

Jens Wagenblast  
Dr. med.

**Analyse von Phosphatidyl- und Lysophosphatidylcholinen im Mucus von Patienten mit einer chronisch entzündlichen Darmerkrankung.  
Eine quantitative Analyse mittels Nano-Elektrospray-Ionisations-Tandem-Massenspektrometrie**

Geboren am 09.02.1978 in 68723 Schwetzingen  
Staatsexamen am 17.11.2004 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Innere Medizin  
Doktorvater: Prof. Dr. med. W. Stremmel

Der Morbus Crohn und die Colitis ulcerosa repräsentieren die beiden Formen chronisch entzündlicher Darmerkrankungen (CED). Ein Grund für die Entstehung einer CED könnte in einer beschädigten Barrierefunktion der der Mukosa aufliegenden Mucusschicht beziehungsweise der Mukosa selbst liegen.

Der Mucus, ein hydratisiertes, polymeres Gel mit einer Dicke von etwa 50-500  $\mu\text{m}$ , haftet einerseits der luminalen Darmwand fest an und liegt andererseits dieser lose auf. Er bedingt durch seine zwitterionischen Phospholipidanteile die hydrophoben Eigenschaften dieser Schutz- und Barrierschicht. Phospholipide werden im gesamten Gastrointestinaltrakt gefunden. Der bereits in tierexperimentellen Studien festgestellte protektive Effekt exogen zugeführten Phosphatidylcholins auf die experimentell induzierte Kolitis und Ulzerationen untermauert diese Annahme.

Mit der auf dem Gebiet der PC-Bestimmung erstmals angewandten Nano-Elektrospray-Ionisations-Tandem-Massenspektrometrie wurde im Rahmen dieser Arbeit der quantitative Gehalt sowie die qualitative Zusammensetzung der im humanen Mucus vorkommenden Phosphatidylcholine und Lysophosphatidylcholine bestimmt. Die Analyse des Darm-schleimmucus der Patienten zeigte eine qualitativ ganz ähnliche Phosphatidylcholin-zusammensetzung bei Crohn- und CU-Patienten ebenso wie bei jenen, die der gesunden Kontrollgruppe zugeordnet werden konnten.

Im Massenspektrum der PCs ließen sich diese, bedingt durch ihre Molekularionenströme, als Peaks zu > 90% im Bereich  $m/z$  758, 760 786 und 788 darstellen. Seltenerer Peaks fanden sich bei  $m/z$  734, 782, 784, 810 und 834. Die Messergebnisse entsprechen einer Fettsäurezusammensetzung von 34:2, 34:1, 36:4, 36:3, 36:2 sowie 16:0, 18:2, 18:1 und 18:0 (Kohlenstoffatome: Anzahl der Doppelbindungen).

Diese PC-Klasse macht etwa 90% der Gesamphosphatidylcholine im menschlichen Darmmucus aus. Die massenspektroskopische Untersuchung der Lysophosphatidylcholine zeigte in über 90% der Fälle primär gesättigte Fettsäuren in den Bereichen m/z 496 und m/z 524, korrelierend mit einer gesättigten Fettsäureseitenkette von 16:0 und 18:0.

Die absolute PC-Menge betrug 1285 (850-1639) pmol/ mg Trockengewicht in der Kontrollgruppe, 1126 (465-1941) pmol/mg TG im Crohn-Kollektiv und signifikant weniger, nämlich 346 (230-405) pmol/mg TG, bei Colitis ulcerosa-Patienten ( $p < 0,05$ ).

In einem weiteren Schritt wurde bei 7 Patienten mit einer aktiven Cu, definiert durch einen CAI  $> 4$  nach Rachmilewitz, eine PC-Substitution mit retardiert freigesetztem Phosphatidylcholin vorgenommen. Alle Studienteilnehmer erhielten über einen Zeitraum von 3 Monaten täglich 4x 1,5 g eines PC-Gemisches. Um einen vorzeitigen Abbau des Gemisches im oberen Gastrointestinaltrakt zu verhindern, wurde dieses mittels Eudragit S 100 verkapselt. Es konnte gezeigt werden, dass das applizierte PC-Gemisch tatsächlich auch im Kolon ankommt und hierdurch die LPC- und PC-Werte im Kolonmucus signifikant ansteigen ( $p < 0,05$ ).

Welche Auswirkungen die PC-Substitution auf klinische Parameter hat, wird in weiteren Studien mit größerer Studienteilnehmerzahl zu untersuchen sein. Abschließend bleibt festzuhalten, dass die Nano-Elektrospray-Ionisations-Massenspektrometrie ein geeignetes Verfahren zur sensitiven Quantifizierung des PC-Gehalts im humanen Mucus sowie zur Bestimmung seiner qualitativen Zusammensetzung darstellt.