbeiter konnte nach Implantation von submukösen Drüsen in fetale Rattenlungen eine Hochregulation von Interleukin-8 beobachten (Tirouvanziam et al 2000). Ätiologisch wird dies als Folge der Hochregulation von IKB Kinase alpha gesehen (Tabary et al 2000). Auch findet eine vermehrte Interleukin-8-Synthese infolge der erhöhten Tonizität in der Bronchialschleimhaut statt (Tager el al 1998).

In einer weiteren Studie (Khan et al 1995) konnte in Proben der bronchoalveolären Lavage (BAL) bei 7 von 16 Kleinkindern kein Nachweis einer bakteriellen Besiedlung erbracht werden, dagegen aber erhöhte Werte für neutrophile Granulozyten und das proinflammatorische Zytokin Interleukin-8 (IL-8) gezeigt werden. Es stellt sich also die Frage, ob die Entzündung nur eine Reaktion auf einen bakteriellen Reiz darstellt, oder ob intrinsische Faktoren der Epithelzellen von CF-Patienten bereits eine Entzündungsneigung bewirken. Während bei Gesunden im Bronchialepithel keine proinflammatorischen Zytokine wie IL-6 und IL-8, dafür aber antiinflammatorische Zytokine (wie z.B. IL-10) sezerniert werden, verhält es sich bei CF-Patienten genau umgekehrt. CF-Epithel sezerniert kein oder wenig antiinflammatorisches IL-10, dagegen jedoch vermehrt die proinflammatorischen Zytokine IL-6 und IL-8 (Bonfield et al 1995).

Der exogene Anteil der Entzündungsreaktion wird durch bakterielle Exoprodukte wie Lipopolysaccharid induziert. Lipopolysaccharid ist Teil der Zellwand gramnegativer Bakterien wie *Pseudomonas aeruginosa*. Wie bereits beschrieben zeigen verschiedene Studien eine erhöhte Virulenz von *Pseudomonas aeruginosa*. So konnte gezeigt werden, dass es aufgrund von erhöhtem Sauerstoffverbrauch des

CF-Epithels zur Ausbildung von *P.aeruginosa*-Makrokolonien in anaeroben Mukusplaques kommt (Worlitzsch et al 2002). Bei unbeeinträchtiger mukoziliärer Clearance werden inhalierte Mikroorganismen mit dem Mukus aus der Lunge abtransportiert. Bei CF-Patienten allerdings kann die hochvisköse Mukusschicht nicht mobilisiert werden. Gleichzeitig kommt es zu einem vermehrten Sauerstoffverbrauch, da der Energieverbrauch des Epithels (Hydrolyse von ATP durch Na^+/K^+ -ATPase wegen der erhöhten Na^+ -Absorption) erhöht ist. Auch die Mukussekretion ist energieabhängig, sodass der Sauerstoffpartialdruck über dem Epithel weiter abnimmt. Es entsteht ein zunehmend anaerobes Milieu. Das fakultativ anaerobe Bakterium *P.aeruginosa* findet in dieser Mukuszusammensetzung einen optimalen Nährboden. Es bilden sich Makrokolonien, die Exopolysaccharide wie Alginate sezernieren und einen Biofilm bilden. Von diesem Alginatmantel umgeben wird die Umwandlung von nonmukoiden Bakterienstämmen zum mukoiden *P.aeruginosa*-Phänotyp induziert (Govan und Deretic 1996). Mukoide Makrokolonien sind durch ihre Schleimkapsel besser gegen bakterizide Maßnahmen geschützt und begünstigen die chronische *P.aeruginosa*-Besiedlung der Atemwege bei CF-Patienten. Ferner wird die Biofilmbildung der *P.aeruginosa*-Stämme durch Quorum sensing beeinflusst (Høiby 2002). Bei Quorum sensing Systemen handelt es sich um Autoinduktoren (N-acylhomoserinlaktone (AHL)), welche die Ausschüttung von exo- und intrazellulären Virulenzfaktoren steuern. In Studien mit Labormäusen konnte gezeigt werden, dass Quorum sensing Systeme Einfluss auf den Schweregrad einer *P.aeruginosa*-Infektion der Lunge, sowohl in akuten als auch in chronischen Stadien haben (Wu et al 2001).

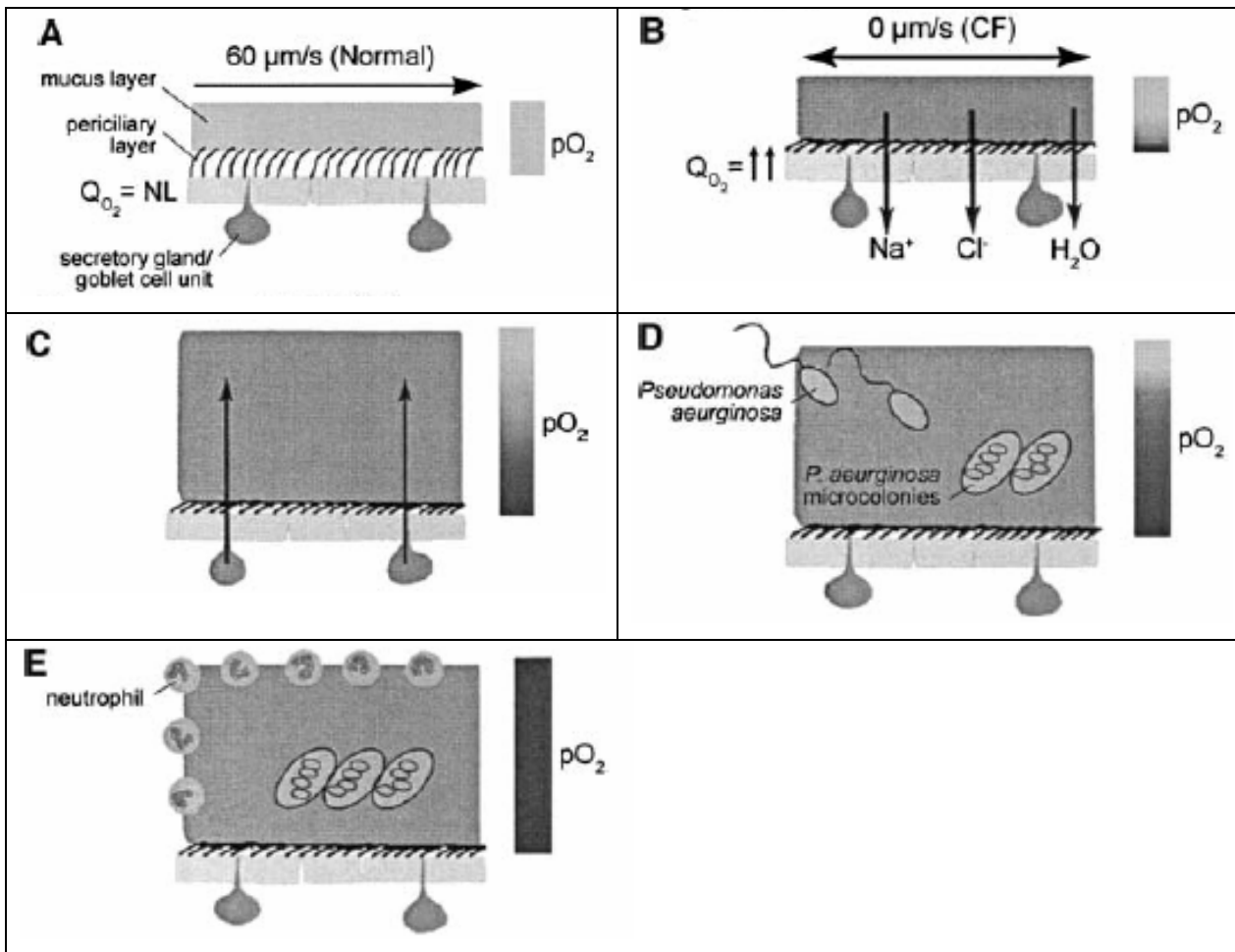


Abb. 7

Pathologische Veränderungen, die möglicherweise zur chronischen Besiedlung mit *Pseudomonas aeruginosa* führen.

(A) zeigt gesundes Atemwegsepithel mit einer effektiven mukoziliären Clearance und der normalen Mukusschicht. (B) zeigt die Atemwege bei CF-Patienten mit einem Volumenverlust der periziliären Schicht und verminderter Clearance-Funktion. In (C) kommt es bereits zur Hypersekretion des Mukus mit Ausbildung muköser Plaques. Es bildet sich ein hypoxischer Gradient in der Mukusschicht. Daraufhin können *P.aeruginosa*-Bakterien (D) in die muköse Schicht penetrieren und Mikrokolonien bilden. (E) stellt die erhöhte Konzentration an Bakterienstämmen dar. Aufgrund der steigenden Hypoxie widerstehen diese *P.aeruginosa*-Kolonien den Immunreaktionen, einschließlich der neutrophilen Granulozyten. (Gibson 2003; Worlitzsch et al 2002)

1.3 Diagnose und klinische Symptomatik

Da die klinische Symptomatik sehr unterschiedlich ausgeprägt sein kann, wird bei vielen CF-Patienten trotz verbesserter Kenntnis des Krankheitsbildes die Diagnose erst verspätet gestellt. In Deutschland wird die Diagnose nur bei etwas mehr als der Hälfte der an CF-erkrankten Kindern innerhalb des ersten Lebensjahres gestellt (Stern et al 2002).

Das Neugeborenen-Screening wird in Deutschland bislang fakultativ durchgeführt. Dabei wird es am 3. bis 6. Lebenstag immunoreaktives Trypsin/Trypsinogen (IRT) mit der Methodik eines Enzymimmunoassay aus Vollblut bestimmt. Pathologisch erhöhte IRT-Werte entstehen dabei durch Obstruktion der Pankreasausführungsgänge mit Übertreten des Trypsins/Trypsinogens in die Blutbahn. Allerdings ist die neonatale IRT-Erhöhung nicht sehr spezifisch für zystische Fibrose, sodass bei pathologisch erhöhtem Wert eine zweite IRT-Bestimmung im Alter von 4-6 Wochen vorgenommen wird (Farriaux et al 2003). Bei positivem Screeningergebnis und/oder klinischen Verdachtsmomenten sollte eine weiterführende Diagnostik durchgeführt werden. Dabei ist der Schweißtest (Gibson und Cooke 1959) nach wie vor der entscheidende diagnostische Schritt zur Diagnosestellung der Mukoviszidose. Nach Schweißstimulation mittels Pilocarpin-Iontophorese werden die Konzentrationen von Chlorid und Natrium im Schweiß gemessen. Werden wiederholt Konzentrationen von über 60 mmol/l bestimmt, ist die Diagnose der zystischen Fibrose zu stellen. Bei grenzwertigen Messergebnissen oder klinisch begründetem Verdacht, trotz normalen Schweißtests, kann eine genetische Analyse durchgeführt werden. Dabei werden in humangenetischen Instituten die 35-40 häufigsten CFTR-Mutationen bestimmt. Auch die Messung der nasalen transepithelialen Potentialdifferenz mit der Superperfusionsmethode (Knowles et al 1995) oder die Untersuchung von rektalen Schleimhautbiopsien in der Ussingkammer (Veeze 1991) stel-

len weitere Möglichkeiten zur Diagnosesicherung dar. Abbildung 2 stellt den Diagnosealgorithmus für zystische Fibrose dar.

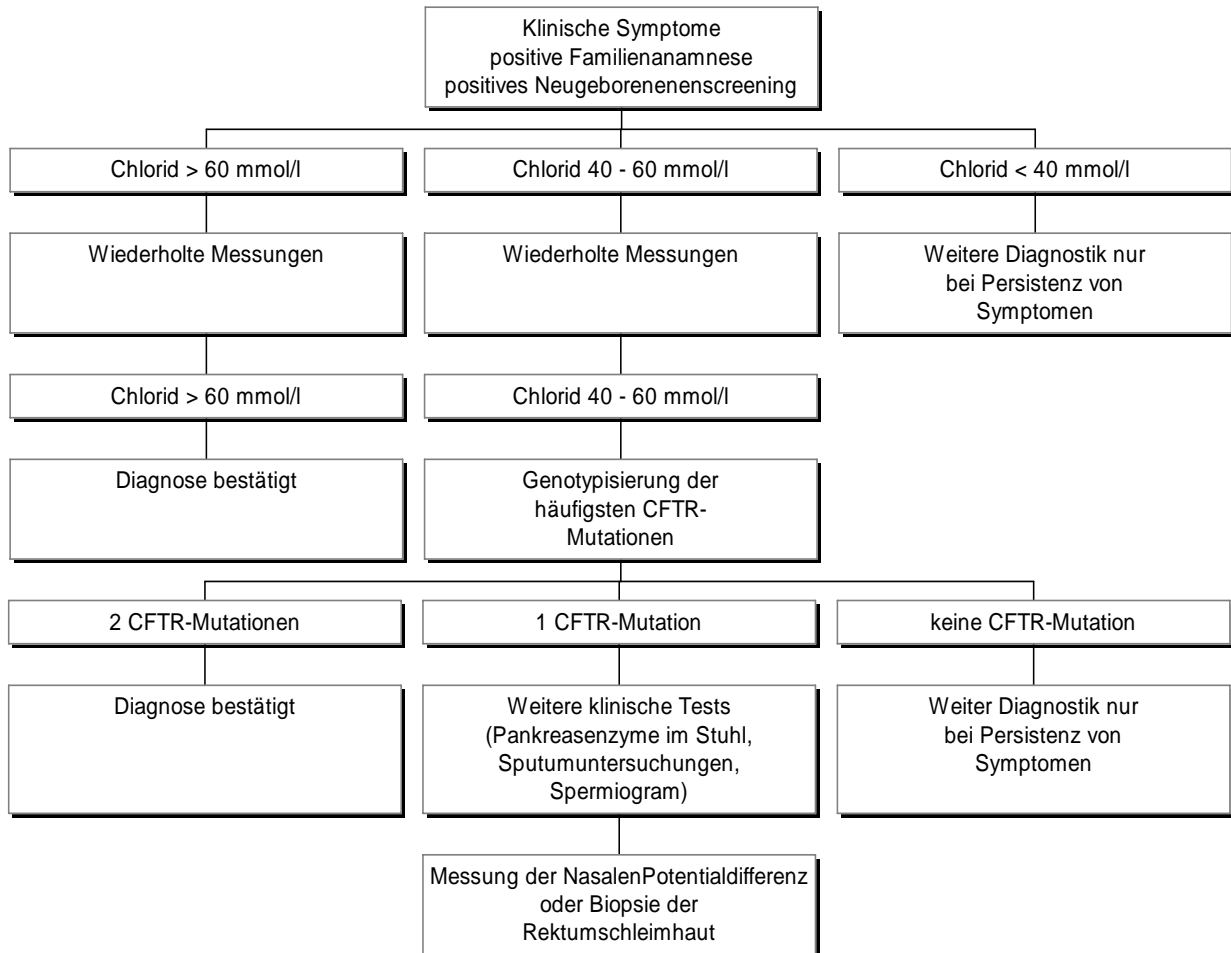


Abb. 2 Diagnosealgorithmus für Zystische Fibrose (Ratjen und Döring 2003)

In der klinischen Symptomatik ist besonders die Kombination pulmonaler und enteraler Symptome pathognomonisch für die Erkrankung. Im Neugeborenenalter ist der Mekoniumileus die erste Manifestation der CF. Bei jungen Säuglingen stehen oft Durchfälle und Gedeihstörungen im Vordergrund.

In der Abbildung 3 sind die häufigsten charakteristischen klinischen Zeichen aufgelistet. Insgesamt nehmen diese klinischen Krankheitserscheinungen Einfluss auf den Ernährungszustand der Patienten.

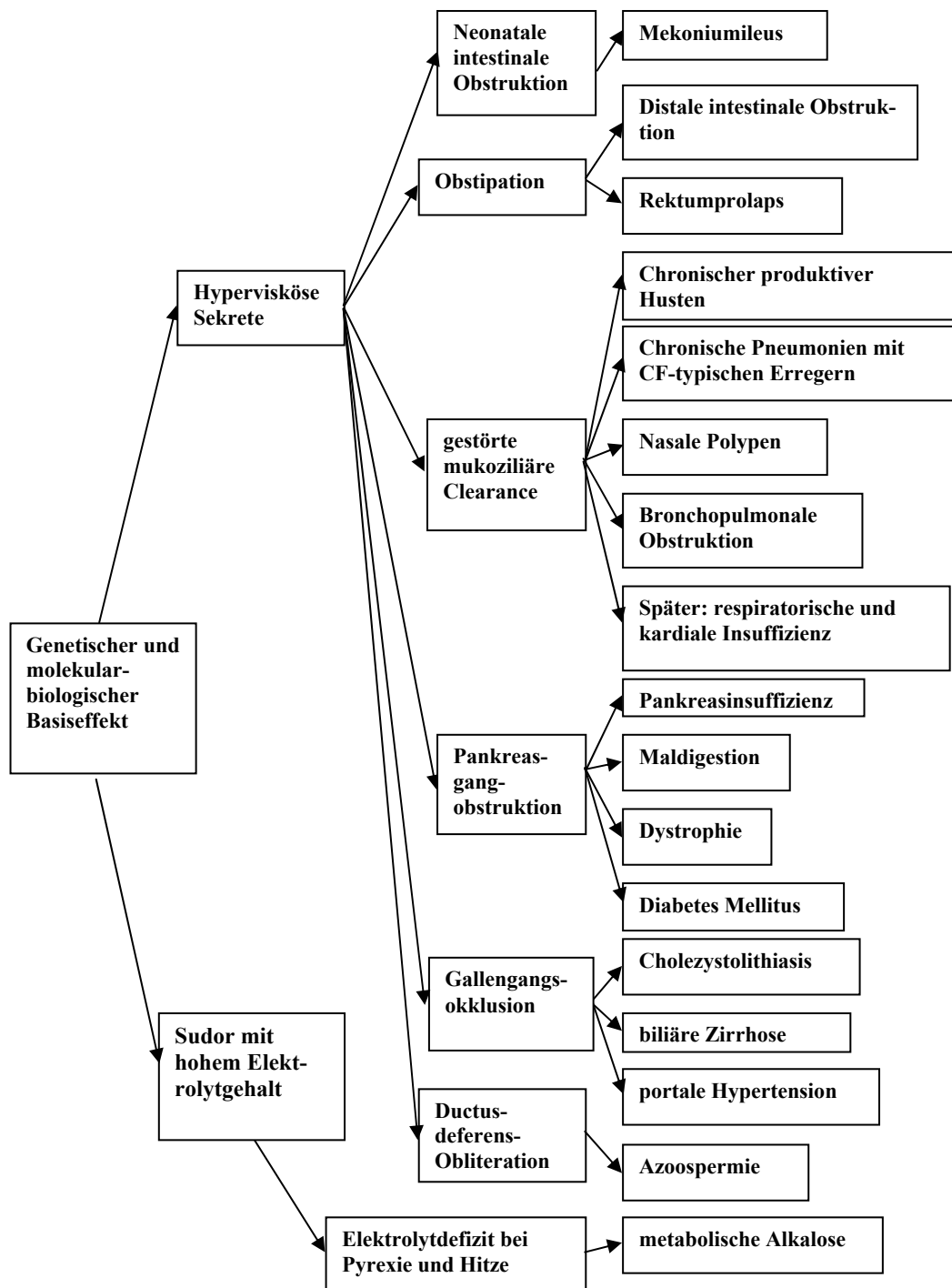


Abb. 3 Klinische Auswirkungen mit pathophysiologischen Ursachen bei der zystischen Fibrose (Tümmler und Lindemann 2004)

Verschiedene Mechanismen können dabei den Ernährungszustand reduzieren. Ursächlich wird der Ernährungsstatus durch ein Ungleichgewicht zwischen der Nah-

rungsaufnahme, dem Nährstoffverlust und dem Energieverbrauch bestimmt (Shale 2003). Während die empfohlene tägliche Nahrungsmenge etwa 120% - 130% der altersentsprechenden durchschnittlichen Nahrungsmenge entspricht, kann diese Empfehlung nicht immer eingehalten werden. Des Weiteren haben der Verlust an Nährstoffen und der gesteigerte Energiebedarf multifaktorielle Ursachen. So spielen Malabsorption, gastroösophagealer Reflux, gesteigerter Energieverbrauch der Atemmuskulatur, chronische Entzündungsreaktionen der Lunge und katabole Stoffwechselsituationen eine entscheidende Rolle. Die Abbildung 4 veranschaulicht die Pathogenese der Energieimbalance.

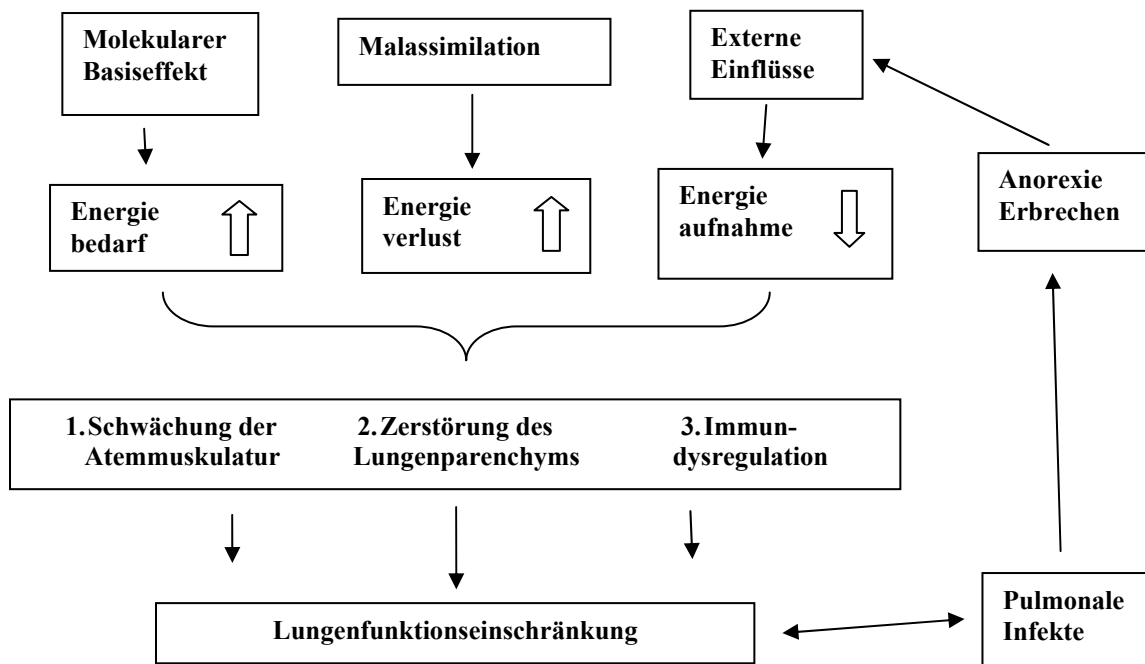


Abb. 4 Entstehungskreislauf der Energieimbalance bei CF (Durie et al 1989)

Die entscheidende Bedeutung des Ernährungszustandes wird durch die Korrelation zwischen Ernährungsstatus und der Lungenfunktion gezeigt. Longitudinalstudien konnten zeigen, dass unterernährte Patienten eine signifikant erniedrigte Lungenfunktion im Vergleich zu normal genährten Kontrollpersonen aufweisen (Stein-

kamp und Wiedemann 2002). Da die Lungenfunktion der verlässlichste Prädiktor der Überlebenswahrscheinlichkeit ist, ist der Ernährungszustand maßgeblich für die Prognose bei Zystischer Fibrose (Elborn und Bell 1996).

1.4 Stellenwert der proinflammatorischen Zytokine und Leukotriene

Aufgrund der chronischen Entzündung werden zunehmend proinflammatorische Zytokine ausgeschüttet, die ihrerseits den Neutrophileninflux mit weiterer Zytokinausschüttung induzieren. Es entwickelt sich ein „circulus vitiosus der Entzündung“, welcher als Hauptfaktor für die Pathogenese der Lunge bei CF verantwortlich ist.

Als proinflammatorische Zytokine sind dabei insbesondere Interleukin-8 (IL-8), Interleukin-1 (IL-1), Tumornekrosefaktor alpha (TNF- α) und Leukotriene B₄ zu nennen. Auch die Neutrophilenelastase, Lipopolysaccharid (LPS) und *Pseudomonas aeruginosa*-Antigen können den Neutrophileninflux und die Interleukin-8 (IL-8)-Ausschüttung stimulieren (Chmiel et al 2002).

Diese chronischen und akuten Immunreaktionen üben wegen der bestehenden Persistenz der bakteriellen Infektion zusätzlich einen negativen Einfluss auf die Lungenbeteiligung bei CF aus. Eine Schlüsselfunktion in der Entzündungskaskade nimmt das Lipopolysaccharidbindende Protein (LBP) ein. Es ist ein 58kDa großes Glycoprotein, welches erstmalig 1986 isoliert wurde und der Klasse I der Akut-Phase-Proteine zugeordnet ist, da die Synthese durch IL-6 stimuliert wird und IL-1 synergetisch wirkt (Schumann und Zweigler 1999; Tobias et al 1986). Das Lipopolysaccharidbindende Protein wird überwiegend von Hepatozyten synthetisiert (Grube et al 1994; Wan et al 1995; Baumann und Gauldie 1994). Es gibt aber auch extrahepatische Syntheseorte, die die LBP-Konzentration steigern können. So können auch Typ II-Epithelzellen des respiratorischen Epithels LBP produzieren (Den-

tener et al 2000), was besonders für die Lungenbeteiligung bei CF eine große Relevanz haben könnte.

Die Akut-Phase Reaktion wird durch verschiedene Reize wie bakterielle Infektionen, Traumata, Neoplasien, Verbrennungen und immunologischen Fehlfunktionen ausgelöst. Bei inhaliertem Lipopolysaccharid (LPS) stellt das LBP eine essentielle Komponente der akuten und chronischen Immunantwort dar. Bakteriell LPS ist eine Komponente der Zellwand gramnegativer Bakterien, wie *P.aeruginosa*. Die biologisch aktive Struktur von LPS ist eine azylierte Diglukosamin-Gruppe (Lipid A), gebunden an repetitive Disaccharide, welche zusammen den Antigencharakter von LPS ausmachen und innerhalb der verschiedenen Bakterienspezies unterschiedlich sind (Martin 2000). Wird nun LPS vom Akut-Phase Protein LBP erkannt, bindet es mit ihm an der Lipid A-Region.

Dieser LPS/LBP- Komplex kann von membrangebunden CD14-Rezeptoren an Makrophagen und Neutrophilen gebunden werden (Wan et al 1995). Durch das Andocken des LBP/LPS-Komplexes an den Toll-like Rezeptor 4 (TLR4) wird die Nuklear Faktor κ B-Kaskade induziert. In der Folge kommt es zur Synthese proinflammatorischer Zytokine (Schütt 1999; Palsson-Mcdermott und O'Neill 2004). In Untersuchungen mit Labormäusen konnte gezeigt werden, dass komplexgebundenes LBP die Zytokininduktion von LPS potenziert. Bei LBP-defizienten Mäusen (LPS^{-/-}) wurden nach LPS-Applikation deutlich höhere Überlebensraten als bei den über LBP-verfügbaren Kontrolltieren festgestellt (Jack et al 1997).

1.5 Protektiver Einfluss der Lipoproteine

Eine protektive Funktion von LBP konnte in einem Modell mit Mäusen gezeigt werden (Lamping et al 1998). Sowohl eine durch LPS als auch durch intakte Bakte-

rien ausgelöste Sepsis konnte nach Gabe von hohen LBP- Konzentrationen unterdrückt werden. Hohe Konzentrationen von LBP scheinen daher die LPS-Effekte hemmen zu können.

In einer Studie von Hamann et al konnte gezeigt werden, dass hohe LBP-Konzentrationen die LPS-Aktivität unterdrücken, indem sie die Bindung an CD 14 hemmen und Untergruppen von LPS (sLPS) an Plasmalipoproteine (HDL) binden (Hamann et al 2005). LPS wird, wie im nachfolgenden ausführlich beschrieben, durch die Bindung an Lipoproteine (HDL) inaktiviert.

Nach der Endotoxin-Lipoprotein-Hypothese (Rauchhaus et al 2000, Martin 2000) können Lipoproteine einen protektiven Effekt in bezug auf die Regulation der Zytokinausschüttung haben, indem sie mithilfe des Kofaktors LBP LPS binden und inaktivieren.

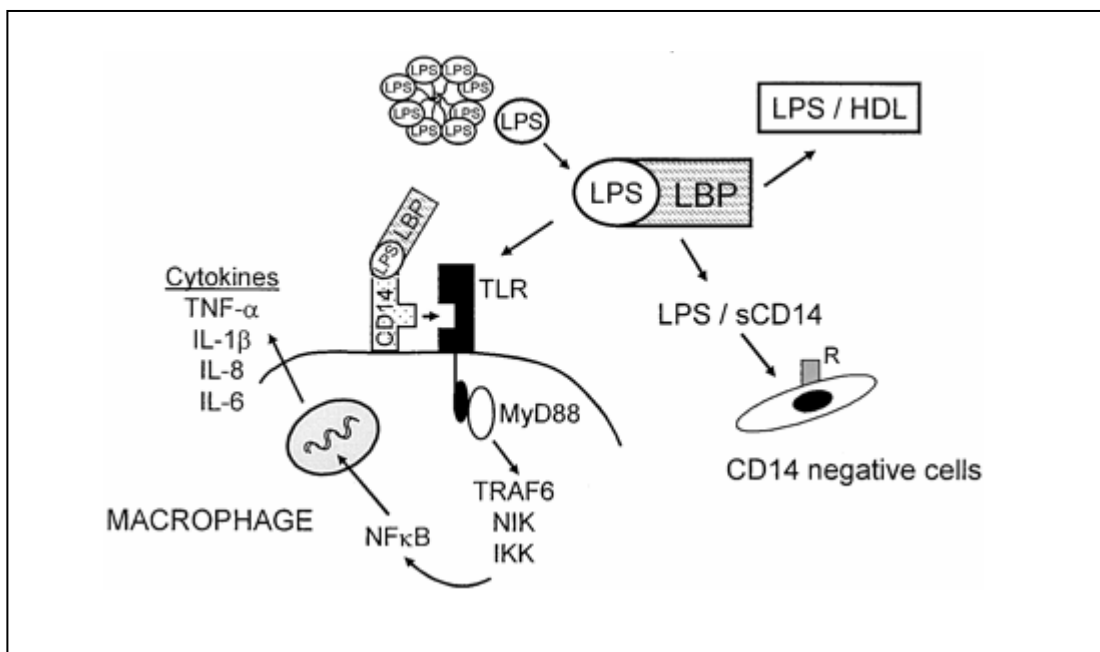


Abb. 8 Lipopolysaccharid (LPS)- Transport zu löslichen und Membranproteinen.

LPS bindet in Lösung an LBP (Lipopolysaccharidbindendes Protein) und wird dadurch aus dem Micellenverband gelöst. Durch den Transport zu HDL (high den-

sity lipoprotein) wird LPS inaktiviert. Im LPS/sCD14 (lösliches CD14) Komplex kann LPS Endothel- und Epithelzellen stimulieren, die über keine membranständigen CD14-Rezeptoren verfügen. Der Transport des LPS/LBP-Komplexes zu membranständigen CD14-Rezeptoren bewirkt eine Aktivierung von Membranproteinen wie TLR4 und löst so die Signalkaskade, mit NF κ B aus, die zur Zytokinausschüttung führt (Martin 2000).

Neben Lipoproteine hoher Dichte (HDL, high density lipoprotein) können auch Lipoproteine geringer Dichte (LDL, low density lipoprotein) im Beisein des Kofaktors LBP, LPS im Serum binden und neutralisieren (Wurfel 1994; Ulevitch et al 1981; Van Lenten et al 1986; Flegel et al 1993). Aber nicht nur für cholesterinreiche sondern auch für triglyceridreiche Lipoproteine wurden protektive Eigenschaften gefunden (Read et al 1995; Harris et al 1990).

Da auch VLDL (very low density lipoprotein) Endotoxin binden und inaktivieren kann, ist wohl weder die Cholesterin- noch die Triglyceridregion für die Inaktivierung verantwortlich. Vielleicht kommt es bei der Neutralisierung zu einer Lipid-Glycolipid-Interaktion (Harris et al 1990).

Aufgrund der in vitro- und Mausmodellstudien, die den vor Inflammation schützenden Effekt der Lipoproteine belegen, liegt die Vermutung nahe, dass bei CF-Patienten auch das veränderte Lipoproteinprofil, Einfluss auf den Krankheitsverlauf nehmen kann (Levy et al 1993, Farrell et al 1987). Der Fettstoffwechsel wird unter anderem durch Pankreasinsuffizienz und Malassimilationssyndrom ungünstig beeinflusst und lässt sich klinisch als Ernährungszustand erfassen. Longitudinalstudien zeigen, dass der Ernährungszustand Einfluss auf den klinischen Verlauf nimmt. Unterernährte CF-Patienten jeden Alters haben eine signifikant erniedrigte Lungenfunktion gegenüber Normalgewichtigen. (Steinkamp et al 2002, Zemel et al 2000). Da die Lungenfunktion ein prognostischer Parameter darstellt, ist auch der

Ernährungszustand des CF-Patienten eine wichtige Einflussgröße auf den klinischen Verlauf (Elborn und Bell 1996).

Insofern ist zu spekulieren, ob Lipoproteinprofile Einfluss auf den Krankheitsverlauf bei Mukoviszidose ausüben.

1.6 Leptin

Bei der Suche nach Einflussgrößen auf den Ernährungszustand, ist das von Adipozyten gebildete Hormon Leptin zu nennen. Leptin wird hauptsächlich von dem *ob*(obese)-Gen des subkutanen Fettgewebes exprimiert und spiegelt den Körperfettgehalt wider (Considine et al 1996). Im Hypothalamus (siehe Abbildung 9) ist es an Leptin-Rezeptoren gebunden und wirkt so vorwiegend Appetit mindernd (Woods und Stock 1996). Das vom Hypothalamus normalerweise exprimierte Neuropeptid Y wird durch diesen Mechanismus von Leptin herunterreguliert. Es resultiert vermehrte Appetitlosigkeit, eine Steigerung des sympathischen Nervensystems sowie des Energieverbrauchs (Schwartz und Seeley 1997).

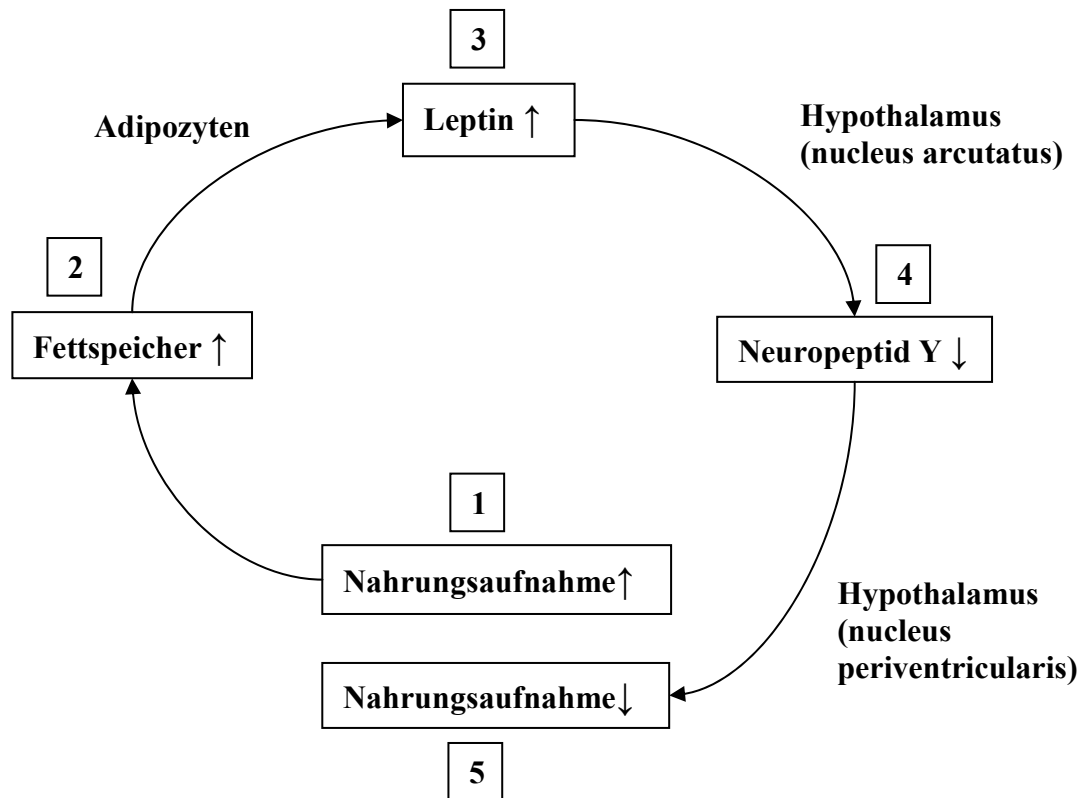


Abb. 9 Hypothetische, vereinfachte Darstellung des Regulationsmechanismus von Leptin. Modifiziert nach Schwartz und Seeley 1997

Da es auch beim Krankheitsbild der Adipositas zum Anstieg der Serum-Leptinkonzentration kommt, scheint die ausbleibende Appetitzügelung eher einem Rezeptordefekt zugrunde zu liegen (Considine et al 1996).

Da Leptin eine Steigerung des Energieverbrauchs evoziert, und eine negative Energiebilanz - wie bei CF - einen ungewollten Gewichtsverlust mit sich führt, könnte auch eine gesteigerte Serumkonzentration des Leptins den Gewichtsverlust verstärken. Der Leptinregulationsmechanismus könnte durch das hormonale und metabolische Ungleichgewicht im Rahmen chronischer Erkrankungen mitbetroffen sein und zu veränderten Leptinspiegeln führen. Insofern ist der Leptinspiegel auch bei CF-Patienten von Interesse.

Zu einer Dysregulation im Ernährungshaushalt können auch möglicherweise inflammatorische Zytokine, wie TNF- α und IL-8 beitragen. Obwohl die zugrundeliegenden Mechanismen nicht geklärt sind (Sarraf et al 1997) könnte auch Leptin an der lokalen inflammatorischen Immunantwort beteiligt sein (Broekhuizen et al 2005).

In Tierstudien konnte gezeigt werden, dass bei Mäusen und Hamstern, nach längerer Fastenzeit mit konsekutiv erniedrigten Leptin-Werten, nach Applikation von proinflammatorischen Zytokinen oder Endotoxin, die Leptinkonzentration steigt (Grunfeld et al 1996; Sarraf et al 1997). Des Weiteren ist der ungewollte Gewichtsverlust bei Menschen mit COPD mit erhöhten Zytokinkonzentrationen (TNF- α) assoziiert (Di Franca et al 1994). Auch für IL-8 und andere Zytokine konnte bei In-vitro- und Tierstudien gezeigt werden, dass Entzündungszytokine Anorexie und Kachexie bewirken (Plata-Salaman und Borkoski 1993; Plata-Salaman und Borkoski 1994; Yang et al 1994). Daher ist zu diskutieren, ob bei CF-Patienten eine LPS-induzierte Zytokinausschüttung zu Gewichtsverlust und Verschlechterung des Ernährungszustandes über veränderte Leptinspiegel führt.

Arumugam und Mitarbeiter konnten diese Annahme nicht bestätigen. Sie fanden keine Unterschiede der Leptinwerte von CF- Patienten und Kontrollpersonen (Arumugam et al 1998). Allerdings zeigten die untersuchten Personen auch keine Unterschiede in Bezug auf den Körperfettgehalt oder den body mass index (BMI). Kritisch ist ferner anzusehen, dass weder die kalorischen noch die inflammatorischen Parameter berücksichtigt wurden.

1.7 Ziel der Studie

Ziel dieser Studie ist es zu zeigen ob Serum-Lipoproteine, LBP-Werte und die Zytokinproduktion den klinischen Schweregrad der Erkrankung bei zystischer Fibrose beeinflussen. Ferner soll untersucht werden, ob zwischen Leptin, der Sekretion proinflammatorischer Zytokine (vor und nach einer Stimulation mit Lipopolysaccharid) und dem klinischen Schweregrad der zystischen Fibrose eine Korrelation besteht.

2 Patienten und Methoden

2.1 Patienten

Zur Durchführung dieser Studie wurden 44 Patienten mit Zystischer Fibrose aus den Mukoviszidose-Ambulanzen der Universitätskliniken Bonn, Frankfurt und Essen rekrutiert. Als Voraussetzung zur Aufnahme in die Studie galt für alle untersuchten Patienten, dass sie Träger der Mutation Delta F 508 auf Chromosom 7q in homozygoter Form sind.

Zum Ausschluss einer akuten Infektion nahmen nur Patienten ohne klinische oder laborchemische Entzündungszeichen ($\text{CRP} \leq 20\text{g/l}$) an den Untersuchungen teil. Auch eine systemische Steroidbehandlung innerhalb der letzten 14 Tage führte zum Ausschluss.

Zur Sicherstellung einer intakten Leberfunktion, wurden nur Patienten mit Transaminasenwerten, die weniger als das zweifache des Normwertes betragen, in die Studie einbezogen. Ferner durften die Patienten innerhalb der letzten 30 Tage an keiner anderen Studie teilgenommen haben.

2.1.1 Gruppierung der Patienten

Die Patienten wurden entsprechend des Shwachman-Scores der Gruppe A (klinisch milder Verlauf, 71-100 Punkte) oder der Gruppe B (klinisch schwerer Verlauf, 41-55 Punkte) zugeordnet. Der Shwachman-Score basiert auf standardisierten Befunden einer aktuellen Röntgen-Thorax-Aufnahme, dem Ernährungszustand, dem klinischen pulmonalen Befund und dem Aktivitätsgrad, zur Zeit der Untersuchung (Shwachman und Kulczycki 1958). Abbildung 10 zeigt den Evaluationsbogen zur Ermittlung des Scores. Mithilfe einer Punkteskala von <40 Punkten (schwer betroffen) bis 100 Punkten (sehr gut) wird der Erkrankungsgrad bewertet. Für die vorlie-

gende Untersuchung wurden Patienten mit sehr guten und guten Punktescores (71-100 Punkte) als Patienten der Gruppe A, mit klinisch milderem Verlauf zusammengefasst. Diesen wurden Patienten mit mittelschwerem Verlauf (40-55 Punkte) als Gruppe B gegenübergestellt.

Allgemeinzustand:	<input type="checkbox"/> 25 P.: Völlig normale Aktivität: spielt Ball, regelmäßiger Schulbesuch <input type="checkbox"/> 20 P.: Geringe Ausdauer; wird abends müde, Schulbesuch gut <input type="checkbox"/> 15 P.: Ruht sich tagsüber gern aus; ermüdet leicht nach Anstrengungen; Schulbesuch ausreichend <input type="checkbox"/> 10 P.: nach kurzem Gehen Dyspnoe, ruht sich sehr viel aus <input type="checkbox"/> 5 P.: Orthopnoe, bettlägerig oder sitzend
Erreichte Punkte:	___
Klinischer Befund:	<input type="checkbox"/> 25 P.: Kein Husten, Lunge frei, Puls & Atmung normal <input type="checkbox"/> 20 P.: Puls & Atmung normal, selten Husten/Räuspern, keine Trommelschlegelfinger, Lungen frei, minimales Emphysem <input type="checkbox"/> 15 P.: Morgens Husten, Atmung leicht beschleunigt, leichtes Emphysem, lokalisierte Rasselgeräusche <input type="checkbox"/> 10 P.: Häufig Husten mit Auswurf, Thoraxeinziehungen, Trommelschlegelfinger, Rasselgeräusche, mäßiges Emphysem <input type="checkbox"/> 5 P.: Dauerhusten, Tachypnoe & Tachykardie, erheblicher Lungenbefund, Trommelschlegelfinger, Rechtsherzbelastung
Erreichte Punkte:	___
Ernährungszustand:	<input type="checkbox"/> 25 P.: Gewicht & Länge über 25 %ile, Muskelmasse gut, normale Stühle, Muskeltonus normal <input type="checkbox"/> 20 P.: Gewicht & Länge zwischen 15– 20%ile, Stühle weich, ausreichender Muskeltonus & Muskelmasse <input type="checkbox"/> 15 P.: über 3%ile, Durchfall, schlaffer Muskeltonus & reduzierte Masse, sehr geringe Auftreibung des Abdomens <input type="checkbox"/> 10 P.: unter 3 %ile, Fettstühle, leichte bis mäßige Abdomenaufreibung, Muskeltonus & Masse reduziert <input type="checkbox"/> 5 P.: Erhebliche Unterernährung, Rectum-Prolaps, aufgetriebenes Abdomen, erhebliche & zahlreiche Fettstühle
Erreichte Punkte:	___
Röntgenbefund:	<input type="checkbox"/> 25 P.: Lunge frei <input type="checkbox"/> 20 P.: Minimale Betonung der Bronchial-& Gefäßzeichnung, beginnendes Emphysem <input type="checkbox"/> 15 P.: Leichtes Emphysem mit fleckförmigen Atelektasen, vermehrte Bronchial- & Gefäßzeichnung <input type="checkbox"/> 10 P.: Emphysem, ausgedehnte Atelektasen, kleine Infektionsherde <input type="checkbox"/> 5 P.: Ausgedehnte Infektionen, Zeichen der Verlegung der Luftwege, lobäre Atelektasen & Bronchiektasien
Erreichte Punkte:	___
Gesamtpunktzahl:	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> (0 –100)
Bewertung:	<input type="checkbox"/> 86-100 Punkte: sehr gut <input type="checkbox"/> 71-85 Punkte: gut <input type="checkbox"/> 56-70 Punkte: leichtkrank <input type="checkbox"/> 40-55 Punkte: mittelschwer <input type="checkbox"/> <40 Punkte: schwer
Abb. 10	Evaluationsbogen des Shwachman-Score mit Bewertungsskala

2.1.2 Kontrollpersonen

Als Kontrollpersonen (Gruppe C) dienten 22 Personen, die sich aus Medizinstudenten, medizinischem Personal und gesunden Kindern zusammensetzten. Für die Kontrollpersonen galten dieselben Ausschlusskriterien, wie für die Mukoviszidosepatienten. Um altersbedingte Unterschiede zu minimieren, wurden die Patienten nur mit gleichgeschlechtlichen und gleichaltrigen Kontrollpersonen (± 2 Jahre) verglichen.

2.2 Methoden

Folgende Parameter wurden erhoben:

Lungenfunktion (VC, FEV₁, MEF₂₅, R_{tot}); Zytokine (IL-8; TNF- α : vor und nach der Stimulation mit Lipopolysaccharid (LPS)); Lipoproteine (HDL, LDL, VLDL, TRG, Cholesterol) CRP, LBP, Leptin, weitere laborchemische Parameter, wie ein Blutbild mit Differenzierung, Vitamin E, IgE, die oral aufgenommenen Kalorien (kcal/kg KG) und Fettmenge (g/kg KG).

2.2.1 Lungenfunktionsuntersuchung

Die Lungenfunktion wurde mithilfe eines Spirometers und Bodyplethysmographen des Typs Master Screen Body, Fa Viasis, Würzburg Deutschland untersucht.

2.2.1.1 Spirometrie

Es wurden jeweils die Prozentangabe des individuellen Sollwertes und der Absolutwert der Vitalkapazität (VC), der forcierten Einsekundenkapazität (FEV₁) und der maximalen expiratorischen Atemstromstärke bei 25% (MEF₂₅), 50 % (MEF₅₀) und 75% der Vitalkapazität (MEF₇₅) gemessen. Um die intraindividuelle Variabilität zu reduzieren wurden für die Messwerte der VC, FEV₁ und MEF₂₅ die Mediane aus drei Lungenfunktionsuntersuchungen errechnet. Dazu wurde die Untersuchung

bei dem letzten Ambulanzbesuch vor der Blutentnahme, die Lungenfunktionsuntersuchung zum Zeitpunkt der Blutentnahme und die erste Untersuchung in der Mukoviszidose-Ambulanz nach der Blutentnahme berücksichtigt.

2.2.1.2 Bodyplethysmographie

Im Bodyplethysmographen wurde die totale Resistance (R_{tot}) gemessen. Auch dieser Wert wurde zur Minimierung intraindividuelle Variabilität über drei Lungenfunktionsuntersuchungen gemittelt.

2.2.2 Laborchemische Parameter

Durch eine Venenpunktion wurde allen Patienten, Kontrollpersonen und Eltern Vollblut entnommen und mit EDTA zur Messung der Zytokine, LBP und übrigen Laborparameter versetzt. Dazu wurden endotoxinfreie Monovetten (EDTA, SARSTEDT Monovette[®]) verwendet. Zusätzlich wurde ein Serumröhrchen (Serum SARSTEDT[®]) mit Vollblut für die Bestimmung der Lipoproteine und Leptin abgenommen. Die Patienten hatten zum Zeitpunkt der Blutentnahme eine achtstündige Nahrungskarenz eingehalten.

2.2.2.1 Ex vivo Lipopolysaccharid (LPS)-Stimulation

Es wurde eine Lipopolysaccharid-Stammlösung aus LPS von *Escherichia coli*-Bakterien; B055 (Fa Sigma, Deutschland) und dem Nährmedium RPMI 1640 mit L-Glutamin (Fa Gibco, Invitrogen Cooperation, United Kingdom) in einer Konzentration von 10ng/ml hergestellt. Zur Durchführung der Stimulation wurden unter sterilen Bedingungen 50 μ l Vollblut (EDTA-Röhrchen, SARSTEDT Monovette[®]) mit 500 μ l der LPS-Stammlösung versetzt, sodass der Stimulationsansatz eine LPS-Konzentration von 5ng/ml besaß. Parallel dazu wurde in einem Leerwertansatz 50 μ l Vollblut mit 500 μ l reiner Nährlösung (RPMI 1640 mit L-Glutamin) versetzt. Um die Streuung zu reduzieren, wurden jeweils drei identi-

sche Ansätze jeder Probe hergestellt. Nach Durchmischung der einzelnen Ansätze wurden diese für vier Stunden bei 37°C, einer relativen Luftfeuchtigkeit von 95% und 5% CO₂ inkubiert (IR 1500 automatic CO₂ Inkubator, Flow Laboratories, Italien). Nach dieser Inkubationszeit wurden die Proben erneut durchgemischt und bei 1000g für 5 Minuten zentrifugiert (Heraeus, Hanau, Deutschland). Die Überstände wurden in einem sterilen 1,5 ml Eppendorfgefäß gepoolt (um die intraindividuelle Variabilität zu minimieren) und in drei Aliquots zu je 500µl aufgeteilt und bei -20°C tiefgefroren.

2.2.2.2 Messung der Zytokine und Akut-Phase-Proteine

Zur Messung der Zytokine wurden alle gesammelten Proben aufgetaut, auf Raumtemperatur erwärmt und in einem Zyklus gemessen. Es wurden die Entzündungsmediatoren: Interleukin-8 (IL-8) und Tumornekrosefaktor-alpha (TNF- α) gemessen. Ohne Zusatz von RPMI wurde das Akut-Phase-Protein LBP (Lipopolysaccharid-Bindendes-Protein) aus EDTA-Plasma direkt bestimmt. Die Zytokin- und LBP-Messung wurde mittels eines Festphasen-Sandwich-Chemilumineszenz-Enzymimmunoassays der Firma DPC Biermann, Bad Nauheim, Deutschland, durchgeführt. Dabei besteht dieser immunometrische Assay aus einer Polystyrolkugel mit spezifischen Antikörpern als Festphase (siehe Abbildung 11). An diese Antikörper bindet das zu messende Zytokin oder Akut-Phase-Protein. Die anschließend hinzugefügten zytokinspezifischen Antikörper sind zusätzlich mit einer alkalischen Phosphatase markiert. Gemeinsam mit den Zytokinen und der Festphase bildet sich ein Sandwichkomplex. Nach einer 1-stündigen Inkubationszeit und Auswaschung der ungebundenen Komponenten, wird das Chemilumineszenz-Substrat hinzugegeben. Dieses Chemilumineszenz-Substrat wird während einer 10-minütigen Inkubationszeit von der gebundenen alkalischen Phosphatase umgesetzt.

Die dabei ausgelöste Lichtemission wird photometrisch gemessen und ist der zu ermittelnden Zytokinkonzentration direkt proportional.

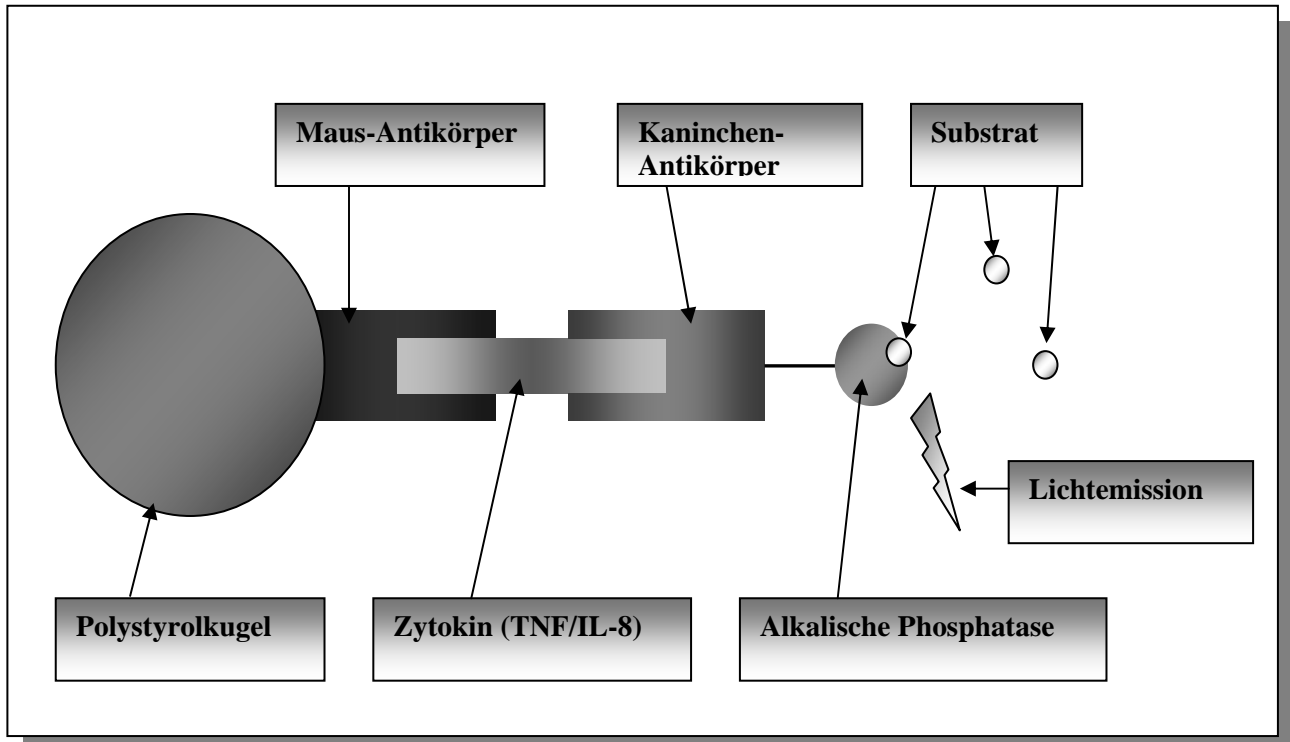


Abb.11: Modell eines Chemilumineszenz-Enzymimmunoassays

Laut den Angaben des Herstellers besitzt dieser immunometrischer Assay eine gute Intraassay-Präzision mit einem Variationskoeffizienten für IL-8 von 3,7%, für TNF- α von 3,6% und für LBP von 5,8%. Die Interassay-Präzision liegt für IL-8 bei 7,4%, für TNF- α bei 6,5% und für LBP bei 10,6%. Der Assay ist hochspezifisch (100% für IL-8 und TNF- α , 99,9% für LBP). Die untere Nachweisgrenze (Sensitivität) liegt bei 2 pg/ml für IL-8, 1,7 pg/ml für TNF- α und bei 0,2 μ g/ml für LBP.

2.2.2.3 Lipoproteine und Triglyceride

Die Messungen der Triglyceride und Lipoproteine wurden gesammelt im Labor der klinischen Pharmakologie der Universität Bonn durchgeführt. Den Patienten wurde nach einer 8-stündigen Nahrungskarenz, morgens Blut in Serumröhrchen (SERUM,

SARSTEDT Monovette[®], Deutschland) entnommen und unverzüglich bei Raumtemperatur abzentrifugiert (3000 x g für 10 Minuten, Heraeus, Hanau, Deutschland) Die Serumproben wurden in 500µl Aliquots bei -20°C, bis zur gemeinsamen Messung, eingefroren. Die Cholesterin- und Triglyceridbestimmung erfolgte bei den auf Zimmertemperatur erwärmten Proben enzymatisch. Gesamtcholesterin und HDL- Cholesterol wurden durch die Präzipitation von Apolipoprotein B-Partikel mithilfe von Dextransulphat und PEG modifizierter Esterase/Oxidase (HDL-C⁺, Roche diagnostics, Mannheim, Deutschland) bestimmt. Die Triglyceridbestimmung erfolgt durch enzymatische Spaltung der Triglyceride mit anschließender Messung des entstandenen Glycerins (Methode modifiziert nach Bergmeyer u. Nägele)

Die LDL- Cholesterin-Konzentration wird nach der Friedewaldformel berechnet:

LDL-Cholesterin= Gesamtcholesterin – (HDL-Cholesterin + Triglyceride: 5).

(Friedewald et al. 1972)

2.2.2.4 Leptin

Zur Bestimmung der Leptinkonzentration im Blutplasma wurden ein Sandwich-Enzym-Immunoassay (ELISA) der Firma R&D Systems GmbH, Wiesbaden-Nordenstadt, Deutschland und ein Photometer der Firma Anthos Laptec Instruments verwendet.

Die Serumproben werden dazu auf eine Mikroplatte pipettiert, die mit einem monoklonalen Leptinantikörper beschichtet ist. Das daran bindende Leptin aus dem Serum wird so an die Mikroplatte fixiert. Anschließend wird ein enzymgebundener monoklonaler Leptinantikörper hinzugefügt. An das Enzym bindet ein beigefügtes Substrat, welches photometrisch gemessen werden kann und direkt proportional die Leptinkonzentration des Serums angibt.

2.2.2.5 Übrige Parameter

Von allen Patienten, Kontrollen und Eltern wurde nach Blutentnahme in einem endotoxinfreien Röhrchen (EDTA SARSTEDT Monovette®) ein Differentialblutbild erstellt und aus einem Serumröhrchen der CRP- Wert, Vitamin E und IgE gemessen.

Es wurde eine Sputumprobe gewonnen und mikrobiologisch untersucht. Sofern kein Expektorat zu gewinnen war, wurde alternativ ein Rachenabstrich abgenommen.

2.2.3 Ernährung

Um die durchschnittliche Nahrungs- und Fettaufnahme beurteilen zu können, führten alle Patienten, Kontrollen und Eltern über 7 Tage ein standardisiertes Ernährungsprotokoll, in der Woche vor der Blutentnahme.

Diese Ernährungsprotokolle wurden mittels der Ernährungssoftware der deutschen Gesellschaft für Ernährung (DGE)-PC professional Version 2.8.0.26 einheitlich ausgewertet. Ein Exemplar des Ernährungsprotokolls findet sich im Anhang in Tabelle 6.

2.2.3.1 Orale Kalorien- und Fettaufnahme

Die tägliche Kalorien- und Fettaufnahme pro Kilogramm Körpergewicht der Patienten und Probanden wurde rechnerisch aus dem Ernährungsprotokoll und dem Gewicht ermittelt und in Gramm pro Kilogramm Körpergewicht angegeben.

2.2.4 Statistik

Unterschiede zwischen den drei Gruppen wurden für stetige Parameter (TNF- α , IL-8, LBP, FEV₁, VC, MEF₂₅, HDL, LDL, VLDL, Cholesterin, Triglyceride, Leptin, BMI, Gewicht) mit Hilfe einer Kruskal-Wallis Analyse berechnet. Paarweise Vergleiche zwischen zwei Patientengruppen, wurden mittels Mann-Whitney-U-Test analysiert. Korrelationen zwischen quantitativen Parametern wurden mit dem Spearman Korrelationskoeffizienten errechnet. Sämtliche Berechnungen erfolgten unter Zuhilfenahme von SPSS Version 11.5 Software Package.

Das General Linear Modell (GLM) wurde verwendet, um die multifaktoriellen Einflüsse der untersuchten Prüfgrößen (*Pseudomonas aeruginosa*, klinischer Status, Alter, Lungenfunktion: FEV₁, VC, MEF₂₅, Leukozyten, Granulozyten, Monozyten, Zytokine: IL-8, TNF- α , LBP, Lipoproteine: HDL, LDL, VLDL, Cholesterin und Triglyceride) herauszufiltern. Nur Haupteffekte wurden in die erste Stufe einbezogen. Das Modell wurde reduziert, indem die Faktoren mit den höchsten p-Werten ausgeschlossen wurden, solange sie größer 0.1 waren. Um Interaktionen zwischen den verbleibenden Variablen herauszufiltern, wurden Two-way-Interaktionen bezogen und nach der gleichen Strategie schrittweise ausgeschlossen. Das General Linear Modell wurde mittels SAS-Software (Version 8.02) errechnet.

2.2.5 Ethikkommission

Das Studienprotokoll unterlag der Genehmigung der Ethikkommissionen der beteiligten Zentren (Bonn, Frankfurt, Essen). Alle Patienten bzw. deren Erziehungsberechtigte hatten schriftlich ihr Einverständnis gegeben.

3 Ergebnisse

3.1 Patienten

Vierundvierzig Patienten (28 männliche und 16 weibliche Patienten) und 22 Kontrollpersonen (14 männlich und 8 weiblich) nahmen an der Untersuchung teil. Eine tabellarische Darstellung der Patientencharakteristika findet sich im Anhang unter Tabelle 1.

3.1.1 Patientencharakteristika

Der Altersmedian der Patienten lag bei 12,5 Jahren (Spannweite 6 Monaten bis 40 Jahre). Bei 37 der 44 Patienten wurde ein Lungenfunktionstest durchgeführt. Bei den übrigen 7 Patienten war aufgrund ihres Alters (<4 Jahre) keine Lungenfunktionsuntersuchung möglich. Bei allen Patienten konnte eine mikrobiologische Untersuchung von Sputum oder Rachenabstrich veranlasst werden. Bei 25 Patienten fand sich *Pseudomonas aeruginosa*. Die Patienten wurden entsprechend des klinischen Schweregrades der Erkrankung dem Shwachman-Score in die oben beschriebenen Gruppen zugeordnet.

3.1.2 Matching

Um alters- (± 2 Jahre) und geschlechtsspezifische Unterschiede zu vermeiden, wurden in der Studie die Patienten (milder klinischer Verlauf = Gruppe A, schwerer klinischer Verlauf = Gruppe B, Kontrollpatienten = Gruppe C) nach dem Prinzip der „matched pairs“ einander zugeordnet. Folgendes Beispiel dient zur Veranschaulichung dieses Systems : jeweils ein weiblicher, 8 bis 10 jähriger Patient aus den Gruppen A und B und eine weibliche, 8 bis 10 jährige Kontrollperson der Gruppe C werden miteinander verglichen und ergeben einen Triple.

Die Auflistung der einzelnen statistischen Ergebnisse erfolgt, falls nicht gesondert aufgeführt, jeweils in der Reihenfolge: Gruppe A/Gruppe B/Gruppe C.

3.2 LBP-Produktion/Zytokinproduktion

Tabelle 2 zeigt die Messergebnisse der LBP/Zytokinwerte der Patienten im Vergleich zu den Kontrollprobanden.

3.2.1 Lipopolysaccharide binding protein (LBP)

Es zeigte sich ein signifikanter Unterschied bei den LBP-Meßergebnissen zwischen den Patienten mit mildem, mittelschwerem Krankheitsverlauf sowie den Kontrollpersonen. (Median 4,3/7,2/4,0 mg/dl; Mittelwert 5,8/7,2/4,6 mg/dl; Spannweite 1,5-14,2/1,3-14,5/1,4-16,5 mg/dl; $p < 0,016$). Während kein Unterschied zwischen Patienten mit mildem Krankheitsverlauf und Kontrollpatienten bestand, fanden sich signifikant hohe Werte für Patienten mit mittelschwerem Verlauf im Vergleich zu denen mit mildem Verlauf ($p < 0,084$) und Gesunden ($p < 0,004$) (siehe Tabelle 2).

3.2.2 Interleukin-8 (IL-8) und Tumor necrosis factor-alpha (TNF- α)

Auch bei den Zytokinen zeigten sich für IL-8 und TNF- α signifikante Unterschiede zwischen den milder und mittelschwer betroffenen Patienten sowie den Kontrollpersonen (IL-8: Median 15/25,1/8,0 pg/ml; Mittelwert 22,4/43,3/10,7 pg/ml; Spannweite 2,5-100/5,4-283/2,5-31 pg/ml; $p < 0,005$), (TNF- α : Median 43/56/30,2 pg/ml; Mittelwert 48,2/57,9/33,3 pg/ml; Spannweite 27-73,4/10-146/8-75 pg/ml; $p < 0,0001$) (siehe Tabelle 2). Im Vergleich der einzelnen Gruppen zeigte sich ein Trend für signifikante Unterschiede für IL-8 sowohl zwischen den Patienten mit mittelschwerem und mildem Verlauf ($p < 0,078$) als auch zwischen den Patienten mit mittelschwerem Verlauf und den Kontrollpersonen ($p < 0,001$). Jedoch zwischen der Patientengruppe mit mildem Krankheitsverlauf und Gesunden bestand kein signifikanter Unterschied. Bei den TNF- α -Messungen

fand sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Patienten mit mildem und mittelschwerem Verlauf.

Es bestand lediglich ein Unterschied zwischen Patienten mit mildem/mittelschwerem Erkrankungsgrad und Gesunden ($p < 0,002$ / $p < 0,0001$).

3.3 Kalorien- und Fettaufnahme

Bezogen auf die orale Fettaufnahme, gemessen in Gramm pro Kilogramm Körpergewicht, zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen milder, mittelschwerer Verlaufsform und den Kontrollpersonen (Median 1,88/2,38/1,28 ; Mittelwert 2,26/3,05/1,45 g/kg; Spannweite 0,8-5/1,13-6,9/0,74-2,89 g/kg; $p < 0,007$). Bei den Einzelgruppenvergleichen ergaben sich für Patienten mit mildem klinischen Verlauf signifikant höhere Werte als bei den Kontrollpersonen ($p < 0,003$). Auch Patienten mit klinisch schwererem Verlauf zeigten eine signifikant höhere Fettaufnahme als die Kontrollpersonen ($p < 0,002$).

3.4 Lipoproteine und Triglyceride

Die tabellarische Darstellung der Lipoproteinwerte befindet sich im Anhang in Tabelle 3.

3.4.1 Triglyceride (TRG) Very low density lipoprotein (VLDL) und High density lipoprotein (HDL)

Keine Signifikanz erreichten die Unterschiede der Lipoproteinwerte für TRG, VLDL und HDL (TRG: Median 106/89,5/76 mg/dl; Mittelwert 101/97,86/90,67 mg/dl; Spannweite 61-142/12-197/52-209 mg/dl), (VLDL: Median 21/19/15 mg/dl; Mittelwert 20,23/27,32/18,19 mg/dl; Spannweite 12-28/10-123/10-42 mg/dl) und (HDL: Median 43,5/45,5/55 mg/dl; Mittelwert 49,73/46,05/56,86 mg/dl; Spannweite 36-85/22-73/36-101 mg/dl).

3.4.2 Cholesterin und Low density lipoprotein (LDL)

Für LDL und Cholesterin konnten jedoch zwischen den untersuchten Gruppen (milder Verlauf/mittelschwerer Verlauf/Kontrollpersonen) signifikante Unterschiede der Lipoproteinwerte nachgewiesen werden (Cholesterin: Median 116/124/168 mg/dl ; Mittelwert 125,41/124,86/164,76 mg/dl; Spannweite 83-184/85-191/116-242 mg/dl; $p < 0,0001$) (LDL: Median 51,5/56/91 mg/dl; Mittelwert 55,45/58,86/89,67 mg/dl; Spannweite 18-96/33-89/61-137 mg/dl; $p < 0,0001$).

Sowohl für Cholesterin, als auch für LDL bestanden bereits signifikante Unterschiede zwischen den Patienten mit mildem klinischem Verlauf und den Kontrollpersonen (Cholesterin: $p < 0,0001$; LDL: $p < 0,0001$). Auch im Vergleich von Patienten mit moderatem Krankheitsverlauf und Gesunden ergaben sich signifikante Unterschiede (Cholesterin: $p < 0,0001$; LDL: $p < 0,0001$).

3.5 Zytokine und Lipoproteine in bezug auf die Lungenfunktion

Die Lungenfunktionswerte wurden als Prozentangabe des jeweiligen altersabhängigen Sollwertes angegeben, da das absolute Lungenvolumen bei jüngeren Kindern wesentlich kleiner ist.

Zwischen der FEV₁ (%) und den gemessenen Zytokinen/Akut-Phase-Protein konnte nur eine schwache Korrelation gezeigt werden: IL-8 ($r = -0,459$; $p < 0,004$), TNF- α ($r = -0,342$; $p < 0,038$), LBP ($r = -0,453$; $p < 0,006$). Ähnliche Ergebnisse fanden sich auch für den MEF₂₅ (%) und IL-8 ($r = -0,473$; $p < 0,003$) und LBP ($r = -0,472$; $p < 0,004$). Zwischen den Lipoproteinen und Zytokinen ergaben sich keinerlei Korrelationen.

3.5.1 Einfluss von *Pseudomonas aeruginosa*

Um die Bedeutung einer Kolonisierung der Atemwege mit *Pseudomonas aeruginosa* herauszufiltern, wurden die mit *P.aeruginosa*-besiedelten Patienten separat analysiert ($n = 25$; 9 Patienten der Gruppe A (milder Verlauf) und 16 Patienten

ten der Gruppe B (schwerer Verlauf). Dabei korrelierte LBP mit den Lungenfunktionsparametern: FEV₁ ($r=-0,588$; $p<0,004$) (siehe Abbildung 12) und MEF₂₅ ($r=-0,575$; $p<0,005$).

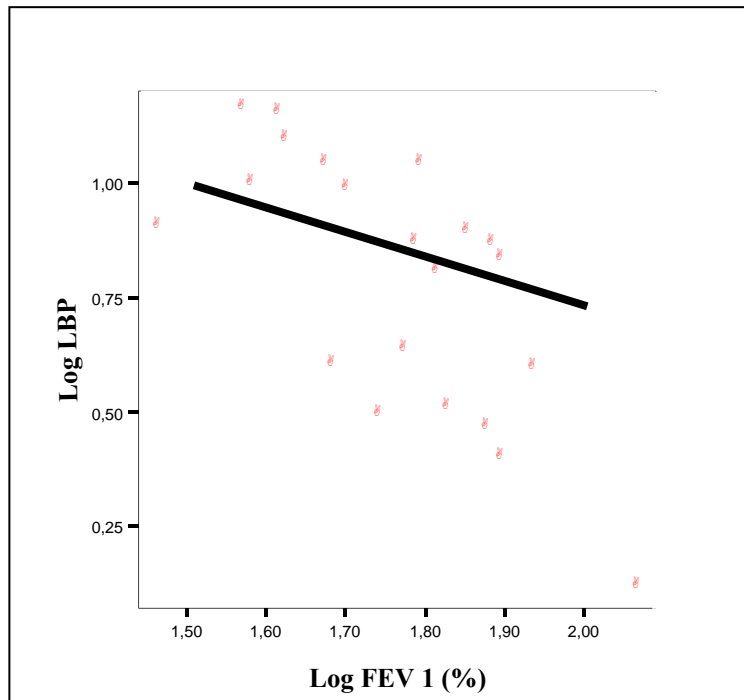


Abb. 12: Lineare Regressionslinie von LBP (log10) als Funktion von FEV₁(% des Sollwertes)(log10), bei *P.aeruginosa* besiedelten Patienten.

Für IL-8 gab es eine schwache Korrelation zwischen IL-8 und FEV₁ ($r=-0,466$; $p<0,025$) und eine signifikante Korrelation zwischen IL-8 und MEF₂₅ ($r=-0,504$; $p<0,014$) (Abbildung 13).

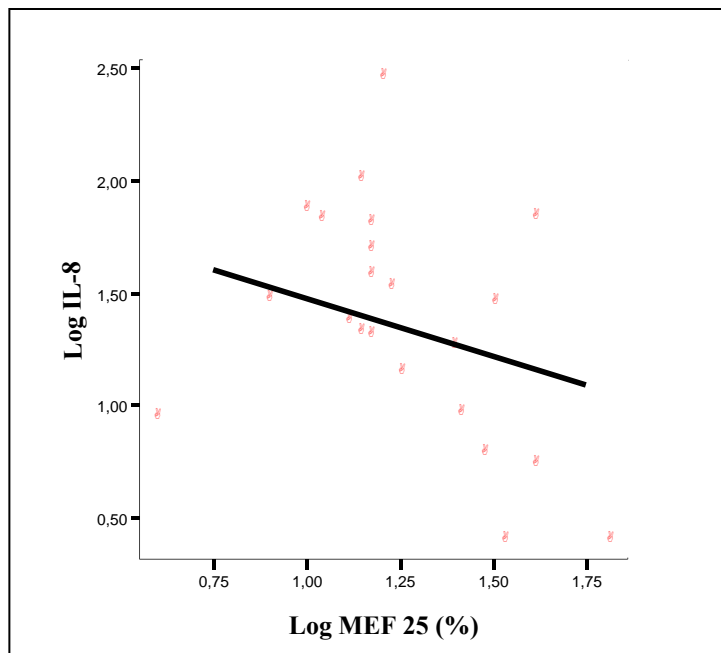


Abb. 13: Lineare Regressionslinie von IL-8 (log10) als Funktion von MEF₂₅ (% des Sollwertes)(log10), bei *P.aeruginosa* besiedelten Patienten.

TNF- α korrelierte nicht mit den Parametern der Lungenfunktion. Auch bei der isolierten Analyse der *P. aeruginosa*- positiven Patienten konnten keine Korrelationen zwischen den Lipoproteinen und den Zytokinen gezeigt werden.

Für die Gruppe der klinisch schwerer betroffenen Patienten, wurden Subgruppenanalysen durchgeführt. Diese sollten den Einfluss der metabolischen Interaktionen bei weiter fortgeschrittenen Krankheitsstadien aufzeigen. Es zeigte sich eine negative Korrelation zwischen LBP und den Lungenfunktionsparametern: FEV₁ ($r=-0,561$; $p<0,024$) und MEF₂₅ ($r=-0,599$; $p<0,014$) (siehe Abbildung 14).

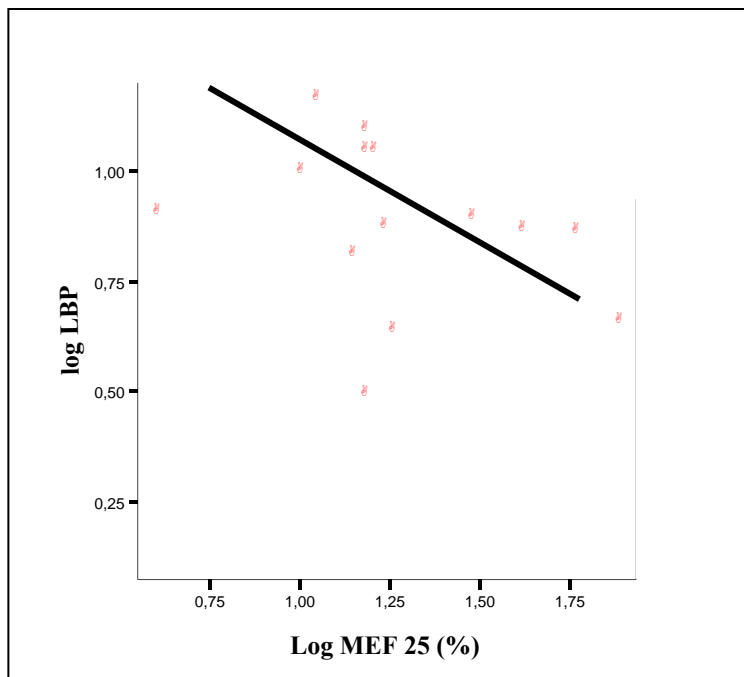


Abb. 14: Lineare Regressionslinie von LBP (log10) als Funktion von MEF₂₅ (% des Sollwertes)(log10), bei klinisch schwerer betroffenen Patienten

Zwischen den Entzündungszytokinen (IL-8 und TNF- α) und der Lungenfunktion konnte keine Korrelation gefunden werden. Allerdings korrelierten die MEF₂₅ und HDL signifikant. ($r=-0,555$; $p<0,021$) (Abbildung 15).

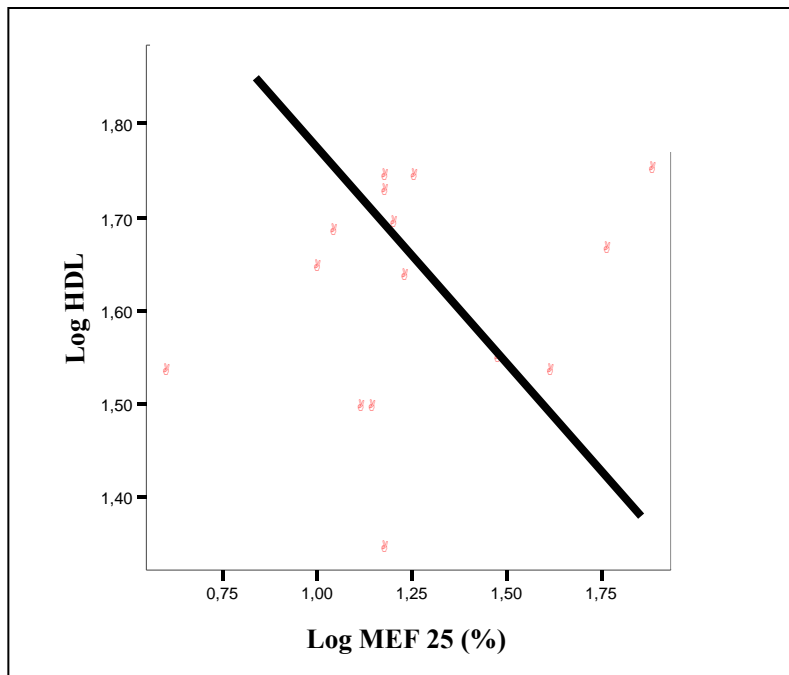


Abb. 15: Lineare Regressionslinie von HDL (log10) als Funktion von MEF₂₅(% des Sollwertes)(log10), bei mittelschwerem Krankheitsverlauf.

Sowohl zwischen den übrigen Lipoproteinen und den Lungenfunktionswerten, als auch zwischen den Lipoproteinen und den Zytokinen ergaben sich keine Korrelationen.

3.6 General linear model

Die Ergebnisse des general linear model machten deutlich, dass eine Interaktion zwischen LBP und IL-8 besteht.

3.7 Leptin

Die Unterschiede der Leptinwerte zwischen den Patienten mit mildem und mittelschwerem Krankheitsverlauf und den Kontrollpersonen erreichten keine Signifikanz, zeigten jedoch den Trend eines Unterschieds (Median 3,25/2,65/3,3 pg/ml; Mittelwert 3,81/3,84/4,69 pg/ml; Spannweite 1,7-10,3/1,7-15,6/1,9-14,4 pg/ml; $p < 0,083$) siehe auch Tabelle 4.

Patienten mit mittelschwerem klinischen Verlauf hatten signifikant niedrigere Leptinwerte als die Kontrollpersonen ($p < 0,027$) (siehe Abbildung 16).

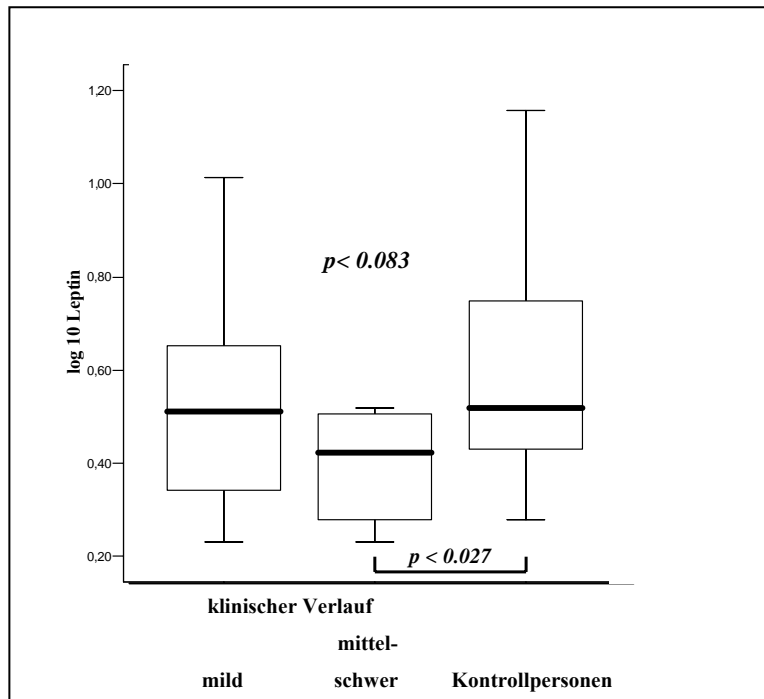


Abb. 16: Leptinwerte bei Patienten mit mildem, mittelschwerem Krankheitsverlauf und Kontrollpersonen.

Des Weiteren waren die Leptinwerte nicht vom Geschlecht anhängig. (Median männlich/weiblich 2,9/2,9; n.s.).

3.8 Body mass index (BMI)

Es zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen den Patienten der Gruppe A, der Gruppe B und den Kontrollpersonen (Median 18,55/16,75/20,5; Mittelwert 18,94/17,14/19,74; Spannweite 14,1-26,6/13,8-24,7/15,5-24,2; Standardabweichung 3,8/2,6/2,85; $p < 0,023$). Patienten mit mittelschwerem Krankheitsverlauf hatten einen signifikant niedrigeren BMI als Kontrollpersonen ($p < 0,007$).

3.9 Nahrungsaufnahme (kalorisch)

Bei der Analyse der täglichen Nahrungsaufnahme in Kalorien zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen den drei Patientengruppen (A/B/C) (Median 50,5/68/43 kcal/kg; Mittelwert 68,78/72,76/45,83 kcal/kg; Spannweite 30,51-153,68/30,65-155,33/24,68-80,21 kcal/kg; Standardabweichung 39,95/32,63/17,21; $p < 0,026$). Patienten mit einer schweren Verlaufsform der Erkrankung hatten eine signifikant höhere Nahrungsaufnahme als Kontrollpersonen ($p < 0,008$).

3.10 Orale Fettaufnahme

Auch die orale Fettaufnahme, gemessen in Gramm pro Kilogramm Körpergewicht, zeigte signifikante Unterschiede zwischen den untersuchten Gruppen (A/B/C) (Median 1,88/2,38/1,28g/kg KG; Spannweite 0,8-5,0/1,13-6,9/0,74-2,89 g/kg KG; $p < 0,007$). Die Fettaufnahme der Kontrollpersonen war sowohl gegenüber Patienten der Gruppe A ($p < 0,003$), als auch gegenüber Patienten der Gruppe B ($p < 0,002$) signifikant niedriger.

3.11 Zytokinproduktion nach ex vivo-Stimulation mit LPS

Um in vitro eine Infektion mit LPS-produzierenden Bakterien zu simulieren und die daraus resultierende Zytokinausschüttung zu untersuchen, wurde Vollblut mit Lipopolysaccharid (LPS) ex vivo stimuliert. Eine tabellarische Darstellung der Messergebnisse findet sich im Anhang in der Tabelle 5.

Weder für IL-8 noch für TNF- α konnten nach der Vollstimulation mit Lipopolysaccharid (LPS) signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen A, B und C festgestellt werden. (IL-8: (Median 570,5/573,5/415,5 mg/dl; Mittelwert 676,16/1048,4/474,14 mg/dl; Spannweite 78,5-1655/57-7002/14-1148 mg/dl; Standardabweichung 409,64/1488,96/285,4; n.s.); TNF- α : (Median 580/427/720,5 pg/ml; Mittelwert 604,55/468,05/728,64 mg/dl; Spannweite 152-1215/70-796/47-2015 mg/dl; Standardabweichung 303,22/222,81/537,29; n.s.)).

3.12 Leptin und Zytokine im Verhältnis zum klinischen Status und Ernährungszustand

Hinweise auf eine schwache Korrelation ergab sich zwischen Leptin, dem Alter der Patienten ($r=0,364$; $p<0,015$) und Leptin und dem BMI ($r=0,351$; $p<0,02$). Ebenso fand sich auch nur eine leichte Korrelation zwischen Leptin und IL-8 nach ex vivo-Stimulation mit 5 ng LPS ($r=-0,487$; $p<0,001$).

Leptin korrelierte aber negativ mit der kalorischen Nahrungsaufnahme ($r=-0,518$; $p<0,001$). Außerdem zeigte sich eine leichte negative Korrelation zwischen Leptin und der oralen Fettaufnahme ($r=-0,492$; $p<0,001$).

Zwischen Leptin und den übrigen gemessenen Zytokinen, konnten keine Korrelationen aufgeführt werden.

Um den Einfluss metabolischer Veränderungen in fortgeschrittenen Krankheitsstadien zu berücksichtigen, wurde eine separate Analyse für Patienten mit mittelschwerem klinischem Verlauf durchgeführt. Hier zeigte sich eine positive Korrelation zwischen Leptin und dem BMI (siehe Abbildung 17).

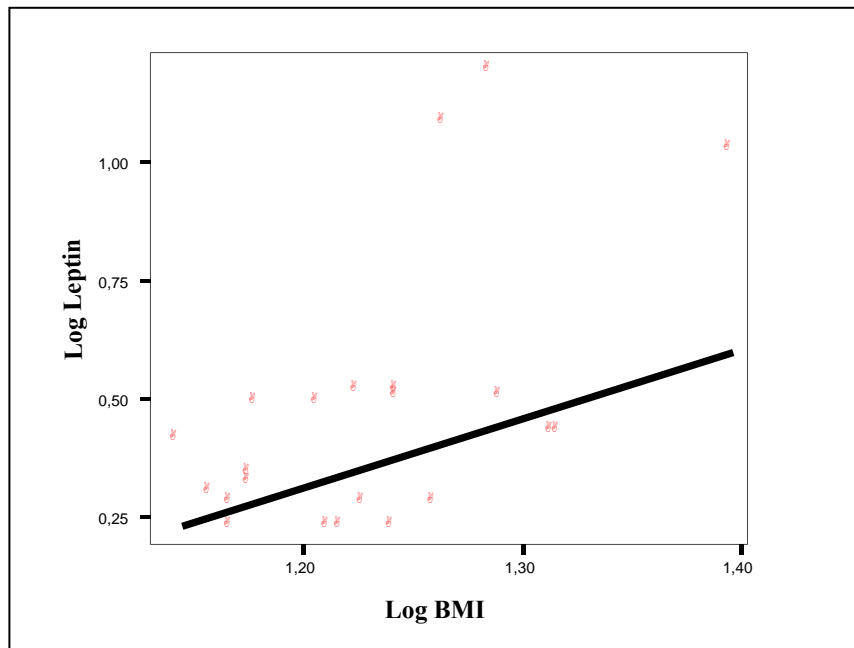


Abb. 17: Lineare Regressionslinie von Leptin (log10) als Funktion von dem BMI (log10), bei klinisch mittelschwerem Verlauf ($r=0,508$; $p<0,016$)

Ferner zeigten sich signifikant negative Korrelationen zwischen Leptin und der Nahrungsaufnahme ($r=-0,530$; $p<0,042$), Leptin und der oralen Fettaufnahme ($r=-0,615$; $p<0,015$). Nur eine leichte Korrelation ergab sich zwischen Leptin und dem Alter der Patienten ($r=0,490$; $p<0,021$) und Leptin und IL-8 nach Stimulation mit LPS ($r=-0,446$; $p<0,037$).

Zwischen Leptin und den anderen Zytokinen ergaben sich keine Korrelationen.

4 Diskussion

4.1 Lipoproteine

4.1.1 Einfluss von Lipoproteinen auf den klinischen Verlauf

Wie bereits in der Einleitung dargestellt, liegt die Vermutung nahe, dass Lipoproteine im Serum einen modulierenden Effekt auf die inflammatorische Immunreaktion haben.

Allerdings konnten die Ergebnisse dieser Studie keinen Einfluß von Serum-Lipoproteinen auf proinflammatorische Zytokine bestätigen. Es zeigte sich weder eine Korrelation zwischen den gemessenen Lipoproteinen (HDL, LDL, VLDL, Cholesterin) und den Zytokinen (IL-8, TNF- α), noch zwischen Lipoproteinen und den erhobenen Lungenfunktionsparametern (FEV₁, MEF₂₅). Lediglich bei der Subgruppenanalyse, klinisch mittelschwer betroffener CF-Patienten (Gruppe B), korrelierte HDL mit der Lungenfunktion (MEF₂₅) ($r=0.555$; $p<0,021$). Dieses Ergebnis könnte ein Hinweis darauf sein, dass HDL die Lungenfunktion und den allgemeinen klinischen Verlauf günstig beeinflusst. Der zugrundeliegende Mechanismus wird hierbei durch die Fähigkeit von HDL an Endotoxin zu binden und es zu neutralisieren erklärt (Ulevitch et al 1981, Baumberger et al 1991).

Interessanterweise wurden in der Untersuchung signifikant erniedrigte Werte für LDL und Cholesterin bei den CF-Patienten im Vergleich zu den Kontrollpersonen gemessen ($p<0,0001$). Die Werte waren allerdings unabhängig vom klinischen Status erniedrigt, sodaß sie keinen Einfluß auf den klinischen Verlauf zu haben scheinen. Zu diesem Schluss kamen Levy und Mitarbeiter (Levy et al 1993). Bezüglich der Messwerte von HDL und den Triglyceriden fanden wir andere Ergebnisse als Levy und Mitarbeiter. Die HDL-Spiegel der CF-Patienten waren zwar

auch gegenüber denen der Kontrollpersonen erniedrigt, allerdings erreichten die Unterschiede keine Signifikanz, wie es bei Levy der Fall war. Auch für die Triglyceride fanden sich keine signifikanten Unterschiede. In unserer Studie zeigte sich auch keinerlei Korrelation zwischen TNF- α und den Triglyceriden. Die unterschiedlichen Ergebnisse mögen verschiedene Ursachen haben. Ein Grund könnte die divergente Kohortengröße der beiden Studien sein (n=31 bei Levy und Mitarbeiter versus n=44 in der vorliegenden Studie). Des Weiteren wurden bei Levy im Jahr 1993 keine Genotypisierung bezüglich der CFTR-Mutationen durchgeführt. Insofern ist eine Variabilität in der Levy-Studie zu diskutieren, während in unserer Untersuchung, bei der alle Patienten homozygot für $\Delta F508$ waren. Der Altersdurchschnitt der Patienten und der klinische Status der beiden Kohorten waren vergleichbar (Levy: Patientenalter zwischen 9-14 Jahren, Shwachman-score: 77,4 versus vorliegender Studie: Altersmedian der Patienten 12,5, Shwachman-score: 75). Auch bei Levy und Mitarbeiter wurden die Patienten in einem exazerbationsfreien Intervall untersucht, ohne jedoch das von uns verwandte Kriterium des CRP < 2,0 mg/l zu verwenden. Auch mit erhöhten CRP-Werten können einige Patienten klinisch stabil sein, sodaß sich hieraus eventuell die unterschiedlichen TNF- α -Werte erklären (Levy et al: TNF- α 82,7 pg/ml versus 55 pg/ml). In Bezug auf die Methode zeigten die Kontrollpersonen für TNF- α ähnliche Werte (Levy et al 21,1 pg/ml versus 30,2 pg/ml), trotz Verwendung eines ELISA bei Levy und Mitarbeiter und eines Chemilumineszenz immunometrischen Assays in unserer Untersuchung. Wenn man die signifikant erniedrigten Serumwerte für LDL isoliert betrachtet, kann man die Frage nach möglichen Konsequenzen für dieses Phänomen stellen.

Wang und Mitarbeiter konnten zeigen, dass im Gegensatz zu Gesunden, selbst Erwachsene, an CF erkrankte Patienten oft an viralen respiratorischen Infektionen leiden. Darüber hinaus ist die Häufigkeit der viralen, respiratorischen Infektionen streng mit der pulmonalen Verschlechterung der Mukoviszidosepatienten assoziiert

(Wang et al 1984). Dies ist relevant wenn man betrachtet, dass einige Rhinoviren zelluläre LDL-Rezeptoren als Eintrittspforte in das Epithel nutzen können (Gruenberger et al 1995). Dieser zytopathische Effekt kann durch LDL inhibiert werden. Sind aber die LDL-Werte reduziert, wie es bei CF-Patienten der Fall ist, können diese Rhinoviren vermehrt in das Epithel eindringen. Daher könnten sich erniedrigte Serum-LDL-Werte negativ auf die Lungenbeteiligung bei Zystischer Fibrose auswirken.

4.1.2 Zusammenhang von Lipoproteinen und der oralen Fettaufnahme

Die Unterschiede der Lipoproteinwerte zwischen den CF-Patienten und der Kontrollpersonen könnten die Unterschiede der Fettaufnahme und Absorption widerspiegeln. In dieser Studie konnte gezeigt werden, dass genau das Gegenteil zutrifft. Mukoviszidosepatienten hatten eine signifikant höhere orale Fettaufnahme als die Kontrollpatienten (Median CF-Pat: 1,99 g/kg versus Kontrollen: 1,28 g/kg; $p < 0,003$).

Aufgrund der Tatsache, dass eine hohe Fettaufnahme und ein schlechterer Ernährungsstatus (gemessen am body mass index (BMI)) Hinweis auf eine schlechte Fettabsorption sein könnte, unterstützen diese Daten indirekt die Ergebnisse von Gaskin und Mitarbeitern (Gaskin et al 1982). Seine Messungen zeigen die bessere Prognose von CF-Patienten ohne Steatorrhoe im Vergleich zu den Patienten mit Steatorrhoe.

Da die Lipoprotein-Spiegel nicht vom klinischen Status oder der oralen Fettaufnahme beeinflusst werden, gibt es vielleicht andere Mechanismen, die auf die Lipoproteinwerte Einfluß nehmen. So könnten endogene Regulationsmechanismen für die erniedrigten LDL- und Cholesterin-Werte verantwortlich sein. Auch die Dysfunktion des CFTR-Proteins selbst könnte, wie bei den essentiellen Fettsäuren

(Freedman et al 2004), die ebenfalls nicht von der Fettabsorption beeinflusst werden, die unterschiedlichen Lipoprotein-Werte mit bewirken.

4.2 Lipopolysaccharid bindendes Protein (LBP)

4.2.1 Bedeutung von LBP als Entzündungsparameter

IL-8, als proinflammatorisches Schlüsselzytokin ist an der kontinuierlichen und progressiven pulmonalen Inflammation, sowie am Neutrophilen-Influx bei Zystischer Fibrose beteiligt. Interessanterweise wird auch das Akut-Phase Protein LBP simultan exprimiert und ist ein wichtiger Mediator bei der akuten und chronischen Immunantwort auf Endotoxinexposition.

LBP korreliert bei CF-Patienten mit dem klinischen Status und der Lungenfunktion. In der Subgruppenanalyse mit *P.aeruginosa*-besiedelten Patienten (FEV_1 : $r=-0,588/p<0,004$; MEF_{25} : $r=-0,575/p<0,005$) und Patienten mit schwererem klinischen Verlauf (FEV_1 : $r=-0,561/p<0,024$; MEF_{25} : $r=-0,599/p<0,004$) zeigte sich eine negative Korrelation mit der Lungenfunktion.

Ziel der Subgruppenanalysen war es, den Einfluß von *P.aeruginosa*, dem wichtigsten pulmonalen Pathogen bei CF, auf die LBP-Sekretion herauszufiltern. Die Subgruppenanalyse der klinisch mittelschwer betroffenen sollte die Bedeutung von LBP, gerade bei fortgeschritteneren Krankheitsstadien der CF darstellen.

Es ist bekannt, dass LBP-Werte auch bei klinisch stabilen Patienten, die an COPD (chronic obstructive pulmonary disease) leiden, erhöht sind (Dentener et al 2001). Unsere Untersuchung ist die erste Studie, die dieses Ergebnis auch für Mukoviszidosepatienten bestätigen konnte. Ferner wurde gezeigt, dass die Serum-LBP-Werte bei Patienten mit mildem Krankheitsverlauf und Kontrollpersonen vergleichbar waren (Median Gruppe A/C: 4,3/4,0 mg/dl).

Das hauptsächlich von Hepatozyten produzierte LBP zirkuliert im Blut und ermöglicht den Transport von LPS zu HDL (Wurfel et 1994, Wurfel et al 1997). An HDL

gebundenes LPS ist biologisch inaktiv (Baumberger et al 1991). So könnte man den protektiven Effekt von HDL erklären, nicht aber die negative Korrelation zwischen LBP und der Lungenfunktion bei CF. Allerdings konnte keine signifikante Beziehung zwischen der Lungenfunktion und den Lipoproteinen in der Gesamtpopulation der *Pseudomonas aeruginosa*-positiven, jedoch in der Patientengruppe der mittelschwer erkrankten gezeigt werden. Insofern ist davon auszugehen, dass LBP, unabhängig von den Lipoproteinen, regulatorische Aufgaben beim klinischen Schweregrad von CF übernimmt.

Zusätzlich belegte das general linear model nur eine Interaktion zwischen IL-8 und LBP. Möglicherweise ist LBP (Korrelation LBP/FEV₁: $r=-0,0588$, $p<0,004$) ein sensitiverer und klinisch relevanterer Parameter als IL-8 (Korrelation IL-8/FEV₁: $r=-0,466$, $p<0,025$). Desweiteren ist er stabiler, da die Standardabweichung von LBP ($\sigma=3,4$) etwa nur ein Zehntel der Standardabweichung von IL-8 ($\sigma=45,8$) beträgt. Diese Unterschiede könnten auf mit Folgendem erklärt werden: LBP wird vorwiegend in der Leber synthetisiert. Es findet keine Sekretion im peripheren Blut statt. Im Gegensatz dazu kann IL-8 auch ex vivo in Blutproben von PMN-Zellen und Makrophagen ausgeschüttet werden.

4.3 Stellenwert der Zytokine im Vollblut

Ist es überhaupt sinnvoll im Blut nach Parametern zu suchen, während die Prognose bei CF von der pulmonalen Beteiligung abhängt? Dagegen spräche, dass Messwerte aus einer bronchoalveolären lavage (BAL) ein genaueres Bild von der Inflammation der Atemwege geben könnten. Allerdings sind Blutuntersuchungen weniger risikobehaftet, als die bronchoskopisch gewonnene bronchoalveoläre Lavage (BAL). Des Weiteren werden die Werte nicht von sekundären Veränderungen in den stark entzündeten Atemwegen beeinflusst (Moss et al 2001). Inzwischen wurden auch wichtige Daten von Mausmodellen veröffentlicht, die die Bedeutung

hämatogener Zellen auf eine LPS-Stimulation in der Lunge bestätigen (Hollingsworth et al 2004).

Hollingsworth und Mitarbeiter versuchten die Rolle von hämatogenen und Atemwegsepithelzellen in Bezug auf den PMN-Influx in die Atemwege nach LPS-Exposition zu differenzieren. TLR4-defiziente Mäuse (toll like receptor4 -/-) zeigten nach Inhalation von LPS keinerlei Rekrutierung von PMN-Zellen in die Atemwege, während beim Wildtyp eine adäquate Immunreaktion stattfand. In anschließenden Versuchen wurde veranschaulicht, dass nur TLR4-defiziente Mäuse, bei denen TLR4 für die hämatogenen Zellen rekonstruiert wurde, nach LPS-Inhalation in der Lage waren eine Entzündungsreaktion zu generieren. TLR4-defiziente Mäuse mit Rekonstruktion auf den Atemwegsepithelzellen zeigten keine normale PMN-Mobilisierung in die Atemwege. Diese Versuche verdeutlichen die Wichtigkeit von hämatogenen Zellen im Zusammenhang mit LPS-induzierter Inflammation der Lungen zumindest bei Mäusen.

Die negative Korrelation der im Blut gemessenen Zytokine und der Lungenfunktion unserer Studie unterstützen zusätzlich die Hypothese weiter, dass hämatogene Zellen entscheidend für die Lungenerkrankung bei Zystischer Fibrose sind.

4.4 Leptin

4.4.1 Regulierung der Leptinsekretion bei CF

Das von Adipozyten synthetisierte und appetitdrosselnde Hormon Leptin, ist bei Mukoviszidosepatienten physiologisch reguliert. Es korreliert mit dem BMI (body mass index) positiv und der Fettaufnahme negativ. Auch bei fortgeschrittenem Erkrankungsgrad (Gruppe B) bleibt die Regulierung physiologisch. Dies wird durch signifikant erniedrigte BMI- und Leptin-Werte bei klinisch mittelschwer betroffenen CF-Patienten und den Kontrollpatienten gezeigt.

Die Leptinwerte in der vorliegenden Arbeit stimmen mit denen von Arumugan und Mitarbeiter überein. Allerdings fanden sich in ihrem kollektiv dieselben Ergebnisse für Patienten mit mildem Krankheitsverlauf (Arumugan et al 1998). Die beiden Studien unterscheiden sich in mehreren Punkten. In der vorliegenden Untersuchung wurden auch Patienten mit signifikant erniedrigten BMI-Werten gegenüber Kontrollpersonen einbezogen, während sich bei Arumugan keine Unterschiede in Bezug auf den BMI bestanden. Ferner lag der Altersdurchschnitt dieser Studie bei 13 Jahren, während bei Arumugan und Mitarbeiter die Patienten erwachsen waren (Median 25 Jahre). Dies könnte erklären, warum wir keine höheren Leptinwerte bei weiblichen Probanden finden konnten. Die Mehrzahl unserer Patienten war präpubertär.

Die physiologische Steuerung der Leptinproduktion lässt sich an der negativen Korrelation mit der Nahrungsaufnahme verdeutlichen. Leptin bindet an Leptin-Rezeptoren im Hypothalamus (Tartaglia 1997) und reguliert damit die Neuropeptid Y-Sekretion herunter. Neuropeptid Y regelt das Appetitempfinden und die Energiebalance des Körpers. Auf diesem Wege bewirkt Leptin eine Reduktion der Nahrungsaufnahme und korreliert negativ mit der Nahrungsaufnahme.

Bei physiologischer Leptinregulation, zeigten die Patienten mit schwerem Krankheitsverlauf, das heißt mit niedrigem BMI und niedrigen Leptinwerten, eine signifikant höhere Nahrungsaufnahme, als die beiden anderen Gruppen (Gruppe B versus Gruppe A/C: Median 68 kcal/kg Körpergewicht versus 50,5/43 kcal/kg Körpergewicht). Auch die tägliche Fettaufnahme ist bei CF-Patienten deutlich höher, als bei der Kontrollgruppe (A/B versus C; $p < 0,003$ / $p < 0,002$).

Dieses Ergebnis könnte für eine Malabsorption der Nahrung bei den Patienten der Gruppe B sprechen. Die Lipaseeinnahme der beiden Patientengruppen war jedoch gleich.

4.5 Zusammenhang der Zytokinproduktion mit dem Ernährungszustand der CF-Patienten

TNF- α , als ein bedeutendes proinflammatorisches Zytokin, stimuliert bekanntermaßen den Energieverbrauch, indem es auf den Protein- und Lipidstoffwechsel wirkt. Zusätzlich reduziert es durch seinen anorektischen Effekt die Energieaufnahme (Torti et al 1985). Auch für IL-8 (Plata-Salaman und Borkoski 1993) und andere Zytokine konnte in vitro und in Tiermodellen ein anorektischer und kachektischer Effekt nachgewiesen werden (Plata-Salaman und Borkoski 1994; Yang et al 1994).

Bei Patienten mit COPD konnten bei ungewolltem Gewichtsverlust, erhöhte TNF- α -Werte, im Vergleich zu Gewichtsstabilen und Gesunden, nachgewiesen werden (Di Franca et al 1994). Diese Ergebnisse werden auch von unseren Daten bei CF indirekt bestätigt. Es zeigte sich keine Korrelation zwischen dem erniedrigten BMI und erhöhten TNF- α -Werten bei Patienten der Gruppe B. Für IL-8 fand sich dieser Trend einer Korrelation. Allerdings ergab sich bei dieser Untersuchung ein entscheidender Unterschied hinsichtlich der Ursache des Gewichtsverlustes. Anorexie wurde oft als Grund für den Zytokin-assoziierten Gewichtsverlust bei chronischen Entzündungen diskutiert. Die Anorexie als Ursache scheint zumindest in exazerbationsfreien Intervallen, bei CF nicht zuzutreffen. Patienten der Gruppe B mit verringertem BMI und erhöhten TNF- α -Werten, zeigten eine signifikant erhöhte Nahrungsaufnahme. Es stellt sich also die Frage, ob sich während einer Exazerbation die Ergebnisse verändern. Zur Erörterung dieser Fragestellung wurde in vitro eine Endotoxinexposition nachgestellt. Dazu wurde Vollblut mit Lipopolysaccharid (LPS) stimuliert und die reaktive Zytokinkonzentration gemessen. Die Ergebnisse zeigten keine Korrelation der Zytokine mit dem BMI. Diese Daten stehen im Gegensatz zu dem Nachweis von DeGodoy und Mitarbeiter bei COPD-Patienten. Dort fanden sich signifikant erhöhte TNF- α -Werte bei gewichtverlierenden Patienten.

5 Zusammenfassung

Lipoproteine könnten einen modulierenden Einfluß bei fortgeschrittenem Krankheitsbild bei der Zystischer Fibrose haben. Sie beeinflussen jedoch nicht die Zytokinproduktion im Blut direkt. Serum-Lipoprotein-Spiegel sind bei CF-Patienten nicht abhängig von der oralen Fettaufnahme.

Ferner erscheint das Lipopolysaccharid-bindende Protein (LBP) ein relevanter Bestandteil für die Regulation der inflammatorischen Immunantwort auf LPS-Exposition zu sein. LBP korreliert bei Mukoviszidosepatienten, die homozygot für $\Delta F508$ sind, mit dem klinischen Verlauf und der Lungenfunktion negativ.

In Bezug auf das Hormon Leptin konnte gezeigt werden, dass es selbst in fortgeschrittenen Stadien der CF-Erkrankung mit reduzierten BMI-Werten immer physiologisch reguliert wird. Die Ergebnisse der Untersuchung widersprechen der Annahme, dass erhöhte Zytokin-Werte einen anorektischen Effekt auf Mukoviszidosepatienten haben.

6. Literaturverzeichnis

- 1 Akabas MH. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator. *J Biol Chem* 2000; 275: 3729-3732
- 2 Arumugam R, LeBlanc A, Seilheimer DK, Hardin DS. Serum leptin and IGF-I levels in cystic fibrosis. *Endocrine Research* 1998; 24: 247-257
- 3 Ballard ST, Trout L, Mehta A, Inglis SK. Liquid secretion inhibitors reduce mucociliary transport in glandular airways. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2002; 283: 336-345
- 4 Baumann H and Gauldie J. The acute phase response. *Immunol Today* 1994; 15: 74-80
- 5 Baumberger C, Ulevitch RJ, Dayer JM. Modulation of endotoxic activity of lipopolysaccharide by high density lipoprotein. *Pathobiology* 1991; 59: 378-383
- 6 Bonfield TL, Panuska JR, Konstan MW, Hilliard KA, Hilliard JB, Ghnaim H, Berger M. Inflammatory cytokines in cystic fibrosis lungs. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152: 2111-2118
- 7 Boucher RC. New concepts of the pathogenesis of cystic fibrosis lung disease. *Eur Respir J* 2004; 23: 146-158
- 8 Brokhuizen R, Vernooij JH, Schols AM, Dentener MA, Wouters EF. Leptin as local inflammatory marker in COPD. *Respir Med* 2005; 99: 70-74
- 9 Chmiel JF, Berger M, Konstan WM. The role of inflammation in the pathophysiology of CF lung disease. *Clin Rev Allergy Immunol* 2002; 23: 5-27
- 10 Choi JY, Muallem D, Kiselyov K, Lee MG, Thomas PJ, Muallem S. Aberrant CFTR-dependent HCO_3^- transport in mutations associated with cystic fibrosis. *Nature* 2001; 410: 94-97

- 11 Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, Ohannesian JP, Marco CC, McKee LJ, Bauer TL, Caro JF. Serum immunoreactive-leptin concentration in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med* 1996; 334: 292-295
- 12 Davis PB, Drumm M, Konstan MW. Cystic Fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154: 1229-1256
- 13 Dentener MA, Creutzberg EC, Schols AMW, Mantovani A, van't Veer C, Buurmann WA, Wouters EFM. Systemic anti-inflammatory mediators in COPD: increase in soluble interleukin-1 receptor II during treatment of exacerbations. *Thorax* 2001; 56: 721-726
- 14 Dentener MA, Vreugdenhil ACE, Hoet PHM, Vernooij JHJ, Nieman FHM, Heumann D, Janssen YMW, Buurman WA, Wouters EFM. Production of the Acute-Phase Protein Lipopolysaccharide-binding protein by respiratory type II epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2000; 23: 146-153
- 15 De Rose V. Mechanisms and markers of airway inflammation in cystic fibrosis. *Eur Respir J* 2002; 19: 333-340
- 16 Di Franca M, Barbier D, Mege JL, Orehek J. Tumor necrosis factor-alpha levels and weight loss in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 150: 1453-1455
- 17 Dockter G. Pankreas, Leber; Gallenwege und Magen-Darm-Trakt . In Lindemann H, Tümmler B, Dockter, Hrsg. Mukoviszidose- Zystische Fibrose: 4. neubearbeitete Auflage- Stuttgart/New York, Thieme 2004: 100-130
- 18 Donaldson SH, Boucher RC. Update on pathogenesis of cystic fibrosis lung disease. *Curr Opin Pulm Med* 2003; 9: 486-491
- 19 Durie PR et Pencharz PB. A rational approach to the nutritional care of patients with cystic fibrosis. *J R Soc Med* 1989; Suppl. 16: 11-20

- 20 Ellborn JS, Bell SC. Nutrition and survival in cystic fibrosis.
Thorax 1996; 51: 971-972
- 21 Ellsworth RE, Jamison DC, Touchman JW, Chisoe L, Braden Maduro VV, Bouffard GG, Dietrich NL, Beckstrom-Sternberg SM, Iyer LM, Weintraub LA, Cotton M, Courtney L, Edwards J, Maupin R, Ozersky P, Rohlfing T, Wohldmann P, Miner T, Kemp K, Kramer J, Korf I, Pepin K, Antonacci-Fulton L, Fulton RS, Minx P, Hillier LW, Wilson RK, Waterston RH, Miller W, Green E. Comparative genomic sequence analysis of the human and mouse cystic fibrosis transmembrane conductance regulator genes.
Proc Natl Acad Sci 2000; 97: 1172-1177
- 22 Farrell PM, Mischler EH, Engle DJ, Brown DJ, Lau SM. Fatty acid abnormalities in cystic fibrosis.
Pediatr Res 1985; 19: 104-109
- 23 Farriaux JP, Vidailhet M, Briard ML, Belot V, Dhondt JL. Neonatal screening for cystic fibrosis: France rises to the challenge.
J Inherit Metab Dis 2003; 26: 729-744
- 24 Flegel WA, Baumstark MW, Weinstock C, Berg A, Northoff H. Prevention of endotoxin-induced monokine release by human low- and high-density lipoproteins and by apolipoprotein A-I.
Infect Immun 1993; 61: 5140-5146
- 25 Freedman SD, Blanco PG, Zaman MM, Shea JC, Ollero M, Hopper IK, Weed DA, Gelrud A, Regan MM, Laposata M, Alvarez JG, O'Sullivan BP. Association of cystic fibrosis with abnormalities in fatty acid metabolism.
N Engl J Med 2004; 350: 560-569
- 26 Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge.
Clin Chem. 1972; 18: 493-502
- 27 Gallati S. Molekulargenetische Grundlagen der Zystischen Fibrose.
Monatsschr Kinderheilkd 2001; 149: 215-221

- 28 Gaskin K, Gurwitz D, Durie P, Corey M, Levison H. Improved respiratory prognosis in patients with cystic fibrosis with normal fat absorption. *J Pediatr* 1982; 100: 857-862
- 29 Gibson LE, Cooke RE. A test for concentration of electrolytes in sweat in cystic fibrosis of the pancreas utilizing pilocarpine by iontophoresis. *Pediatrics* 1959; 23: 545-551
- 30 Gibson RL, Burns JL, Ramsey BW. Pathophysiology and management of pulmonary infections in cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 168: 918-951
- 31 Goss CH, Rosenfeld M. Update on cystic fibrosis epidemiology. *Curr Opin Pulm Med* 2004; 10: 510-514
- 32 Govan JRW, Deretic V. Microbial pathogenesis in cystic fibrosis: mucoid *Pseudomonas aeruginosa* and *Burkholderia cepacia*. *Microbiol Rev* 1996; 60: 539-574
- 33 Grube BJ, Cochane CG, Ye RD, Green CE, McPhail ME, Ulevitch RJ, Tobias PS. Lipopolysaccharide binding protein expression in primary human hepatocytes and HepG2 hepatoma cells. *J Biol Chem* 1994; 269: 8477-8482
- 34 Grunfeld C, Zhao C, Fuller J, Pollock A, Moser A, Friedman J, Feingold KR. Endotoxin and cytokines induce expression of leptin, the *ob* gene product, in hamsters. *J Clin Invest* 1996; 97: 2152-2157
- 35 Hamann L, Alexander C, Stamme C, Zähringer U, Schumann RR. Acute-phase concentrations of lipopolysaccharide (LPS)-binding protein inhibit innate immune cell activation by different LPS chemotypes via different mechanisms. *Infect Immun* 2005; 73: 193-200
- 36 Hamosh A, Fitz-Simmons SC, Macek M Jr, Knowles MR, Rosenstein BJ, Cutting GR. Comparison of the clinical manifestations of cystic fibrosis in black and white patients. *J Pediatr* 1998; 132: 255-259

- 37 Harris HW, Grunfeld C, Feingold KR, Rapp JH. Human very low lipoproteins and chylomicrons can protect against endotoxin-induced death in mice. *J Clin Invest* 1990; 86: 696-702
- 38 Hollingsworth JW, Chen BJ, Brass DM, Berman KG, Gunn MD, Cook DN, Schwartz DA. The critical role of hematopoietic cells in lipopolysaccharide-induced airway inflammation. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 171: 806-813
- 39 Høiby N. Understanding bacterial biofilms in patients with cystic fibrosis: current and innovative approaches to potential therapies. *J Cyst Fibros* 2002; 1: 249-254
- 40 Imalzumi Y. Incidence and mortality rates of cystic fibrosis in Japan, 1969-1992. *Am J Med Genet* 1995; 58: 161-168
- 41 Jack RS, Fan X, Bernheiden M, Rune G, Ehlers M, Weber A, Kirsch G, Mentel R, Fürll B, Freudenberg M, Schmitz G, Stelter F, Schütt C. Lipopolysaccharide-binding-protein is required to combat a murine gram-negative bacterial infection. *Nature* 1997; 389: 742-745
- 42 Jayaraman S, Joo NS, Reitz B, Wine JJ, Verkman AS. Submucosal gland secretions in airways from cystic fibrosis patients have normal $[Na^+]$ and pH but elevated viscosity. *Proc Natl Acad Sci* 2001; 98: 8119-8123
- 43 Jayaraman S, Song Y, Vetrivel L, Shankar L, Verkman AS. Noninvasive in vivo fluorescence measurement of airway-surface liquid depth, salt concentration, and pH. *J Clin Invest* 2001; 107: 317-324
- 44 Kerem E, Corey M, Kerem BS, Rommens J, Markiewicz D, Levison H, Tsui LC, Durie P. The relation between genotype and phenotype in cystic fibrosis-analysis of the most common mutation (delta F508). *N Eng J Med* 1990; 323: 1517-1522

- 45 Kerem BS, Rommens JM, Buchanan JA, Markiewicz D, Cox TK, Chakravarti A, Buchwald M, Tsui LC. Identification of the cystic fibrosis gene: genetic analysis.
Science 1989; 245: 1073-1080
- 46 Khan TZ, Wagener JS, Bost T, Martinez J, Accurso FJ, Riches DWH. Early pulmonary inflammation in infants with cystic fibrosis.
Am J Respir Crit Care Med 1995; 151: 1075-1082
- 47 Knowles MR, Paradiso AM, Boucher RC. *In vivo* nasal potential difference: techniques and protocols for assessing the efficacy of gene transfer in cystic fibrosis.
Hum Gene Ther 1995; 6: 445-455
- 48 Kulich M, Rosenfeld M, Goss CH, Wilmott R. Improved survival among young patients with cystic fibrosis.
J Pediatr 2003; 142: 631-636
- 49 Lamping N, Dettmer R, Schröder NWJ, Pfeil D, Hallatschek W, Burger R, Schumann RR. LPS-binding protein protects mice from septic shock caused by LPS or gram-negative bacteria.
J Clin Invest 1998; 101: 2065-2071
- 50 Lentze MJ. Gastrointestinale Manifestationen bei zystischer Fibrose.
Monatsschr Kinderheilkd 2001; 149: 239-24
- 51 Levy E, Gurbindo C, Lacaille F, Paradis K, Thibault L, Seidman E. Circulating tumor necrosis factor- α levels and lipid abnormalities in patients with cystic fibrosis.
Pediatr Res 1993; 34: 162-166
- 52 Mall M, Grubb BR, Harkema JR, O'Neal WK, Boucher RC. Increased airway epithelial Na⁺ absorption produces cystic fibrosis-like lung disease in mice.
Nat Med 2004; 10: 452-454
- 53 Martin TR. Recognition of bacterial endotoxin in the lungs.
Am J Respir Cell Mol Biol 2000; 23: 128-132

- 54 Matsui H, Grubb BR, Tarran R, Randell SH, Gatzky JT, Davis CW, Boucher RC. Evidence for periciliary liquid layer depletion, not abnormal ion composition, in the pathogenesis of cystic fibrosis airways disease. *Cell* 1998; 95:1005-1015
- 55 Moss RB. Cystic Fibrosis: Pathogenesis, pulmonary infection and treatment. *Clin Inf Dis* 1995; 21: 839-851.
- 56 Palsson-McDermott EM, O'Neill LAJ. Signal transduction by the lipopolysaccharide receptor, toll-like receptor-4. *Immunol* 2004; 113: 153-162
- 57 Pier GB. Role of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator in innate immunity to *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Proc Natl Acad Sci* 2000; 97: 8822-8828
- 58 Plata-Salaman CR, Borkoski JP. Interleukin-8 modulates feeding by direct action in the central nervous system. *Am J Physiol* 1993; 265: R877-R882
- 59 Plata-Salaman CR, Borkoski JP. Chemokines/intercrines and central regulation of feeding. *Am J Physiol* 1994; 266: R1711-R1715
- 60 Ratjen F, Döhring G. Cystic fibrosis. *Lancet* 2003; 361: 681-689.
- 61 Ratjen F, Grasemann H, Staab D, Worlitzsch D 2004. Genetik der Cystischen Fibrose. In: Ratjen F, Hrsg. Aktuelle Aspekte zu Diagnostik und Therapie der Mukoviszidose: 1.Auflage – Bremen, UNI-MED 2004: 16-25
- 62 Ratjen F, Grasemann H, Staab D, Worlitzsch D 2004. Pathophysiologie. In: Ratjen F, Hrsg. Aktuelle Aspekte zu Diagnostik und Therapie der Mukoviszidose: 1.Auflage – Bremen, UNI-MED 2004: 28-36
- 63 Rauchhaus M, Coats AJS, Anker SD. The endotoxin-lipoprotein hypothesis. *Lancet* 2000; 356: 930-933

- 64 Read TE, Grunfeld C, Kumwenda ZL, Calhoun MC, Kane JP, Feingold KR, Rapp H. Triglyceride-rich lipoproteins prevent septic death in rats. *J Exp Med* 1995; 182: 267-272
- 65 Rich DP, Anderson MP, Gregory RJ, Cheng SH, Paul S, Jefferson DM, McCann JD, Klinger KW, Smith AE, Welsh MJ. Expression of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator corrects defective chloride channel regulation in cystic fibrosis airway epithelial cells. *Nature* 1990; 347: 358-363
- 66 Riordan JR. The cystic fibrosis transmembrane conductance regulator. *Annu Rev Physiol* 1993; 55: 609-630
- 67 Santis G, Osborne L, Knight RA, Hodson ME. Independent genetic determinants of pancreatic and pulmonary status in cystic fibrosis. *Lancet* 1990; 336: 1081-1084
- 68 Sarraf P, Frederich RC, Turner EM, Ma G, Jaskowiak NT, Rivet III DJ, Flier JS, Lowell BB, Fraker DL, Alexander HR. Multiple cytokines and acute inflammation raise mouse leptin levels: potential role in inflammatory anorexia. *J Exp Med* 1997; 185: 171-175
- 69 Schumann RR, Latz E. Lipopolysaccharide-binding protein. *Chem Immunol Basel, Karger* 2000; 74: 42-60
- 70 Schumann RR, Leong SR, Flaggs GW, Gray PW, Wright SD, Mathison JC, Tobias PS, Ulevitch RJ. Structure and function of lipopolysaccharide binding protein. *Science* 1990; 249: 1429-1431
- 71 Schumann RR, Zweigner J. A novel acute-phase marker: lipopolysaccharide binding protein (LBP). *Clin Chem Lab Med* 1999; 37: 271-274
- 72 Schwartz MW, Seeley RJ. Neuroendocrine responses to starvation and weight loss. *N Engl J Med* 1997; 336: 1802-1810

- 73 Schwiebert EM, Benos DJ, Egan ME, Stutts MJ, Guggino WB. CFTR is a conductance regulator as well as a chloride channel. *Physiol Rev* 1999; 79, Suppl.:S145-S166
- 74 Shale D. Nutritional intervention in cystic fibrosis. *Eur Respir Mon* 2003; 24: 153-16
- 75 Shwachman H, Kulczycki LL. Long-term study of one hundred five patients with cystic fibrosis. *Am J Dis Child* 1958; 96: 6-15.
- 76 Steinkamp G, Wiedemann B. Relationship between nutritional status and lung function in cystic fibrosis: cross sectional and longitudinal analyses from the German CF Quality Assurance (CFQA) project. *Thorax* 2002; 57: 596-601
- 77 Stern M, Sens B, Wiedemann B, Busse O, Wenzlaff P. Qualitätssicherung Mukoviszidose. Hrsg. Überblick über den Gesundheitszustand der Patienten in Deutschland 2003; Hannover: Zentrum für Qualitätsmanagement im Gesundheitswesen, 2004: 59
- 78 Tager AM, Wu J, Vermeulen MW. The effect of chloride concentration on humans neutrophil functions: Potential relevance to cystic fibrosis. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1998; 19: 643-652
- 79 Tartaglia LA. The leptin receptor. *J Biol Chem* 1997; 272: 6093-6096
- 80 Tirouvanziam R, Bentzmann S, Hubeau C, Hinrasky J, Jacquot J, Péault B, Puchelle E. Inflammation and Infection in Naïve Human Cystic Fibrosis Airway Grafts. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2000; 23: 121-127
- 81 Tobias PS, Soldau K, Ulevitch RJ. Isolation of a lipopolysaccharide-binding acute phase reactant from rabbit serum. *J Exp Med* 1986; 164: 777-793
- 82 Torti FM, Dieckmann B, Beutler B, Cerami A, Ringold GM. A macrophage factor inhibits adipocyte gene expression: an in vitro model of cachexia. *Science* 1985; 229: 867-869

- 83 Tümmler B, Lindemann H. Genetik, Molekularbiologie und allgemeine Pathophysiologie. In Lindemann H, Tümmler B, Dockter, Hrsg. Mukoviszidose- Zystische Fibrose: 4. neubearbeitete Auflage- Stuttgart/New York, Thieme 2004: 3-13
- 84 Ulevitch RJ, Johnston AR, Weinstein DB. New function for high density lipoproteins: isolation and characterization of a bacterial lipopolysaccharide-high density lipoprotein complex formed in rabbit plasma. *J Clin Invest* 1981; 67: 827-837
- 85 Van Lenten BJ, Fogelman AM, Haberland ME, Edwards P. The role of lipoproteins and mediated endocytosis in the transport of bacterial lipopolysaccharide. *Proc Natl Acad* 1986; 83: 2704-2708
- 86 Veeze HJ, Sinaasappel M, Bijman J, Bouquet J, de Jonge HR. Ion transport abnormalities in rectal suction biopsies from children with cystic fibrosis. *Gastroenterology* 1991; 101: 398-403
- 87 Wan Y, Freeswick PD, Khemlani LS, Kispert PH, Wang SC, Su GL, Billiar TR. Role of liposaccharide (LPS), interleukin-1, interleukin-6, tumor necrosis factor, and dexamethasone in regulation of LPS-binding protein expression in normal hepatocytes and hepatocytes from LPS-treated rats. *Infect Immun* 1995; 63: 2435-2442
- 88 Wang EE, Prober CG, Manson B, Corey M, Levison H. Association of respiratory viral infections with pulmonary deterioration in patients with cystic fibrosis. *N Engl J Med* 1984; 311: 1653-1658
- 89 Wilschanski M, Zielenski J, Markiewicz D, Tsui LC, Corey M, Levison H, Durie PR. Correlation of sweat chloride concentration with classes of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene mutations. *J Pediatr* 1995; 127: 705-710
- 90 Woods AJ, Stock MJ. Leptin activation in hypothalamus. *Nature* 1996; 381: 745

- 91 Worlitzsch D, Tarran R, Ulrich M, Schwab U, Cekici A, Meyer KC, Birrer P, Bellon G, Berger J, Weiss T, Botzenhart K, Yankaskas JR, Randell S, Boucher RC, Döring G. Effects of reduced mucus oxygen concentration in airway *Pseudomonas* infections of cystic fibrosis patients.
J Clin Invest 2002; 109: 317-325
- 92 Wright SD, Ramos A, Tobias PS, Ulevitch RJ, Mathison JC. CD14, a receptor for complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein.
Science 1990; 249: 1431-1433
- 93 Wu H, Song Z, Givskov M, Döring G, Worlitzsch D, Mathee K, Rygaard J, Høiby N. *Pseudomonas aeruginosa* mutations in *lasI* and *rhlI* quorum sensing systems result in milder chronic lung infection.
Microbiology 2001; 147: 1105-1113
- 94 Wurfel MM, Kunitake ST, Lichenstein H, Kane JP, Wright SD. Lipopolysaccharid(LPS)-binding- protein is carried on proteins and acts as cofactor in the neutralization of LPS.
J Exp Med 1994; 180: 1025-1035
- 95 Wurfel MM, Wright SD. Lipopolysaccharide-binding protein and soluble CD14 transfer lipopolysaccharide to phospholipid bilayers: preferential interaction with particular classes of lipid.
J Immunol 1997; 158: 3925-3934
- 96 Yang ZJ, Koseki M, Meguid MM, Gleason JR, Debonis D. Synergistic effect rhTNF-alpha and rhIL-1 alpha in inducing anorexia in rats.
Am J Physiol 1994; 267: R1056-R1064
- 97 Zabner J, Smith JJ, Karp PH, Widdicombe JH, Welsh MJ. Loss of CFTR chloride channels alters salt absorption by cystic fibrosis airway epithelia in vitro.
Mol Cell 1998; 2: 397-403
- 98 Zemel BS, Jawad AF, Fitz-Simmons S, Stallings VA. Longitudinal relationship among growth, nutritional status, and pulmonary function in children with cystic fibrosis: Analysis of the Cystic Fibrosis Foundation National CF Patient Registry.
J Pediatr 2000; 137: 374-380

99 Zielenski J, Tsui LC. Cystic fibrosis: genotypic and phenotypic variations.
Annu Rev Genetics 1995; 29: 777-807

7 Anhang Tabellen

Tabelle 1**PATIENTENCHARAKTERISTIKA**

	CF-PATIENTEN		KONTROLLGRUPPE
	KLIN. VERLAUF		
	MILD (A)	MITTELSCHWER (B)	GESUND (C)
	n=22	n=22	n=22
	Median (Spannweite)		
ALTER (Jahre)	12	13,5	13
GESCHLECHT (m/w)	(14/8)	(14/8)	(14/8)
BODY MASS INDEX (kg/m ²)	19 [*]	17 ^{*#}	21 ^{*#}
FETTAUFNAHME (g/kg)	1,88 [§]	2,38 ^{§+}	1,28 ^{§+}
<i>P.aeruginosa</i> (+)	9	16	-
SHWACHMAN-SCORE	85 [%]	55 [%]	-
FEV ₁ (% des Sollwertes)	85 ^{&}	59 ^{&}	-
IgG (g/l)	11	12	-

m: männlich; w: weiblich; *P.aeruginosa*(+): mit *Pseudomonas aeruginosa* besiedelt; FEV₁(% des Sollwertes): forcierte expiratorische Volumen innerhalb 1 Sekunde, angegeben als % des altersentsprechenden Sollwertes; IgG(g/l): Immunglobulin G in Gramm pro Liter.

^{*}p<0,023; [#]p<0,007; [§]p<0,007; ⁺p<0,002; [%]p<0,001; [&]p<0,01

[§]:Kruskal-Wallis-Analyse; [#] ⁺ [%] [&] : Mann-Whitney-U-Test

Tabelle 2

ZYTOKINPRODUKTION DER PATIENTEN UND
KONTROLLPERSONEN

	CF-PATIENTEN	KONTROLLGRUPPE	
	KLIN. VERLAUF		
	MILD (A)	MITTELSCHWER (B)	GESUND (C)
	n=22	n=22	n=22
	Median (Spannweite)		
LBP (µg/ml)	4 ^{*#} (2-14)	7 ^{*#§} (1-15)	4 ^{*§} (1-17)
IL-8 (pg/ml)	15 ^{+\$} (3-100)	25 ^{+\$”} (5-283)	8 ^{+”} (3-31)
TNF-α (pg/ml)	43 ^{°&} (27-73)	56 ^{°?} (10-146)	30 ^{°&?} (8-75)

^{*}p<0,016; [#]p<0,084; [§]p<0,004; ⁺p<0,005; ^{\$}p<0,078; [“]p<0,001; [°]p<0,0001; [&]p<0,002;
[?]p<0,0001

^{+ °} : Kruskal-Wallis-Analyse; ^{# § \$ “ & ?} : Mann-Whitney-U-Test

Tabelle 3

LIPOPROTEINKONZENTRATIONEN DER PATIENTEN UND
KONTROLLPERSONEN

	CF-PATIENTEN		KONTROLLGRUPPE
	KLIN. VERLAUF		
	MILD (A)	MITTELSCHWER (B)	GESUND (C)
	n=22	n=22	n=22
	Median (Spannweite)		
Cholesterin (mg/dl)	116^{*#} (83-184)	124^{*§} (85-191)	168^{*#§} (116-242)
Triglyceride (mg/dl)	106 (61-142)	89,5 (12-197)	76 (52-209)
VLDL (mg/dl)	21 (12-28)	19 (10-123)	15(10-42)
LDL (mg/dl)	51,5^{+\$} (18-96)	56^{+?} (33-89)	91^{+\$?} (61-137)
HDL (mg/dl)	43,5 (36-85)	45,5 (22-73)	55 (36-101)

* p<0,0001; # p<0,0001; § p<0,0001; + p<0,0001; \$ p<0,0001; ? p<0,0001

* + : Kruskal-Wallis-Analyse; # § \$? : Mann-Whitney-U-Test

Tabelle 4

**LEPTIN UND ERNÄHRUNGSZUSTAND DER PATIENTEN UND
KONTROLLPERSONEN**

	CF-PATIENTEN		KONTROLLGRUPPE
	KLIN. VERLAUF		
	MILD (A) n=22	MITTELSCHWER (B) n=22	GESUND (C) n=22
	Median (Spannweite)		
Leptin (µg/ml)	3,25* (1,7-10,3)	2,65*§ (1,7-15,6)	3,3*§ (81,9-14,4)
BMI (kg/m ²)	18,55 ⁺ (14,1-26,6)	16,75 ⁺ § (13,8-24,7)	20,5 ⁺ § (15,5-24,2)
Nahrungsaufnahme (kcal/kg Körpergewicht)	50,5 [#] (30,5-154)	68 ^{#&} (31-155)	43 ^{#&} (25-80)
Fettaufnahme (g/kg)	1,88 ^{!°} (0,8-5,0)	2,38 ^{!°} (1,13-6,9)	1,28 ^{!°»} (0,74-2,89)

*p<0,083; §p<0,027; ⁺p<0,023; §p<0,007; #p<0,026; &p<0,008; !p<0,007; °p<0,003; »p<0,002

* + # ! : Kruskal-Wallis-Analyse; § § & ° » : Mann-Whitney-U-Test

Tabelle 5

ZYTOKINWERTE VOR UND NACH STIMULATION MIT
5 NG LPS

	CF-PATIENTEN		KONTROLLGRUPPE
	KLIN. VERLAUF		
	MILD (A) n=22	MITTELSCHWER (B) n=22	GESUND (C) n=22
	Median (Spannweite)		
IL-8 (pg/ml)			
Basalwert	15 ^{*#} (3-100)	25 ^{*#§} (5-283)	8 ^{*§} (3-31)
nach Stimulation	571 (79-1655)	574 (57-7002)	416 (14-1148)
TNF-α (pg/ml)			
Basalwert	43 ^{+°} (27-73)	56 ^{+§} (10-146)	30 ^{+°§} (8-75)
nach Stimulation	80 (152-1215)	427 (70-796)	721 (47-2015)

^{*}p<0,005; [#]p<0,078; [§]p<0,001; ⁺p<0,0001; [°]p<0,002; [§]p<0,0001

^{* +} : Kruskal-Wallis-Analyse; ^{# § ° §} : Mann-Whitney-U-Test

7 Tage Verzehrprotokoll

Name: _____
 Straße: _____
 Wohnort: _____
 Tel.- Nummer _____
 Geb.-Datum _____
 Größe (cm): _____
 Gewicht (kg) _____
 Tätigkeit: _____
 Besonderheiten: _____
 Protokolltage: _____

Beachten Sie bitte beim Ausfüllen:

- Nehmen Sie Ihr Verzehrprotokoll überall mit hin. Notieren Sie bitte alles. Auch z.B. Nüsse, Bonbons und Snacks. Versuchen Sie während dieser Woche nicht abzunehmen, aber auch nicht zuzunehmen.
- Machen Sie jeweils einen Strich für die angegebene Portionsmenge.
- Die Bezeichnung "Tasse" ist ein Maß für die Menge, die in eine normale Kaffeetasse passt.
- Nach sieben Tagen zählen Sie bitte Ihre Strichlisten zusammen und tragen in die entsprechenden Kästchen die Summe ein.
- In der ersten Spalte bewerten Sie bitte alle angegebenen Lebensmittel wie folgt:
Bewertung 0 = Esse ich gar nicht
Bewertung 3 = Weder große Vorliebe noch Abneigung
Bewertung 5 = Esse ich gerne
- Tragen Sie bei Besonderheiten bitte eventuell bestehende ernährungsabhängige Krankheiten ein.

Brot		
Lebensmittel	Anzahl	Summ Kücheneinheit
Graubrot		Scheibe 40 g
Weißbrot, Toast		Scheibe 25 g
1/2 Brötchen		Stück 25 g
1/2 Vollkornbrötchen		Stück 30 g
Vollkornbrot		Scheibe 45 g
Knäcke, Zwieback		Scheibe 10 g
Brotbelag		
Butter		Teelöffel 5 g
Margarine		Teelöffel 5 g
Margarine halbfett		Teelöffel 5 g
Wurst		Portion 25 g
Wurst fettreduziert		Portion 25 g
Käse unter 20% Fett		Portion 30 g
Käse 20-40% Fett		Portion 30 g
Käse über 40% Fett		Portion 30 g
Marmelade, Gelee		Teelöffel 10 g
Honig		Teelöffel 10 g
Nußnougatcreme		Portion 20 g
Magerquark		Esslöffel 30 g
Speisequark		Esslöffel 30 g
Eier		Stück 60 g
Cerealien (Cornflakes etc.)		
Haferflocken, trocken		Esslöffel 10 g
Müsli, trocken		Esslöffel 15 g
Cornflakes, trocken		Tasse 20 g
Frühstückserealien		Tasse 20 g
Kaffee • Milch		
Kaffee		Tasse 150 g
Te		Tasse 150 g
Kondensmilch		Teelöffel 5 g
Zucker		Teelöffel 5 g

Kakao		Tasse	150 g
Trinkmilch 3,5% Fett		Glas	200 g
Trinkmilch 1,5% Fett		Glas	200 g
Buttermilch		Tasse	150 g
Joghurt mit Früchten 3,3 % Fett		Becher	150 g
Joghurt mit Früchten 1,5 % Fett		Becher	150 g
Naturjoghurt		Becher	150 g
Fleisch			
Kotelett, Schnitzel		Portion	125 g
Steak, Schnitzel natur		Portion	125 g
Putenschnitzel		Portion	125 g
Braten		Portion	125 g
Gulasch, Ragout		Portion	125 g
Bratwurst		Stück	150 g
Würstchen, Bockwurst		Stück	125 g
Fleisch-, Kochwurst		Portion	100 g
Frikadelle, Klops		Stück	100 g
Eisbein, Haxe		Portion	130 g
Hähnchenfleisch		Stück	125 g
Leber, Herz, Niere		Portion	65 g
Mett, Gehacktes		Portion	125 g
Tatar, Schabelfleisch		Portion	70 g
Speck, Bauchfleisch		Scheibe	50 g
Kartoffeln • Beilagen			
Kartoffeln		Stück	80 g
Kartoffelpüree		Portion	150 g
Klöße, Knödel		Stück	80 g
Bratkartoffeln		Portion	150 g
Pommes frites		Portion	100 g
Kartoffelpuffer		Stück	70 g
Reis, gekocht		Tasse	100 g
Nudeln, gekocht		Tasse	100 g
Soße		Esslöffel	15 g
Hackfleischsoße		Esslöffel	20 g

8 Danksagung

Bei der Erstellung dieser Arbeit ist mir viel Hilfe und Unterstützung zuteil geworden.

Bedanken möchte ich mich daher in erster Linie bei Herrn Prof. Dr. Zielen für die Überlassung des Themas und die Ermöglichung der Arbeit.

Frau Dr. S. Schmitt-Grohé danke ich besonders für die persönliche Betreuung, die ständige Hilfsbereitschaft bei der Durchführung und Ausarbeitung der Arbeit. Ich bedanke mich für die Möglichkeit, sie jederzeit um Rat fragen zu können und die stetige Motivation während der gesamten Arbeitsphase.

Für konstruktive Ratschläge und große Hilfsbereitschaft im Labor möchte ich mich bei Frau Doris NGampolo und dem gesamten Team in der Tempelstraße bedanken.

Für die Unterstützung bei der Messung der Zytokine möchte ich mich bei Frau Grünewald und Frau Schön bedanken.

Bei Herrn Dr. M. Igel und seiner Gruppe des Instituts für klinische Pharmakologie bedanke ich mich für die Einarbeitung und Betreuung bei der Messung der Lipoprotein- und Leptinwerte.

Für die gute Kooperation und Hilfsbereitschaft danke ich der Mukoviszidose-Ambulanz für Erwachsene an der Universität Frankfurt, namentlich Frau Dr. Smaczny.

Des Weiteren danke ich der Mukoviszidose-Ambulanz der Pädiatrischen Klinik in Frankfurt, vor allem Herrn Dr. Posselt.

Dank gilt auch der Pulmonologischen Abteilung der Pädiatrischen Klinik an der Universität Essen. Hier bedanke ich mich besonders für die freundliche Zusammenarbeit bei Herrn Dr. Nikolaiszik und Herrn Prof. Dr. Ratjen.

Mein herzlicher und besonderer Dank gilt den kleinen und großen Patienten und auch ihrer Eltern, ohne die diese Studie nie möglich gewesen wäre.

Zu guter Letzt danke ich meinen Eltern, meiner Schwester und meinen Freunden für den Rückhalt und die Geduld während dieser Arbeit.

Publikationen und wissenschaftliche Beiträge:

Originalarbeiten als Koautor:

Schmitt-Grohé S, Hippe V, von Bergmann K, Posselt HG, Krahl A, Smaczny Wagner TG, Nikolazik W, Lentze MJ, Zielen S.

Serum leptin and cytokines in whole blood in relation to clinical and nutritional status in cystic fibrosis.

J Pediatr Gastroenterol Nutr 2006; 43: 228-233

Schmitt-Grohé S, Hippe V, Igel M, von Bergmann K, Posselt HG, Krahl A, Smaczny C, Wagner TO, Nikolazik W, Lentze MJ, Zielen S. Lipopolysaccharide binding protein, cytokine production in whole blood and lipoproteins in cystic fibrosis.

Pediatr Res 2005; 58: 903-907

Schmitt-Grohé S, Naujoks C, Bargon J, Wagner TOF, Schubert R, Hippe V, Zielen S. Interleukin-8 in whole blood and clinical status in cystic fibrosis.

Cytokine 2005; 29: 18-23

Kongressbeiträge:

Hippe V, Schmitt-Grohé S, Igel M, von Bergmann K, Posselt HG, Krahl A, Smaczny C, Wagner TO, Nikolaizik W, Zielen S.

Cytokine production in whole blood and lipoproteins in cystic fibrosis

Poster. 27th European Cystic Fibrosis Conference, Birmingham, June 12-17;2004

Journal of Cystic Fibrosis 3 (S20-S25)

Schmitt-Grohé S, Naujoks C, Bargon J, Wagner TOF, Schubert R, Hippe V, Zielen S.

Zytokinsynthese von peripheren Blutzellen und klinischer Schweregrad bei Mukoviszidose

Poster. 25.Jahrestag der Gesellschaft für Pädiatrische Pulmonologie, Wien 2003,

Atemw Lungenkrkh 2003; 29, p.191

Schmitt-Grohé S, Naujoks C, Bargon J, Wagner TO, Schubert R, Hippe V, Zielen S.

Cytokine production and clinical status in cystic fibrosis

Poster. 2003 North American Cystic Fibrosis Conference, Anaheim 2003

Pediatric Pulmology 2003; 36, p.279

Schmitt-Grohé S, Hippe V, Igel M, von Bergmann K, Posselt HG, Krahl A, Smaczny C, Wagner TO, Nikolazik W, Zielen S. Cytokine production in whole blood and lipoproteins in cystic fibrosis. Poster presentation. American Thoracic Society 99th International Conference, Seattle 2003
AJRCCM 2003; 167, A922,

Schmitt-Grohé S, Hippe V, Igel M, von Bergmann K, Posselt HG, Krahl A, Smaczny C, Wagner TO, Nikolazik W, Zielen S. Zytokinsynthese und Lipoproteine bei zystischer Fibrose. Poster. 26. Jahrestagung der Gesellschaft für Pädiatrische Pneumologie. Hamburg 2004
Atemw Lungenkrkh 2004; 30, p.135

Schmitt-Grohé S, Hippe V, Igel M, von Bergmann K, Posselt HG, Eickmeier O, Smaczny C, Wagner TO, Nikolazik W, Zielen S. Serum leptin, cytokines and clinical status in cystic fibrosis. Poster. American Thoracic Society 100th International Conference, Orlando 2004
AJRCCM 2004; 169, A386

Schmitt-Grohé S, Hippe V, Igel M, von Bergmann K, Posselt HG, Eickmeier O, Smaczny C, Wagner TO, Nikolazik W, Zielen S. Serumleptin und Zytokine im Vollblut unter Berücksichtigung des klinischen Verlaufes sowie des Ernährungszustandes bei Mukoviszidose. Poster. 27. Jahrestagung der Gesellschaft für Pädiatrische Pneumologie, Hannover März 2005
Atemw.-Lungenkrkh. 2005; 31, p. 148

Wissenschaftliche Auszeichnung

Reisestipendium der Mukoviszidose e.V. zur
European Cystic Fibrosis Conference in Birmingham, Juni 2004

Vortrag und Reisestipendium der Mukoviszidose e.V zur
French-German Young Researcher Conference (FGYRC) in Paris, April 2006