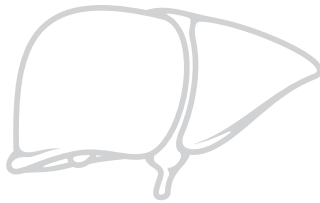


CAROLINE GUNCHICK

Langzeitevaluation der Transienten Elastographie
und Serumfibrosemarker zur Detektion einer
Leberbeteiligung bei Mukoviszidose



Inauguraldissertation zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Medizin
des Fachbereichs Medizin der Justus-Liebig-Universität Gießen



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.

Die rechtliche Verantwortung für den gesamten Inhalt dieses Buches liegt ausschließlich bei dem Autoren dieses Werkes.

Jede Verwertung ist ohne schriftliche Zustimmung der Autoren oder des Verlages unzulässig. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung in und Verarbeitung durch elektronische Systeme.

1. Auflage 2021

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without the prior written permission of the Authors or the Publisher.

1st Edition 2021

© 2021 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Giessen
Printed in Germany



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

STAUFENBERGRING 15, 35396 GIESSEN, GERMANY
Tel: 0641-5599888 Fax: 0641-5599890
email: redaktion@doktorverlag.de

www.doktorverlag.de

**Langzeitevaluation der Transienten Elastographie und
Serumfibresemarker zur Detektion einer Leberbeteiligung
bei Mukoviszidose**

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
des Fachbereichs Medizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von

Gunchick, Caroline, geb. Radke

aus Berlin

Gießen 2020

Aus dem Fachbereich Medizin der Justus-Liebig-Universität Gießen

Zentrum für Innere Medizin
Medizinische Klinik II
Schwerpunkt Gastroenterologie

Gutachter: Univ.-Prof. Dr. med. Elke Roeb

Gutachter: Prof. Dr.med. Johannes Strunk

Tag der Disputation: 14.07.2021

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Geschichte und Epidemiologie der Mukoviszidose	1
1.2	Pathogenese und Genetik	1
1.3	Klinische Präsentation der Mukoviszidose	3
1.4	Diagnostik	4
1.4.1	Schweißtest	4
1.4.2	Mutationsanalyse	5
1.4.3	Elektrophysiologische Messung	5
1.4.4	Pränataldiagnostik und Neugeborenen-Screening	6
1.5	CF-assoziierte Leberbeteiligung, CFLD (Cystic Fibrosis Related Liver Disease)	6
1.5.1	Epidemiologie und Pathogenese der CFLD	6
1.5.2	Klinische Präsentation und Komplikationen der CF-assoziierten Leberbeteiligung (CFLD)	8
1.5.3	Therapie bei CFLD-assoziierten Komplikationen	9
1.5.4	Therapieoptionen bei CFLD - Gegenwart und Zukunft	9
1.5.4.1	Ursodeoxycholsäure (UDCA)	9
1.5.4.2	Norursodeoxycholsäure (NorUDCA)	10
1.5.4.3	Obeticholsäure	10
1.5.4.4	CFTR-Modulatoren	10
1.6	CFLD- eine diagnostische Herausforderung	11
1.6.1	Aktuelle diagnostische Richtlinien	11
1.6.2	Indirekte Fibrosemarker und Fibrosescores	12
1.6.3	Die Bedeutung von Serumfibrosemarkern zur Diagnostik der CFLD	13
1.6.3.1	Tissue Inhibitors of Metalloproteinases (TIMPs)	13
1.6.3.2	Endoglin (CD105)	14
1.6.3.3	Humanes Cartilageprotein YKL-40 (chitinase 3-like-1)	14
1.6.4	Die Bedeutung der Transienten hepatischen Elastographie zur Diagnostik der CFLD	15
1.7	Fragestellung und Ziele der Arbeit	16
2	Material und Methoden	16
2.1	Studiendesign	16
2.1.1	Auswahl des Patientenkollektivs	17
2.1.2	Ausschlusskriterien	17
2.2	Transiente hepatische Elastographie (TE, Fibroscan®, Firma Echosens, Paris)	17
2.2.1	Gerätevorstellung und Prinzip der Untersuchung	17
2.2.2	Beginn einer neuen Messreihe	19
2.2.3	Positionierung und Funktion der Ultraschallsonde	20
2.2.4	Auswahl des Untersuchungsgebiets	21
2.2.5	Durchführung der Elastographiemessung	21
2.3	Untersuchung der Serumproben	23
2.3.1	Gewinnung und Aufbereitung der Proben	23
2.3.2	ELISA- Enzyme-Linked Immunosorbent Assay	23
2.3.2.1	Probenmaterial	23
2.3.3	Reflotron® Plus- Prinzip und Durchführung	25
2.4	Verbrauchsmaterialien und Laborgeräte	26
2.4.1	Laborgeräte-	26
2.4.2	Verbrauchsmaterialien	27
2.4.3	ELISA KITS	27

2.5	Statistische Datenauswertung	27
3	Ergebnisse	28
3.1	Evaluation des Patientenkollektivs	28
	Demographische und klinische Befunde	31
3.2	ANOVA-Analyse	31
3.2.1	Auswertung der Daten zur Transienten hepatischen Elastographie (TE)...	31
3.2.2	Auswertung der Serummarker	35
3.2.2.1	TIMP-1	37
3.2.2.2	TIMP-2	39
3.2.2.3	TIMP-4	41
3.2.2.4	Endoglin (CD105)	42
3.2.2.5	YKL-40 (Chitinase 3-like-1)	44
3.2.3	Auswertung der Routinelaborparameter.....	46
3.2.3.1	Gamma-Glutamyltransferase (γ GT)	47
3.2.3.2	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT)	49
3.2.3.3	Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT).....	51
3.2.3.4	Alkalische Phosphatase (AP).....	53
3.2.3.5	Bilirubin.....	55
3.3	Korrelationsanalyse nach Pearson	57
3.3.1	Korrelationstabelle der noCFLD Gruppe	58
3.3.2	Korrelationstabelle der CFLD Gruppe	59
3.4	Multinomiale logistische Regressionsanalyse	59
4	Diskussion.....	61
4.1	Die transiente hepatische Elastographie und weitere Methoden zur Diagnostik der CFLD - ein Vergleich	62
4.1.1	Leberbiopsie	62
4.1.2	Bildgebende Diagnostik: von Sonografie bis MR-Elastographie.....	64
4.1.3	Bedeutung der TE zur Langzeitevaluation von CFLD-Patienten - Resultat der vorliegenden Arbeit	65
4.1.4	Diagnostische Bedeutung der Routinelaborparameter	67
4.1.5	Diagnostische Bedeutung der Serumfibrosemarker TIMP-1, TIMP-2, TIMP-4, Endoglin und YKL-40	70
4.1.5.1	TIMPs	70
4.1.5.2	Endoglin	72
4.1.5.3	YKL-40.....	73
4.2	Limitation der Studie	74
4.3	Schlussfolgerung und Ausblick	76
4.4	Zusammenfassung:	78
5	Abkürzungsverzeichnis	81
6	Abbildungsverzeichnis	83
7	Tabellenverzeichnis	85
8	Literaturverzeichnis	87
9	Anhang.....	98
9.1	Multinomiale Regressionsanalyse	98
9.2	Aufklärungsbogen	108
9.3	Einwilligungserklärung	109
9.4	Dokumentationsbogen	110

10	Publikationsverzeichnis	111
11	Erklärung zur Dissertation.....	112
12	Danksagung.....	113
13	Lebenlauf.....	114

1 Einleitung

1.1 Geschichte und Epidemiologie der Mukoviszidose

Die Mukoviszidose (*lateinisch*: „*mucos*“, *Schleim* und „*viscidus*“, *zäh bzw. klebrig*) ist mit einer Inzidenz von ca. 1:3300 die häufigste angeborene Stoffwechselerkrankung in der kaukasischen Bevölkerung (88) Beschrieben wurde das Krankheitsbild erstmalig 1936 durch den Schweizer Kinderarzt Guido Fanconi in seiner Arbeit, „Das Coeliakiesyndrom bei angeborener zystischer Pankreasfibrose und Bronchiektasien“ (38, 122)

Den Begriff „Cystische Fibrose“ (CF), prägte jedoch die amerikanische Kinderärztin Dorothy Andersen, die 1938 die Zystische Fibrose des Pankreas in Abgrenzung zur Zöliakie bei 49 Patienten darlegte (3)

Erste Mutationen des CFTR-Gen (CFTR = Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator) lassen sich in Europa 30000 bis 40000 Jahre zurückverfolgen (8)

Seit 1949 ist bekannt, dass die Mukoviszidose einem autosomal-rezessiven Erbgang folgt (79). Zudem variiert die Erkrankung in ihrem geografischen und ethnischen Verteilungsmuster. So sind beispielsweise weniger Menschen mit asiatischer und afrikanischer Herkunft betroffen als Nordeuropäer (18).

Etwa vier Prozent der nordamerikanischen und fünf Prozent der nordeuropäischen Bevölkerung sind gesunde Träger (sog. Carrier) einer CFTR-Mutation. Sind beide Eltern heterozygote Carrier der Genmutation, besteht für die Nachkommen ein Erkrankungsrisiko von 25 Prozent (106).

Anfang des 20. Jahrhunderts lag die durchschnittliche Lebenserwartung der Erkrankten bei nur einigen Monaten. Durch frühe Diagnostik und neue Therapieansätze ist das durchschnittliche Überlebensalter in Industrienationen heute auf ca. 50 Jahre angestiegen (21).

1.2 Pathogenese und Genetik

1989 konnte das CFTR-Gen auf dem langen Arm des Chromosoms Nummer 7 (7q31.2) detektiert und damit der Ursprung der Mukoviszidose identifiziert werden (108).

Das CFTR-Gen codiert für das Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator Protein, ein cAMP regulierter Chloridionenkanal aus der Familie der ABC-Transporter. Durch Bindung und Spaltung von ATP erfolgt der aktive Ionen-Transport über die Zellmembran (105). So werden Sekretmenge und –zusammensetzung exokriner Drüsen wie zum Beispiel im Pankreas, in den intrahepatischen Gallengängen und im Gastrointestinaltrakt gesteuert. Im Respirationstrakt ist das Protein für eine ausreichende Oberflächenfeuchtigkeit („airway surface liquid“, ASL) verantwortlich, die sich aus Muzinen und der periziliären Flüssigkeitsschicht (Abk.: PCL) zusammensetzt (52, 120).

Der Ionenfluss über den apikal gelegenen CFTR, den Amilorid-sensitiven epithelialen Natriumkanal (Abk.: ENaC) und den kalziumaktivierten Chloridkanal (Abk.: CaCC) sorgt im Gegenzug durch Osmose für eine ausreichende Wasserkonzentration der ASL (52). Eine Fehlfunktion des CFTR bewirkt einen verringerten aktiven und passiven Transport von Chloridionen und Wasser in Richtung Extrazellularraum (EZR) sowie eine verminderte Inhibition des ENaC mit nachfolgend erhöhtem intrazellulärem Natrium- und Wassereinstrom(107). Dies führt zur Dehydratation der Zelloberfläche, Akkumulation eines viskösen Mukus, Zilienkollaps und zu gestörter mukoziliärer Clearance (52, 107).

Mutationen im CFTR resultieren darüber hinaus in einer verminderten Bikarbonatsekretion und haben Einfluss auf den pH-Wert des Drüsensekrets (96).

Weiterführend steuert der CFTR alternative Chloridkanäle (engl. outwardly rectifying chlorid channel, ORCC) und den renalen Kaliumkanal (engl. renal outer medullary potassium channel, ROMK) (112, 123).

Derzeit lassen sich sechs Mutationsklassen (I-VI) unterscheiden, wobei es sich beispielsweise um eine gestörte Proteinsynthese, Proteinreifung oder verminderte Stabilität des CFTR Proteins handelt (112). In Deutschland besitzen etwa 85 Prozent der Betroffenen das F508del Allel, ca. 47 Prozent davon sind homozygote Träger. Diese Klasse II Mutation ist gekennzeichnet durch eine fehlerhafte Proteinreifung und einen vorzeitigen Proteinabbau. So kommt es durch den Verlust der Aminosäure Phenylalanin an Position 508 des CFTR-Proteins zu einer Fehlfaltung des Proteins mit daraus resultierender Degradation im Endoplasmatischen Retikulum (ER) (120).

1.3 Klinische Präsentation der Mukoviszidose

Die klinischen Symptome der Mukoviszidose können in Abhängigkeit von der Mutation von atypischen Verläufen bis hin zur Multisystemerkrankung variieren und sich sowohl im Kindes- als auch Erwachsenenalter manifestieren. Eine Korrelation zwischen Genotyp und Phänotyp diente bislang nicht als prognostisches Kriterium. So können beispielsweise Familienangehörige mit gleichem CFTR-Genotyp heterogene Krankheitsbilder bzw. eine heterogene Krankheitsausprägung präsentieren (18).

Hauptursache für Morbidität und Mortalität von Mukoviszidosepatienten ist die Lungenbeteiligung (92).

Während die Lungenfunktion zum Zeitpunkt der Geburt noch uneingeschränkt ist, entwickeln sich bereits in den ersten Lebensmonaten Bronchiektasien. Bei adulten Mukoviszidosepatienten stehen Hämoptysen und die Ausbildung einer allergischen bronchopulmonalen Aspergillose als pulmonale Symptomatik im Vordergrund. Chronisch-rezidivierende bronchopulmonale Infektionen mit multiresistenten Erregern (sog. Problemkeimen) wie *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia* oder *Stenotrophomonas maltophilia* können zu Exazerbationen mit Verschlechterung der Lungenfunktionsparameter und letztlich Destruktion der Lungenarchitektur führen (40, 93, 117).

Das fortgeschrittene Erkrankungsstadium kann von einer respiratorischen Globalsinsuffizienz mit pulmonaler Hypertonie und Ausbildung eines Cor pulmonale bestimmt sein (106).

Bei der Mehrheit der männlichen Mukoviszidosepatienten kommt es zu einer bilateralen Obliteration der Vas deferens mit resultierender Azoospermie und Infertilität (62). Bei Frauen kann eine Pubertas tarda in Folge der Malnutrition zu eingeschränkter Fertilität führen. Zudem behindert der zähe Zervixschleim die Spermienaszension. Grundsätzlich sind an Mukoviszidose erkrankte Frauen aber in der Lage Schwangerschaften auszutragen (49).

Zu den gastrointestinalen Symptomen der Mukoviszidose gehört die Destruktion des Pankreasgewebes, welche bereits in utero ab der 17. Schwangerschaftswoche beginnt (125).

85-90% der Erkrankten entwickeln innerhalb der ersten Lebensjahre eine exokrine Pankreasinsuffizienz. Das visköse Sekret führt zur Obstruktion der Pankreasausführungsgänge und begünstigt autolytische Prozesse, die den fibrotischen Umbau und eine Infiltration des Pankreasgewebes mit Fettgewebe bewirken (137). Durch die fehlende Aktivität der Verdauungsenzyme kommt es zu Maldigestion und Malabsorption von Nährstoffen. Ein daraus resultierender Mangel an fettlöslichen Vitaminen kann unter anderem Gerinnungsstörungen und Osteoporose verursachen (99). Zudem leiden die Patienten bereits früh an Wachstums- und Gedeihstörungen. Die endokrine Funktionsstörung des Pankreas ist dem Verlust der Inselzellen geschuldet (137). Bei etwa der Hälfte der adulten Patienten manifestiert sich ein sekundärer Diabetes mellitus (91).

Unmittelbar postnatal gilt ein Mekoniumileus bis zum Beweis des Gegenteils als klinisches Korrelat einer Mukoviszidose (18). Jenseits der Neugeborenenperiode können die Patienten unter einem Obstruktionssyndrom der Ileozökalregion leiden (Abk.: engl. DIOS, distal intestinal obstruction syndrom) (60). Zudem wird eine erhöhte Inzidenz an gastroösophagealen Refluxerkrankungen bei CF-Patienten beobachtet (78). Die Bedeutung der CF-assoziierten Leberbeteiligung (CFLD) wird in einem gesonderten Kapitel beschrieben (siehe Kapitel 1.5).

1.4 Diagnostik

Die Heterogenität des klinischen Erscheinungsbildes der Mukoviszidose ist für die Diagnosestellung eine Herausforderung (30). Die aktuelle S2k-Leitlinie zur Diagnose der Mukoviszidose (AWMF-Register-Nr. 026/023) schlägt folgenden Algorithmus vor.

Zunächst müssen diagnostische Hinweise wie ein positives Neugeborenencreening, ein an Mukoviszidose erkranktes Geschwisterkind oder mindestens ein klinischer Hinweis wie zum Beispiel chronische sinopulmonale Erkrankungen, exokrine Pankreasinsuffizienz oder ein Salzverlustsyndrom vorliegen. Anschließend erfolgt der Nachweis einer CFTR-Funktionsstörung mittels Schweißtest, Mutationsanalyse oder elektrophysiologischer Messung (88).

1.4.1 Schweißtest

Die Messung der Elektrolytkonzentration im Schweiß zur Diagnostik der Cystischen Fibrose wurde 1959 durch Gibson und Cook etabliert (50).

Aufgrund der hohen Sensitivität (96,5%) und Spezifität (99%) ist der Schweißtest auch heute noch diagnostischer Goldstandard. Der Test kann ab dem dritten, idealerweise aber ab dem 14. Lebenstag bei Neugeborenen mit einem Körpergewicht von über 3000 Gramm und Geburt nach der 36. Schwangerschaftswoche durchgeführt werden. Hierbei erfolgt die iontophoretische Stimulation eines Hautareals durch Pilocarpin für mindestens fünf Minuten. Der Schweiß wird anschließend 30 Minuten gesammelt und der Chloridionengehalt mittels Titration bestimmt (117). Zur Diagnosestellung sollten zwei unabhängige Untersuchungen in einem Zentrum für Mukoviszidose erfolgen (88).

Folgende Chloridionenkonzentrationen dienen zur Beurteilung:

- ≤ 29 mmol/l: unauffällig = Mukoviszidose unwahrscheinlich
- 30-59 mmol/l: Kontrollbereich = weitere Diagnostik erforderlich
- ≥ 60 mmol/l: vereinbar mit der Diagnose Mukoviszidose

1.4.2 Mutationsanalyse

Aktuell sind 2075 Mutationen des CFTR-Gens bekannt (Stand 12/2019, <http://www.genet.sickkids.on.ca/HelpPage.html#faq>).

Die Mutationsanalyse dient der Diagnosesicherung und sollte die ethnische und geografische Herkunft des Patienten berücksichtigen. Die Leitlinie molekulargenetische Diagnostik der Cystischen Fibrose (AWMF-Register- Nr. 078/005) sieht vor Mutationen zu untersuchen, die mit einer Häufigkeit von mindestens einem Prozent in der betreffenden Population vorkommen. Aufgrund des autosomal-rezessiven Erbgangs müssen zur Diagnosestellung zwei Mutationen nachgewiesen werden (88). Durch die große Anzahl von Mutationen erweist sich eine Stufendiagnostik als sinnvoll. So kann die Mutationsanalyse die Testung einer spezifischen Mutation sowie die Komplet-Sequenzierung des CFTR-Gens beinhalten (124).

In Deutschland sollte zunächst auf das Vorliegen der Mutation F508del getestet werden, da etwa die Hälfte der Mukoviszidosepatienten in Bezug auf diese Deletion eine Homozygotie aufweisen (124).

1.4.3 Elektrophysiologische Messung

Die nasale Potentialdifferenzmessung (NPD) in vivo und die intestinale Kurzschlussstrommessung (ICM) ex vivo messen die CFTR Aktivität. Lässt sich zuvor

keine CFTR Mutation nachweisen und die Chloridionenkonzentration im Schweiß liegt im Kontrollbereich, kann der diagnostische Algorithmus hiermit ergänzt werden (88).

1.4.4 Pränataldiagnostik und Neugeborenen-Screening

Die pränatale Diagnostik kann bei sonografisch echogenem Darm, Heterozygotie beider Eltern oder Homozygotie der Schwangeren oder des Kindsvaters indiziert sein (124). Die Gewinnung fetaler Zellen erfolgt mittels Chorionzottenbiopsie in der 10.-12. oder mittels Amniozentese in der 16.-18. Schwangerschaftswoche (18).

Seit dem 1. September 2016 ist der Beschluss des Gemeinsamen Bundesausschusses über die *Früherkennung von Krankheiten bei Kindern bis zur Vollendung des 6. Lebensjahres (Kinder-Richtlinie): Screening auf Mukoviszidose (Zystische Fibrose)* in Kraft gesetzt.

Das Screening umfasst eine Stufendiagnostik mit zwei biochemischen Tests und einer DNA-Mutationsanalyse. Nach Einwilligung der Erziehungsberechtigten wird im Rahmen der U2 oder alternativ U3, kindliches Blut auf eine Trockenfilterkarte appliziert und auf immunreaktives Trypsin (IRT) getestet. Liegt der untersuchte Wert \geq der 99.0 Perzentile gilt der Test als positiv. Im zweiten Schritt wird die Probe auf Pankreatitis-assoziiertes Protein (PAP) untersucht. Bei einem Wert \geq 87.5 Perzentile ist das Testergebnis als positiv zu werten. Anschließend erfolgt die molekulargenetische Diagnostik der populationsspezifischen CFTR-Mutationen. Das Screening gilt als positiv wenn IRT \geq der 99.0 Perzentile oder mindestens eine CFTR-Mutation nachgewiesen werden kann (20).

1.5 CF-assoziierte Leberbeteiligung, CFLD (Cystic Fibrosis Related Liver Disease)

1.5.1 Epidemiologie und Pathogenese der CFLD

Durch eine steigende Lebenserwartung, verbesserte Diagnostik und Therapien scheint sich der Fokus auf CF-assoziierte Erkrankungen zu verlagern (28). Etwa ein Drittel der an Mukoviszidose erkrankten Patienten entwickeln eine CF-Hepatopathie (englisch: Cystic fibrosis liver disease, CFLD) an deren Folgen etwa 2,5 % versterben. Damit ist die CFLD nach kardio-respiratorischer Insuffizienz und Transplantationskomplikationen der dritthäufigste Grund für Morbidität und Mortalität unter den Betroffenen (32). Die Ätiologie der CFLD wurde wiederkehrend diskutiert. Von Bedeutung scheinen Mutationen der Klasse I-III, bei denen es zu einem vollständigen Funktionsverlust des CFTR kommt sowie Risikofaktoren, hierzu zählen: das männliche Geschlecht, der

Mekoniumileus und die exokrine Pankreasinsuffizienz, zu sein. Ein einheitlicher Konsens ließ sich bisher nicht finden und so können Kausalitäten zwischen Genotyp und Phänotyp nur unter Vorbehalt angenommen werden (28, 59, 113).

Aktuell existieren mehrere Theorien zur pathophysiologischen Entstehung der CFLD. Cohn et al. entdeckten, dass der CFTR an der apikalen Membran der Cholangiozyten und Epithelzellen der Gallenblase, nicht aber in Hepatozyten lokalisiert ist (27). Obwohl die Galle von Hepatozyten gebildet wird, sind Cholangiozyten maßgeblich an deren Volumen und Zusammensetzung beteiligt. Über den CFTR der Cholangiozyten werden Chloridionen in das Lumen sezerniert, um dort für ein negatives Potenzial zu sorgen. Natriumionen können passiv parazellulär folgen und bewirken so den Wassertransport über Aquaporine aus der Zelle. Zusätzlich hält der Chloridionengradient die Sekretion von Bikarbonat über den Cl-/HCO₃- Austauscher aufrecht und trägt zur Alkalisierung der Gallenflüssigkeit bei (pH 8,0-8,5) (39). Mutationen des CFTR sorgen für eine unzureichende intraluminale Konzentration von Bikarbonat und Wasser. Die visköse Gallenflüssigkeit führt zur Obstruktion der intrahepatischen Gallengänge und Akkumulation toxischer Gallensäuren (43, 131). Es kommt zur Freisetzung proinflammatorischer Zytokine und Wachstumsfaktoren wie Transforming Growth Factor- β 1 (TGF- β 1), Platelet Derived Growth Factor (PDGF) oder Tumor Nekrose Faktor- α (TNF- α). Die aktivierte Signalkaskade bewirkt die Transdifferenzierung hepatischer Sternzellen in myofibroblastenähnliche, Vitamin-A arme Phänotypen, die sich entlang der Lebersinusoide im Disse'schen Raum formieren und überwiegend Kollagen Typ I und III sezernieren (109). Darüber hinaus kommt es zur Sekretion von TIMPs, (engl. tissue inhibitors of matrix metalloproteases) profibrotischen-, proinflammatorischen- und proangiogenen Zytokinen wie TGF- β , IL-6 (Interleukin-6) und VEGF (engl. Vascular Endothelial Growth Factor) (73, 109). Dieser Pathomechanismus scheint hauptverantwortlich für die Fibrogenese im Rahmen der CFLD zu sein (73).

Zusätzlich sind auch Endothelzellen, Fibroblasten, glatte Muskelzellen und Gallengangsepithelzellen an der Bindegewebsvermehrung beteiligt (65).

Eine weitere Theorie zur pathophysiologischen Entstehung der CFLD besagt, dass Mukosaläsionen, bakterielle Fehlbesiedlung und eine erhöhte Permeabilität des Dünndarms mit daraus resultierendem Übertritt von Bakterienbestandteilen in den

Portalkreislauf verantwortlich für die Inflammation und Fibrogenese des Lebergewebes sind (44).

Denkbar ist allerdings auch, dass es sich bei der CFLD Entstehung um eine multifaktorielle Genese handelt, bei der u.a. Umwelteinflüsse, hepatotoxische Medikamente und Modifikationsgene wie z.B. SERPINA-1Z-Allel zu berücksichtigen sind (10, 33, 66).

In den letzten Jahren waren die Rolle der Gallensäuren, die molekularen Mechanismen der Fibrogenese und die Bedeutung intrazellulärer Rezeptoren wie z.B. der Peroxisom-Proliferator-aktivierten Rezeptoren (PPAR γ) Gegenstand der Forschung (33).

1.5.2 Klinische Präsentation und Komplikationen der CF-assoziierten Leberbeteiligung (CFLD)

Unter dem Terminus CFLD fasst man eine Reihe von hepatobiliären Erkrankungen bzw. Phänomenen zusammen, die in ihrer klinischen Ausprägung sehr unterschiedlich sein können (128). Die erste Manifestation einer CFLD kann eine fetale bzw. neonatale Cholestase sein (59). Darüber hinaus können eine Mikrogallenblase, sklerosierende Cholangitis oder Steatosis hepatis auftreten, wobei letztere häufig auf eine Malnutrition, längerfristige parenterale Ernährung und einen Mangel an essentiellen Fettsäuren zurückzuführen ist (28, 59). Die fokal biliäre Zirrhose ist pathognomisch für die CFLD und manifestiert sich bei 20-30% der Patienten. Klinisch erscheint sie allerdings oft inapparent (28, 43)

Die multilobuläre Zirrhose ist die klinisch relevanteste Manifestation der CFLD (33). Sie tritt bei etwa fünf bis zehn Prozent der Mukoviszidosepatienten innerhalb der ersten Lebensdekade auf (36).

Im klinischen Alltag lässt sich zwischen einer stabil kompensierten und dekompenzierten Leberzirrhose unterscheiden. Letztere ist durch das Auftreten einer portalen Hypertension (Druck im Pfortaderbereich > 12 mmHg) gekennzeichnet (5). Im Rahmen der CFLD kann die portale Hypertension der Zirrhose vorausgehen. Es handelt sich folglich um eine nicht-zirrhose portale Hypertension (engl.: non cirrhotic portal hypertension, NCPH) (133).

Primäre Komplikationen der portalen Hypertension können gastroösophageale Varizen mit Ausbildung von hämodynamisch relevanten Blutungen, Aszites und Splenomegalie

mit Hypersplenismus sein. Zudem kann es im dekompensierten Stadium durch den Verlust der hepatozellulären Synthesefunktion zu metabolischen Komplikationen wie Ikterus, hepatischer Enzephalopathie, Malnutrition und Osteopenie kommen. Zu den Spätkomplikationen zählt das Auftreten eines hepatozellulären Karzinoms (HCC) (5, 90).

Zwar sind die aufgeführten Komplikationen unabhängig von der Ätiologie der Lebererkrankung aber die Erkenntnis, dass eine CFLD bereits im Kindesalter fulminant verlaufen kann, verdeutlicht die dringende Relevanz frühzeitiger Diagnostik und Therapie.

1.5.3 Therapie bei CFLD-assoziierten Komplikationen

Zur medikamentösen Therapie der portalen Hypertension werden u.a. nicht-selektive Betablocker wie Propranolol eingesetzt. Eine im Nebenwirkungsspektrum beschriebene Bronchokonstriktion kann die Toleranz des Medikaments bei Mukoviszidosepatienten verringern (128). Interventionelle Therapien können eine endoskopisch gesteuerte Ligatur von Ösophagusvarizen oder die Anlage eines transjugulären intrahepatischen portosystemischen Shunts (TIPS) umfassen (128) Bei Splenomegalie mit Hypersplenismus kann die partielle oder totale Splenektomie indiziert sein (36).

Ultima ratio der CFLD Therapie ist die Lebertransplantation. Kombinierte Leber-Lungen-oder Leber-Pankreas-Transplantationen werden aufgrund der anspruchsvollen Operationstechnik und dem erhöhten Komplikationsrisiko ausschließlich an spezialisierten Zentren durchgeführt. Eine valide Aussage bezüglich des Outcome lässt sich aktuell aufgrund der geringen Publikationslage nicht treffen. (128).

1.5.4 Therapieoptionen bei CFLD - Gegenwart und Zukunft

Grundsätzlich sollte die Therapie der CFLD im Sinne einer personalisierten Medizin individuell aufgestellt werden und zum primären Ziel haben, assoziierte Komplikationen zu minimieren (128).

1.5.4.1 Ursodeoxycholsäure (UDCA)

Ursodeoxycholsäure (UDCA) ist eine hydrophile, nicht-toxische Gallensäure, die beim Menschen mit etwa drei Prozent nur einen geringen Anteil am Gallensäurepool ausmacht. Als synthetisch hergestelltes Medikament findet es vor allem Anwendung bei der therapeutischen Auflösung von Cholesterin-Gallenblasensteinen, zur Stimulation der Gallensekretion bei angeborenen (Alagille-Syndrom, Morbus Wilson) und erworbenen

Gallensekretionsstörungen (z.B. im frühen Erkrankungsstadium der primär biliären Cholangitis) (68).

UDCA verbessert den Gallenfluss und verhindert bzw. reduziert die Akkumulation toxischer Gallensäuren durch eine erhöhte hepato- und cholangiozelluläre Sekretion. Zudem wird angenommen, dass Hepato- und Cholangiozyten vermehrt Bikarbonat (HCO_3^-) sezernieren und somit antiinflammatorische und antiapoptotische Effekte erzielt werden können (15).

Derzeit ist UDCA in einer Dosierung von 20 mg/kg/d das am häufigsten verwendete Arzneimittel in der Behandlung der CFLD (32, 128).

Der routinemäßige Einsatz von UDCA wird allerdings kontrovers diskutiert. Eine retrospektive Analyse von zehn klinischen Studien aus 2014 konnte keinen Beweis erbringen, dass UDCA das Überleben oder die Indikation einer Lebertransplantation bei CFLD Erkrankten positiv beeinflusst (23).

1.5.4.2 Norursodeoxycholsäure (NorUDCA)

Norursodeoxycholsäure (NorUDCA) ist ein Seitenketten-verkürztes Derivat der UDCA. Der Wirkmechanismus beruht auf der Verbesserung des Gallenflusses durch vermehrte Bikarbonatsekretion (HCO_3^-). In Tiermodellen und klinischen Studien konnten vielversprechende Resultate in der Therapie der primären biliären Zirrhose erzielt werden (53).

1.5.4.3 Obeticholsäure

Obeticholsäure ist eine halbsynthetische Gallensäure. Als selektiver Agonist am Farnesoid X-Rezeptor (FXR) verringert es die hepatische Synthese von Gallensäuren (89). Das Medikament wird zur Zweitlinientherapie bei Primärer Biliärer Cholangitis (PBC) empfohlen (24).

1.5.4.4 CFTR-Modulatoren

Sowohl Ivacaftor (VX-770), ein CFTR Potenziator, der eine verlängerte Öffnungszeit des defekten Chloridionenkanals bewirkt und bei Patienten mit der Punktmutation G551D seit 2012 eingesetzt werden kann, als auch die Kombination mit Lumacaftor, ein CFTR-Korrektor, zur Therapie von Patienten mit einer F508del Mutation, konnten bereits eine Verbesserung der Lungenfunktionsparameter bei Betroffenen erzielen (98, 138).

Die Studienlage zum Einsatz der CFTR-Modulatoren bei CFLD ist bisher noch unzureichend. In einem Case Report wurde die Regression einer Steatosis hepatis bei einer 17-jährigen Mukoviszidose Patientin zwei Jahre nach Therapiebeginn mit Ivacaftor beschrieben (55). Konträr dazu umfasst das Nebenwirkungsspektrum der CFTR-Modulatoren hepatobiliäre Auswirkungen wie beispielsweise die Erhöhung der Transaminasen (128).

1.6 CFLD- eine diagnostische Herausforderung

1.6.1 Aktuelle diagnostische Richtlinien

Aktuell existiert weder eine einheitliche Klassifikation der CFLD noch eine Leitlinie zum diagnostischen Algorithmus (33). Die meisten Patienten zeigen einen asymptomatischen Verlauf und fallen erst im Rahmen der klinischen Routineuntersuchung durch eine palpable Hepatomegalie auf (28). Eine frühzeitige Diagnose ist essentiell um einer multilobulären Zirrhose und deren Komplikationen entgegenzuwirken (128).

Bislang existieren zwei Empfehlungen zum diagnostischen Ablauf (33)

Die europäische Richtlinie nach Debray et al. schlägt folgende Diagnosekriterien vor:

- Auffällige klinische Untersuchung:
 - Hepatomegalie: zu große, altersspezifische Leberspannweite; oder Lebertrand 2 cm unterhalb des Rippenbogens in der Medioklavikularlinie sonographisch gesichert
 - und/oder Splenomegalie, sonographisch gesichert
- Auffällige Leberfunktionstests:
 - Erhöhung der Aspartat-Aminotransferase / Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (AST/GOT), Alanin-Aminotransferase / Glutamat-Pyruvat-Transaminase (ALT/GPT) und γ -Glutamyltransferase (γ GT) oberhalb des Normwertes an drei aufeinanderfolgenden Untersuchungen innerhalb von 12 Monaten, nach Ausschluss anderer Ursachen einer Lebererkrankung
 - Auffällige Abdomensonographie

- Sonographischer Beweis für eine Leberbeteiligung, z.B. heterogene Echogenität, irregulärer Leberrand, Knoten, veränderte Randwinkel, Zeichen der portalen Hypertension (Splenomegalie, Kollateralkreisläufe, Azites) oder Veränderung der Gallenwege

Es müssen mindestens zwei der Kriterien für die Diagnosestellung einer CFLD vorliegen (32).

Die zweite Richtlinie wurde 2007 von der nordamerikanischen CF-Foundation erarbeitet (43). Sie berücksichtigt die folgenden Punkte:

- CFLD mit Zirrhose/portaler Hypertension (Klinik, Bildgebung, Histologie, Labor)
- CFLI (CF-related liver involvement) ohne Zirrhose/portale Hypertension aber einer der folgenden Befunde: persistierende Erhöhung von ALT/GPT, AST/GOT, γ GT, Steatosis hepatis (histologisch gesichert), Fibrose (histologisch gesichert), Cholangiopathie (gesichert durch Sonografie, MRT, ERCP, CT), Auffälligkeiten in der Sonografie
- Präklinisch: kein Hinweis auf CFLD in Bildgebung oder Laborbefunden; diese Kategorie dient Forschungszwecken

Bei unklarer Befundlage kann die Diagnostik durch eine Leberbiopsie oder weiterführende bildgebende Verfahren wie MRT, CT, MRCP und Szintigraphie erweitert werden (32, 121).

1.6.2 Indirekte Fibrosemarker und Fibrosescores

Die Bestimmung der Transaminasen (ALT/GPT und AST/GOT) sowie Cholestaseparameter (Alkalische Phosphatase (AP), Bilirubin und γ GT) gehören entsprechend den europäischen Richtlinien nach Debray et al. zum jährlichen diagnostischen Algorithmus(32). Besteht der Verdacht auf eine CFLD, können beispielsweise zusätzlich Thrombozytenzahl, Hyaluronsäure, Laminin oder Prokollagen-III-Peptid ermittelt werden, um das Leberfibroestadium einzuschätzen (76). Anhand dieser Parameter lässt sich der APRI-Score (Abk.: engl. APRI, aminotransferase to platelet ratio index) berechnen (9). Weitere Serumfibrosescores wie der Forns Test oder der HepaScore berücksichtigen unter anderem die γ GT sowie Geschlecht und Alter der

Patienten (1, 45). Die Aussagekraft der Serumfibrosescores bei Mukoviszidose-Patienten ist allerdings gerade im Anfangsstadium der Leberfibrose limitiert (33).

1.6.3 Die Bedeutung von Serumfibrosemarkern zur Diagnostik der CFLD

In mehreren Publikationen unserer Arbeitsgruppe wurden Serumfibrosemarker zur frühen Diagnostik einer CFLD bereits evaluiert. So zeigte Rath et al., dass TIMP-1, TIMP-2, TIMP-4, Endoglin und YKL-40 vielversprechende Marker zur Diagnostik der CFLD sind (101, 102).

1.6.3.1 Tissue Inhibitors of Metalloproteinases (TIMPs)

Neben der vermehrten Produktion von Bindegewebe durch aktivierte hepatische Sternzellen trägt ein weiterer Pathomechanismus zur Entstehung der Leberfibrose bei. Die Degradierung der extrazellulären Matrix beruht auf dem Zusammenspiel zwischen Matrixmetalloproteinasen (Abk.: MMPs) und deren Inhibitoren: TIMPs (29). Metalloproteinasen katalysieren die Spaltung von Peptidbindungen in Proteinen und bewirken den Abbau von extrazellulärer Matrix. Anhand ihres Substrates können sie in folgende Gruppen unterteilt werden: Kollagenasen, Gelatinasen, Stromelysine, Matrilysine, Metalloelastasen, Membrane-Type-(MT)MMPs und andere MMPs (58).

TIMPs sind extrazelluläre Proteine, die zur Familie der Kollagenaseinhibitoren gehören (111).

Sie regulieren den Umsatz der extrazellulären Matrix, Gewebsumbauprozesse und Zellfunktionen. Darüber hinaus begünstigen sie unabhängig von MMPs die Zellproliferation sowie antiangiogene und antiapoptotische Prozesse. Aktuell sind vier TIMPs bekannt: TIMP-1 bis 4. TIMPs können die aktivierte Form der MMPs über ihren N-Terminus binden und durch 1:1 Komplexbildung blockieren. Im physiologischen Zustand resultiert ein Gleichgewicht zwischen Auf- und Abbau der extrazellulären Matrix (86).

Jeder Vertreter der TIMP-Familie ist in der Lage, alle MMPs mit verschiedener Affinität zu inhibieren (19). Eine Dysbalance zwischen aktivierten MMPs und deren Inhibitoren kann pathologische Prozesse wie Tumorzellinvasion, Metastasierung und Fibrose induzieren (111).

1.6.3.2 Endoglin (CD105)

Endoglin (Cluster of differentiation, CD105) ist ein Typ III Transforming growth factor β (TGF- β) Co-Rezeptor. In Abhängigkeit vom TGF- β Typ I und II Rezeptor bindet Endoglin verschiedene Liganden der TGF- β Familie und reguliert Smad-abhängige und unabhängige Signalwege (2). Durch alternatives Splicen entstehen zwei Isoformen, L-Endoglin (long isoform) und S-Endoglin (short isoform), die sich in ihren zytoplasmatischen Domänen unterscheiden (42). Durch den Einfluss von MMP-14 entsteht durch proteolytische Spaltung die lösliche Form des Endoglins (soluble form of Endoglin; sol-Eng), dessen Konzentration z.B. bei Präeklampsie, Systemischem Lupus erythematodes oder Morbus Alzheimer, im Serum erhöht ist (82).

Bislang war das erhöhte Vorkommen von Endoglin in vaskulären Endothelzellen und dessen Bedeutung für die Pathogenese der Atherosklerose und der autosomal-dominant vererbten hereditären hämorrhagischen Teleangiectasie I (Abk.: HHT I) von großem Interesse. Darüber hinaus zeigte sich eine gesteigerte Expression von Endoglin in profibrotischen Zellen wie z.B. in Mesangiumzellen, kardialen Fibroblasten und hepatischen Stellatzellen (2).

Das Zytokin TGF- β ist an Zellproliferation, Zelldifferenzierung, Synthese und Sekretion der extrazellulären Matrix beteiligt. Im Rahmen chronischer Lebererkrankungen stimuliert TGF- β durch Aktivierung der hepatischen Sternzellen die Kollagensynthese (42). Weiterführend wird die Expression von Endoglin in hepatischen Sternzellen durch TGF- β hochreguliert. Die Interaktion von TGF- β und Endoglin scheint verantwortlich für eine Reihe pathophysiologischer Prozesse wie Tumorgenese, Tumorangiogenese und Fibrogenese in multiplen Geweben des Organismus zu sein (2).

1.6.3.3 Humanes Cartilageprotein YKL-40 (chitinase 3-like-1)

Humanes Cartilageprotein YKL-40 (chitinase 3-like-1) ist ein Glykoprotein aus der Familie der Chitinase-like Proteine (127).

Benannt ist es nach seinen drei Aminosäureresten: Tyrosin (Y), Lysin (K) und Leucin (L) und seiner Molekülmasse von 40 kDa (Kilodalton) (61). Es wird vorrangig von Makrophagen, neutrophilen Granulozyten und vaskulären, glatten Muskelzellen produziert und ist in Zellproliferation, Zelldifferenzierung, Angiogenese, Immunabwehrprozesse und Umbau der extrazellulären Matrix involviert (127). Eine

erhöhte Expression von YKL-40 konnte bei soliden Tumoren sowie inflammatorischen Prozessen beobachtet werden (61, 95). Die biologischen Funktionen von YKL-40 in Zusammenhang mit der Entstehung einer Leberfibrose sind noch nicht abschließend geklärt. Es scheint die Proliferation und Migration von Bindegewebszellen über den MAPK (engl.: mitogen-activated protein kinase) Signalweg zu aktivieren und damit Gewebsumbauprozesse und Fibrogenese zu induzieren (95).

Gegenstand der aktueller Forschungsbemühungen ist die Etablierung von Serumbiomarker wie z.B. zirkulierende Mikro-RNAs (engl.: circulating mircoRNAs), Fibroblasten-Wachstumsfaktor 19 (FGF 19, fibroblast growth factor 19) und 4-cholesten-3-one (C4) (33).

1.6.4 Die Bedeutung der Transienten hepatischen Elastographie zur Diagnostik der CFLD

Seit den 1980er Jahren gibt es Bemühungen, nicht-invasive Methoden zur Erfassung der Leberelastizität bei chronischen Lebererkrankungen zu entwickeln (114). Ganz allgemein existieren zwei Formen der ultraschallgestützten Elastographiemessung. Beim „strain imaging“ (engl.: strain elastographie (SE), acoustic radiation force impulse (ARFI)) wird durch Kompressionsreize eine Dehnung im zu untersuchenden Gewebe ausgelöst, während beim shear wave imaging (TE, point shear wave elastography (pSWE)) eine Scherwelle ausgelöst wird, deren Ausbreitungsgeschwindigkeit durch Ultraschall gemessen wird (119). Dennoch ist die perkutane Leberbiopsie weiterhin der diagnostische Goldstandard zur Evaluation einer Leberfibrose oder -zirrhose. Invasivität und Komplikationen wie erhöhte Blutungsneigung bei Vitamin-K Mangel und Pneumothorax limitieren jedoch den routinemäßigen Einsatz des Verfahrens bei Mukoviszidose-Patienten (81). Darüber hinaus entwickelt sich eine CFLD meist innerhalb der ersten Lebensdekade, was die Akzeptanz von invasiven Untersuchungsmethoden bei den jungen Patienten zusätzlich limitiert (132). In 2003 konnte die transiente hepatische Elastographie als Alternative zu invasiven Diagnostikmethoden in den klinischen Alltag eingeführt werden. Neben der einfachen Handhabung des Gerätes, machen die prompten Untersuchungsergebnisse, sowie die schnelle und schmerzfreie Untersuchung, das Verfahren besonders für das Kindesalter attraktiv (46, 114).

Mittels Ultraschall wird die Ausbreitungsgeschwindigkeit einer Impulswelle im Lebergewebe gemessen und die ermittelte Elastizität in Kilopascal (Abk.: kPa) angegeben. So lassen sich Rückschlüsse auf die Beschaffenheit des Leberparenchyms ziehen (114) Die ermittelten Werte variieren in Abhängigkeit vom Fibrosegrad (9). Für die Diagnostik und Verlaufsuntersuchung von chronischen Lebererkrankungen wie der Hepatitis C oder der nicht-alkoholischen Steatohepatitis (Abk.: NASH) ist das Verfahren bereits etabliert (34).

1.7 Fragestellung und Ziele der Arbeit

Unsere Arbeitsgruppe konnte bereits zeigen, dass neben der TE auch TIMP-1, TIMP-2, TIMP-4, Endoglin und YKL-40 wertvolle Marker zur Detektion der CFLD sind (101-103).

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war die Überprüfung des diagnostischen Nutzens der genannten Parameter in einer Langzeitevaluation.

Daraus ergaben sich folgende Fragestellungen:

- Welche Parameter sind geeignet um eine Progression der CFLD frühzeitig im Verlauf zu erkennen?
- Welche Patienten fallen besonders durch eine Veränderung der Serumfibrosemarker und der Lebersteifigkeit auf und sind somit einem potenziell erhöhten Erkrankungsrisiko ausgesetzt?

2 Material und Methoden

2.1 Studiendesign

Die Messungen der Lebersteifigkeit mittels transientser hepatischer Elastographie und Serumprobenentnahmen erfolgten mindestens einmal jährlich als Follow-up im Zeitraum von 2009 bis 2015 in der Abteilung Gastroenterologie der Medizinischen Klinik und Poliklinik II am Universitätsklinikum Gießen und Marburg (UKGM), Standort Gießen.

Die prospektive Langzeit-Studie wurde durch die Ethikkommission des Fachbereichs Humanmedizin (FB 11) der Justus-Liebig-Universität Gießen genehmigt (75/09; Sitzung vom 04.06.2009) und nach den Richtlinien der Deklaration von Helsinki durchgeführt. Die Patienten - oder im Falle der Minderjährigkeit deren Erziehungsberechtigte - wurden ausführlich über den Studieninhalt und die Untersuchungsverfahren informiert und

erklärten nach ausreichender Bedenkzeit ihr freiwilliges schriftliches Einverständnis (siehe Anhang, Einwilligungserklärung S. 101).

2.1.1 Auswahl des Patientenkollektivs

Es wurden ausschließlich an Mukoviszidose erkrankte Patienten inkludiert, die entweder an die Pneumologische Ambulanz der Medizinischen Klinik und Poliklinik II oder an das Zentrum für Kinderheilkunde und Jugendmedizin, Schwerpunkt pädiatrische Pneumologie, Allergologie, Mukoviszidose-Zentrum des UKGM, Standort Gießen angebunden waren. Die Diagnose Mukoviszidose wurde nach aktuellen Leitlinien (siehe Kapitel 1.4.) gestellt. Die Patienten wurden nach den bestehenden europäischen Richtlinien von Debray et al. (siehe Kapitel 2.4.1.) sowie unter Berücksichtigung aller Befunde und der Einschätzung des behandelnden Arztes einerseits in Patienten mit CF-assoziiertes Leberbeteiligung (CFLD) und andererseits in Patienten ohne CF-assoziiertes Leberbeteiligung (noCFLD) stratifiziert (32).

2.1.2 Ausschlusskriterien

Nicht an der Studie teilnehmen konnten Patientinnen und Patienten, die folgende Kriterien aufwiesen:

- Zustand nach Lungen- oder Lebertransplantation
- Wunden im Bereich des rechten Oberbauches
- Aszites
- Herzschrittmacher oder Defibrillator
- positiver Nachweis von multiresistenten Keimen
- Patienten, die nach Einschätzung des behandelnden Arztes aufgrund ihres Gesundheitszustandes nicht untersucht werden konnten
- Patientinnen, bei denen eine Schwangerschaft bestand oder diese nicht sicher ausgeschlossen werden konnte

2.2 Transiente hepatische Elastographie (TE, Fibroscan[®], Firma Echosens, Paris)

2.2.1 Gerätevorstellung und Prinzip der Untersuchung

Die TE ist eine nicht-invasive Untersuchungsmethode zur Bestimmung der Leberelastizität. In der vorliegenden Arbeit erfolgten die Messungen mit dem Fibroscan[®]502. Das Gerät besteht aus einem fahrbaren Rahmengestell mit integriertem Bildschirm, einer Tastatur mit Navigationsvorrichtung, der Messsonde, die über ein

Kabel mit dem Gerät verbunden ist und zwei Halterungen, um die Messsonde nach Abschluss der Untersuchung sicher zu platzieren (siehe Abbildung 1). Des Weiteren verfügt das Gerät über EDV-Anschlüsse sowie ein CD-ROM- und DVD-Laufwerk zur Datenspeicherung und Softwareinstallation. Das Gerät wird über den Hauptschalter und den Stand-by-Knopf in Betrieb genommen. Sobald das Betriebssystem gestartet ist, wird die integrierte Mess-Software (Software Version 1.36) automatisch hochgefahren. Die spezielle Messsonde besteht aus einem elektrodynamischen Schallkopf, auf dem wiederum ein Monoelement-Ultraschall-Schallkopf montiert ist (siehe Abbildung 2) (according to owners manual). Entsprechend dem Thoraxdurchmesser des Patienten stehen verschiedene Messsonden mit unterschiedlicher Frequenz und Eindringtiefe zur Verfügung (siehe Tabelle 1). Über den elektrodynamischen Schallkopf wird ein Impuls generiert, der eine niederfrequente elastische Scherwelle von 50 Hz (Hertz) erzeugt, welche sich entlang der Haut und Unterhaut bis in die Leber ausbreitet. Die integrierte Ultraschallsonde misst die Ausbreitungsgeschwindigkeit der elastischen Scherwelle anhand derer der Fibroscan® die Lebersteifigkeit (engl.: stiffness) berechnet. Diese ist direkt proportional zur Beschaffenheit des Leberparenchyms und wird dem Untersucher am Monitor in Kilopascal (kPa) angezeigt. Dabei können die Steifigkeitswerte zwischen 2,5 kPa und 75 kPa liegen. Hieraus ergibt sich: je härter das Leberparenchym ist, desto höher ist im Rückschluss die errechnete Lebersteifigkeit (stiffness in kPa) (31).

Der mathematische Zusammenhang kann durch die Formel, $E = 3\rho V^2$ erklärt werden (114).

E = Elastizitätsmodul

ρ = Dichte

V = Ausbreitungsgeschwindigkeit

Abbildung 1 - Fibroscan®502



Abbildung 2 - M-Sonde



Sonde	Brustumfang	Messtiefe	Frequenz
S1	≤ 45 cm	15 – 40 mm	5 Mhz
S2	45 – 75 cm	20 – 50 mm	5 Mhz
M	75 – 110 cm	25 – 65 mm	3.5 Mhz
XL	2.5 – 3.5 cm (SCD*)	35 – 75 mm	2.5 Mhz

SCD (Distanz zwischen Haut und Leberkapsel; engl: skin-capsule distance)

Tabelle 1) Informationen zu den verschiedenen Sonden des Fibroscan®502 zur Bestimmung der Lebersteifigkeit, modifiziert nach Sandrin et al, 2011 .

Copyright Echosens all rights reserved – Paris –France

2.2.2 Beginn einer neuen Messreihe

Bevor eine neue Messreihe gestartet werden kann, müssen folgende Daten im Registrierungsformular erfasst werden:

- **Lastname:** Nachname
- **Firstname:** Vorname des Patienten
- **Code:** Patientencode (in der vorliegenden Arbeit: „Muko“ für Mukoviszidose)
- **Birthdate:** Geburtsdatum (TTMMJJJJ)
- **Operator:** Kürzel des Untersuchers
- **Examination:** die verwendete Messsonde (Small 1, Small 2, Medium)

Die eingegebenen Daten werden über die Schaltfläche „OK“ bestätigt, das Erfassungsfenster öffnete sich und die Messsonde wird aktiviert, um eine neue Messreihe zu starten (according to owners manual). Am linken Bildrand können folgende Daten eingesehen werden: Datum, Untersuchungszeit, Steifigkeit (engl.: stiffness in kPa), Interquartilbereich (Abk.: IQR in kPa), Standardelastizität (Abk.: CS in kPa) und die Erfolgsrate (engl.: success rate in Prozent) (according to owners manual). Des Weiteren gliedert sich der Erfassungsbildschirm von links nach rechts in zwei Ultraschallbilder, den TM (engl.: time motion)- und A-Modus (Amplitudenmodus), eine Druckanzeige und das Elastogramm (siehe Abbildung 3). Die Anzahl der durchgeführten gültigen (engl.:

valid) und ungültigen (engl.: invalid) Messungen (engl.: Test) werden am unteren rechten Bildschirmrand angezeigt (according to owners manual).

Abbildung 3 - zeigt das Erfassungsfenster des Fibroscan®502; modifiziert nach Castera et al (2007) ²²



Links sind die Patientendaten sowie das Resultat (Stiffness in kPa) der Elastographiemessung aufgeführt.

Mittig ist der TM-Mode in Graustufen und der A-Mode abgebildet, der die Ausbreitung des Ultraschallsignals im Lebergewebe darstellt.

Rechts erscheint das Elastogramm welches die durch die Scherwelle entstandene Deformation im Lebergewebe abbildet. (Sandrin et al.,2011)

2.2.3 Positionierung und Funktion der Ultraschallsonde

Die Ultraschallsonde wird mit Ultraschallgel benetzt und in der rechten mittleren Axillarlinie auf Höhe des Xyphoids im Bereich zwischen dem neunten bis elften Interkostalraum senkrecht zur Hautoberfläche platziert. Messungen am unteren oder oberen Leberrand können zu verfälschten Elastographiewerten führen und sollten vermieden werden (114) Das durch die Sonde erfasste Volumen entspricht etwa einem Durchmesser von 1 cm Breite und 4 cm Länge (31). Der Druck der über die Sonde durch den Untersucher auf der Hautoberfläche ausgelöst wird, lässt sich über die dreifarbige Druckanzeige (Grün/Orange/Rot) im Erfassungsfenster und über die blauen LED-Leuchten am Handgriff der Sonde ablesen (according to owners manual). Der Messknopf der Sonde kann nur betätigt werden, wenn der Druckbalken im Erfassungsfenster im grünen Bereich ist und die blauen LEDs der Sonde leuchten. Ist der über die Sonde ausgeübte Druck zu niedrig, leuchtet der Druckbalken im Untersuchungsfenster Orange und die LEDs der Sonde sind inaktiv. Im Erfassungsfenster erscheint der Hinweis „Low

pressure“. Auf diese Weise kann die Messung nicht gestartet werden. Wird ein zu hoher Druck ausgeübt, ist der Druckbalken rot, die LEDs der Sonde dunkel und im Erfassungsfenster erscheint die Warnmeldung „High Pressure“ (114). Das Ausführen einer neuen Messung ist ebenfalls nicht möglich (according to owners manual).

2.2.4 Auswahl des Untersuchungsgebiets

Der geeignete Untersuchungsbereich über dem rechten Leberlappen lässt sich über den TM- und A-Ultraschallmodus lokalisieren. Der A-Modus zeigt das aktuell in die Leber ausgesendete Ultraschallsignal als eine Funktion der Eindringtiefe in logarithmischer Darstellung an. Die Linie sollte linear und gleichmäßig verlaufen. Heterogene Strukturen wie große Blutgefäße und Lungengewebe führen zum Ausschwenken des Signals. Eine konvex geformte Linie kann zum Beispiel bei Verwendung von zu wenig Ultraschallgel beobachtet werden.

Der TM-Modus repräsentiert das Ultraschallsignal als eine Funktion von Eindringtiefe und Zeit in logarithmischer Darstellung, welches in Graustufen erfasst wird. Eine homogene Leberstruktur wird als Lamellenmuster dargestellt. Weiße Töne innerhalb des Signalbildes weisen auf heterogene, nicht-lebergewebsspezifische Strukturen hin. Schwarze Bereiche können dagegen auf eine unzureichende Ankopplung der Ultraschallsonde hindeuten. Hier muss ein neuer Untersuchungsbereich gewählt werden, um die korrekte Messung durchzuführen (114) (according to owners manual).

2.2.5 Durchführung der Elastographiemessung

Der Patient befindet sich während der gesamten Untersuchung in Rückenlage mit maximaler Abduktionsstellung des rechten Armes über dem Kopf und C-förmiger Biegung des freien Oberkörpers zur linken Seite, um die Interkostalräume zu erweitern. Um valide Messergebnisse zu erzielen, wird der Patienten gebeten, während der Untersuchung nicht zu sprechen und auf eine physiologische Ein- und Ausatmung zu achten (114) (according to owners manual).

Sowohl der Bildschirm des Fibroscan® als auch die Position der Ultraschallsonde sollten während der gesamten Untersuchung im Blickfeld des Untersuchers sein.

Wenn alle Bedingungen erfüllt sind, kann über den Messknopf am Handgriff eine neue Messung ausgelöst werden. Die Erfassung eines Messwertes dauert ca. eine Zehntelsekunde. Bei regelrechter Sondenpositionierung werden alle Messungen im

selben Untersuchungsbereich durchgeführt. Die gesamte Untersuchungsprozedur beträgt in der Regel maximal fünfzehn Minuten.

Nach erfolgter Messung erscheint rechts am Monitor das Elastogramm. Es zeigt die durch die Scherwelle entstandene Deformation im Lebergewebe als weiß-gestrichelte Linie an (according to owners manual). Hierbei handelt sich um eine Funktion aus Eindringtiefe (vertikale Achse, „depth“ in mm) und Zeit (horizontale Achse, „time“ in ms). Die Neigung der weiß-gestrichelten Linie nimmt mit steigender Ausbreitungsgeschwindigkeit analog der Steifigkeit des Gewebes bzw. dem Fibrosegrad zu (114). Kommt die aufgesetzte Ultraschallsonde in Kontakt mit einer Rippe, lassen sich entweder eine A-Welle, eine doppelte Welle oder eine E-Welle, eine erweiterte Welle, beobachten. In diesem Fall sollte ein größerer interkostaler Abstand gesucht und die Messsonde neu platziert oder der interkostale Raum durch maximale Abduktion des rechten Armes sowie der Beine und zusätzliche tiefe Inspiration vergrößert werden (according to owners manual).

Das endgültige Messergebnis der Lebersteifigkeit wird als Median aus zehn gültigen Messungen vom Fibroscan[®] errechnet. Eine valide Messung liegt vor, wenn die Erfolgsrate (engl.: success rate) 60 Prozent nicht unterschreitet und der IQR ein Drittel des errechneten Medians nicht übersteigt.

Die integrierte Fibroscan[®] Software (Version 1.36) ermittelt automatisch Messungen, die nicht den qualitativen Kriterien entsprechen, so dass ungültige Messungen nicht in die Berechnung der Lebersteifigkeit einfließen.

Nach Beendigung der Messreihe wird die Schaltfläche „End“ betätigt. Über den Befehl „OK“ werden alle erfassten Daten auf der Festplatte des Fibroscans[®] archiviert. Die Sonde muss nach jeder Untersuchung von überschüssigem Ultraschallgel befreit und nach unten zeigend desinfiziert werden. Sie ist im vorgesehenen Sondenhalter abzulegen (according to owners manual).

Die erhobenen Untersuchungsergebnisse waren im Anschluss schriftlich zu dokumentieren und als Kopie zusammen mit der Einverständniserklärung an die Patienten auszuhändigen.

2.3 Untersuchung der Serumproben

2.3.1 Gewinnung und Aufbereitung der Proben

Die Blutentnahmen bei den Mukoviszidosepatienten erfolgten durch Ärzte oder Funktionsmitarbeiter des Mukoviszidose-Zentrums am Zentrum für Kinderheilkunde und Jugendmedizin und der Pneumologischen Ambulanz der Medizinischen Klinik II am UKGM. Aufgrund der invasiven Prozedur wurde ausschließlich bei routinemäßig geplanten Blutentnahmen eine zusätzliche Serum-Monovette für die vorliegende Studie abgenommen. Im Idealfall konnten die TE und Blutentnahme am selben Tag durchgeführt werden. Die Blutproben wurden bei 4 Grad Celsius für zehn Minuten bei max. 3000 Umdrehungen pro Minute (UpM) zentrifugiert. Der Überstand wurde in mit Patientenkürzel und Datum versehene Mikroreaktionsgefäße (jeweils 0,5 ml) pipettiert und bei -80 Grad Celsius aufbewahrt.

2.3.2 ELISA- Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

2.3.2.1 Probenmaterial

Insgesamt wurden von den ermittelten 37 Patienten (12 Erwachsene und 25 Kinder) jeweils zwei Serumproben pro Patient auf folgende Proteine mittels Quantikine® ELISA der Firma R&D Systems (Minneapolis, USA) untersucht:

- Human Endoglin / CD 105
- Human Chitinase 3-like 1 (YKL-40)
- Human TIMP-1
- Human TIMP-2
- Human TIMP-4

Das Probenmaterial wurde entsprechend der Handlungsanweisung der Firma R&D Systems aufbereitet. Die Verdünnung der Serumproben erfolgte nach Herstellerangaben oder entsprechend der Dokumentation aus vorangegangenen Arbeiten unserer Arbeitsgruppe (siehe Tabelle 2) (101, 102)

Tabelle 2) Angabe der Serummengen mit Verdünnungen für die Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Quantikine® ELISA	Verdünnung	Serummenge	Name Calibrator Diluent
Human TIMP-1	1:100	2 µl	Calibrator Diluent RD5P
Human-TIMP-2	1:50	4 µl	Calibrator Diluent RD5P
Human-TIMP-4	-	50 µl	-
Human Endoglin/CD105	-	50 µl	-
Human Chitinase 3-like 1 (YKL-40)	1:50	4 µl	Calibrator Diluent RD5P

Prinzip und Durchführung des Sandwich-ELISA

Zum quantitativen Nachweis der zu untersuchenden Proteine wurden sogenannte Sandwich- oder Antigen-Elisas durchgeführt. Bei dieser Technik werden zwei Antikörper zur Detektion des Antigens verwendet. Die 96-Well Mikrotitrierplatten der Firma R&D Systems waren mit dem ersten Antikörper, auch „*coating*“- *Antikörper* genannt, beschichtet. Die benötigten Materialien (Substratlösung, Standard, Waschlösung) wurden entsprechend den Herstellerangaben vorbereitet. Als erstes wurde die für das jeweilige Protein vorgeschriebene Menge an *Assay Diluent* in die einzelnen Vertiefungen (engl.: Wells) der Mikrotitrierplatte pipettiert. Anschließend wurden für die Doppelbestimmungen die geforderte Menge Standard, Serum und Kontrolle entsprechend dem vorbereiteten Protokoll zugefügt. Damit das Antigen an den *coating Antikörper* binden konnte, wurden die Proben für den Nachweis von YKL-40 und TIMP-4 bei Raumtemperatur und für den Nachweis von TIMP-1, TIMP-2 und Endoglin zusätzlich auf einem Plattformschüttler (engl.: horizontal orbital shaker) bei 500 ± 50 UpM für zwei Stunden inkubiert. Um anschließend alle ungebundenen Bestandteile zu entfernen, wurden die 96-Well Mikrotitrierplatten viermal gewaschen und im nächsten Schritt das passende Konjugat in die Wells pipettiert. Dabei handelt es sich um einen Detektionsantikörper, der mit einem Enzym, bei den verwendeten Elisa-Kits Meerrettichperoxidase (Abk.: HRP, engl. horseradish peroxidase), markiert ist. Hier entsteht ein Antikörper-Antigen-Antikörperkomplex, welcher an ein Sandwich erinnert und der Methode seinen Namen gibt. Nach erneuter Inkubation, bei TIMP-2, TIMP-4, Endoglin, YKL-40 für zwei Stunden und TIMP-1 für eine Stunde, wiederholte sich der bereits beschriebene Waschvorgang, um den überschüssigen Detektionsantikörper zu entfernen. Im letzten Schritt wurde die Substratlösung in die Wells eingebracht und - wenn nach Herstellerangaben erforderlich - unter Lichtschutz für 30 Minuten inkubiert. Das an den Detektionsantikörper gebundene Enzym setzte das Substrat um und bewirkte

einen Farbumschlag (blau). Die Farbreaktion wurde durch Hinzugabe von Schwefelsäure gestoppt (Farbumschlag blau zu gelb).

Die Auswertung erfolgte mithilfe eines ELISA-Readers (Mikrotitrierplattenlesegerät), der auf dem Prinzip eines Photometers beruht und die optische Dichte der zu analysierenden Probe bei einer Wellenlänge λ von 450 nm maß. Die quantitative Bestimmung der Proteinkonzentrationen erfolgte durch Erstellung von Standardkurven durch die integrierte Software EasyWin (Firma Tecan).

Für die weitere Datenverarbeitung wurde das Programm „Microsoft® Excel® für Mac 2011“ benutzt.

2.3.3 Reflotron® Plus- Prinzip und Durchführung

Aus den Patientenseren wurden zusätzlich die leberspezifischen Routineparameter (γ GT, GOT, GPT, AP und Bilirubin) bestimmt. Die quantitative Bestimmung der Parameter erfolgte unter Verwendung des Reflotron® Plus der Firma Roche. Das Prinzip der Messung folgt der Reflektionsphotometrie und kann zur klinisch-chemischen Analyse von Blut, Serum oder Plasma genutzt werden. Bei spezifischer Temperatur und Wellenlänge (siehe Tabelle 3) verfolgt das Gerät die Bildung eines Farbstoffs auf einem Teststreifen. Die Auswertung und Berechnung der Enzymaktivität des entsprechenden Parameters erfolgten letztendlich mit Hilfe von Funktionen und Umrechnungsfaktoren, die über den an der Unterseite des Teststreifens befindlichen Magnetstreifen an das Gerät übertragen wurden (according to owners manual). Vor Beginn einer neuen Messreihe wurde eine Kontrollmessung mit Reflotron® Clean + Check Teststreifen durchgeführt, um die Funktion des optischen Systems zu überprüfen. Nach Entfernung der Folie auf dem Teststreifen wurden 30 μ l Patientenserum auf das rote Reaktionsfeld pipettiert. Im nächsten Schritt konnte der Teststreifen in die Messkammer platziert und die Klappe geschlossen werden. Über den Magnetstreifen erkannte das Gerät die test- und chargenspezifischen Daten, welche sich am Display des Reflotron® Plus ablesen ließen. Die Auswertung dauerte zwei bis drei Minuten. Danach wurde das Resultat der Messung am Display des Gerätes angezeigt und über den integrierten Drucker ausgegeben. Der Teststreifen wurde nach Beendigung der Messung entsprechend den Arbeitsschutz- und Abfallentsorgungsbestimmungen entsorgt.

Tabelle 3) Angabe der geschlechterspezifischen Reflotron®-Referenzbereiche

Parameter	Wellenlänge λ	Referenzbereiche bei 37° Celsius in Unit/l
γ GT *	642nm	Männer: 10-71 U/l Frauen: 6-42 U/l
GOT/AST*	567nm	Männer: bis 40 U/l Frauen: bis 33 U/l
GPT/ALT*	567nm	Männer: bis 41 U/l Frauen: bis 32 U/l
AP*	567nm	Männer: 40-129 U/l Frauen: 25-104 U/l
Bilirubin*	567nm	Männer: <1,2mg/dl Frauen:<1,2mg/dl

*Es lagen keine pädiatrischen Referenzbereiche vom Hersteller vor.

2.4 Verbrauchsmaterialien und Laborgeräte

2.4.1 Laborgeräte-

- Centrifuge Mikro 200 R
- Centrifuge UNIVERSAL 320 R (Kinderklinik)
- Vortex Mixer neoLab 7-2020
- Vibrax VXR basic
- IKA-Combimag RCO
- CAT RM 5
- Pipetten Typ Research 0,5-10 μ l
- Pipetten Typ Research 2-20 μ l
- Pipetten Typ Research 10-100 μ l
- Pipetten Typ Research 100-1000 μ l
- Multipette® Plus
- Pipetten Typ Pipetman
- Perfusor® Spritze
- Eismaschine
- Gefrierschrank (-80°C)
- ELISA Reader Fusion™
- Reflotron® Plus System
- Andreas Hettich GmbH & Co. K Tuttlingen
- Andreas Hettich GmbH & Co. K Tuttlingen
- Gemmy Industrial Corp., Taiwan
- IKA®- Werke GmbH & Co KG, Staufen
- IKA®- Werke GmbH & Co KG, Staufen
- CAT Ingenieurbüro, M.Zipper GmbH Staufen
- Eppendorf, Hamburg
- Eppendorf, Hamburg
- Eppendorf, Hamburg
- Eppendorf, Hamburg
- Eppendorf, Hamburg
- Eppendorf, Hamburg
- Gilson, Inc. Middleton, USA
- B.Braun Melsungen AG
- Manitowoc®, USA
- ThermoFisher Scientific, USA
- Packard BioScience, USA
- Roche Diagnostics, Mannheim

2.4.2 Verbrauchsmaterialien

- Pipettenspitzen 10µl/ 200µl/ 1000µl
 - Reagiergefäße
 - Mikrozentrifugenreaktionsgefäße
 - 0,5ml/ 1,5ml/ 2ml
 - Cellstar Tubes
 - Reflotron-Stix
 - GPT (Ref.-Nr. 10745138)
 - GOT (Ref.-Nr. 10745120)
 - γ GT (Ref.-Nr. 10745081)
 - ALP (Ref.-Nr. 11622773)
 - Bilirubin (Ref.-Nr. 10905321)
- Sarstaedt AG & Co.,
Nümbrecht/ DE
 - Sarstaedt AG & Co.,
Nümbrecht/ DE
 - Sarstaedt AG & Co.,
Nümbrecht/ DE
 - Greiner bio-one GmbH,
Frickenhausen/ DE
 - Roche Diagnostics, Mannheim

2.4.3 ELISA KITS

- Quantikine® ELISA
 - Human Endoglin/ CD 105
(Catalog Number: DNDG00)
 - Human Chitinase 3-like 1
(Catalog Number: DC3L10)
 - Human TIMP-1
(Catalog Number: DTM100;
STM100; PDTM100)
 - Human TIMP-2
(Catalog Number: DTM200)
 - Human TIMP-4
(Catalog Number: DTM400)
- R&D Systems, Inc./ Minneapolis,
USA

2.5 Statistische Datenauswertung

Die statistische Aufbereitung der Daten wurde mithilfe des Programms Stata® (Version 15.0) durchgeführt. Hierbei wurden drei verschiedene Gruppen berücksichtigt: Mukoviszidose- Patienten ohne Leberbeteiligung (noCFLD), Patienten mit Leberbeteiligung (CFLD) und Patienten mit Leberbeteiligung, bei denen es während des Untersuchungszeitraums (2009-2015) zu einem definierten durchschnittlichen Anstieg der TE-Werte von ΔT pro Jahr kam (CFLDinc., inc. = engl. increase, Anstieg) (64). Eine

detaillierte Beschreibung des Patientenkollektivs und der Auswahlkriterien folgt im Ergebnisteil (Kapitel 3.1.). Zunächst wurden die erfassten Variablen deskriptiv für die einzelnen Gruppen in Tabellenform aufbereitet. Anschließend wurde eine zweifaktorielle Varianzanalyse mit Messwiederholungen durchgeführt (Abk.: ANOVA, engl. Analysis of Variance). Hier wurden die Effekte der unabhängigen Variablen, Gruppe (noCFLD, CFLD, CFLDinc.) und Zeit (Zeitpunkt 0-5), auf die abhängigen Variablen TE, Serumfibrinogenmarker (TIMP-1, -2, -4, Endoglin, YKL-40) und Routinelaborparameter (γ GT, GOT, GPT, AP, Bilirubin) untersucht. Dafür wurde die Varianz der Mittelwerte innerhalb und zwischen den Gruppen verglichen und sowohl der isolierte als auch der kombinierte Effekt (Haupt- und Interaktionseffekt) der unabhängigen Variablen auf die abhängigen Variablen abgebildet. Da die ANOVA nur eine allgemeine Aussage darüber treffen kann, ob Mittelwertunterschiede vorliegen, wurden Post-Hoc Tests zum paarweisen Mittelwertvergleich angeschlossen. Die Mittelwerte wurden graphisch in Form von Fehlerbalkendiagrammen mit 95% Konfidenzintervall (95% CI) dargestellt.

In der Korrelationsanalyse nach Pearson wurden jeweils der ungerichtete lineare Zusammenhang der relevanten metrischen Variablen untersucht und die Ergebnisse in Form von Korrelationstabellen dargestellt.

Abschließend wurde eine multinomiale logistische Regressionsanalyse berechnet, um den Einfluss der hier unabhängigen Variablen, TE, TIMP-1, -2, -4, YKL-40, Endoglin, GOT, GPT, γ GT, ALP und Bilirubin, auf die abhängige Variable, Gruppe (noCFLD, CFLD, CFLDinc.) vorhersagen zu können. Für jede Schätzung wurde ein Marginsplot dargestellt. Dieser zeigt für verschiedene Werte der unabhängigen Variablen das 95%-Konfidenzintervall für die Wahrscheinlichkeit der Gruppe an.

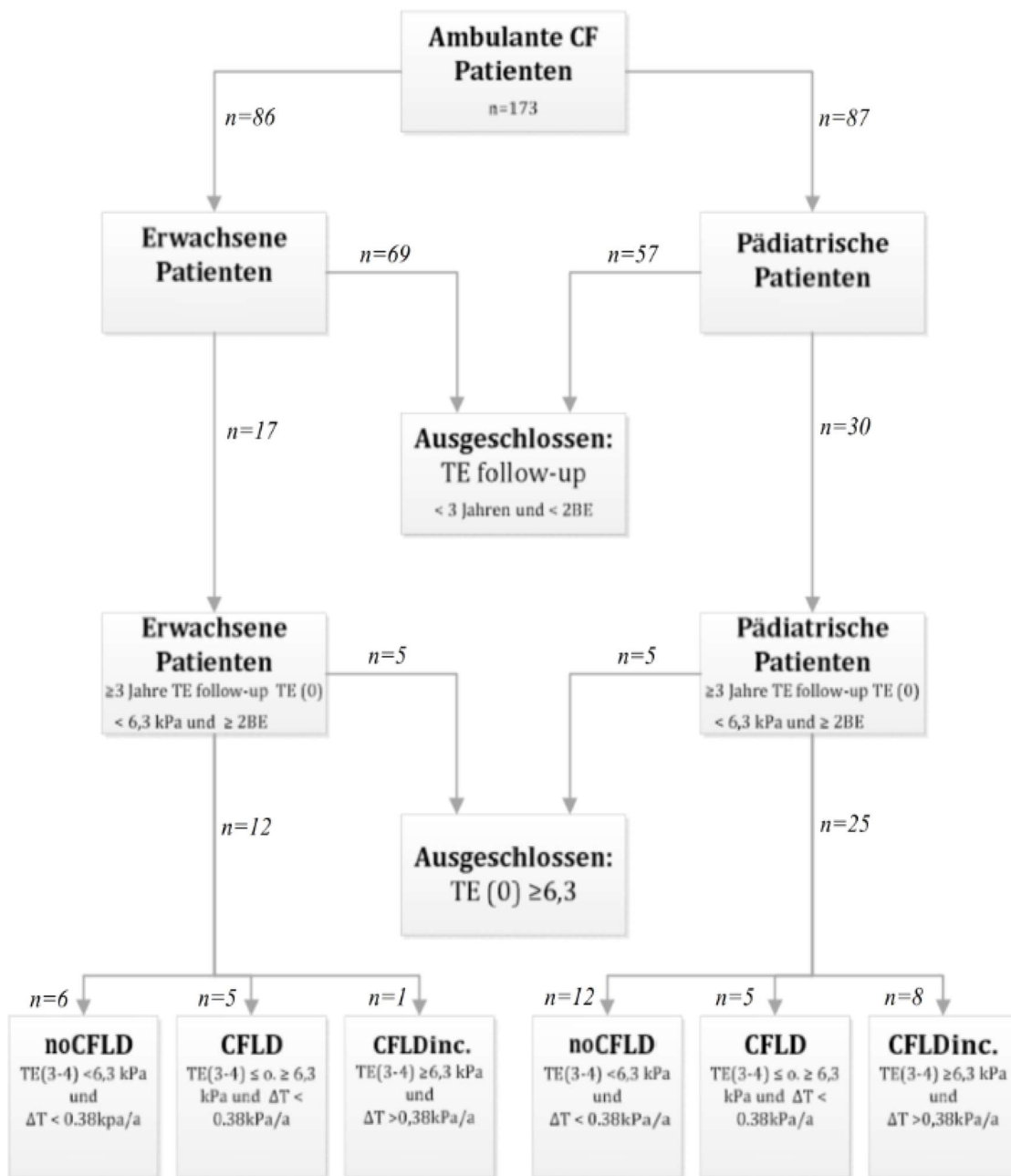
3 Ergebnisse

3.1 Evaluation des Patientenkollektivs

Von insgesamt 173 an Mukoviszidose erkrankten Patienten konnten 47, davon 17 Erwachsene und 30 Kinder/Jugendliche, für die Studie rekrutiert werden. Sie wurden über einen Zeitraum von mindestens drei Jahren (2009-2015) untersucht. In Veröffentlichungen unserer Arbeitsgruppe haben wir gezeigt, dass sowohl ein durchschnittlicher jährlicher Anstieg der TE-Werte (Δ TE) von 0,38 kPa/a (kPa pro Jahr) sowie ein cut-off von $\geq 6,3$ kPa eine hohe diagnostische Genauigkeit zur Identifizierung

von Patienten mit erhöhtem Risiko für die Entwicklung einer CFLD aufweisen (64, 101). Basierend auf diesen Auswahlkriterien konnte für die vorliegende Auswertung eine Kohorte von 37 Patienten - 12 Erwachsene und 25 Kinder und Jugendliche (Alter zur Baseline-Messung ≤ 18 Jahre) - evaluiert und in drei Gruppen stratifiziert werden, bei denen sowohl TE-Messungen über mindestens drei Jahre durchgeführt wurden und mindestens zwei Serumproben vorlagen. Um den Verlauf der TE-Werte und besonders die Expression der Serumfibrosemarker zu beurteilen und Risikopatienten zu detektieren, wurden zunächst jene Patienten ausgeschlossen, die bereits bei der ersten Elastographiemessung TE(0) eine Lebersteifigkeit oberhalb des cut-offs von $\geq 6,3$ kPa aufwiesen oder bereits klinisch oder bildmorphologisch gesicherte Korrelate einer Leberzirrhose zeigten. Sechs Erwachsene und zwölf Kinder hatten nach drei bis vier Jahren Follow-up Untersuchungen TE-Werte $< 6,3$ kPa und ein $\Delta T < 0,38$ kPa/a. Diese wurden der Gruppe noCFLD zugeteilt. Bei fünf Erwachsenen und fünf Kindern/Jugendlichen ergaben sich TE-Werte von \leq oder $\geq 6,3$ kPa, sowie ein ΔT von $< 0,38$ kPa/a. Dennoch gehörten diese Patienten aufgrund ihrer Befundlage (klinisch, labordiagnostisch, bildmorphologisch) zur Gruppe CFLD. Bei neun Patienten ließen sich TE-Werte oberhalb des cut-off von $\geq 6,3$ kPa sowie ein durchschnittlicher Anstieg (ΔTE) von $> 0,38$ kPa/a erheben. Sie konnten der Gruppe CFLDinc. zugeteilt werden. Eine detaillierte Übersicht der Patientenauswahl zeigt das Flussdiagramm (siehe Abbildung 4).

Abbildung 4 - Flussdiagramm zur Evaluation der Patientenkohorte



Im abgebildeten Flussdiagramm wurde zunächst die Gesamtkohorte ($n=173$) in erwachsene und pädiatrische Patienten unterteilt. Ausgeschlossen wurden Patienten die weniger als drei Jahre untersucht und bei denen nur eine oder keine Serumprobe vorlag. Von den verbliebenen Patienten wurden im nächsten Schritt all jene ausgeschlossen, bei denen bereits zum Zeitpunkt 0 ($TE(0)$) eine Lebersteifigkeit $\geq 6,3 \text{ kPa}$ gemessen wurde. Die verbliebenen erwachsenen und pädiatrischen Patienten wurden weiterführend in drei Untergruppen (noCFLD, CFLD, CFLDinc.) entsprechend den im Diagramm aufgeführten Kriterien, unterteilt. Die Kohorte umfasste eine Gesamtzahl von 37 Patienten.

Demographische und klinische Befunde

Die Befunde sind gesondert für jede der drei Gruppen (noCFLD, CFLD und CFLDinc.) tabellarisch aufgelistet (siehe Tabelle 4). Sowohl in der noCFLD- als auch der CFLD-Gruppe zeigt sich eine weitgehend homogene Geschlechterverteilung. In der CFLDinc.-Gruppe befinden sich ausschließlich männliche Patienten. In der Altersverteilung, umfasst die noCFLD-Gruppe doppelt so viele Kinder/Jugendliche (66,6%) wie Erwachsene (33,3%), die CFLD-Gruppe zeigt hier eine ausgeglichene Verteilung, und die CFLDinc.-Gruppe wird bis auf einen erwachsenen Patienten ausschließlich durch Kinder bzw. Jugendliche repräsentiert. Alle Patienten der CFLD- und CFLDinc.-Gruppe sind von einer exokrinen Pankreasinsuffizienz betroffen. In der noCFLD-Gruppe sind es mit 88,8% der Patienten der überwiegende Teil. Zum Zeitpunkt der Akteneinsicht in 2014 erhielt die Mehrzahl der Patienten in der CFLD Gruppe eine Therapie mit Ursodesoxycholsäure (75%). Allerdings ließ sich die medikamentöse Therapie aufgrund der lückenhaften elektronischen Patientenakten für einige Patienten nicht erheben. Mit einem mittleren Alter von 12,7 Jahren (SD=7,5) waren die Patienten in der CFLDinc.-Gruppe deutlich jünger als in der noCFLD- und CFLD-Gruppe. Aufgrund der großen Spannweite lag jedoch kein signifikanter Unterschied vor.

Tabelle 4) Übersicht der demographischen und klinischen Daten des Patientenkollektiv

Demographische und klinische Daten	noCFLD (n= 18)		CFLD (n=10)		CFLDinc. (n=9)	
Männlich (n/%)	10/55,5%		5/50%		9/100%	
Weiblich (n/%)	8/44,4%		5/50%		-	
Erwachsen (n/%)	6/33,3%		5/50%		1/11,1%	
Kind (n/%)	12/66,6%		5/50%		8/88,8%	
exokrine Pankreasinsuffizienz						
ja (n/%)	15/88,2%		10/100%		9/100%	
nein (n/%)	2/11,7%		-		-	
Ursodesoxycholsäure						
ja (n/%)	1/6,6%		6/75%		3/37,5%	
nein (n/%)	14/93,3%		2/25%		5/62,5%	
Alter (Jahre)	Initial	Follow-up	Initial	Follow-up	Initial	Follow-up
MW ± SD	20,6 ± 13,9	24,6 ± 13,8	21,9 ± 14,3	26 ± 13,9	12,7 ± 7,5	16,8 ± 7,7
Spannweite	3-48	8-52	4-44	8-47	6-30	9-34

MW: Mittelwert, SD: Standardabweichung

3.2 ANOVA-Analyse

3.2.1 Auswertung der Daten zur Transienten hepatischen Elastographie (TE)

Die durch Transiente hepatische Elastographie ermittelte Leberelastizität wurde in jährlichen Intervallen über fünf Jahre erfasst (Zeitpunkt 0-5). Die tabellarische Übersicht

(siehe Tabelle 5) zeigt die ermittelte Lebersteifigkeit (TE in kPa) für die einzelnen Gruppen (noCFLD, CFLD, CFLDinc.) als Mittelwerte (MW) mit Standardabweichungen (SD) sowie dem errechneten Maximum und Minimum (Spannweite).

Tabelle 5) TE-Messwerte im Verlauf über fünf Jahre für die Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc.

Leberelastizität (TE in kPa)	noCFLD	CFLD	CFLDinc.
Zeitpunkt 0 (Baseline)	<i>n=18</i>	<i>n=10</i>	<i>n=9</i>
MW ± SD	4,32 ± 0,85	4,7 ± 1,0	4,68 ± 0,72
Spannweite	3,0-6,1	2,7-6,0	3,8-5,6
Zeitpunkt 1	<i>n=17</i>	<i>n=10</i>	<i>n=4</i>
MW ± SD	4,0 ± 1,0	5,07 ± 1,5	4,43 ± 0,64
Spannweite	2,5-6,0	2,8-8,3	3,7-5,1
Zeitpunkt 2	<i>n=14</i>	<i>n=6</i>	<i>n=4</i>
MW ± SD	3,8 ± 0,4	4,35 ± 1,2	4,42 ± 0,94
Spannweite	3,0-4,3	3,5-6,7	3,3-5,3
Zeitpunkt 3	<i>n=14</i>	<i>n=7</i>	<i>n=8</i>
MW ± SD	4,4 ± 1,1	5,37 ± 1,43	6,47 ± 2,73
Spannweite	2,7-6,8	3,0-7,3	3,8-12,0
Zeitpunkt 4	<i>n=16</i>	<i>n=7</i>	<i>n=6</i>
MW ± SD	4,3 ± 1,3	4,6 ± 1,26	7,2 ± 1,9
Spannweite	1,8-6,1	3,1-6,4	5,5-10,9
Zeitpunkt 5	<i>n=8</i>	<i>n=4</i>	<i>n=8</i>
MW ± SD	4,6 ± 0,93	3,5 ± 0,34	8,28 ± 1,91
Spannweite	3,2-5,8	3,3-4,0	6,1-12,2

- *Auflistung der erhobenen Lebersteifigkeit in kPa für die einzelnen Gruppen noCFLD (CF-Patienten ohne Leberbeteiligung), CFLD (CF-Patienten mit Leberbeteiligung), CFLDinc. (CF-Patienten mit Leberbeteiligung und einer durchschnittlichen Steigung von $\Delta TE > 0,38 \text{ kPa/a}$). In der noCFLD- und CFLD-Gruppe ergaben sich im Mittelwert an jedem gemessenen Zeitpunkt (0-5) eine Lebersteifigkeit unterhalb des cut-offs von 6,3kPa.*
- *In der CFLDinc. Gruppe zeigte sich ab Zeitpunkt 3 im Mittelwert eine Lebersteifigkeit oberhalb des cut-offs von 6,3kPa..*

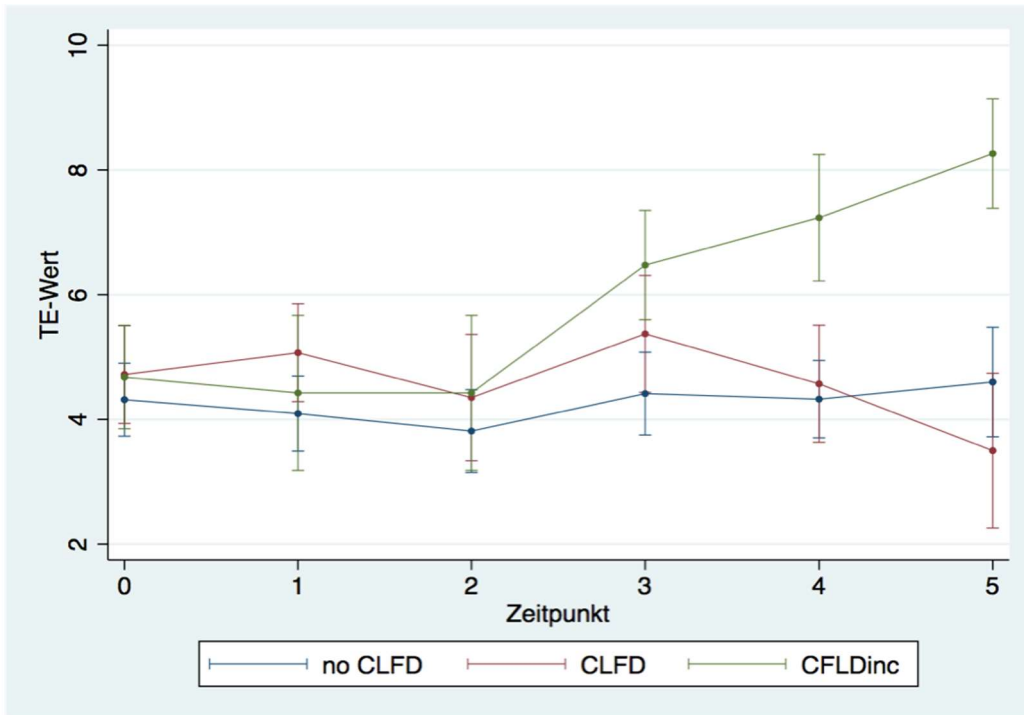
Um zu untersuchen, ob sich die jährlich ermittelten TE-Werte innerhalb (von Zeitpunkt 0-5) und zwischen den Gruppen (noCFLD, CFLD und CFLDinc.) unterscheiden, wurde eine zweifaktorielle Varianzanalyse mit Messwiederholungen durchgeführt. Das ANOVA Verfahren verwendet dabei eine F-Statistik, welche einer F-Verteilung zugrunde liegt. Die F-Verteilung setzt sich aus zwei Freiheitsgraden zusammen, welche u.a. die Grenzen der Signifikanz beeinflussen. Aus dem F-Wert wird der p-Wert berechnet. Ein signifikanter F-Wert sagt allein nur, dass sich mindestens zwei Gruppen voneinander unterscheiden (41). Für die paarweisen Gruppenvergleiche wird jeweils eine Post-Hoc Analyse angeschlossen.

In der vorliegenden Analyse war das Gesamtmodell mit einem F-Wert von $F(51,118)=5,99$, $p=0.000$ signifikant. Das heißt dass ein signifikanter Unterschied der erhobenen TE-Werte zwischen den Gruppen vorlag. Außerdem zeigten sich signifikante Haupteffekte des Faktors Zeit $F(5,118)=6,59$, $p=0.0011$ und des Faktors Gruppe $F(2,118)=11,39$, $p=0.0002$. Dies lässt die Aussage zu, dass – betrachtet man die Zeit

unabhängig von den Gruppen – ein signifikanter Zeiteffekt vorliegt. Gleiches gilt für die Gruppen, welche – zunächst unabhängig von der Zeit – ebenfalls einen signifikanten Effekt bezüglich der TE-Werte aufweisen. Außerdem lag eine signifikante Interaktion der Gruppe und der Zeit vor ($F(10,118)=6,08$, $p=0.0001$), was darauf hinweist, dass der Faktor Zeit sich unterschiedlich auf die einzelnen Gruppen auswirkt.

Im nächsten Schritt wurden Post-Hoc Tests angeschlossen zum paarweisen Mittelwertvergleich der einzelnen Gruppen. Zwischen der noCFLD und CFLD Gruppe zeigten sich zu keinem Messzeitpunkt signifikante Unterschiede der TE-Werte. Zwischen den Gruppen noCFLD vs. CFLDinc. ließen sich zu den Zeitpunkten 3 (noCFLD 4,4kPa vs. CFLDinc. 6,47, $p<0,001$), 4 (noCFLD 4,3kPa vs. CFLDinc. 7,2, $p<0,001$) und 5 (noCFLD 4,6kPa vs. CFLD inc. 8,28kPa, $p<0,001$) signifikante Unterschiede erheben. Im Vergleich der CFLD vs. CFLD inc. Gruppe ergaben sich signifikante Unterschiede zu den Zeitpunkten 4 (CFLD 4,6kPa vs. CFLDinc. 7,2kPa, $p<0,001$) und 5 (CFLD 3,5kPa vs. CFLDinc. 8,28kPa, $p<0,001$). Zur Beurteilung von Mittelwertunterschieden innerhalb der Gruppen wurden die erhobenen Mittelwerte jedes Zeitpunkts zum einen in Relation zum Zeitpunkt 0 (Baseline) und zum anderen in Bezug zur jeweiligen Vormessung verglichen. In der noCFLD Gruppe konnte keine statistisch signifikante Veränderung der TE-Werte im Verlauf beobachtet werden. Für die CFLD Gruppe ließ sich eine signifikante Veränderung der TE-Werte zwischen Zeitpunkt 2 und 3 beobachten (4,35 kPa vs. 5,37 kPa, $p=0,023$). In der CFLDinc. Gruppe ließ sich im jeweiligen Vergleich zwischen Zeitpunkt 0 (Baseline) und den Zeitpunkten 3 (4,68 kPa vs. 6,47 kPa, $p=0,001$), 4 (4,68 kPa vs. 7,2 kPa, $p<0,001$) und 5 (4,68 kPa vs. 8,28 kPa, $p<0,001$) ein signifikanter Unterschied zwischen den Messungen ausmachen. Darüber hinaus zeigte sich eine signifikante Veränderung der TE-Werte von Zeitpunkt 2 zu Zeitpunkt 3 (4,42 kPa vs. 6,47 kPa, $p=0,005$) sowie von Zeitpunkt 3 zu 4 (6,47 kPa vs. 7,2 kPa, $p=0,028$). Zusammenfassend ist hervorzuheben, dass alle drei Gruppen zum Zeitpunkt 0 (Baseline-Messung) TE-Werte zwischen 3,8 und 4,42 kPa zeigten. Die ermittelte Lebersteifigkeit in der noCFLD Gruppe wies einen stabilen Verlauf mit Mittelwerten zwischen 3,8 und 4,6 kPa auf. Auch in der CFLD Gruppe konnten keine Mittelwerte oberhalb des cut-offs von 6,3 kPa im Verlauf beobachtet werden. Einzig bei Patienten der CFLDinc. Gruppe zeigte sich eine signifikante Veränderung der TE-Werte mit einem durchschnittlichen Anstieg (ΔTE) von $>0,38\text{kPa/a}$ ab dem dritten Messzeitpunkt (siehe Abbildung 5).

Abbildung 5 - Graphische Darstellung der TE-Messwerte über fünf Jahre für die Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc.



Dargestellt ist ein Fehlerbalkendiagramm der Mittelwerte mit 95%-Konfidenzintervall. Es zeigt den Verlauf der jährlich erhobenen TE-Werte. Zur besseren Übersicht sind die Gruppen farblich differenziert und die Mittelwerte durch eine Linie miteinander verbunden. Die Darstellung zeigt, dass zum Zeitpunkt 0 in allen Gruppen nahezu gleiche TE-Messwerte erhoben wurden. Ab dem dritten Messzeitpunkt (Zeitpunkt 3) sieht man eine kontinuierliche Zunahme der TE-Werte in der CFLDinc. Gruppe mit signifikanten Unterschieden im Vergleich zur noCFLD und CFLD Gruppe.

Tabelle 6) TE-Messwerte im Gruppenvergleich

Gruppenvergleich	noCFLD vs. CFLD	noCFLD vs. CFLDinc.	CFLD vs. CFLDinc.
Zeitpunkt 0	4,32 ± 0,85 vs. 4,7 ± 1,0	4,32 ± 0,85 vs. 4,7 ± 1,0	4,32 ± 0,85 vs. 4,7 ± 1,0
Signifikanz	p= 0,417	p= 0,482	p=0,942
Zeitpunkt 1	4,0 ± 1,0 vs. 5,07 ± 1,5	4,0 ± 1,0 vs. 4,43 ± 0,64	5,07 ± 1,5 vs. 4,43 ± 0,64
Signifikanz	p= 0,053	p=0,636	p=0,387
Zeitpunkt 2	3,8 ± 0,4 vs. 4,35 ± 1,2	3,8 ± 0,4 vs. 4,42 ± 0,94	4,35 ± 1,2 vs. 4,42 ± 0,94
Signifikanz	p= 0,383	p=0,392	p=0,926
Zeitpunkt 3	4,4 ± 1,1 vs. 5,37 ± 1,43	4,4 ± 1,1 vs. 6,47 ± 2,73	5,37 ± 1,43 vs. 6,47 ± 2,73
Signifikanz	p= 0,102	p<0,001	p=0,092
Zeitpunkt 4	4,3 ± 1,3 vs. 4,6 ± 1,26	4,3 ± 1,3 vs. 7,2 ± 1,9	4,6 ± 1,26 vs. 7,2 ± 1,9
Signifikanz	p= 0,666	p<0,001	p<0,001
Zeitpunkt 5	4,6 ± 0,93 vs. 3,5 ± 0,34	4,6 ± 0,93 vs. 8,28 ± 1,91	3,5 ± 0,34 vs. 8,28 ± 1,91
Signifikanz	p= 0,155	p<0,001	p<0,001

Aufgelistet sind paarweisen Mittelwertvergleiche jeweils für die Messzeitpunkte 0-5 zwischen den einzelnen Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc. mit Signifikanzniveau (p)]

3.2.2 Auswertung der Serummarker

Untersucht wurde der Unterschied zwischen den drei Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc. hinsichtlich der Serumexpression von TIMP-1, -2, -4, YKL-40 (Chitinase 3-like-1) und Endoglin (CD105) auf statistische Unterschiede. Tabelle 7 gibt einen Überblick über die Expression der untersuchten Serumfibrosemarker für die einzelnen

Gruppen zur Baseline- und Follow-up Messung. Es wurde zum einen evaluiert ob zur Baseline und Follow-up Messung ein statistischer Unterschied in der Serumexpression der aufgeführten Parameter zwischen den drei Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc. besteht (Gruppeneffekt) und ob es innerhalb der jeweiligen Gruppen zu einer Veränderung der Serumexpression von TIMP-1, -2, -4, YKL-40 und Endoglin von Baseline- zur Follow-up Messung kommt (Zeiteffekt). Des Weiteren wird überprüft, ob ein Interaktionseffekt zwischen den Faktoren Zeit und Gruppe besteht, das heißt ob der zeitliche Verlauf einen Einfluss auf die Serumexpression der untersuchten Fibrosemarker in den unterschiedlichen Gruppen hat.

Die ANOVA Analyse stellt zunächst einen Gesamttest dar (F-Statistik), das heißt es wird übergeordnet eruiert, ob sich die Gruppen überhaupt voneinander unterscheiden. Zur detaillierten Prüfung wo diese Unterschiede vorliegen erfolgen Post-Hoc Tests zum paarweisen Mittelwertvergleich zwischen und innerhalb (Baseline und Follow-up Messung) der Gruppen noCFLD, CFLD, CFLDinc. Der zeitliche Abstand zwischen der Baseline-Messung (Zeitpunkt 0) und der Follow-up (Zeitpunkt 1) Messung lag im Mittel bei drei Jahren. Für jede Variable erfolgte die graphische Darstellung in Form eines Fehlerbalkendiagramms des MW mit 95% CI.

Tabelle 7) Serumexpression von TIMP-1,-2,-4; Endoglin (CD105) und YKL-40 (Chitinase 3-like-1) zur Baseline und Follow-up Messung

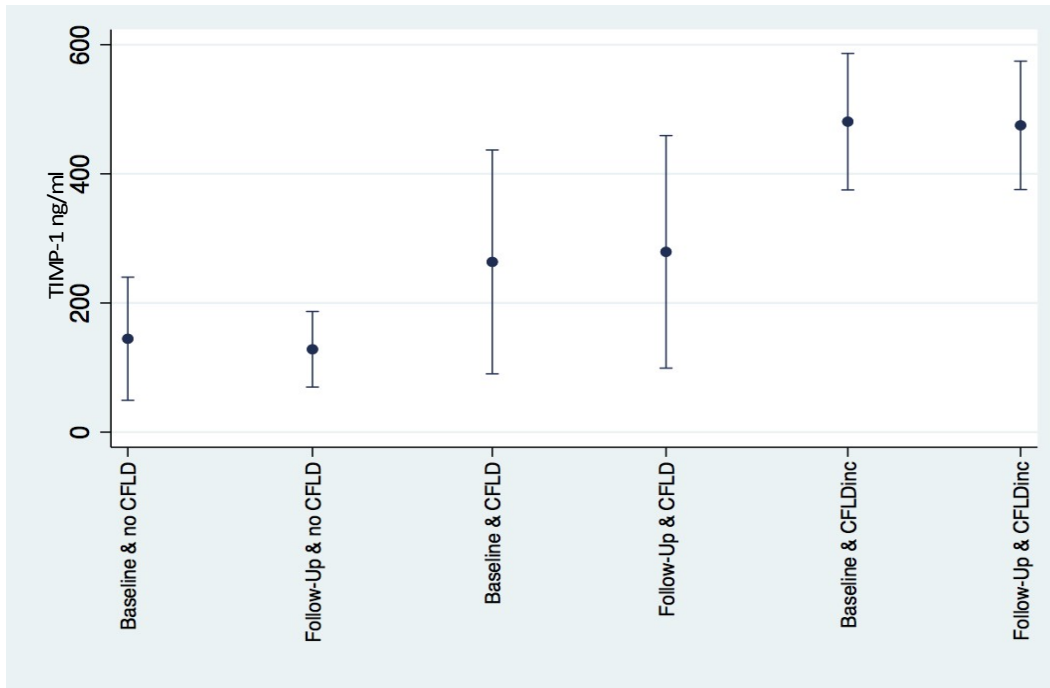
Serumfibrinogenmarker	noCFLD		CFLD		CFLDinc.	
	Baseline	Follow-up	Baseline	Follow-up	Baseline	
Zeitpunkt	Baseline	Follow-up	Baseline	Follow-up	Baseline	
	Follow-up					
TIMP-1 (ng/ml)	<i>n</i> =18	<i>n</i> =18	<i>n</i> =10	<i>n</i> =10	<i>n</i> =9	<i>n</i> =9
MW ± SD	144,6 ±	128,3 ±	263,6±173,3	279,2±180,0	480,8±105,7	475,1±99,4
Spannweite	95,4 67,6- 403,7	58,6 87,9- 313,4	62,5-515,1	76,5-569,2	342,2-664,8	293,4-625,3
TIMP-2 (ng/ml)	<i>n</i> =18	<i>n</i> =18	<i>n</i> =10	<i>n</i> =10	<i>n</i> =9	<i>n</i> =9
MW ± SD	79,7 ±	83,7 ±	86,1 ± 40,9	85,6 ± 32,9	112,9 ± 15,4	111,8 ±
Spannweite	18,6 48,5- 110,7	18,1 44,6- 115,8	34,4-173,5	40,9-125,0	89,6-138,9	14,9 95,6-137,3
TIMP-4 (ng/ml)	<i>n</i> =18	<i>n</i> =18	<i>n</i> =10	<i>n</i> =10	<i>n</i> =9	<i>n</i> =8
MW ± SD	1,4 ±	1,2 ± 0,6	2,4 ± 1,4	2,3 ± 2,1	1,53 ± 0,5	1,48 ± 0,4
Spannweite	0,53 0,8-2,9	0,3-2,7	1,4-6,2	1,0-8,1	0,9-2,5	1,1-2,2
Endoglin (ng/ml)	<i>n</i> =18	<i>n</i> =18	<i>n</i> =10	<i>n</i> =10	<i>n</i> =9	<i>n</i> =9
MW ± SD	6,53 ±	6,2 ± 1,9	5,7 ± 1,5	5,9 ± 1,2	7,8 ± 1,2	8,1 ± 2,7
Spannweite	1,94 3,6-9,5	3,6-9,6	2,9-7,8	4,1-7,6	6,3-9,6	5,2-14,1
YKL-40 (ng/ml)	<i>n</i> =18	<i>n</i> =18	<i>n</i> =10	<i>n</i> =10	<i>n</i> =9	<i>n</i> =9
MW ± SD	45,2 ±	41,7 ±	63,2 ± 45,8	62,0 ± 48,4	44,1 ± 27,6	33,9 ± 16,3
Spannweite	26,4 14,9- 135,1	15,7 15,6-71,5	20,3-150,7	16,6-179,3	17,8-107,7	19,4-69,3

Zeigt Gruppenspezifisch die Expression der untersuchten Serummarker (TIMP-1,-2,-4, Endoglin, YKL-40) als Mittelwerte (MW) zur Baseline und Follow-up-Messung mit Standardabweichung (SD) und Spannweite.

3.2.2.1 TIMP-1

Das Gesamtmodell ergab einen signifikanten Effekt des Faktors Gruppe $F(2,34)=27,40$, $p=0,001$ auf die TIMP-1 Serumexpression. Das heißt in Abhängigkeit von der Gruppenzugehörigkeit (noCFLD, CFLD, CFLDinc.) unterscheidet sich die Konzentration von TIMP-1 im Patientenserum, was wiederum in den paarweisen Mittelwertvergleichen (Post-Hoc Tests, siehe Tabelle 8) betrachtet werden kann. Sowohl für die Baseline- als auch Follow-up-Messung ergeben sich signifikante Mittelwertunterschiede zwischen den Gruppen: noCFLD vs. CFLD (Baseline: noCFLD 144,6ng/ml vs. CFLD 263,6 ng/ml, $p=0,013$; Follow-up: noCFLD 128,3 ng/ml vs. CFLD 279,2 ng/ml, $p=0,002$), noCFLD vs. CFLDinc (Baseline: noCFLD 144,6 ng/ml vs. CFLDinc 480,8 ng/ml $p<0,001$; Follow-up: noCFLD 128,3 ng/ml vs. CFLDinc. 475,1 ng/ml, $p<0,001$) sowie CFLD vs. CFLDinc. (Baseline: CFLD 263,6 ng/ml vs. CFLDinc 480,8 ng/ml, $p<0,000$; Follow-up: CFLD 279,2 ng/ml vs. CFLDinc 475,1 ng/ml, $p=0,001$). Innerhalb der Gruppen zeigt sich keine signifikante Veränderung der TIMP-1 Expression von der Baseline zur Follow-up-Messung (siehe Abbildung 6).

Abbildung 6) Graphische Darstellung der TIMP-1 Serumexpression für die Gruppen noCFLD, CFLD, CFLDinc. zur Baseline und Follow-up Messung



Dargestellt ist ein Fehlerbalkendiagramm mit 95%-Konfidenzintervall. Für die Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc. sind jeweils zur Baseline und Follow-up Messung die Mittelwerte der TIMP-1 Serumexpression abgebildet. Es zeigen sich signifikante Unterschiede der TIMP-1 Serumexpression zur Baseline und Follow-up Messung zwischen allen drei Gruppen. Es liegt keine signifikante Veränderung der TIMP-1 Serumexpression von Baseline zur Follow-up Messung innerhalb der jeweiligen Gruppen vor.

Gruppenvergleich	Messzeitpunkt	Signifikanz
noCFLD vs. CFLD	Baseline (MW ± SD)	p =0,013
	144,6 ± 95,4 vs. 263,6±173,3	
noCFLD vs. CFLDinc.	Follow-up (MW ± SD)	p =0,002
	128,3 ± 58,6 vs. 279,2±180,0	
noCFLD vs. CFLDinc.	Baseline (MW ± SD)	p <0,001
	144,6 ± 95,4 vs. 480,8±105,7	
noCFLD vs. CFLDinc.	Follow-up (MW ± SD)	p <0,001
	128,3 ± 58,6 vs. 475,1±99,4	
CLFD vs. CFLDinc.	Baseline (MW ± SD)	p <0,001
	263,6±173,3 vs. 480,8±105,7	
CLFD vs. CFLDinc.	Follow-up (MW ± SD)	p =0,001
	279,2±180,0 vs. 475,1±99,4	

Tabelle 8)

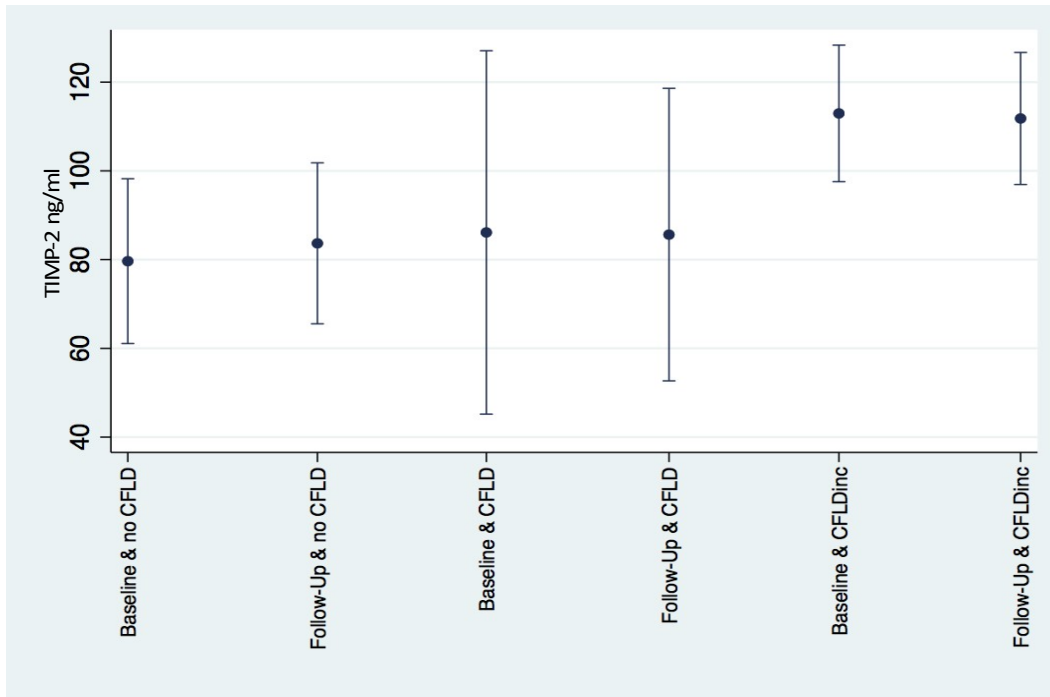
Paarweiser

Mittelwertvergleich der TIMP-1 Serumexpression zur Baseline und Follow-up Messung zwischen den Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc. Auflistung der Mittelwerte (MW) mit Standardabweichung (SD) und dem Signifikanzwert (p).

3.2.2.2 TIMP-2

In der Untersuchung der TIMP-2 Serumexpression der Gruppen noCFLD, CFLD, CFLDinc. ergab das Gesamtmodell einen signifikanten Effekt des Faktors Gruppe auf die Serumexpression von TIMP-2, $F(2,34)=5,61$, $p=0,0078$. Das heißt in Abhängigkeit von der Gruppenzugehörigkeit (noCFLD, CFLD, CFLDinc.) unterschied sich die Konzentration von TIMP-2 im Patientenserum (siehe Abbildung 7). Um die Gruppen paarweise zu vergleichen erfolgen erneut Post-Hoc Tests (siehe Tabelle 9), welche signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen: noCFLD vs. CFLDinc (Baseline: noCFLD 79,7 ng/ml vs. CFLDinc 112,9 ng/ml, $p=0,001$; Follow-up: noCFLD 83,7 ng/ml vs. CFLDinc 111,8ng/ml, $p=0,006$) und CFLD vs. CFLDinc (Baseline: CFLD 86,1 ng/ml vs. CFLDinc 112,9 ng/ml, $p=0,001$; Follow-up: CFLD 86,1 ng/ml vs. CFLDinc 111,8 ng/ml, $p=0,006$) aufweisen. Ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen noCFLD vs. CFLD lag nicht vor. Innerhalb der Gruppen waren keine signifikanten Veränderungen der TIMP-2 Serumexpression von Baseline zur Follow-up Messung zu beobachten.

Abbildung 7 - Graphische Darstellung der TIMP-2 Serumexpression für die Gruppen noCFLD, CFLD, CFLDinc. zur Baseline und Follow-up Messung



Dargestellt ist ein Fehlerbalkendiagramm mit 95%-Konfidenzintervall. Für die Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc. sind jeweils zur Baseline und Follow-up Messung die Mittelwerte der TIMP-2 Serumexpression abgebildet. Es zeigen sich signifikante Unterschiede der TIMP-2 Serumexpression im Vergleich zwischen den Gruppen noCFLD vs. CFLD sowie noCFLD vs. CFLDinc zur Baseline und Follow-up Messung. Eine signifikante Veränderung der TIMP-2 Serumexpression von Baseline zur Follow-up Messung lag in keiner der drei Gruppen vor.

Gruppenvergleich	Messzeitpunkt	Signifikanz
noCFLD vs. CFLD	Baseline (MW ± SD) 79,7 ± 18,6 vs. 86,1 ± 40,9	p = 0,500
	Follow-up (MW ± SD) 83,7 ± 18,1 vs. 85,6 ± 32,9	p = 0,838
noCFLD vs. CFLDinc.	Baseline (MW ± SD) 79,7 ± 18,6 vs. 112,9 ± 15,4	p = 0,001
	Follow-up (MW ± SD) 83,7 ± 18,1 vs.	p = 0,006
CFLD vs. CFLDinc.	Baseline 86,1 ± 40,9 vs.	p = 0,019
	Follow-up 85,6 ± 32,9 vs.	p = 0,022

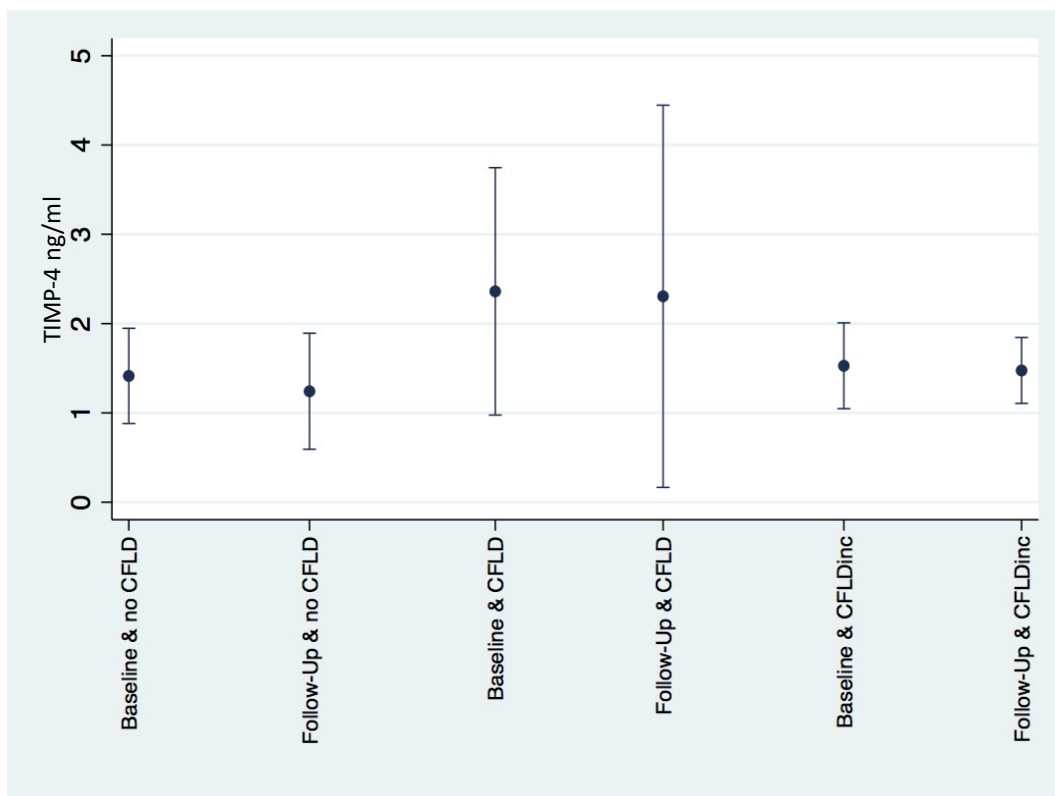
Tabelle 9)

Paarweiser Mittelwertvergleich der TIMP-2 Serumexpression zur Baseline und Follow-up Messung zwischen den Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc. Auflistung der Mittelwerte (MW) mit Standardabweichung (SD) und dem Signifikanzwert (p).

3.2.2.3 TIMP-4

In der Untersuchung der TIMP-4 Serumexpression der Gruppen noCFLD, CFLD, CFLDinc. zeigt das Gesamtmodell einen signifikanten Effekt des Faktors Gruppe auf die TIMP-4 Serumexpression $F(2,33)=3,44$; $p=0,0436$. Auch hier unterscheidet sich die TIMP-4 Serumexpression in Abhängigkeit von der Gruppenzugehörigkeit (noCFLD, CFLD, CFLDinc.) (siehe Abbildung 8). Die Post-Hoc Test (siehe Tabelle 10) ergeben signifikante Mittelwertunterschiede im Vergleich der Gruppen noCFLD vs. CFLD zur Baseline- und Follow-up Messung (Baseline: noCFLD 1,4ng/ml vs. CFLD 2,4ng/ml, $p=0,025$; Follow-up: noCFLD 1,2 ng/ml vs. CFLD 2,3 ng/ml, $p=0,012$). Die höchste Serumexpression von TIMP-4 zeigt sich bei Patienten der CFLD-Gruppe. Im Serum der Patienten der noCFLD- und CFLDinc Gruppe finden sich annähernd gleiche TIMP-4 Konzentrationen (siehe Tabelle 7).

Abbildung 8 - Graphische Darstellung der TIMP-4 Serumexpression für die Gruppen noCFLD, CFLD, CFLDinc. zur Baseline und Follow-up Messung



Dargestellt ist ein Fehlerbalkendiagramm mit 95%-Konfidenzintervall. Für die Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc. sind jeweils zur Baseline und Follow-up Messung die Mittelwerte der TIMP-4 Serumexpression abgebildet. Es zeigt sich ein signifikanter Unterschied der TIMP-4 Serumexpression im Vergleich zwischen den Gruppen noCFLD vs.

CFLD zur Baseline und Follow-up Messung. Eine signifikante Veränderung der TIMP-4 Serumexpression von Baseline zur Follow-up Messung lag in keiner der drei Gruppen vor.

Gruppenvergleich	Messzeitpunkt	Signifikanz
noCFLD vs. CFLD	Baseline (MW ± SD) 1,4 ± 0,53 vs. 2,4 ± 1,4	p =0,025
	Follow-up (MW ± SD) 1,2 ± 0,6 vs. 2,3 ± 2,1	p =0,012
noCFLD vs. CFLDinc.	Baseline (MW ± SD) 1,4 ± 0,53 vs. 1,53 ±0,5	p =0,791
	Follow-up (MW ± SD) 1,2 ± 0,6 vs. 1,48 ± 0,4	p =0,602
CFLD vs. CFLDinc.	Baseline (MW ± SD) 2,4 ± 1,4 vs. 1,53 ±0,5	p =0,088
	Follow-up (MW ± SD) 2,3 ± 2,1 vs. 1,48 ± 0,4	p=0,099

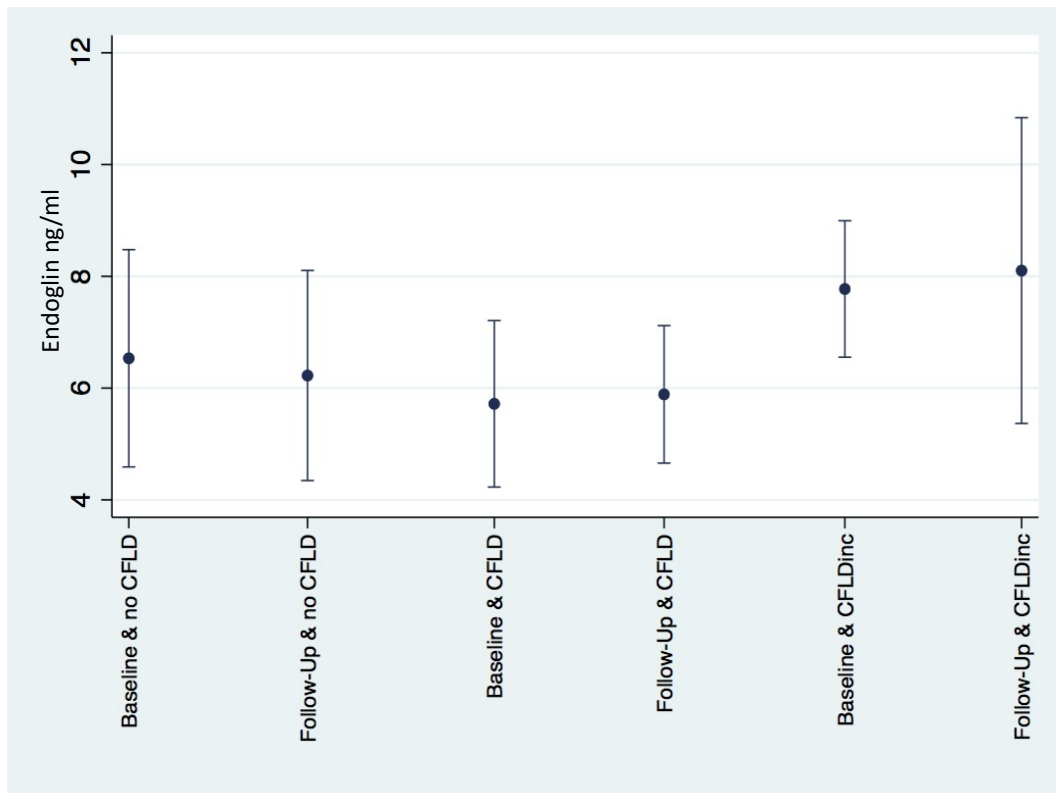
Tabelle 10)

Paarweiser Mittelwertvergleich der TIMP-4 Serumexpression zur Baseline und Follow-up Messung zwischen den Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc. Auflistung der Mittelwerte (MW) mit Standardabweichung (SD) und dem Signifikanzwert (p).

3.2.2.4 Endoglin (CD105)

In der Untersuchung der Endoglin Serumexpression ergab das Gesamtmodell einen signifikanten Effekt des Faktors Gruppe $F(2,34)=3,91$, $p=0,0297$. In Abhängigkeit von der Gruppenzugehörigkeit unterschied sich die Endoglin Serumexpression (siehe Abbildung 9). In den Post-Hoc Tests (siehe Tabelle 11) ergeben sich signifikante Mittelwertunterschiede zwischen der noCFLD- vs. CFLDinc-Gruppe zum Follow-up (noCFLD 6,2 ng/ml vs. CFLDinc. 8,1 ng/ml, $p=0,015$) sowie für die CFLD- vs. CFLDinc- Gruppe zur Baseline- und Follow-up Messung (Baseline: CFLD 6,2ng/ml vs. CFLDinc. 7,8 ng/ml, $p=0,018$; Follow-up: CFLD 5,7ng/ml vs. CFLDinc. 8,1ng/ml, $p=0,011$). Die CFLDinc-Gruppe wies an beiden Messzeitpunkten die höchste Expression von Endoglin auf während sich in der CFLD-Gruppe die niedrigste Endoglin Expression im Serum fand (siehe Tabelle 7).

Abbildung 9 - Graphische Darstellung der Endoglin (CD105) Serumexpression für die Gruppen noCFLD, CFLD, CFLDinc. zur Baseline und Follow-up Messung



Dargestellt ist ein Fehlerbalkendiagramm mit 95%-Konfidenzintervall. Für die Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc. sind jeweils zur Baseline und Follow-up Messung die Mittelwerte der Endoglin Serumexpression abgebildet. Es zeigt sich ein signifikanter Unterschied der Endoglin Serumexpression im Vergleich zwischen den Gruppen noCFLD vs. CFLDinc. zur Baseline Messung und CFLD vs. CFLDinc. zur Baseline und Follow-up Messung. Eine signifikante Veränderung der Endoglin Serumexpression von Baseline zur Follow-up Messung lag in keiner der drei Gruppen vor.

Gruppenvergleich	Messzeitpunkt	Signifikanz
noCFLD vs. CFLD	Baseline (MW ± SD)	p =0,265
	6,53 ± 1,94 vs. 5,7 ± 1,5	
	Follow-up (MW ± SD)	p =0,643
	6,2 ± 1,9 vs. 5,9 ± 1,2	
noCFLD vs. CFLDinc.	Baseline (MW ± SD)	p =0,103
	6,53 ± 1,94 vs. 7,8 ± 1,2	
	Follow-up (MW ± SD)	p =0,015
	6,2 ± 1,9 vs. 8,1 ± 2,7	
CFLD vs. CFLDinc.	Baseline (MW ± SD)	p =0,018
	5,7 ± 1,5 vs. 7,8 ± 1,2	
	Follow-up (MW ± SD)	p =0,011
	5,9 ± 1,2 vs. 8,1 ± 2,7	

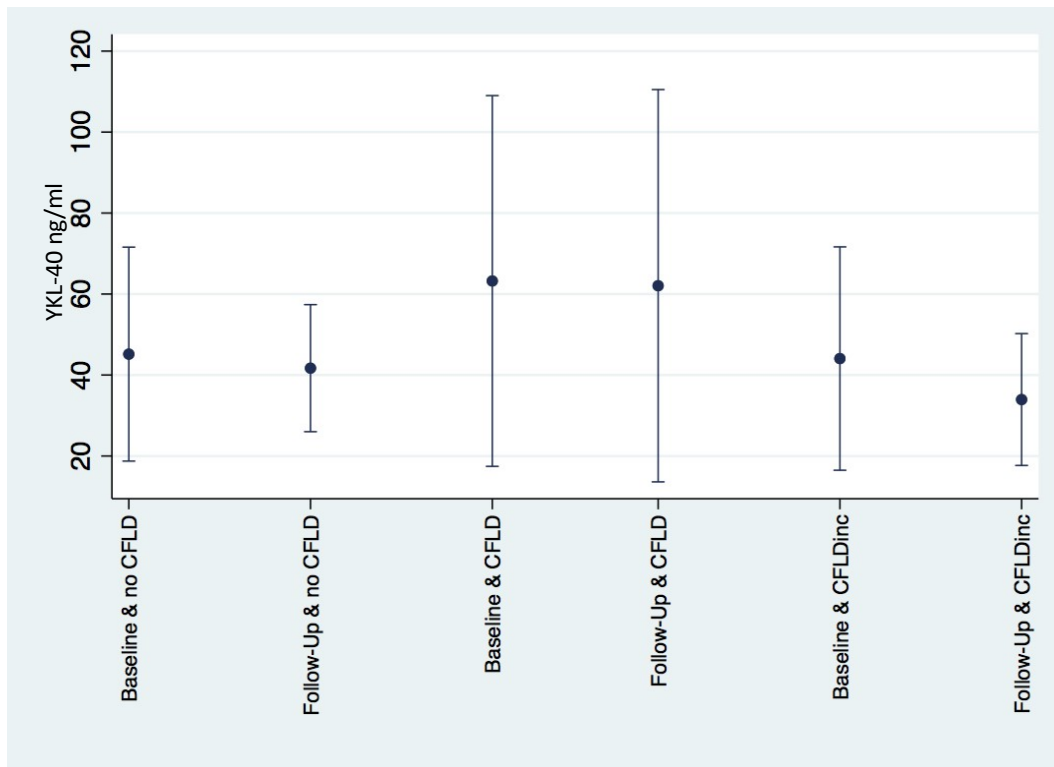
Tabelle 11)

Paarweiser Mittelwertvergleich der Endoglin Serumexpression zur Baseline und Follow-up Messung zwischen den Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc. Auflistung der Mittelwerte (MW) mit Standardabweichung (SD) und dem Signifikanzwert (p).

3.2.2.5 YKL-40 (Chitinase 3-like-1)

In der Untersuchung der YKL-40 Serumexpression ergeben sich weder statistisch signifikante Haupteffekte der Faktoren Gruppe und Zeit noch ein signifikanter Interaktionseffekt der beiden Faktoren (Abbildung 10). Das heißt, dass die Gruppenzugehörigkeit (noCFLD, CFLD, CFLDinc.) keinen Einfluss auf die YKL-40 Serumexpression (Gruppeneffekt) nimmt. Die Post-Hoc Tests (siehe Tabelle 12) ergeben keine signifikanten Unterschiede der YKL-40 Serumexpression im paarweisen Mittelwertvergleich zwischen den Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc. Außerdem zeigte sich in keiner der drei Gruppen eine signifikante Veränderung der YKL-40 Serumexpression von Baseline- zur Follow-up Messung. Deskriptiv liegt die höchste YKL-40 Serumexpression in der CFLD- Gruppe (MW baseline: 63,22 ng/ml; Follow-up: 62,06 ng/ml) während sich in der CFLDinc.- Gruppe die niedrigste Serumexpression von YKL-40 finden lässt (MW baseline. 44,1 ng/ml; Follow-up: 33,9 ng/ml) (siehe Tabelle 7)

Abbildung 10 - Graphische Darstellung der YKL-40 (Chitinase 3-like-1) Serumexpression für die Gruppen noCFLD, CFLD, CFLDinc. zur Baseline und Follow-up Messung



Dargestellt ist ein Fehlerbalkendiagramm mit 95%-Konfidenzintervall. Für die Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc. sind jeweils zur Baseline und Follow-up Messung die Mittelwerte der YKL-40 Serumexpression abgebildet. Im Vergleich zwischen Baseline und Follow-up Messung zeigen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen sowie keine signifikanten Veränderungen der YKL-40 Serumexpression von Baseline zur Follow-up Messung innerhalb der einzelnen Gruppen.

Gruppenvergleich	Messzeitpunkt	Signifikanz
noCFLD vs. CFLD	Baseline (MW ± SD) 45,2 ± 26,4 vs. 63,2 ± 45,8	p = 0,141
	Follow-up (MW ± SD) 41,7 ± 15,7 vs. 62,0 ± 48,4	p = 0,098
noCFLD vs. CFLDinc.	Baseline (MW ± SD) 45,2 ± 26,4 vs. 44,1 ± 27,6	p = 0,931
	Follow-up (MW ± SD) 41,7 ± 15,7 vs. 33,9 ± 16,3	p = 0,539
CLFD vs. CFLDinc.	Baseline (MW ± SD) 63,2 ± 45,8 vs. 44,1 ± 27,6	p = 0,179
	Follow-up (MW ± SD) 62,0 ± 48,4 vs. 33,9 ± 16,3	p = 0,051

Tabelle 12)

Paarweiser Mittelwertvergleich der YKL-40 Serumexpression zur Baseline und Follow-up Messung zwischen den Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc. Auflistung der Mittelwerte (MW) mit Standardabweichung (SD) und dem Signifikanzwert (p).

3.2.3 Auswertung der Routinelaborparameter

Analog der Richtlinien zur Diagnostik der CFLD erfolgte mindestens einmal jährlich die laborchemische Kontrolle der Transaminasen (GOT, GPT) und Cholestaseparameter (γ GT, AP, Bilirubin) (32). Um deren diagnostische Wertigkeit abschätzen zu können, wurden diese bezüglich eines Zeit-, Gruppen- und Interaktionseffektes entsprechend der Beschreibung in Kapitel 2.2.2. untersucht. Tabelle 13) zeigt die zur Baseline und Follow-up Messung erhobenen Mittelwerte (MW) mit der jeweiligen Standardabweichung (SD) und Spannweite.

Tabelle 13) Serumexpression der Routinelaborparameter (GOT, GPT, γ GT, AP und Bilirubin) zur Baseline- und Follow-up-Messung für die Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc.

Laborparameter	noCFLD		CFLD		CFLDinc.	
	Baseline	Follow-up	Baseline	Follow-up	Baseline	Follow-up
γGT (U/l)	Follow-up					
	n=18	n=17	n=10	n=10	n=9	n=9
MW \pm SD	10,7 \pm 4,4	13,8 \pm 9,5	29,0 \pm 34,9	23,3 \pm 18,8	21,6 \pm 13,4	35,3 \pm 23,9
Spannweite	4,9-19,2	4,9-43,1	4,9-113	4,9-68,4	7,0-52,3	6,2-77,2
GPT (U/l)	n=18	n=18	n=10	n=10	n=8	n=9
MW \pm SD	20,7 \pm 7,8	26,3 \pm	29,0 \pm 11,8	31,9 \pm 10,8	22,5 \pm 10,0	50,2 \pm 55,4
Spannweite	12,8-46,1	17,3 8,2-86,9	13,8-52,8	18,0-56,6	16,1-47,0	15,3-193
GOT (U/l)	n=18	n=18	n=10	n=10	n=8	n=9
MW \pm SD	24,2 \pm	25,8 \pm 8,0	28,9 \pm 14,2	28,3 \pm 10,9	25,0 \pm 11,2	54,8 \pm 68,2
Spannweite	10,1 4,9-47,9	14,1-47,9	0,5-55,4	7,2-51,3	4,9-39,9	22,5-235
AP (U/l)	n=18	n=18	n=10	n=10	n=9	n=9
MW \pm SD	178,4 \pm	149,9 \pm	204,5 \pm 112,2	183,9 \pm 101,9	248,1 \pm 82,7	265,8 \pm 100,6
Spannweite	83,8 64,3-317	79,6 61,9-347	101-421	92,1-366	78,9-357	104-396
Bilirubin (mg/dl)	n=14	n=10	n=10	n=10	n=9	n=7
MW \pm SD	0,53 \pm	0,54 \pm	0,57 \pm 0,15	0,59 \pm 0,14	0,5 \pm 0	0,5 \pm 0
Spannweite	0,07 0,5-0,74	0,09 0,5-0,75	0,5-0,85	0,5-0,92	0,5-0,51	0,49-0,5

Zeigt gruppenspezifisch die errechneten Mittelwerte (MW) der erhobenen Parameter zur Baseline und Follow-up Messung mit Standardabweichung (SD) und Spannweite.

3.2.3.1 Gamma-Glutamyltransferase (γ GT)

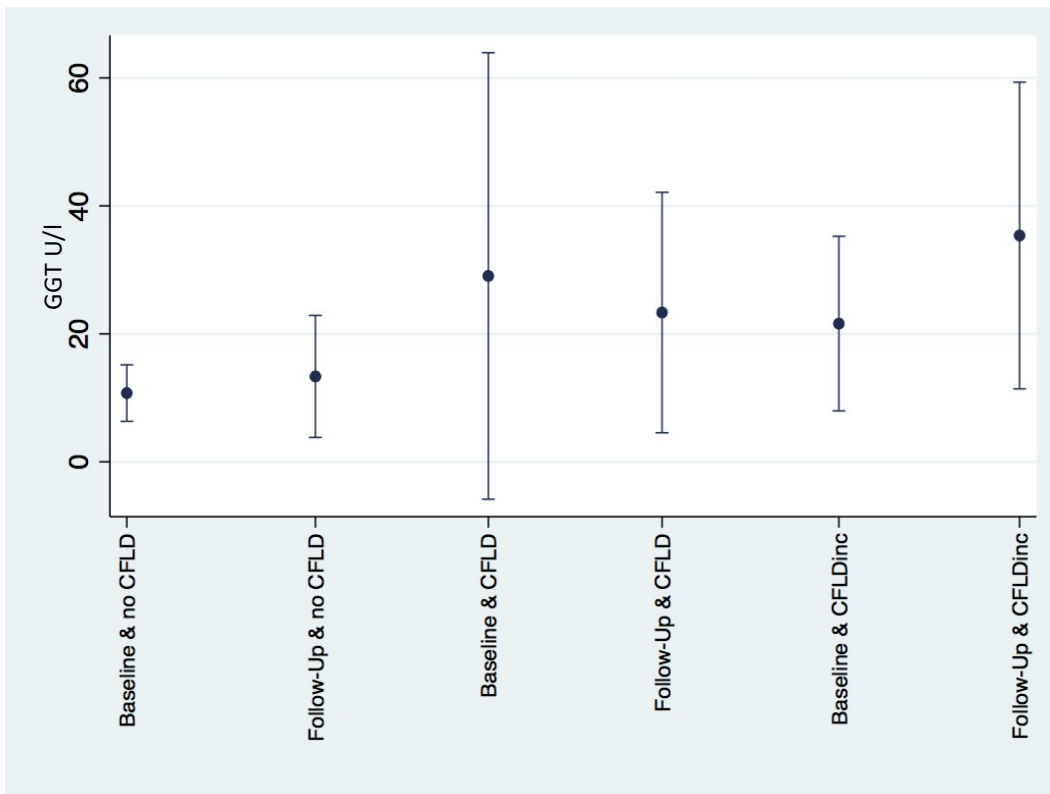
Eine Erhöhung der γ GT im Serum ist fast ausschließlich hepatischen Ursprungs und kann auf einen Leberzellschaden oder eine hepatobiliäre Erkrankung hindeuten (70). Die höchste γ GT Serumexpression zeigt sich zur Follow-up Messung in der CFLDinc. Gruppe (35,3 U/l). Zur Baseline Messung waren die γ GT Konzentrationen in der CFLD und CFLDinc. Gruppe annähernd gleich (29,0 U/l vs. 21,6 U/l), während in der noCFLD Gruppe zur Baseline Messung eine deutlich niedrigere Konzentration zu finden ist (10,7 U/l) (siehe Tabelle 13).

Die zweifaktorielle Varianzanalyse zeigt sowohl für den Faktor Gruppe ($F(2,34)=3,66$ $p=0,0364$) als auch für die Interaktion der Faktoren Gruppe und Zeit ($F(2,33)=5,11$, $p=0,0117$) signifikante Effekte auf die Expression der γ GT. Das heißt allgemeinverständlich, dass sich die γ GT Serumexpression signifikant zwischen den Gruppen unterschied und der zeitliche Verlauf (Baseline- zur Follow-up Messung) Einfluss auf die γ GT Serumexpression in den Gruppen hatte.

In den Post-Hoc Tests zeigen sich in den paarweisen Mittelwertvergleichen signifikante Unterschiede zwischen der noCFLD und CFLDinc. Gruppe zum Follow-up (noCFLD 13,8 U/l vs. CFLDinc 35,3 U/l, $p=0,005$) sowie zwischen der noCFLD und CFLD Gruppe

zur Baseline-Messung (noCFLD 10,7 U/l vs. CFLD 29,0 U/l, $p=0,013$). Darüber hinaus kann für die CFLDinc. Gruppe eine signifikante Veränderung der Mittelwerte zwischen Baseline- und Follow-up Messung evaluiert werden (Baseline: 21,6 U/l vs. Follow-up: 35,3 U/l, $p=0,004$) (siehe Abbildung 11 und Tabelle 14).

Abbildung 11 - Graphische Darstellung der γ GT Serumexpression für die Gruppen noCFLD, CFLD, CFLDinc. zur Baseline und Follow-up Messung



Dargestellt ist ein Fehlerbalkendiagramm mit 95%-Konfidenzintervall. Für die Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc. sind jeweils zur Baseline und Follow-up Messung die Mittelwerte der γ GT Serumexpression abgebildet. Es zeigen sich signifikante Unterschiede der γ GT Serumexpression im Vergleich zwischen den Gruppen noCFLD vs. CFLDinc. zur Follow-up Messung sowie noCFLD vs. CFLD Gruppe zur Baseline Messung. In der CFLDinc. Gruppe lag eine signifikante Veränderung der γ GT Serumexpression von Baseline zur Follow-up Messung vor.

Gruppenvergleich	Messzeitpunkt	Signifikanz
noCFLD vs. CFLD	Baseline (MW ± SD)	p =0,013
	10,7 ± 4,4 vs. 29,0 ± 34,9	
	Follow-up (MW ± SD)	p =0,193
	13,8 ± 9,5 vs. 23,3 ± 18,8	
noCFLD vs. CFLDinc.	Baseline (MW ± SD)	p =0,147
	10,7 ± 4,4 vs. 21,6 ± 13,4	
	Follow-up (MW ± SD)	p =0,005
	13,8 ± 9,5 vs. 35,3 ± 23,9	
CFLD vs. CFLDinc.	Baseline (MW ± SD)	p =0,375
	29,0 ± 34,9 vs. 21,6 ± 13,4	
	Follow-up (MW ± SD)	p =0,153
	23,3 ± 18,8 vs. 35,3 ± 23,9	

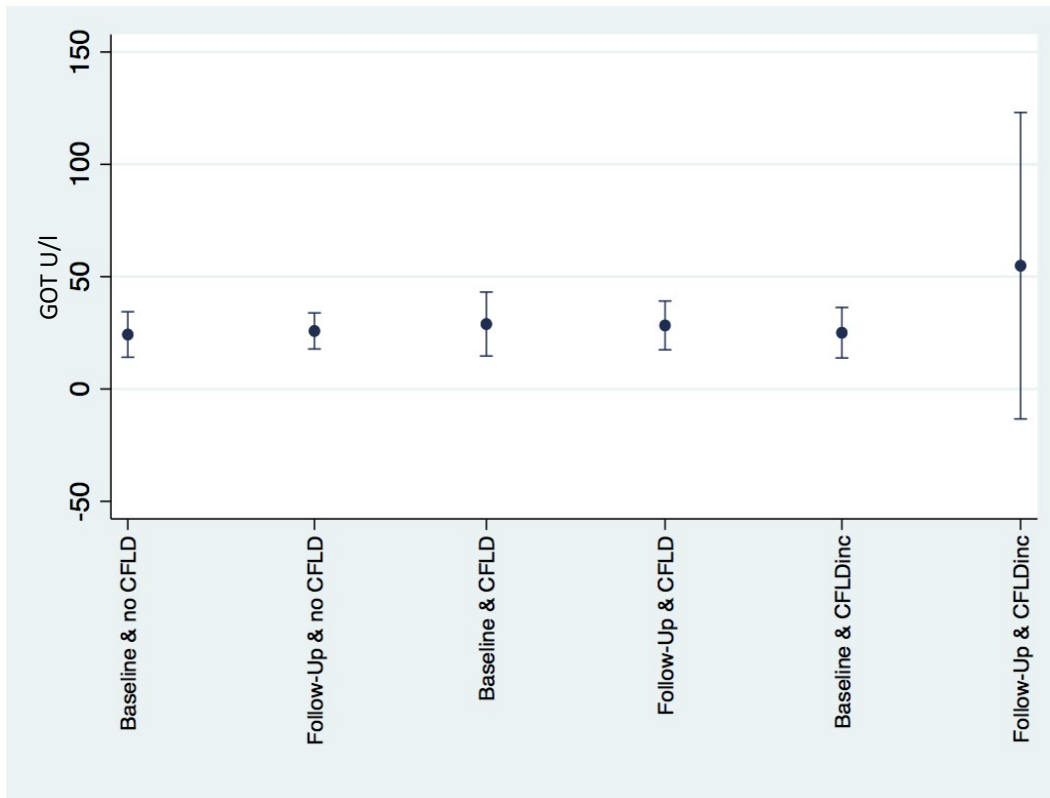
Tabelle 14)

Paarweiser Mittelwertvergleich der γ GT Serumexpression zur Baseline und Follow-up Messung zwischen den Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc. Auflistung der Mittelwerte (MW) mit Standardabweichung (SD) und dem Signifikanzwert (p).

3.2.3.2 Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT)

Ein erhöhtes Vorkommen der GOT im Serum kann auf einen Leberzellschaden hindeuten (70). In der vorliegenden Auswertung zeigten sich zur Baseline Messung annähernd gleiche GOT Konzentrationen in den drei Gruppen noCFLD (24,2 U/l), CFLD (28,9 U/l) und CFLDinc. (25,0 U/l) (Abbildung 12). Im Verlauf kann eine signifikante Veränderung der Mittelwerte in der CFLDinc-Gruppe von Baseline- zur Follow-up Messung beobachtet werden. (Baseline: 25,0 U/l vs. Follow-up 54,8 U/l, p=0,013). Im paarweisen Mittelwertvergleich zeigen sich signifikante Unterschiede zwischen der noCFLD- und CFLDinc-Gruppe sowie der CFLD- und CFLDinc-Gruppe zur Follow-up Messung (noCFLD 25,8 U/l vs. CFLDinc. 54,8 U/l, p=0,007; CFLD 28,3 U/l vs. CFLDinc. 54,8 U/l, p=0,027) (siehe Tabelle 15).

Abbildung 12 - Graphische Darstellung der GOT Serumexpression für die Gruppen noCFLD, CFLD, CFLDinc. zur Baseline und Follow-up Messung



Dargestellt ist ein Fehlerbalkendiagramm mit 95%-Konfidenzintervall. Für die Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc. sind jeweils zur Baseline und Follow-up Messung die Mittelwerte der GOT Serumexpression abgebildet. Es zeigen sich signifikante Unterschiede der GOT Serumexpression im Vergleich zwischen den Gruppen noCFLD vs. CFLDinc. und CFLD vs. CFLDinc. zur Follow-up Messung. In der CFLDinc. Gruppe lag eine signifikante Veränderung der GOT Serumexpression von Baseline zur Follow-up Messung vor.

Gruppenvergleich	Messzeitpunkt	Signifikanz
noCFLD vs. CFLD	Baseline (MW ± SD) 24,2 ± 10,1 vs. 28,9 ± 14,2	p =0,646
	Follow-up (MW ± SD) 25,8 ± 8,0 vs. 28,3 ± 10,9	p =0,808
noCFLD vs. CFLDinc.	Baseline (MW ± SD) 24,2 ± 10,1 vs. 25,0 ± 11,2	p =0,942
	Follow-up (MW ± SD) 25,8 ± 8,0 vs. 54,8 ± 68,2	p =0,007
CFLD vs. CFLDinc.	Baseline (MW ± SD) 28,9 ± 14,2 vs. 25,0 ± 11,2	p =0,751
	Follow-up (MW ± SD) 28,3 ± 10,9 vs. 54,8 ± 68,2	p=0,027

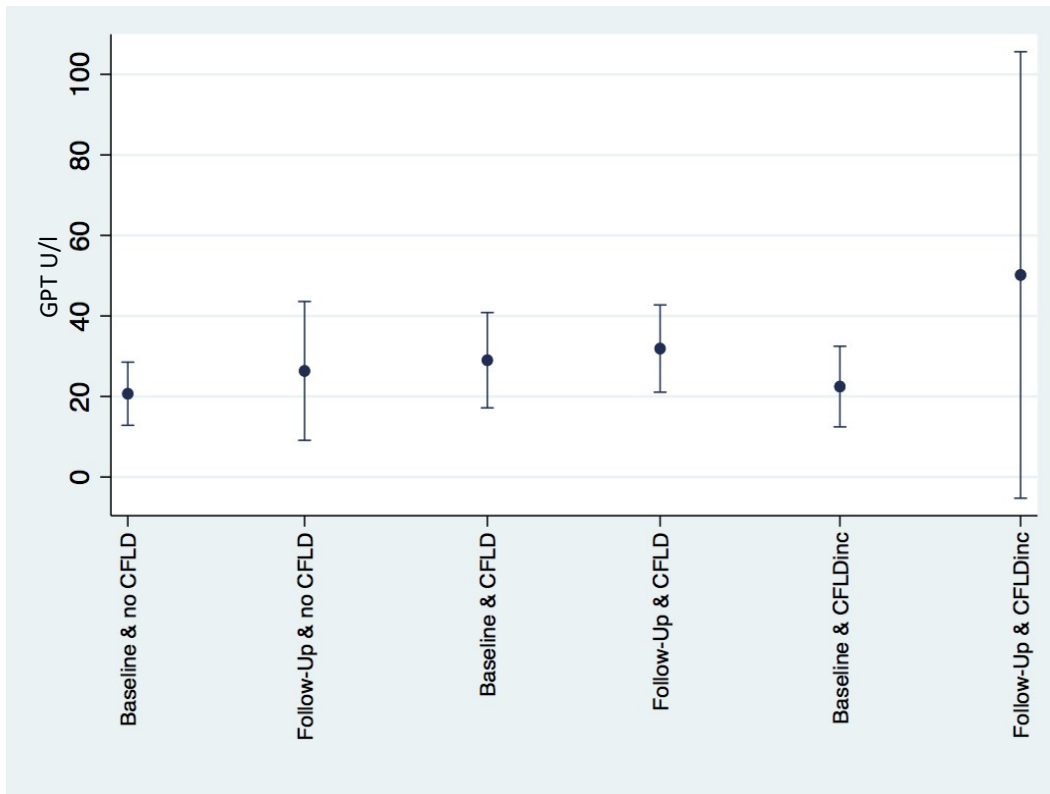
Tabelle 15)

Paarweiser Mittelwertvergleich der GOT Serumexpression zur Baseline und Follow-up Messung zwischen den Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc. Auflistung der Mittelwerte (MW) mit Standardabweichung (SD) und dem Signifikanzwert (p).

3.2.3.3 Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT)

Eine Erhöhung der GPT im Serum gilt als sensitiver Marker für eine Leberzellschädigung (70). Zur Baseline Messung finden sich die GPT Serumkonzentrationen in allen drei Gruppen in einem ähnlichen Bereich, noCFLD (20,7 U/l), CFLD (29 U/l) und CFLDinc. (22,5 U/l) (Abbildung 13). Die Analyse ergibt mit einem F-Wert von $F(1,33)=6,69$, $p=0,0143$ einen signifikanten Zeiteffekt. Das heißt der zeitliche Verlauf (Baseline- zur Follow-up Messung) hat Einfluss auf eine Veränderung der GPT Serumkonzentration. Dies kann im Post-Hoc Test für die CFLDinc Gruppe bestätigt werden. Hier liegt eine signifikante Veränderung der Mittelwerte von Baseline- zur Follow-up Messung vor (Baseline 22,5 U/l vs. Follow-up 50,2 U/l, $p=0,005$). Somit wurde in der CFLDinc. Gruppe im Vergleich zur noCFLD und CFLD Gruppe die höchste GPT Expression zum Follow-up gemessen. Weiterführend zeigen sich in den Gruppenvergleichen ein signifikanter Unterschied zwischen der noCFLD- und CFLDinc.- Gruppe zum Follow-up (noCFLD 26,3 U/l vs. CFLDinc. 50,2 U/l, $p=0,011$) (siehe Tabelle 16).

Abbildung 13 - Graphische Darstellung der GPT Serumexpression für die Gruppen noCFLD, CFLD, CFLDinc. zur Baseline und Follow-up Messung



Dargestellt ist ein Fehlerbalkendiagramm mit 95%-Konfidenzintervall. Für die Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc. sind jeweils zur Baseline und Follow-up Messung die Mittelwerte der GPT Serumexpression abgebildet. Es zeigt sich ein signifikanter Unterschied der GPT Serumexpression zwischen den Gruppen noCFLD vs. CFLDinc zur Follow-up Messung. In der CFLDinc. Gruppe lag eine signifikante Veränderung der GPT Serumexpression von Baseline zur Follow-up Messung vor.

Gruppenvergleich	Messzeitpunkt	Signifikanz
noCFLD vs. CFLD	Baseline (MW ± SD) 20,7 ± 7,8 vs. 29,0 ± 11,8	p = 0,350
	Follow-up (MW ± SD) 26,3 ± 17,3 vs. 31,9 ± 10,8	p = 0,532
noCFLD vs. CFLDinc.	Baseline (MW ± SD) 20,7 ± 7,8 vs. 22,5 ± 10,0	p = 0,852
	Follow-up (MW ± SD) 26,3 ± 17,3 vs. 50,2 ± 55,4	p = 0,011
CFLD vs. CFLDinc.	Baseline (MW ± SD) 29,0 ± 11,8 vs. 22,5 ± 10,0	p = 0,540
	Follow-up (MW ± SD) 31,9 ± 10,8 vs. 50,2 ± 55,4	p = 0,081

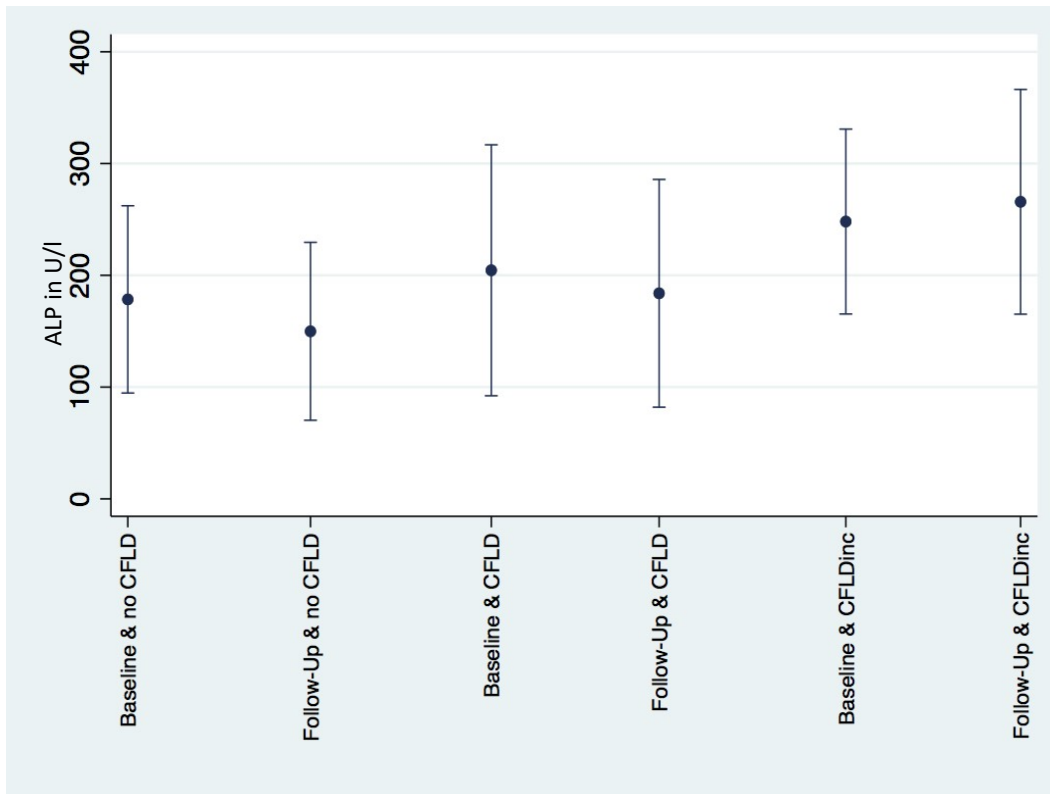
Tabelle 16)

Paarweiser Mittelwertvergleich der GPT Serumexpression zur Baseline und Follow-up Messung zwischen den Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc. Auflistung der Mittelwerte (MW) mit Standardabweichung (SD) und dem Signifikanzwert (p).

3.2.3.4 Alkalische Phosphatase (AP)

Eine Erhöhung der AP kann auf eine Cholestase hindeuten (70). Die Analyse ergab einen signifikanten Gruppeneffekt $F(2,34)=3,59$, $p=0,0386$. Das heißt es kann angenommen werden, dass sich in Abhängigkeit von der Gruppenzugehörigkeit (noCFLD, CFLD, CFLDinc.) die AP Serumkonzentration unterscheidet. Die höchste Serumexpression der AP fand sich bereits ab der Baseline Messung in der CFLDinc (Abbildung 14). Gruppe (265,8 U/l), gefolgt von der CFLD Gruppe (204,5 U/l) und noCFLD Gruppe (178,4 U/l). Die Post-Hoc Tests zeigen einen signifikanten Mittelwertunterschied im Vergleich zwischen den Gruppen noCFLD und CFLDinc. zur Follow-up Messung (noCFLD 149,9 U/l vs. CFLDinc. 265,8 U/l, $p=0,003$) (Tabelle 17). Eine Veränderung der AP Serumexpression von Baseline zur Follow-up Messung kann in keiner Gruppe beobachtet werden.

Abbildung 14 - Graphische Darstellung der AP Serumexpression für die Gruppen noCFLD, CFLD, CFLDinc. zur Baseline und Follow-up Messung



Dargestellt ist ein Fehlerbalkendiagramm mit 95%-Konfidenzintervall. Für die Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc. sind jeweils zur Baseline und Follow-up Messung die Mittelwerte der AP Serumexpression abgebildet. Es zeigt sich ein signifikanter Unterschied der AP Serumexpression zwischen den Gruppen noCFLD vs. CFLDinc zur Follow-up Messung. Es zeigte sich keine signifikante Veränderung der AP Serumkonzentration zwischen Baseline und Follow-up Messung in den einzelnen Gruppen.

Gruppenvergleich	Messzeitpunkt	Signifikanz
noCFLD vs. CFLD	Baseline (MW ± SD) 178,4 ± 83,8 vs. 204,5±112,2	p =0,473
	Follow-up (MW ± SD) 149,9 ± 79,6 vs. 183,9±101,9	p =0,349
noCFLD vs. CFLDinc.	Baseline (MW ± SD) 178,4 ± 83,8 vs. 248,1±82,7	p =0,067
	Follow-up (MW ± SD) 149,9 ± 79,6 vs. 265,8±100,6	p =0,003
CLFD vs. CFLDinc.	Baseline (MW ± SD) 204,5±112,2 vs. 248,1±82,7	p =0,303
	Follow-up (MW ± SD) 183,9±101,9 vs. 265,8±100,6	p=0,056

Tabelle 17)

Paarweiser

Mittelwertvergleich der AP

Serumexpression zur Baseline

und Follow-up Messung

zwischen den Gruppen

noCFLD, CFLD und

CFLDinc. Auflistung der

Mittelwerte (MW) mit

Standardabweichung (SD) und

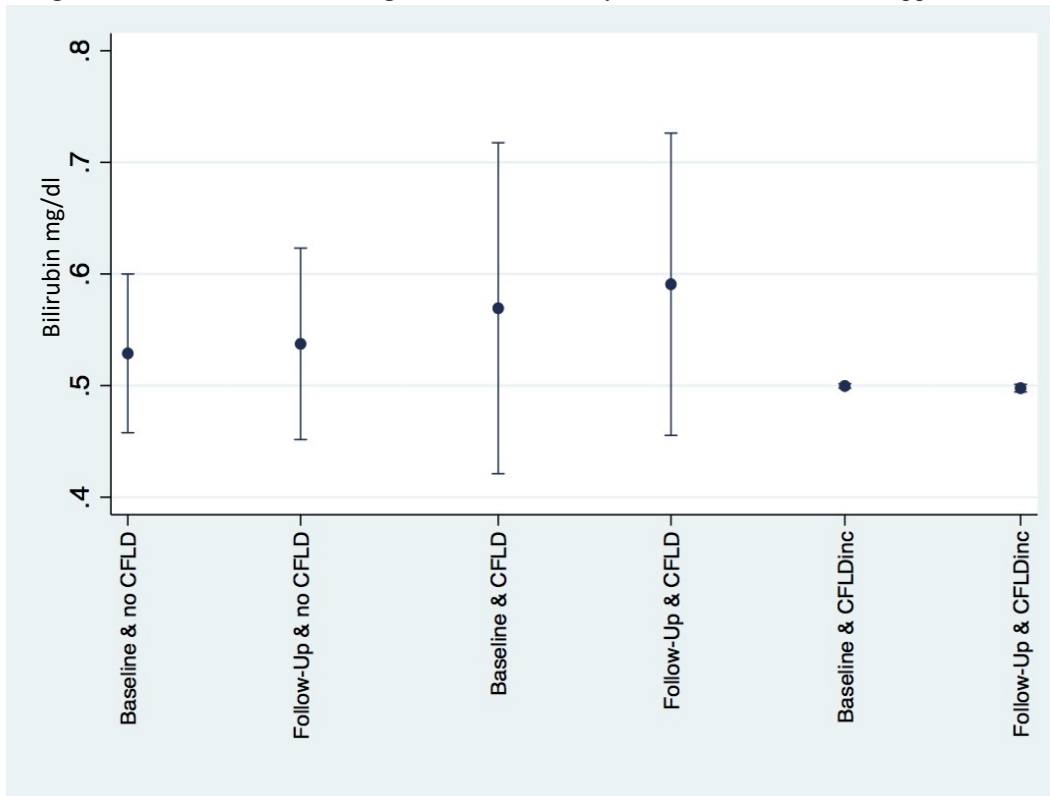
dem Signifikanzwert (p).

3.2.3.5 Bilirubin

Auch Bilirubin gilt als Cholestaseparameter und kann bspw. im Rahmen einer Gallengangsobstruktion erhöht sein (70). Die Analyse der Bilirubinexpression im Serum von Mukoviszidosepatienten ergab in der vorliegenden Kohorte keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc (Abbildung 15). Die Konzentrationen lagen in allen Gruppen zur Baseline und Follow-up Messung im Bereich zwischen 0,5- 0,59 mg/dl. Es zeigen sich somit auch keine signifikanten Veränderungen der Bilirubinkonzentration innerhalb der drei Gruppen von Baseline- zur Follow-up Messung (Tabelle 18).

Abbildung 15 - Graphische Darstellung der Bilirubin Serumexpression für die Gruppen noCFLD, CFLD, CFLDinc. zur Baseline und Follow-up Messung.

Dargestellt ist ein Fehlerbalkendiagramm mit 95%-Konfidenzintervall. Für die Gruppen



noCFLD, CFLD und CFLDinc. sind jeweils zur Baseline und Follow-up Messung die Mittelwerte der Bilirubin Serumexpression abgebildet. Es zeigen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen.

Gruppenvergleich	Messzeitpunkt	Signifikanz
noCFLD vs. CFLD	Baseline (MW ± SD) 0,53 ± 0,07 vs. 0,57 ± 0,15	p =0,312
	Follow-up (MW ± SD) 0,54 ± 0,09 vs. 0,59 ± 0,14	p =0,218
noCFLD vs. CFLDinc.	Baseline (MW ± SD) 0,53 ± 0,07 vs. 0,5 ± 0	p =0,478
	Follow-up (MW ± SD) 0,54 ± 0,09 vs. 0,5 ± 0	p =0,404
CLFD vs. CFLDinc.	Baseline (MW ± SD) 0,57 ± 0,15 vs. 0,5 ± 0	p =0,119
	Follow-up (MW ± SD) 0,59 ± 0,14 vs. 0,5 ± 0	p =0,054

Tabelle 18)

Paarweiser Mittelwertvergleich der Bilirubin Serumexpression zur Baseline und Follow-up Messung zwischen den Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc. Auflistung der Mittelwerte (MW) mit Standardabweichung (SD) und dem Signifikanzwert (p).

3.3 Korrelationsanalyse nach Pearson

Im Rahmen einer Korrelationsanalyse wird geprüft, ob zwischen zwei Variablen ein Zusammenhang besteht. Der errechnete Korrelationskoeffizient (r) kann nur Werte zwischen -1 und +1 annehmen. Ein r von +1 gibt eine perfekte positive Korrelation an, was bedeutet, dass hohe Werte der einen Variablen mit hohen Werten der anderen Variablen einhergehen. Ein r von -1 zeigt eine perfekte negative Korrelation an. Dementsprechend sind hohe Werte der einen Variablen mit niedrigen Werten der anderen Variablen assoziiert. Der Korrelationskoeffizient (r) gibt eine Effektgröße an. Bei Werten von ± 0,1 spricht man von einem geringen Effekt, Werte von ± 0,3 zeigen einen mittleren Effekt an und Werte von ± 0,5 einen großen Effekt (41). Nahm r den Wert Null an (r=0), bestand kein Zusammenhang zwischen den Variablen.

Die Berechnung wurde getrennt für die Gruppen noCFLD und CFLD durchgeführt um mögliche Gruppenunterschiede in den Korrelationen der Parameter aufzudecken. Eine Analyse der Gruppe CFLDinc. war aufgrund der niedrigen Patientenzahl (n=9) nicht möglich.

Für die Serumfibrinogenmarker und Routinelaborparameter wurden jeweils die Mittelwertdifferenzen zwischen Follow-up (Zeitpunkt 1) und Baseline (Zeitpunkt 0)

gebildet. Für die Variable TE wurde die Mittelwertdifferenz von Zeitpunkt 4 und Zeitpunkt 0 gebildet, da hier mehr Patienten eingeschlossen werden konnten als zum Zeitpunkt 5. Die Ergebnisse wurden in Korrelationstabellen dargestellt.

3.3.1 Korrelationstabelle der noCFLD Gruppe

Signifikante positive Zusammenhänge ließen sich für die Korrelationen der Variablen γ GT und GPT $r=0,95$ ($p<0,001$), γ GT und GOT $r=0,57$ ($p=0,015$), AP und Endoglin $r=0,48$ ($p=0,042$) sowie Bilirubin und Endoglin, $r=0,87$ ($p=0,011$) erheben.

Signifikante negative Zusammenhänge zeigten sich für die Korrelation der Variablen AP und TE, $r= -0,52$ ($p=0,039$).

Abbildung 16 - Korrelationstabelle der noCFLD-Gruppe

GGT	ALP	Bil	GPT	GOT	End	YLK	Timp4	Timp1	Timp2	TE40
-0.314 17 0.220										
-0.120 6 0.822	***									
0.953 17 0.000	-0.336 18 0.173	0.692 7 0.085								
0.576 17 0.015	**	0.388 7 0.390	0.624 18 0.006							
-0.262 17 0.309	0.485 18 0.042	0.872 7 0.011	**	0.226 18 0.366						
0.129 17 0.621	-0.120 16 0.621	-0.167 7 0.721	0.120 16 0.677	0.169 18 0.302	-0.203 18 0.420					
-0.269 17 0.297	0.130 16 0.627	0.396 7 0.379	-0.188 16 0.454	-0.429 18 0.075	**	0.393 16 0.629				
0.220 17 0.395	-0.128 16 0.612	0.120 7 0.748	0.176 16 0.766	**	**	0.287 16 0.621	-0.122 18 0.548			
0.331 17 0.195	**	0.384 7 0.395	0.337 18 0.172	**	0.140 18 0.672	-0.120 16 0.626	0.429 18 0.076	0.203 18 0.419		
0.132 16 0.639	-0.520 16 0.039	-0.400 6 0.433	0.089 16 0.716	-0.237 16 0.376	-0.350 16 0.184	0.086 16 0.712	-0.086 16 0.714	0.129 16 0.626	0.079 16 0.712	

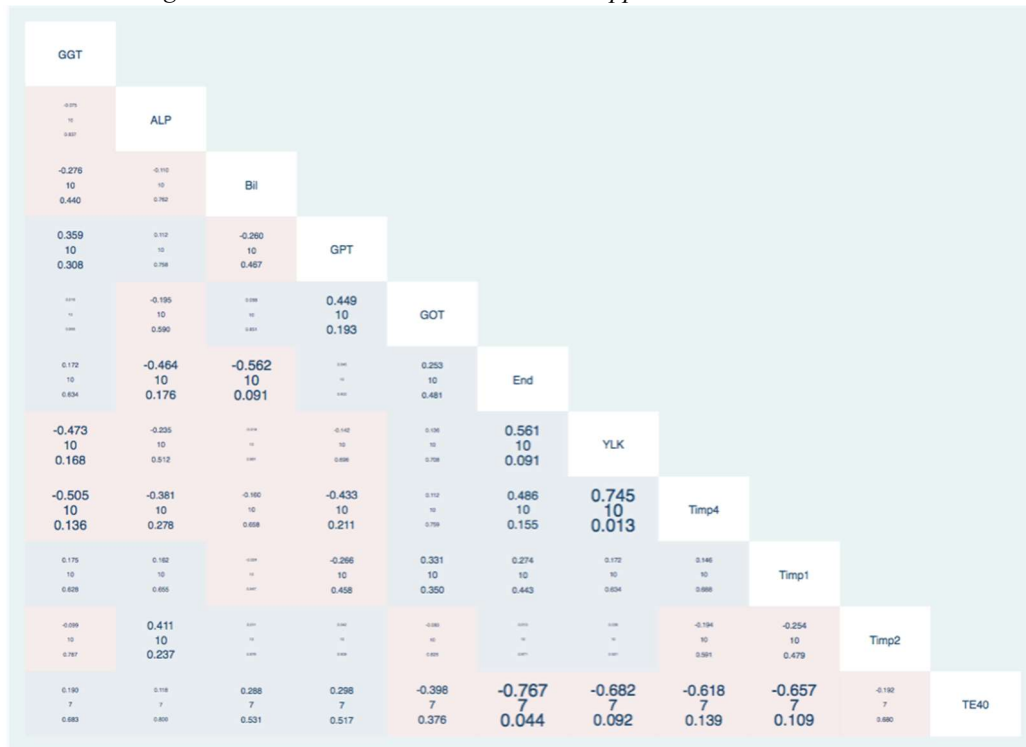
Korrelationstabelle der noCFLD-Gruppe: Blaue Felder beschreiben einen positiven Zusammenhang der beiden Variablen und rote Felder einen negativen Zusammenhang. Die Signifikanz lässt sich auch an der Schriftgröße ablesen. Die Graphik liest sich analog zu einem Koordinatensystem. Die horizontal angeordneten Kästen stellen die X-Achse, die vertikal angeordneten die Y-Achse dar. In den einzelnen Kästen sind von oben nach unten jeweils der Korrelationskoeffizient (r), die Größe der Teilstichprobe (n) und der Signifikanz (p) des Korrelationskoeffizienten (r) angegeben.

3.3.2 Korrelationstabelle der CFLD Gruppe

Ein signifikanter positiver Zusammenhang konnte für die Korrelation der Variablen YKL-40 und TIMP-4, $r=0,74$ ($p=0,013$) erhoben werden.

Ein signifikanter negativer Zusammenhang zeigte sich in der Korrelation der Variablen Endoglin und TE, $r=-0,76$ ($p=0,044$).

Abbildung 17 - Korrelationstabelle der CFLD-Gruppe



Korrelationstabelle der CFLD Gruppe: Blaue Felder beschreiben einen positiven Zusammenhang der beiden Variablen und rote Felder einen negativen Zusammenhang. Die Signifikanz lässt sich auch an der Schriftgröße ablesen. Die Graphik liest sich analog zu einem Koordinatensystem. Die horizontal angeordneten Kästen stellen die X-Achse, die vertikal angeordneten die Y-Achse dar. In den einzelnen Kästen sind von oben nach unten jeweils der Korrelationskoeffizient (r), die Größe der Teilstichprobe (n) und der Signifikanzwert (p) angegeben.

3.4 Multinomiale logistische Regressionsanalyse

Ziel einer logistischen Regressionsanalyse ist es Vorhersagen über das Eintreten eines Zielereignisses zu treffen. Dabei wird die binäre bzw. dichotome abhängige Variable anhand einer oder mehrerer unabhängiger Variablen geschätzt. Die Logit Regression wird nur dann angewandt, wenn die abhängige Variable ein binäres Messniveau annimmt (14). In der vorliegenden Arbeit wurde einzeln untersucht, inwieweit anhand der unabhängigen Variablen TE, TIMP-1, -2, -4, Endoglin, YKL-40, γ GT, GOT, GPT, AP und Bilirubin,

die abhängige Variable, hier die Gruppenzugehörigkeit (noCFLD, CFLD, CFLDinc.), geschätzt werden kann. Dabei geht es ausschließlich darum eine Vorhersage zu treffen. Die geschätzte Wahrscheinlichkeit für das Zielereignis (hier: Gruppenzugehörigkeit) liegt dabei zwischen 0 und 1, also zwischen 0 und 100 Prozent. Das bedeutet: 0= das Ereignis tritt nicht ein, 1= das Ereignis tritt mit einer Wahrscheinlichkeit von einhundert Prozent ein. Natürlich liegen in der Realität die Wahrscheinlichkeiten zwischen diesen beiden Extremen. Da die Analyse ausschließlich signifikante Ergebnisse für die Variablen TE und γ GT ergab, erfolgt die Erläuterung des Modells am Beispiel der Variable TE. Weitere Ergebnisse finden sich im Anhang (Seite 90 ff).

Für jeden Patienten der Kohorte wurde die Differenz der gemessenen TE-Werte zwischen Zeitpunkt vier und null erhoben. Aus der Differenz der erhobenen TE-Werte sollte die Wahrscheinlichkeit für die Gruppenzugehörigkeit geschätzt werden.

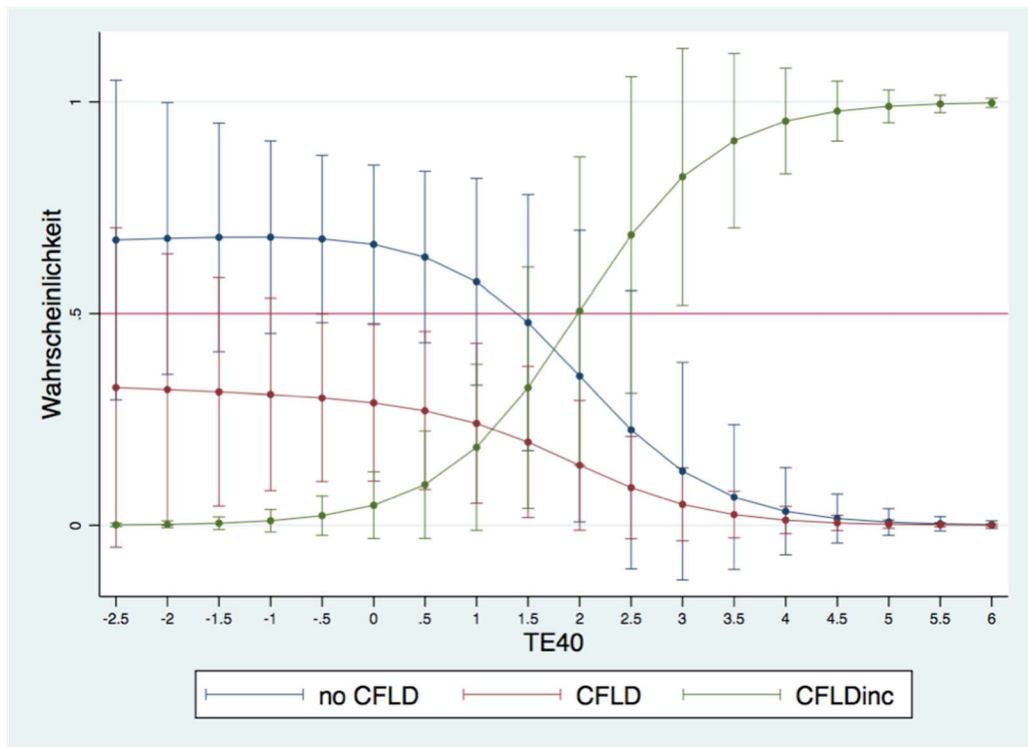
Da wie bereits erwähnt, ein binäres Messniveau der abhängigen Variable angenommen wurde, fungierte die CFLD Gruppe als Referenzkategorie. Das heißt der Einfluss der Variable TE auf die noCFLD und CFLDinc. Gruppe wurden im Vergleich zur CFLD Gruppe analysiert.

Das Modell berechnet letztlich aus wiederholten Algorithmen den Regressionskoeffizienten (b). Für die CFLDinc. Gruppe zeigte sich ein signifikantes Ergebnis, der errechnete Regressionskoeffizient betrug ($b=1,54$, $SEM=0,463$; $p=0,001$). Hieraus konnte durch Exponieren die Odds Ratio ($OR= 4,674$; $95\% CI= 1,88; 11,57$), welches die Stärke eines Zusammenhangs von zwei Merkmalen angibt, berechnet werden.

Das bedeutet, eine Zunahme des ΔTE um eine Einheit (0,5 kPa) erhöhte die Wahrscheinlichkeit der CFLDinc. Gruppe zugeordnet zu werden um den Faktor 4,674.

In der Grafik (Abbildung 16) lässt sich beispielsweise erkennen, dass bei einem ΔTE von 5 kPa die Wahrscheinlichkeit mit nahezu eins sehr hoch ist, der CFLDinc Gruppe zugeordnet zu werden, wohingegen die Wahrscheinlichkeit an null grenzt der noCFLD oder CFLD Gruppe anzugehören.

Abbildung 18 - Graphische Darstellung der Logit-Regression für die Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc.



Die Graphik zeigt die logistische Funktion jeweils für die Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc. Die Kurven verlaufen s-förmig, symmetrisch und asymptotisch im Wertebereich zwischen $y=0$ und $y=1$. Für jede Schätzung ist ein Marginsplot dargestellt der für verschiedene Werte der unabhängigen Variable (TE) das CI für die Wahrscheinlichkeit der jeweiligen CFLD Gruppe anzeigt. Die horizontal verlaufende Linie beschreibt als Standard die 50% Wahrscheinlichkeit.

4 Diskussion

Wie bereits ausführlich in der Einleitung beschrieben, ist die CFLD der dritthäufigste Grund für Morbidität und Mortalität bei Mukoviszidose-Patienten. Doch bisweilen existiert kein Konsens über einheitliche Diagnoserichtlinien um die Erkrankung frühzeitig zu erkennen. Nicht zuletzt lassen der subklinische Verlauf und die heterogene Definition der CFLD, die Diagnosestellung zu einer Herausforderung werden. Besorgniserregend ist zudem der rapide Krankheitsverlauf bei dem es bereits im Kindes- und Jugendalter zur Ausbildung einer multilobulären Leberzirrhose kommen kann. Die Notwendigkeit einer einheitlichen Definition und die Integration nicht-invasiver diagnostischer Methoden ist schon lange gegeben (43, 77).

Die Bedeutung der transienten hepatischen Elastographie und Serumfibrösemarker wie z.B. TIMP-1, TIMP-2, TIMP-4, Endoglin und YKL-40 zur Detektion der CFLD konnten in zahlreichen Studien mit teils vielversprechenden Ergebnissen belegt werden (77, 94, 101, 102). Darüber hinaus existieren erste Langzeitstudien, in denen Patienten mit erhöhtem Erkrankungsrisiko frühzeitig mittels transientser hepatischer Elastographie, Acoustic Radiation Force Impulse (ARFI) und Fibrosescores erfasst werden konnten (47, 64, 67). Studien zur Langzeitevaluation von Serumfibrösemarkern zur Diagnostik der CFLD finden sich in der Literatur bisher nicht. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit liefern somit einen innovativen Ansatz zur Überarbeitung und Komplementierung der CFLD-Diagnosekriterien und können dazu beitragen, die Patienten bereits in einem frühen Erkrankungsstadium zu detektieren.

4.1 Die transiente hepatische Elastographie und weitere Methoden zur Diagnostik der CFLD - ein Vergleich

4.1.1 Leberbiopsie

Die Leberbiopsie gilt für die Diagnostik von chronischen Lebererkrankungen als Goldstandard. Es gibt verschiedene Techniken, z.B. die Leber-Blindbiopsie nach Menghini, eine Ultraschall-gesteuerte Biopsie sowie transjuguläre und laparoskopische Verfahren (126). Das am häufigsten angewandte Verfahren ist die perkutane Leberbiopsie die meist sonographisch gestützt durchgeführt wird.

Ein Vorteil der Leberbiopsie ist die direkte Beurteilung der Gewebeproben durch einen erfahrenen Hepatopathologen. Wobei neben der Frage nach der Ätiologie der Lebererkrankung und der damit verbundenen Diagnosestellung auch das Ausmaß der entzündlichen Aktivität (engl.: grading) und das Fibroseausmaß (engl.: staging) bestimmt wird (116). Zur histologischen Beurteilung des Lebergewebes stehen unterschiedliche Gradingcores zur Verfügung. Die am häufigsten gebrauchten Gradingssysteme sind der modifizierte Hepatitis-Aktivitäts-Index (Abk.: mHAI) und der Desmet/Scheuer-Score. Daneben existieren der METAVIR-Score, der besonders für die histologische Beurteilung der Hepatitis C von Bedeutung ist und zum einen die histologische Aktivität (A0-A3) aber auch das Fibroseausmaß (F0-F4) berücksichtigt. F0 stellt dabei ein normales Lebergewebe, F1-F2 milde Fibroestadien, F3 eine schwere Leberfibrose und F4 das histologische Bild einer Leberzirrhose dar (12, 116).

Des Weiteren existiert der hierzulande eher weniger verwendete Score nach Batts und Ludwig (11). Pathognomisch für die CFLD ist die fokal biliäre Zirrhose, die bei etwa 20-30% der Patienten auftritt (43).

Aufgrund des fokalen Verteilungsmusters der Leberläsionen gehört die Leberbiopsie nicht zur Routinediagnostik bei CFLD (25). Lewindon et al. führten bei 40 Mukoviszidose-Patienten mit einem durchschnittlichen Alter von 10,6 Jahren Dual-Pass-Biopsien der Leber durch. Unter sonographischer Kontrolle wurden über eine Hautinzision mehrere Proben durch Veränderung des Punktionswinkels aus dem rechten Leberlappen gewonnen und histologisch untersucht. Die Identifizierung signifikanter Fibrorestadien (METAVIR F2-F4) stieg durch den Einsatz der Dual-Pass Methode um ca. 16%. Allerdings fand sich in etwa 38% der Fälle eine Diskrepanz zwischen den erhobenen Fibrosegraden. Dennoch heben die Autoren die diagnostische Bedeutung der Leberbiopsie im Vergleich zu Serummarkern und Ultraschall hervor (74). Doch die Methode birgt auch Nachteile: eine im Rahmen einer chronischen Lebererkrankung manifestierte Leberzirrhose lässt sich in ca. 30 % der Fälle nicht erfassen und Fibrorestadien werden unterschätzt. Zudem sind die Befunde sehr abhängig von der Expertise des verantwortlichen Pathologen. Obwohl die Mortalitätsrate einer Leberbiopsie mit 1:10000 sehr niedrig ist, können Komplikationen wie Blutungen, Pneumothorax oder Peritonitis die Akzeptanz der Untersuchungsmethode limitieren. Insbesondere bei Kindern sollte die Indikationsstellung, nicht zuletzt wegen der nötigen Sedierung, kritisch hinterfragt werden (17, 37). Bedeutende Vorteile der TE gegenüber der Leberbiopsie sind zum einen die Nicht-Invasivität des Verfahrens und zum anderen die Größe des damit erfassten Lebervolumens. So repräsentiert das bei einer Biopsie entnommene Lebervolumen ca. 1:50.000 des Gesamtvolumens der Leber, während durch die TE ca. 100 mal so viel Lebervolumen erfasst werden kann (17, 31). Nach aktuellen Richtlinien wird eine Leberbiopsie bei Verdacht auf eine CFLD nur dann empfohlen, wenn klinische Zeichen einer Lebererkrankung vorliegen, diese aber durch vorherige Untersuchungen noch nicht belegt werden konnte (32). Zur Verlaufskontrolle scheint die Leberbiopsie aufgrund der Invasivität und möglichen Komplikationen bei Patienten mit CFLD nicht geeignet. Hier sollten nicht-invasive Verfahren eine übergeordnete Rolle spielen.

4.1.2 Bildgebende Diagnostik: von Sonografie bis MR-Elastographie

Die Abdomensonographie gehört nicht zuletzt aufgrund ihrer Nichtinvasivität, geringen Untersuchungskosten und breiten Verfügbarkeit zur Routinediagnostik bei CFLD (32, 81). Auffällige sonographische Befunde wie heterogene Echogenität des Leberparenchyms, eine wellige, knotige Leberkontur oder Zeichen der portalen Hypertension können klinischen und/oder laborchemischen Veränderungen vorausgehen (81). Allerdings beschreiben diese bildmorphologischen Befunde bereits Spätstadien einer CFLD (77). Im direkten Vergleich von sonographischen und histologischen Befunden ließen sich Frühstadien der CFLD nicht verlässlich durch die Sonographie erfassen (85). Auch können Leberfibrose und -steatose nicht eindeutig im Ultraschall differenziert werden (75). Sogar ein unauffälliger sonographischer Befund schließt eine CFLD-assoziierte Leberzirrhose per se nicht aus (43). Zudem ist die Befundung von der Qualität des Gerätes und der Erfahrung des jeweiligen Untersuchers abhängig (85). Die TE ist im Gegensatz dazu ein standardisiertes Verfahren zur Erfassung des Fibrorestadiums bei chronischen Lebererkrankungen mit exzellenter Intra- und Interobserver-Reliabilität (46). Durch die einfache Bedienung kann die Untersuchung durch geschultes medizinisches Fachpersonal ausgeführt werden und muss nicht wie beim Ultraschall durch einen Arzt erfolgen (31). Neben der TE ist das Acoustic Radiation Force Impulse (Abk. ARFI) eine weitere Methode, die Elastizität der Leber nicht-invasiv zu bestimmen. Integriert in ein konventionelles Ultraschallgerät, induzieren akustische Impulse eine Scherwelle im Gewebe, deren Ausbreitungsgeschwindigkeit über Ultraschallwellen in m/s gemessen wird. Analog zur TE gilt: je steifer das Gewebe desto höher die Geschwindigkeit der Scherwelle (37). In einer Studie zu chronischen Virushepatitiden korrelierten ARFI und TE-Werte signifikant mit den histologischen Fibrosegraden F2-F4 (METAVIR Score) (48). Karlas et al. konnten ähnliche Resultate bei erwachsenen Mukoviszidose-Patienten beobachten. ARFI und TE-Werte korrelierten positiv und konnten zwischen nicht-zirrhatischen und zirrhatischen Stadien der CFLD unterscheiden (63). Vorteile des ARFI gegenüber der TE mögen sein, dass es nicht zu einer mechanischen Kompression des Gewebes kommt, wodurch die Lebersteifigkeit mittels TE als zu hoch gemessen werden kann (37). Mittels ARFI können neben der Leber auch andere Organgewebe wie beispielsweise Schilddrüse, Milz oder Pankreas untersucht werden, während der Fibroscan® ausschließlich Messungen über dem rechten Leberlappen ermöglicht (37, 132). Und es ist vorteilhaft dass durch den B-Mode des

Ultraschalls bei ARFI weitere assoziierte pathologische Veränderungen wie Aszites oder Splenomegalie dargestellt werden können (37). Allerdings birgt die bildgeführte ARFI Untersuchungsmethode auch Nachteile, da der Untersucher die zu untersuchende Region frei auswählen kann, was wiederum zu einer hohen Interobserver-Variabilität führt (114). Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass ARFI und TE gleichwertig moderate bis schwere Fibrosegrade aufdecken aber Schwächen in der Differenzierung milder Fibrosegrade (METAVIR F0-F2) zeigen (63, 85).

Weitere nicht-invasive Untersuchungsverfahren zur Diagnostik der CFLD, wie die Realtime-Elastographie (engl.: real-time tissue elastography, (RTE)) oder die Magnetresonanz Elastographie (Abk. MRE) sind Gegenstand aktueller Forschungen (51). Die Studienlage zur RTE scheint noch konträr. Während in einer Arbeit mit an Hepatitis C erkrankten Patienten die erhobenen Werte mit den nach METAVIR Score klassifizierten Fibrosegraden und der durch TE erhobenen Lebersteifigkeit übereinstimmten, korrelierten die Ergebnisse der TE und RTE Messungen im Vergleich bei pädiatrischen Patienten mit chronischen Lebererkrankungen, darunter auch zwanzig Patienten mit Mukoviszidose, nicht miteinander (84, 115). Vielversprechender scheint die MRE zu sein. Zwar sind die eingeschränkte Verfügbarkeit und hohen Untersuchungskosten als nachteilig zu werten aber durch das Verfahren kann die gesamte Leber abgebildet und bereits milde Fibrosegrade mit einer hohen Sensitivität und Spezifität erfasst werden (135). Eine Studie konnte hier überzeugende Ergebnisse bei einer kleinen Kohorte von Mukoviszidose Patienten mit CFLD zeigen (54). Dennoch bedarf es weiteren Untersuchungen, da bisweilen einheitliche cut-off Werte fehlen. Zudem wäre es interessant auch die MRE in Follow-up Untersuchungen zur Diagnostik der CFLD einzusetzen und diese mit anderen nicht-invasiven Untersuchungsmethoden wie beispielsweise der TE zu vergleichen.

4.1.3 Bedeutung der TE zur Langzeitevaluation von CFLD-Patienten - Resultat der vorliegenden Arbeit

Fünf Prozent der CFLD Patienten haben ein erhöhtes Risiko innerhalb der ersten Lebensdekade an einer multilobulären Leberzirrhose zu erkranken. Die Durchführung von TE-Verlaufsuntersuchungen wurde bereits von mehreren Autoren propagiert (4, 63).

Die vorliegende Arbeit ist eine der wenigen, welche die TE zur Diagnostik der CFLD in Follow-up Untersuchungen evaluiert hat.

Unsere Arbeitsgruppe konnte eine Subgruppe von Patienten identifizieren (CFLDinc. Gruppe, n= 9) bei denen nach circa drei Jahren Follow-up Untersuchung ein kontinuierlicher Anstieg der TE-Werte von $\Delta T > 0,38 \text{ kPa/a}$ verzeichnet werden konnte. Wie bereits erwähnt lagen die gemessenen TE-Werte zur Baseline Messung in allen drei Gruppen in einem annähernd gleichen Messbereich (Range: 4,2-4,7kPa). Ab dem dritten Messzeitpunkt ergaben sich signifikante Mittelwertunterschiede in der CFLDinc. Gruppe, oberhalb des Cut-offs von 6,3kPa, im Vergleich zu den Gruppen noCFLD und CFLD. Auch anhand der Logit-Regressionsanalyse konnte gezeigt werden, dass mit zunehmender Differenz der TE-Werte zwischen Baseline und Follow-up Messung auch die Wahrscheinlichkeit zunahm der Risikogruppe (CFLDinc.) anzugehören. Sieben von acht Patienten der CFLDinc Gruppe waren Kinder und Jugendliche (medianes Alter: 12,7 Jahre), die auch klinisch eine deutliche Progression der Erkrankung aufwiesen. Alle Patienten dieser Gruppe waren männlichen Geschlechts und litten zusätzlich an einer exokrinen Pankreasinsuffizienz. Beide Merkmale wurden bereits als Risikofaktoren für die Entwicklung einer CFLD diskutiert (59). Die Probandenzahl in dieser Gruppe ist allerdings zu gering, um an dieser Stelle einen kausalen Zusammenhang festmachen zu können. Lediglich ein erwachsener Patient konnte der CFLDinc. Gruppe zugeordnet werden. Hervorzuheben ist, dass bei diesem Patienten eine Cholestase bei Choledocholithiasis diagnostiziert wurde, weswegen der Elastographiewert im Follow-up oberhalb des Cut-off Wertes auf 7,2 kPa anstieg. Nach erfolgreicher, operativer Intervention sank der Elastographiewert auf 6,1 kPa zurück. Der beobachtete Fall lässt einmal mehr vermuten, dass im Erwachsenenalter extrahepatische Komplikationen vordergründiger für eine Krankheitsprogression erscheinen als die Entwicklung einer für die CFLD pathognomonischen fokal biliären Zirrhose, die sich vor allem im Kindesalter manifestiert. Er verdeutlicht darüber hinaus, dass die TE in der Lage ist, auch akute Veränderung der Lebersteifigkeit zu registrieren (63). Dass die TE-Werte Hinweise über das Erkrankungsausmaß der CFLD geben, konnte auch in anderen Untersuchungen beobachtet werden (4, 102). So konnten wir beispielsweise in einer früheren Studie unserer Arbeitsgruppe zeigen, dass Patienten mit CFLD und portaler Hypertension (Abk.: PHT) signifikant höhere TE-Werte aufwiesen im Vergleich zu CFLD Patienten ohne PHT und noCFLD Patienten (102).

Neben den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit findet sich in der Literatur nur eine weitere 1 Jahr nach unserer Arbeit publizierte Studie, welche die Bedeutung der

transienten hepatischen Elastographie zur Diagnostik der CFLD im Follow-up evaluierte. Gominon et al. untersuchten 82 pädiatrische Mukoviszidose Patienten über einen medianen Zeitraum von dreieinhalb Jahren. Der durchschnittliche Anstieg der TE-Werte lag bei ΔT 0,23 kPa/a, wobei Patienten die im Verlauf eine CFLD entwickelten durch einen rapideren Anstieg der Elastographiewerte (0,92 kPa/a) auffielen (51). Es ist festzuhalten, dass im genannten Follow-up Zeitraum der Nachfolgestudie lediglich zwei TE-Messungen erfolgten. Der Vorteil unserer eigenen Arbeit ist sicher, dass nicht nur zwei sondern jährliche TE-Messungen durchgeführt wurden. Durch einen jährlichen Untersuchungsalgorithmus kann eine Krankheitsprogression schneller diagnostiziert und entsprechende Therapiemaßnahmen eingeleitet werden.

Das besonders Kinder und Jugendliche von einer CFLD betroffen sind, verdeutlichen sowohl unsere Daten als auch die Ergebnisse von Karlas et al. Hier konnte bei 41 Patienten im Erwachsenenalter keine Progression der TE-Werte ausgemacht werden. Die Autoren betonen die Notwendigkeit eines längeren Untersuchungszeitraums, um die Hypothese eines stabilen Verlaufs nach der Adoleszenz zu unterstreichen (63).

Unsere Verlaufsuntersuchungen konnten eine Subgruppe von vornehmlich pädiatrischen Patienten hervorheben die durch einen Anstieg der TE-Werte auffielen. Es ist wünschenswert zukünftig ein besonderes Augenmerk auf diese Patientengruppe zu legen.

4.1.4 Diagnostische Bedeutung der Routinelaborparameter

Die Bestimmung der Leberenzyme GPT, GOT und γ GT wird von der europäischen Richtlinie zur Diagnostik der CFLD im jährlichen Intervall empfohlen und gehört an spezialisierten Mukoviszidose-Zentren zur Routineuntersuchung (32). Innerhalb der ersten 21 Lebensjahre weist der überwiegende Anteil der Patienten mindestens einen von der Norm abweichenden GPT, GOT oder γ GT Wert auf, wobei eine Erhöhung der Transaminasen vornehmlich in den ersten zwei Lebensjahren registriert wird. Diese Veränderungen müssen aber nicht zwangsläufig auf eine CF-Hepatopathie hindeuten, sondern können im Rahmen von Malnutrition, Medikamenteneinnahme oder Entzündungsprozessen auftreten (134). Erst eine Erhöhung oberhalb des Normwerts an drei aufeinanderfolgenden Untersuchungen innerhalb eines Jahres nach Ausschluss anderer Hepatopathien gilt als auffällig (32). In der vorliegenden Arbeit wurden

richtlinienkonform sowohl Leberenzyme (GPT, GOT, γ GT) als auch Cholestaseparameter (ALP und Bilirubin) bestimmt.

Für die Variablen GPT und GOT lagen die gemessenen Konzentrationen in allen drei Gruppen zur Baseline-Messung im Normbereich. In der CFLDinc Gruppe zeigte sich ein signifikanter Anstieg der Serumkonzentration von GPT und GOT im Follow-up nach circa drei Jahren während sich die gemessenen Serumkonzentrationen in der noCFLD und CFLD Gruppe auch zum Follow-up im Normbereich befanden. Ein Anstieg der Aminotransferasen kann auf eine hepatozelluläre Funktionsstörung hinweisen. Bei bis zu 67% der CF-Patienten kann ein isolierter Anstieg der Transaminasen Ausdruck einer Steatosis hepatis sein (28, 32). Für die Diagnostik von Lebererkrankungen ist die Sensitivität der GOT wesentlich geringer als die der GPT (71% vs. 83%). So ist ein alleiniger Anstieg der GOT nicht hinweisend auf eine Lebererkrankung, während ein Anstieg der GPT ein sensitiver Indikator für einen Leberzellschaden ist (70).

Die γ GT ist ein membranständiges Enzym der Hepatozyten und Cholangiozyten. Neben ihrem Vorkommen in der Leber kommt sie u.a. im Pankreas und Dünndarm vor. Die höchste Konzentration findet sich allerdings in den Nieren (70). Ein Anstieg der γ GT im Serum ist fast ausschließlich hepatischen Ursprungs und kann sowohl auf einen Leberzellschaden als auch eine hepatobiliäre Erkrankung hindeuten (70). Bodewes et al. fanden bei CFLD-Patienten mit Leberzirrhose signifikant höhere γ GT Werte im Serum als bei CFLD Patienten ohne Leberzirrhose. Sie postulierten die Notwendigkeit wiederholter γ GT-Messungen, um Risikopatienten zu evaluieren (16). Unsere Auswertung zeigte zur Baseline-Messung signifikant erhöhte γ GT -Konzentrationen im Serum von Patienten mit CFLD gegenüber Patienten ohne CFLD (noCFLD Gruppe). In der CFLDinc Gruppe stieg die γ GT -Konzentration bei vier der neun Patienten von der Baseline- zur Follow-up-Messung an, so dass eine signifikante Veränderung der γ GT -Konzentration von der Baseline zur Follow-up Messung nach circa drei Jahren beobachtet wurde. Unsere Ergebnisse zeigen folglich, dass die wiederholte Bestimmung der γ GT im Serum ihre diagnostische Berechtigung hat, es allerdings erst zu einer deutlichen Progression der γ GT Serumkonzentration kommt, wenn klinisch bereits Zeichen einer Leberzirrhose vorliegen.

Die alkalische Phosphatase (AP) ist ein sensitiver Marker für hepatobiliäre und cholestatische Erkrankungen. Ihre Aktivität wird durch Gallensäuren stimuliert (70). In allen drei untersuchten Gruppen (noCFLD, CFLD, CFLDinc.) waren die Mittelwerte zu den Baseline- und Follow-up Messungen über der Norm erhöht, aber in keiner Gruppe zeigte sich eine signifikante Veränderung der AP-Konzentration von der Baseline- zur Follow-up Messung. Unsere Analyse ergab die höchste AP Konzentration zur Baseline und Follow-up Messung in der CFLDinc Gruppe. Die Interpretation der AP als enzymatischer Marker einer Cholestase wird erschwert durch die erhöhte Aktivität der Osteoblasten im Rahmen des Knochenwachstums so dass sich im Kinder-und Jugendalter per se eine erhöhte AP-Konzentration im Serum finden lässt. Darüber hinaus kann es durch chronisch-obstruktive Lungenerkrankungen zu einer Erhöhung der AP Konzentration im Serum kommen (70). Ein Anstieg der AP sollte dementsprechend immer in Verbindung mit der γ GT - und Transaminasen-Konzentration interpretiert werden (32).

Bilirubin entsteht vorwiegend durch den Abbau des Hämoglobins und wird an Albumin gebunden zur Leber transportiert. In den Hepatozyten wird es durch Glucuronidierung in seine wasserlösliche Form überführt, um aktiv in die Gallenkanalikuli sezerniert zu werden. Der Bilirubinstoffwechsel wird u.a. durch schwere Lebererkrankungen gestört, denn mit zunehmendem Leberzellschaden nimmt auch die exkretorische Kapazität der Leber ab (5). In der vorliegenden Arbeit fand sich in keiner der drei untersuchten Gruppen (noCFLD, CFLD, CFLDinc.) eine Erhöhung des Gesamtbilirubins zur Baseline und Follow-up Messung. Eine mögliche Erklärung dafür könnte sein, dass die exkretorische Funktionsleistung der Leber hinsichtlich Bilirubin physiologisch doppelt so hoch ist, sodass es erst in einem späten Erkrankungsstadium zu einer Erhöhung des Serumbilirubins kommt. Außerdem kann die Bilirubinkonzentration durch die Einnahme von Medikamenten fälschlicherweise als zu niedrig gemessen werden, da die Bindungsstellen des Albumins durch die pharmakologischen Substanzen besetzt werden können (70).

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass sich bei einer CFLD oft nur milde oder intermittierende Erhöhungen der Transaminasen und Cholestaseparameter finden (32). So weisen etwa 25-50 Prozent der Mukoviszidose Patienten eine Erhöhung der genannten Leberwerte auf, was nicht unmittelbar auf das Vorliegen einer CFLD hindeuten muss

(134). Im Gegensatz dazu können bei CFLD-Patienten mit multilobulärer Zirrhose GPT-, GOT- und γ GT-Serumkonzentrationen im Normbereich liegen (32). Ein Anstieg auf das Dreifache über der Norm wird nur selten und wenn, dann meist nur im fortgeschrittenen Erkrankungsstadium beobachtet (134). Es ist somit nicht verwunderlich, wenn aufgrund der niedrigen Sensitivität und Spezifität der Routinelaborparameter deren Effizienz zur Diagnostik der CFLD wiederkehrend hinterfragt wird und die Suche nach alternativen Serummarkern zunehmend an Bedeutung gewinnt (32, 33, 121).

4.1.5 Diagnostische Bedeutung der Serumfibrosemarker TIMP-1, TIMP-2, TIMP-4, Endoglin und YKL-40

4.1.5.1 TIMPs

Im gesunden Lebergewebe unterliegen der Auf- und Abbau der EZM einem dynamischen Prozess, welcher maßgeblich durch den Einfluss von MMPs und TIMPs reguliert wird (58, 110). Dieses komplexe Gleichgewicht ist bei chronischen Lebergewebsschäden gestört, wobei die Degradation der Matrix im Vergleich zur Matrixsynthese vermindert ist (65). Besonders aktivierte hepatische Stellatzellen können durch die erhöhte Expression von TIMPs, MMPs inhibieren und zur Akkumulation von Proteinen der EZM führen (58). Neuere Studien gehen allerdings davon aus, dass die Rolle der TIMPs in der Regulation der EZM divergent ist und ein Verlust der TIMPs nicht nur mit einer gesteigerten Proteolyse sondern auch Akkumulation der EZM einhergehen kann. Diese Beobachtung scheint allerdings von der durch die spezifische TIMP inhibierten MMP und dem spezifischen Gewebe abhängig zu sein (7). Unsere Arbeitsgruppe konnte in den letzten Jahren die Bedeutung von TIMP-1,-2 und -4 als valide Biomarker für die Diagnostik der CFLD hervorheben. So zeigte eine Untersuchung unserer Arbeitsgruppe, dass die Serumexpression von TIMP-1 die höchste diagnostische Genauigkeit zur Detektion einer CFLD aufwies und dass die Serumexpression von TIMP-2 verlässlich zwischen noCFLD und CFLD Patienten unterschied und CFLD Patienten mit portaler Hypertension signifikant höhere TIMP-2 Serumkonzentrationen als CFLD Patienten ohne portale Hypertension zeigten (102). In einer weiteren Studie wurde die Expression von TIMP-4 im Serum von Mukoviszidose-Patienten mit und ohne Leberbeteiligung erhoben. In der Gruppe der CFLD Patienten fand sich eine signifikant höhere TIMP-4 Serumexpression als bei noCFLD Patienten (101). Da die vorausgegangenen Evaluationen auf einmaligen Messergebnissen beruhten, untersuchten wir TIMP-1, 2 und 4 im Follow-up, um deren Relevanz als prognostische Serumfibrosemarker zur Detektion

von Risikopatienten zu beleuchten. Bereits ab der Baseline-Messung sahen wir eine signifikant höhere Expression von TIMP-1 und -2 im Serum der CFLDinc.- Gruppe im Vergleich zu Patienten der noCFLD- und CFLD-Gruppe. Für TIMP-1 konnte zudem ein signifikanter Unterschied zwischen Patienten der noCFLD und CFLD-Gruppe ausgemacht werden, dahingehend dass in der CFLD-Gruppe eine signifikant höhere TIMP-1 Expression im Vergleich zur noCFLD- Gruppe zu sehen war. Neben den Ergebnissen unserer Arbeitsgruppe findet sich nur eine Veröffentlichung welche die Relevanz von TIMP-1 zur Diagnostik der CFLD weiter ausführt. Pereira et al. sahen eine höhere Expression von TIMP-1 bei CFLD- im Vergleich zu noCFLD-Patienten und evaluierten TIMP-1 als Serummarker für das CFLD-Frühstadium (94). Auch im Zusammenhang mit anderen chronischen Lebererkrankungen wurden die Vertreter der TIMP-Familie bereits untersucht (9). Bei Patienten mit Hepatitis C korrelierte die Serumkonzentration von TIMP-1 und -2 mit dem Schweregrad des Lebergewebes Schadens, und in Tiermodellen fand sich eine erhöhte Expression von TIMP-1 und TIMP-2 nach toxisch und cholestatisch induziertem Leberzellschaden (111, 129). Während der Einfluss von TIMP-1 und TIMP-2 in der Pathophysiologie der Leberfibrose vielfach überprüft wurde, ist die Rolle von TIMP-4 diesbezüglich nur unzureichend untersucht. Bisher wurde angenommen dass die Expression von TIMP-4 auf bestimmte Gewebe wie die von Herz, Niere, Pankreas oder Kolon beschränkt ist und das Protein mit Tumorinvasion und -proliferation in Verbindung steht (80). Nadler et al. konnten allerdings zeigen, dass Mäuse, die aufgrund einer induzierten biliären Atresie an einer Leberfibrose litten, neben einer erhöhten Expression von TIMP-1 auch signifikant erhöhte Level von TIMP-4 aufwiesen (87). Auch Rath et al. wiesen die höchste Serumexpression von TIMP-4 bei Hepatitis C Patienten mit manifester Leberzirrhose nach und vermuteten, dass die Höhe des exprimierten TIMP-4 im Serum in Zusammenhang mit dem Fibrosegrad steht (101). Warum in der vorliegenden Arbeit die höchste Expression von TIMP-4 in der CFLD-Gruppe und nicht der CFLDinc- Gruppe zu finden war, muss offenbleiben. Bei zahlreichen malignen Tumoren, wie z.B. Prostata-, Mamma- oder Pankreas-Karzinomen, fand man im Vergleich zum Initialstadium, im Spätstadium eine erniedrigte Expression von TIMP-4 (80). Ob diese Beobachtung auch auf fortgeschrittene CFLD Stadien übertragbar ist, bleibt an dieser Stelle hypothetisch und bedarf weiterer Untersuchungen.

Die vorliegenden Ergebnisse weisen darauf hin, dass Vertreter der TIMP-Familie vielversprechende Biomarker zur Identifizierung von Patienten mit CFLD sind. Nicht nur unterschieden sich die Serumkonzentrationen von TIMP-1, -2 und TIMP-4 zwischen den untersuchten Gruppen, es ist vor allem hervorzuheben, dass in der vorliegenden Arbeit bereits zur Baseline Messung eine signifikant höhere Serumexpression von TIMP-1 und -2 in der CFLDinc-Gruppe vorlag und dass zu einem Zeitpunkt, an dem die Messergebnisse der Fibroscanuntersuchung noch keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen erkennen ließen. Auch wenn die Aufnahme von TIMP-1 und TIMP-2 in den diagnostischen Algorithmus einen entscheidenden Beitrag leisten könnte Risikopatienten für CFLD frühzeitig zu entdecken, so bleibt die Etablierung neuartiger Serumfibrösemarker weiterhin eine Herausforderung. Es fehlen einheitliche Leitlinien und Normwerte existieren bislang auch nicht. Nicht zuletzt ist die routinemäßige Bestimmung der Fibrösemarker mit erheblichen Mehrkosten und Arbeitsaufwand verbunden. Die Tatsache, dass besonders Kinder an einer CFLD erkranken, sollte allerdings die Forschungsbestrebungen für verbesserte Früherkennungsmethoden vorantreiben.

4.1.5.2 Endoglin

TGF- β ist eines der zentralen Zytokine in der Pathogenese von Lebergewebsschädigungen unterschiedlicher Ätiologien und an allen Stadien der Krankheitsprogression bis hin zur Entstehung hepatozellulärer Karzinome (HCC) beteiligt (35). Durch Aktivierung der hepatischen Sternzellen wird die Synthese von Proteinen der extrazellulären Matrix (EZM), wie Proteoglykane, Fibronectin und Kollagen stimuliert (26). Auch die Degradation der EZM wird über TGF- β vermittelt und bewirkt eine gesteigerte Synthese der TIMPs (82). Die TGF- β Signaltransduktionskette kann durch Endoglin und Betaglycan reguliert werden. So kann Endoglin die TGF- β Signalkaskade von ALK5-Smad2/3 zu ALK1-Smad1/5 verlagern und die profibrotischen Eigenschaften von TGF- β begünstigen (82). In der Leber wird Endoglin in HSC sowie septalen und portalen Myofibroblasten exprimiert (26). Eine vermehrte Expression von Endoglin führt zu einer gesteigerten TGF- β induzierten Smad1/5 Phosphorylierung und u.a. damit zu einer vermehrten α -Smooth Muscle Actin Expression (Abk.: α -SMA), ein Protein welches maßgeblich an den Prozessen der Fibrogenese beteiligt ist. Aufgrund dieser Eigenschaften wurde Endoglin bereits als potenzieller Verlaufsmarker bei progressiven Lebererkrankungen diskutiert (83). Rath et al. untersuchten als Erste die

Bedeutung von Endoglin als neuartigen Biomarker für die Diagnostik einer CFLD. Sie konnten zeigen, dass Patienten mit CFLD eine signifikant höhere Serumexpression von Endoglin aufwiesen als Patienten ohne CFLD (101). Auch bei Patienten mit chronischer Hepatitis C fand sich eine erhöhte intrahepatische- und Serumexpression von Endoglin und TGF- β im Vergleich von Früh- und Spätstadien der Leberfibrose. Folglich konnte gezeigt werden, dass die Konzentrationen von Endoglin positiv mit dem Erkrankungsausmaß korrelierten (26).

In der vorliegenden Arbeit wurde die höchste Konzentration von Endoglin im Patientenserum der CFLDinc-Gruppe gemessen. Hier ergaben sich im Mittelwert Endoglinkonzentrationen zur Baseline-Messung von 7,8ng/ml und zum Follow-up von 8,1ng/ml. Diese Ergebnisse sind annähernd gleich zu den Ergebnissen von Rath et al. bei denen ein cut-off der Endoglinkonzentration im Serum von 8,6 ng/ml zur Diagnose einer CFLD berechnet wurde (101). Anders verhält es sich mit den Beobachtungen von Clemente et al. bei denen weitaus höhere intrahepatische und Serumkonzentrationen von Endoglin bei HCV-Patienten gemessen wurden (47,5 ng/ml bis 55,5 ng/ml). Die Höhe der Endoglinexpression im Serum scheint abhängig von der Ätiologie der Lebererkrankung zu sein. Die Bestimmung der intrahepatischen Endoglinexpression wird bei CFLD Patienten aufgrund der Invasivität und den mit einer Leberbiopsie verbundenen Komplikationen nur unlängst zu realisieren sein. Um letztendlich die genaue Funktion von Endoglin zu verstehen und mögliche Target-Therapien ableiten zu können, wird die differenzierte Untersuchung von L-Endoglin, S-Endoglin, und sol-Endoglin unerlässlich sein. Denn es konnte gezeigt werden, dass die Isoformen einer unterschiedlichen Regulation im Lebergewebe unterliegen und dass, in Abhängigkeit vom Zelltyp, Endoglin auch eine protektive Rolle hinsichtlich der Leberfibrogenese einnimmt (2). Was diese Ergebnisse für die CF-assoziierte Hepatopathie bedeuten und ob sich daraus eine mögliche diagnostische und therapeutische Konsequenz ableitet, müsste in weiterführenden Studien untersucht werden.

4.1.5.3 YKL-40

Die biologische Funktion von YKL-40 ist bislang noch nicht vollständig geklärt (95). Untersuchungen von chronisch-inflammatorischen Erkrankungen wie der Rheumatoiden Arthritis, Morbus Crohn oder Asthma bronchiale zeigten erhöhte Serumlevel von YKL-40, so dass dem Glykoprotein eine Bedeutung als Entzündungsmarker zugeschrieben

wird (69, 127). Es wird vermutet, dass YKL-40 in der Lage ist, über den MAP-Kinase-Signalweg Migration und Proliferation von Bindegewebszellen wie beispielsweise Fibroblasten zu initiieren und somit zur Fibrogenese beizutragen. Die Studienlage zu YKL-40 als neuartigem Serummarker zur Diagnostik einer Leberfibrose ist allerdings widersprüchlich (95). Bei Patienten mit chronischen Lebererkrankungen konnte durch immunhistochemische Untersuchungen eine erhöhte Expression von YKL-40 in fibrotischen Arealen nachgewiesen werden (61). Weiterführend wurde in Studien beobachtet, dass die Serumkonzentration von YKL-40, unabhängig von der Ätiologie der Lebererkrankung, mit dem Fibrosegrad korrelierte (103, 136) Im Gegensatz dazu zeigte Lebensztejn et al., dass Kinder mit chronischer Hepatitis B zwar signifikant erhöhte YKL-40 Serumkonzentrationen im Vergleich zur Kontrollgruppe hatten, eine Differenzierung zwischen den Fibrosestadien aber nicht möglich war (72). Die Bedeutung von YKL-40 als Fibrosemarker bei CFLD wurde durch unsere Arbeitsgruppe untersucht. CFLD Patienten zeigten signifikant erhöhte YKL-40- Serumkonzentrationen im Vergleich zu noCFLD-Patienten. In der vorliegenden Untersuchung lagen zwar unterschiedliche Serumkonzentrationen von YKL-40 in den einzelnen Gruppen (noCFLD, CFLD und CFLDinc.) vor, allerdings erreichten diese im Gruppenvergleich kein Signifikanzniveau. Die Korrelationsanalyse ergab eine signifikant positive Korrelation zwischen YKL-40 und TIMP-4. Dieses Ergebnis unterstreicht bisherige Beobachtungen, bei denen die YKL-40 Serumkonzentration mit Proteinen der EZM (TIMP-1, Hyaluron u.a.) korrelierte (95). Auch wenn der Beitrag von YKL-40 zur Leberfibrogenese noch nicht abschließend geklärt ist, so handelt es sich am ehesten um einen Wachstumsfaktor, welcher sowohl von Kupffer-Zellen als auch natürlichen Killer-T-Zellen freigesetzt wird und die Produktion der EZM stimuliert. Diese Erkenntnis könnte ein erster Anhaltspunkt für mögliche Targettherapien sein (95). Weiterführende Studien an größeren Patientenkohorten müssten bewerten, ob YKL-40 als valider Serummarker für die Diagnostik der CFLD geeignet ist.

4.2 Limitation der Studie

Eine der größten Herausforderungen dieser Studie war die Klassifizierung der Patienten auf Basis der aktuellen diagnostischen Richtlinien (32) . Zwar schlagen die bisher etablierten Diagnoserichtlinien einen sehr ausführlichen Algorithmus vor, dennoch ist die Erfassung von Patienten besonders in frühen Erkrankungsstadien durch die starren Kriterien stark limitiert. In einer früheren Evaluation unserer Arbeitsgruppe an 176

adulten und juvenilen Mukoviszidose-Patienten zeigten wir, dass nur zehn Patienten und zwar erst im Spätstadium der Erkrankung mit klinischer Evidenz einer multilobulären Zirrhose, die Diagnosekriterien (siehe Kapitel 1.6.1) nach Debray et al. erfüllten (97). Ähnliche Ergebnisse beobachteten auch Koh et al., die in einer Follow-up Studie mit 36 adulten Mukoviszidose-Patienten die TE und nicht-invasive Fibrosescores (Abk. APRI (AST-to-platelet ratio index), FIB-4 (Fibrosis-4 index), AAR (AST-to-ALT ratio) in die Diagnosekriterien einschlossen und somit 25 Prozent mehr Patienten mit CFLD registrieren konnten als unter alleiniger Berücksichtigung der propagierten Diagnostikrichtlinien nach Debray et al. (67). Aktuell wird an einer einheitlichen CFLD Definition sowie an Kriterien zur Diagnosestellung gearbeitet (33).

Eine weitere Einschränkung dieser Arbeit ist, dass die erhobenen TE-Messwerte und Serumfibrosemarker nicht mit histopathologischen Befunden verglichen werden konnten. Ein Grund dafür ist vor allem, dass die Leberbiopsie nicht zur Routinediagnostik bei CFLD gehört weswegen bei keinem der untersuchten Patienten unserer Kohorte ein histopathologisches Staging des Lebergewebes vorlag. Zu bedenken war darüber hinaus, dass das mit einer Leberbiopsie verbundene Nutzen-Risiko-Verhältnis bei der hohen Anzahl an pädiatrischen Patienten in Frage gestellt werden musste.

Bei der transienten Elastographie tragen neben einer Reihe von Faktoren wie Aszites, Adipositas oder schmale Interkostalräume, insbesondere auch inflammatorische Prozesse und Infektionen zu einer erhöhten Messfehlerquote bei (130).

Des Weiteren lässt die TE keinen Rückschluss auf die Ätiologie der Hepatopathie zu, was besonders für die Wahl anschließender Diagnostik und Therapie von Bedeutung ist. Um die Diagnosestellung der CFLD zu erleichtern, existieren aktuell keine einheitlichen, zentrumsübergreifenden cut-off Werte oder Untersuchungsanweisungen. Arena et al. propagieren beispielsweise eine 2-3 stündige Fastenperiode vor TE-Messungen, da durch eine erhöhte postprandiale Blutzirkulation die Lebersteifigkeit beeinflusst werden kann (6). Es wäre wünschenswert, diese Faktoren zukünftig in weiteren Studien zu beleuchten um standardisierte Untersuchungsabläufe zu etablieren.

Die in dieser Arbeit erhobenen Serumfibrosemarker sind weder leber- noch erkrankungsspezifisch. Bei Mukoviszidose-Patienten mit moderater bis schwerer respiratorischer Insuffizienz fand sich bspw. eine signifikant erhöhte Serumkonzentration

von YKL-40 und TIMP-1 (104). Zusätzlich scheint das kindliche Wachstum die Expression der TIMPs zu beeinflussen (94). Zwar zeigen die hier erhobenen Serumfibrinogenmarker vielversprechendes Potenzial, um eine CFLD frühzeitig zu diagnostizieren, allerdings müssen gerade wegen des multisystemischen Charakters der Mukoviszidose, Störfaktoren erkannt und ausgeschlossen werden, um den tatsächlichen diagnostischen Nutzen der Serumfibrinogenmarker sowie die verbundenen Mehrkosten zu rechtfertigen.

Die statistische Datenauswertung zur vorliegenden Arbeit wurde aufgrund der niedrigen Fallzahl erschwert. Für die Ergebnisinterpretation der Logistischen Regressionsanalyse ist darauf zu achten, dass eine niedrige Fallzahl die Berechnung der Odds Ratio stark beeinflussen kann und letztlich zur Ableitung falscher Schlussfolgerungen und verzerrten Tendenzen führt. Um ein stabiles Modell zu erhalten, werden pro Modellparameter mindestens zehn Beobachtungen benötigt (13). Für die CFLDinc-Gruppe konnte diese Voraussetzung nicht ganz erfüllt werden. Eine ähnliche Problematik zeigte sich bei der Auswertung der Korrelationsanalyse. Aufgrund der niedrigen Fallzahl war es nicht möglich, eine Berechnung für die CFLDinc- Gruppe durchzuführen. Bei der Interpretation sollte darauf geachtet werden, dass die Korrelation zweier Variablen nichts über deren tatsächliche Ursache-Wirkungs-Beziehung aussagen kann. So ist z.B. eine hohe Korrelation kein Beweis dafür, dass ein direkter ursächlicher Zusammenhang zwischen den Variablen besteht (100).

4.3 Schlussfolgerung und Ausblick

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen, dass durch jährliche TE-Verlaufsmessungen Patienten detektiert werden können, die durch eine Progression der Lebersteifigkeit auffallen. Dieses Erkenntnis ist von besonderer Relevanz, da es sich hierbei vorwiegend um Patienten im Kindes- und Jugendalter handelt bei denen wir ein erhöhtes Risiko für einen fulminanten Krankheitsverlauf vermuten. Darüber hinaus konnten wir zeigen, dass auch Serumfibrinogenmarker zur Diagnostik der CFLD geeignet sind. Besonders hervorzuheben sind an dieser Stelle die Proteine TIMP-1 und TIMP-2, deren Messwerte signifikante Unterschiede zwischen den untersuchten Gruppen ergaben und deren Proteinkonzentrationen die Erkrankungsausprägung widerspiegelte.

Auch wenn die Ergebnisse dieser Arbeit aufgrund der limitierten Probandenzahl nur eingeschränkte Aussagen zulassen, so könnten die evaluierten Proteine wertvolle Marker zur Früh- und Verlaufsdiagnostik der CFLD darstellen, deren Praktikabilität in multizentrischen Studien überprüft werden muss. Bisher wurden in einer Metaanalyse Studienergebnisse zum Einsatz der TE bei CFLD evaluiert und die Kombination aus TE und APRI zur Diagnostik der CFLD hervorgehoben (71). Es sollte weiterhin von besonderem Interesse sein, das Bewusstsein für die CF-assoziierten Erkrankungen wie der CFLD zu schulen. Dafür ist ein internationaler Konsens zu Klassifikations- und Diagnoserichtlinien unerlässlich.

In der Zukunft werden weiterhin Forschungsbestrebungen zu kurativen Therapieansätzen von Bedeutung sein. Bisher hat man mit den CFTR-Modulatoren bereits deutliche Verbesserungen der Lungen- und der exokrinen Pankreasfunktion erreichen können. Diese Medikamente sind allerdings bislang Patienten mit der Mutation G551D und Patienten die homozygot für die Mutation F508Del sind vorbehalten. Die neue Generation an CFTR- Modulatoren wie Tezacaftor konnte in Kombination mit Ivacaftor auch Symptomverbesserungen bei Patienten mit heterozygoter F508Del Mutation erzielen. In klinischen Studien wird zudem eine Triple Therapie aus Ivacaftor und Tezacaftor zusammen mit neuen CFTR Korrektoren und Potenziatoren untersucht (VX-440, VX-152, VX-659) (22). Welche Auswirkungen diese Wirkstoffe auf die CFLD haben können ist bisher nicht bekannt, unter anderem weil Lebererkrankungen zu den Ausschlusskriterien der Studien zählen (33). Ein anderer Forschungsansatz liegt in der Inhibition des ENaC. Ein Funktionsverlust des CFTR resultiert in einer unzureichenden Inhibition des ENaC mit folglich erhöhten intrazellulären Transport von Natrium und Wasser. Dies führt zur Dehydratation der ASL. Ein Therapieansatz zur Inhibition des ENaC wäre für alle CFTR-Mutationen zugänglich da die Wirkung unabhängig vom CFTR Defekt ist. Aktuell gehen ENaC-Inhibitoren in Phase-2 Studien. Die erste Generation zeigte bislang nur einen unzureichenden Effekt auf die Lungenfunktion (57, 118).

Zuletzt ist die Gentherapie und Genkorrektur von Forschungsinteresse. Eine kurative Therapie könnte unabhängig vom CFTR-Genotyp etabliert werden. Zwischenergebnisse zu Phase-1/2-Studien zum mRNA Inhalativum MRT5005 zeigen erste vielversprechende Ergebnisse zur Verbesserung der Lungenfunktion (56).

Um die Auswirkungen dieser Therapiemöglichkeiten auf die CFLD untersuchen zu können, wären sensitive Verlaufparameter notwendig. Die Kombination aus transientser hepatischer Elastographie sowie Serumfibrosemarkern könnte als Follow-up Instrument genutzt werden.

4.4 Zusammenfassung:

Einleitung: Die Cystische Fibrose ist mit einer Inzidenz von 1:2.500 die häufigste autosomal-rezessiv vererbte Stoffwechselerkrankung in der kaukasischen Bevölkerung. Etwa ein Drittel der erkrankten Patienten entwickeln eine CF-Hepatopathie (englisch: Cystic fibrosis liver disease, CFLD) wobei sich bei fünf bis zehn Prozent innerhalb der ersten Lebensdekade eine multilobuläre Zirrhose manifestiert. Nicht-invasive Parameter für die routinemäßige Diagnostik der CFLD finden bisher keinen Einzug in den diagnostischen Algorithmus. Ziel dieser Arbeit war die Langzeitevaluation nicht-invasiver Serumfibrosemarker und der TE um Risikopatienten für die Entwicklung einer CFLD frühzeitig zu detektieren.

Material und Methoden: Das untersuchte Kollektiv umfasste 37 Patienten, 12 Erwachsene und 25 Kinder und Jugendliche welche sich über einen Mindestzeitraum von drei Jahren TE-Messungen und zwei Serumentnahmen unterzogen. Anhand der durch TE ermittelten Lebersteifigkeit und klinischen Befunde wurde das Kollektiv in drei Gruppen stratifiziert. Mukoviszidosepatienten ohne Leberbeteiligung (noCFLD), Patienten mit Leberbeteiligung (CFLD) und Patienten bei denen ein durchschnittlicher Anstieg der TE-Werte um $>0,38\text{kPa/a}$ auffiel (CFLDinc.). Anschließend erfolgte die Untersuchung der Serumfibrosemarker TIMP-1, -2, -4, Endoglin und YKL-40 mittels ELISA. Die Datenauswertung umfasste eine Varianzanalyse mit Messwiederholungen um die Mittelwerte innerhalb und zwischen den Gruppen zu vergleichen.

Ergebnisse: Zur Basis-Messung lagen die gemessenen TE-Werte in allen drei Gruppen in einem Intervall von 4,2-4,7kPa. Ab dem dritten Messzeitpunkt ergaben sich signifikante Mittelwertunterschiede in der CFLDinc. Gruppe oberhalb des Cut-offs von 6,3 kPa im Vergleich zu den Gruppen noCFLD und CFLD.

Des Weiteren sahen wir zur Basis-Messung eine signifikant höhere Expression von TIMP-1 und -2 im Serum der CFLDinc. Gruppe im Vergleich zu Patienten der noCFLD-

und CFLD-Gruppe. Für TIMP-1 konnte zudem ein signifikanter Unterschied zwischen Patienten der noCFLD und CFLD Gruppe elaboriert werden.

Schlussfolgerung: Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen, dass durch jährliche TE-Messungen Patienten detektiert werden können, die durch eine Progression der Lebersteifigkeit auffallen. Darüber hinaus konnten wir zeigen, dass auch Serumfibrosemarker das potenzielle Erkrankungsausmaß widerspiegeln und folglich als diagnostische Verlaufparameter geeignet sind. Vielversprechend scheinen hier besonders TIMP-1 und TIMP-2 zu sein.

Summary:

Introduction: Occurring in one out of every 2,500 Caucasians, Cystic Fibrosis is the most autosomal-recessive inherited metabolic disease. Approximately one third of patients with Cystic Fibrosis develop an associated liver disease (CFLD) from which five to ten *per cent* suffer from a multilobular cirrhosis in their first decade of life. Non-invasive parameters for the routine diagnostic of CFLD remain thus far not recognized in the diagnostic algorithm. The aim of this thesis was to study the long-term evaluation of serum fibrosis markers and TE for the detection of patients at risk for the development of CFLD.

Materials and methods: We studied a cohort of 37 patients, 12 adults and 25 children/adolescents who underwent TE measurements over a time period of at least three years and had no less than two blood samples taken. According to the TE results and clinical findings three groups were categorized: (i) CF-patients without liver disease (noCFLD); (ii) patients with liver disease (CFLD); and (iii) patients who showed an average increase of liver stiffness of $>0,38\text{kPa/a}$ (CFLDinc.). Subsequently, we measured the following serum markers of fibrosis: TIMP-1, -2, -4, Endoglin, and YKL-40 by ELISA. An analysis of variances was performed to compare the means within and between the groups.

Results: Baseline TE values for all three groups were in a range between 4.2-4.7 kPa. When accessing the third measurement point we saw a significant difference of liver stiffness in the CFLDinc. group above the cut-off of 6.3 kPa in comparison to the noCFLD and CFLD group. Additionally, there was a higher serum expression of TIMP-

1 and TIMP-2 in CFLDinc. patients in comparison to the noCFLD and CFLD group. TIMP-1 serum expression also showed a significant difference between the noCFLD and CFLD group.

Conclusion: The present results illustrate that with yearly follow-up TE measurements it is possible to detect patients with a progression of liver stiffness. Furthermore, our results suggest that serum markers of fibrosis, remarkable TIMP-1 and TIMP-2, can reflect the possible degree of disease and therefor are suitable as diagnostic parameters.

5 Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Ausgeschriebenes Wort
AAR	AST-to-ALT ratio
ANOVA	Analysis of Variance
AP	Alkalische Phosphatase
APRI	Aminotransferase to platelet ratio index
ARFI	Acoustic Radiation Force Impulse
ASL	Airway surface liquide
α SMA	Alpha smooth muscle actin
ATP	Adenosintriphosphat
cAMP	Cyclisches Adenosinmonophosphat
CaCC	Calcium activated Chlorid Channel
CF	Cystic Fibrosis, Cystische Fibrose
CFLD	Cystic Fibrosis liver disease
noCFLD	No Cystic Fibrosis liver disease
CFLDinc	Cystic Fibrosis liver disease increase, (increase (Engl.), Anstieg) CFLD
CFTR	Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator
CT	Computertomographie
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
ENaC	Epithelial Na Channel
ERCP	Endoskopisch retrograde Cholangiopankreatikographie
ER	Endoplasmatisches Retikulum
EZM	Extrazelluläre Matrix
EZR	Extrazellularraum
ff	fortfolgende
FIB-4	Fibrosis-4 Index
FXR	Farnesoid X-Rezeptor
γ GT	Gamma-Glutamyltransferase
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
HCC	Hepatocellular carcinoma, Hepatozelluläres Karzinom
HHT I	Hereditäre hämorrhagische Teleangiektasie I
HRP	Horseradisch peroxidase
ICM	Intestinal current measurement

IL-6	Interleukin 6
IQR	Interquartile Range
IRT	Immunreaktives Trypsin
kPa	Kilopascal
MAP	Mitogen-activated protein kinase
mHAI	Modifizierter Hepatitis-Aktivitäts-Index
MMP	Matrixmetalloproteinasen
MRCP	Magnetresonanz-Cholangiopankreatikographie
MRE	Magnetresonanz Elastographie
MRT	Magnetresonanztomographie
MW	Mittelwert
NASH	Nicht-alkoholische Steatohepatitis
NCPH	Non cirrhotic portal hypertension
NorUDCA	Norursodeoxycholsäure
NPD	Nasale Potentialdifferenzmessung
ORCC	Outwardly rectifying chlorid channel
OR	Odds ratio
PAP	Pankreatitis-assoziiertes Protein
PBC	Primär Biliäre Cholangitis
PCL	Peri-Ciliary Layer
PDGF	Platelet Derived Growth Factor
PPAR γ	Peroxisom-Proliferator-aktivierter Rezeptor
pSWE	Point shear wave elastography
ROMK	Renal outer medullary potassium channel
RTE	Real-time tissue elastography
SD	Standard deviation
SE	Strain elastography
TE	Transiente Elastographie
TGF β	Transforming Growth Factor β
TIMP	Tissue Inhibitors of Matrix Metalloproteases
TIPS	Transjugulärer intrahepatischer portosystemischer Shunt
TNF α	Tumornekrosefaktor α
UDCA	Ursodeoxycholsäure
UKGM	Universitätsklinikum Gießen und Marburg
UpM	Umdrehungen pro Minute
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
YKL-40	Humanes Cartilageprotein

6 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 - Fibroscan®502.....	19
Abbildung 2 - M-Sonde.....	19
Abbildung 3 - zeigt das Erfassungsfenster des Fibroscan®502.....	20
Abbildung 4 - Flussdiagramm zur Evaluation der Patientenkohorte	30
Abbildung 5 - Graphische Darstellung der TE-Messwerte über fünf Jahre für die Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc.	34
Abbildung 6) Graphische Darstellung der TIMP-1 Serumexpression für die Gruppen noCFLD, CFLD, CFLDinc. zur Baseline und Follow-up Messung	38
Abbildung 7 - Graphische Darstellung der TIMP-2 Serumexpression für die Gruppen noCFLD, CFLD, CFLDinc. zur Baseline und Follow-up Messung	40
Abbildung 8 - Graphische Darstellung der TIMP-4 Serumexpression für die Gruppen noCFLD, CFLD, CFLDinc. zur Baseline und Follow-up Messung	41
Abbildung 9 - Graphische Darstellung der Endoglin (CD105) Serumexpression für die Gruppen noCFLD, CFLD, CFLDinc. zur Baseline und Follow-up Messung	43
Abbildung 10 - Graphische Darstellung der YKL-40 (Chitinase 3-like-1) Serumexpression für die Gruppen noCFLD, CFLD, CFLDinc. zur Baseline und Follow-up Messung.....	45
Abbildung 11 - Graphische Darstellung der γ GT Serumexpression für die Gruppen noCFLD, CFLD, CFLDinc. zur Baseline und Follow-up Messung	48
Abbildung 12 - Graphische Darstellung der GOT Serumexpression für die Gruppen noCFLD, CFLD, CFLDinc. zur Baseline und Follow-up Messung	50
Abbildung 13 - Graphische Darstellung der GPT Serumexpression für die Gruppen noCFLD, CFLD, CFLDinc. zur Baseline und Follow-up Messung	52
Abbildung 14 - Graphische Darstellung der AP Serumexpression für die Gruppen noCFLD, CFLD, CFLDinc. zur Baseline und Follow-up Messung	54
Abbildung 15 - Graphische Darstellung der Bilirubin Serumexpression für die Gruppen noCFLD, CFLD, CFLDinc. zur Baseline und Follow-up Messung.	56
Abbildung 16 - Korrelationstabelle der noCFLD-Gruppe	58
Abbildung 17 - Korrelationstabelle der CFLD-Gruppe	59
Abbildung 18 - Graphische Darstellung der Logit-Regression für die Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc.....	61
Abbildung 19) Graphische Darstellung der Logit-Regression der Variable TIMP-1 für die Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc.	98
Abbildung 20) Graphische Darstellung der Logit-Regression der Variable TIMP-2 für die Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc.	99
Abbildung 21) Graphische Darstellung der Logit-Regression der Variable TIMP-4 für die Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc.	100
Abbildung 22) Graphische Darstellung der Logit-Regression der Variable Endoglin für die Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc.	101

Abbildung 23) Graphische Darstellung der Logit-Regression der Variable YKL-40 für die Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc.	102
Abbildung 24) Graphische Darstellung der Logit-Regression der Variable γ GT für die Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc.	103
Abbildung 25) Graphische Darstellung der Logit-Regression der Variable GOT für die Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc.	104
Abbildung 26) Graphische Darstellung der Logit-Regression der Variable GPT für die Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc.	105
Abbildung 27) Graphische Darstellung der Logit-Regression der Variable ALP für die Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc.	106
Abbildung 28) Graphische Darstellung der Logit-Regression der Variable Bilirubin für die Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc.	107

7 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 – <i>Informationen zu den verschiedenen Sonden des Fibroscan[®]502</i>	19
.....	
Tabelle 2 – <i>Angabe der Serummengen mit Verdünnungen für die Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA)</i>	24
.....	
Tabelle 3 – <i>Angabe der geschlechterspezifischen Reflotron[®]-Referenzbereiche</i>	26
.....	
Tabelle 4 – <i>Übersicht der demographischen und klinischen Daten des Patientenkollektiv</i>	31
.....	
Tabelle 5 – <i>TE-Messwerte im Verlauf über fünf Jahre für die Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc.</i>	32
.....	
Tabelle 6 – <i>TE-Messwerte im Gruppenvergleich</i>	35
.....	
Tabelle 7 – <i>Serumexpression von TIMP-1,-2,-4; Endoglin (CD1005) und YKL-40 zur Baseline und Follow-up Messung</i>	37
.....	
Tabelle 8 – <i>Paarweiser Mittelwertvergleich der TIMP-1 Serumexpression</i>	39
.....	
Tabelle 9 – <i>Paarweiser Mittelwertvergleich der TIMP-2 Serumexpression</i>	40
.....	
Tabelle 10 – <i>Paarweiser Mittelwertvergleich der TIMP-4 Serumexpression</i>	42
.....	
Tabelle 11 – <i>Paarweiser Mittelwertvergleich der Endoglin Serumexpression</i>	44
.....	
Tabelle 12 – <i>Paarweiser Mittelwertvergleich der YKL-40 Serumexpression</i>	46
.....	
Tabelle 13 – <i>Serumexpression der Routinelaborparameter (GOT, GPT, γGT, AP und Bilirubin) zur Baseline und Follow-up Messung für die Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc.</i>	47
.....	
Tabelle 14 – <i>Paarweiser Mittelwertvergleich der γGT Serumexpression</i>	49
.....	

Tabelle 15 – <i>Paarweiser Mittelwertvergleich der GOT Serumexpression</i>	51
Tabelle 16 – <i>Paarweiser Mittelwertvergleich der GPT Serumexpression</i>	53
Tabelle 17 – <i>Paarweiser Mittelwertvergleich der AP Serumexpression</i>	55
Tabelle 18 – <i>Paarweiser Mittelwertvergleich der Bilirubin Serumexpression</i>	57

8 Literaturverzeichnis

1. Adams LA, Bulsara M, Rossi E, DeBoer B, Speers D, George J, Kench J, Farrell G, McCaughan GW, Jeffrey GP (2005) Hepascore: an accurate validated predictor of liver fibrosis in chronic hepatitis C infection. *Clinical chemistry*.51(10):1867-73.
2. Alsamman M, Sterzer V, Meurer SK, Sahin H, Schaeper U, Kuscuoglu D, Strnad P, Weiskirchen R, Trautwein C, Scholten D (2018) Endoglin in human liver disease and murine models of liver fibrosis-A protective factor against liver fibrosis. *Liver Int*.38(5):858-67.
3. Andersen DH (1938) CYSTIC FIBROSIS OF THE PANCREAS AND ITS RELATION TO CELIAC DISEASE: A CLINICAL AND PATHOLOGIC STUDY. *Am J Dis Child*.56(2):344-99.
4. Aqul A, Jonas MM, Harney S, Raza R, Sawicki GS, Mitchell PD, Fawaz R (2017) Correlation of Transient Elastography With Severity of Cystic Fibrosis-related Liver Disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*.64(4):505-11.
5. Arastéh K, Baenkler H, Bieber C (2012) F 1.11 Leberzirrhose In: *Duale Reihe Innere Medizin* pp. 621-34, Georg Thieme Verlag, Stuttgart
6. Arena U, Lupsor Platon M, Stasi C, Moscarella S, Assarat A, Bedogni G, Piazzolla V, Badea R, Laffi G, Marra F, Mangia A, Pinzani M (2013) Liver stiffness is influenced by a standardized meal in patients with chronic hepatitis C virus at different stages of fibrotic evolution. *Hepatology*.58(1):65-72.
7. Arpino V, Brock M, Gill SE (2015) The role of TIMPs in regulation of extracellular matrix proteolysis. *Matrix Biol*.44-46:247-54.
8. Ballmann M, Lindemann H (2004) *Mukoviszidose. Zystische Fibrose*, Thieme.
9. Baranova A, Lal P, Binerdinc A, Younossi ZM (2011) Non-invasive markers for hepatic fibrosis. *BMC Gastroenterol*.11:91.
10. Bartlett JR, Friedman KJ, Ling SC, Pace RG, Bell SC, Bourke B, Castaldo G, Castellani C, Cipolli M, Colombo C, Colombo JL, Debray D, Fernandez A, Lacaille F, Macek M, Jr., Rowland M, Salvatore F, Taylor CJ, Wainwright C, Wilschanski M, Zemkova D, Hannah WB, Phillips MJ, Corey M, Zielenski J, Dorfman R, Wang Y, Zou F, Silverman LM, Drumm ML, Wright FA, Lange EM, Durie PR, Knowles MR, Gene Modifier Study G (2009) Genetic modifiers of liver disease in cystic fibrosis. *Jama*.302(10):1076-83.
11. Batts KP, Ludwig J (1995) Chronic hepatitis. An update on terminology and reporting. *Am J Surg Pathol*.19(12):1409-17.
12. Bedossa P, Poynard T (1996) An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. The METAVIR Cooperative Study Group. *Hepatology*.24(2):289-93.

13. Bender R, Ziegler A, Lange S (2007) [Logistic regression]. Dtsch Med Wochenschr.132 Suppl 1:e33-5.
14. Bender R, Ziegler A, Lange S (2007) Logistische Regression. DMW-Deutsche Medizinische Wochenschrift.132(S 01):e33-e5.
15. Beuers U, Trauner M, Jansen P, Poupon R (2015) New paradigms in the treatment of hepatic cholestasis: from UDCA to FXR, PXR and beyond. Journal of hepatology.62(1 Suppl):S25-37.
16. Bodewes FA, van der Wulp MY, Beharry S, Doktorova M, Havinga R, Boverhof R, James Phillips M, Durie PR, Verkade HJ (2015) Altered intestinal bile salt biotransformation in a cystic fibrosis (Cftr^{-/-}) mouse model with hepato-biliary pathology. J Cyst Fibros.14(4):440-6.
17. Bravo AA, Sheth SG, Chopra S (2001) Liver biopsy. The New England journal of medicine.344(7):495-500.
18. Brennan ML, Schrijver I (2016) Cystic Fibrosis: A Review of Associated Phenotypes, Use of Molecular Diagnostic Approaches, Genetic Characteristics, Progress, and Dilemmas. J Mol Diagn.18(1):3-14.
19. Brew K, Nagase H (2010) The tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs): an ancient family with structural and functional diversity. Biochimica et biophysica acta.1803(1):55-71.
20. Bundesausschuss G (2015) Tragende Gründe. zum Beschluss des Gemeinsamen Bundesausschusses über eine Änderung des Beschlusses zur Neufassung der Richtlinie über die Früherkennung von Krankheiten bei Kindern bis zur Vollendung des 6. Lebensjahres (Kinder-Richtlinie): Screening auf Mukoviszidose (Zystische Fibrose) Gemeinsamer Bundesausschuss.
21. Castellani C, Assael BM (2017) Cystic fibrosis: a clinical view. Cellular and molecular life sciences : CMLS.74(1):129-40.
22. Chaudary N (2018) Triplet CFTR modulators: future prospects for treatment of cystic fibrosis. Ther Clin Risk Manag.14:2375-83.
23. Cheng K, Ashby D, Smyth RL (2014) Ursodeoxycholic acid for cystic fibrosis-related liver disease. The Cochrane database of systematic reviews. (12):CD000222.
24. Christian P, Strassburg S, Andreas G, Gotthardt D, Klein R, Melter M, Schott E, Spengler U, Tacke F, Trauner M, Weiler-Normann C, Weismüller TJ, Tannapfel A, Tischendorf JJ, Schramm C (2017) S2k Leitlinie Autoimmune Lebererkrankungen. Zeitschrift für Gastroenterologie.55(11):1135-226.
25. Ciuca IM, Pop L, Tamas L, Taban S (2014) Cystic fibrosis liver disease - from diagnosis to risk factors. Rom J Morphol Embryol.55(1):91-5.

26. Clemente M, Nunez O, Lorente R, Rincon D, Matilla A, Salcedo M, Catalina MV, Ripoll C, Iacono OL, Banares R, Clemente G, Garcia-Monzon C (2006) Increased intrahepatic and circulating levels of endoglin, a TGF-beta1 co-receptor, in patients with chronic hepatitis C virus infection: relationship to histological and serum markers of hepatic fibrosis. *J Viral Hepat.*13(9):625-32.
27. Cohn JA, Strong TV, Picciotto MR, Nairn AC, Collins FS, Fitz JG (1993) Localization of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator in human bile duct epithelial cells. *Gastroenterology.*105(6):1857-64.
28. Colombo C (2007) Liver disease in cystic fibrosis. *Curr Opin Pulm Med.*13(6):529-36.
29. Das SK, Vasudevan DM (2008) Genesis of hepatic fibrosis and its biochemical markers. *Scand J Clin Lab Invest.*68(4):260-9.
30. De Boeck K, Wilschanski M, Castellani C, Taylor C, Cuppens H, Dodge J, Sinaasappel M, Diagnostic Working G (2006) Cystic fibrosis: terminology and diagnostic algorithms. *Thorax.*61(7):627-35.
31. de Ledinghen V, Vergniol J (2008) Transient elastography (FibroScan). *Gastroenterol Clin Biol.*32(6 Suppl 1):58-67.
32. Debray D, Kelly D, Houwen R, Strandvik B, Colombo C (2011) Best practice guidance for the diagnosis and management of cystic fibrosis-associated liver disease. *J Cyst Fibros.*10 Suppl 2:S29-36.
33. Debray D, Narkewicz MR, Bodewes F, Colombo C, Housset C, de Jonge HR, Jonker JW, Kelly DA, Ling SC, Poynard T, Sogni P, Trauner M, Witters P, Baumann U, Wilschanski M, Verkade HJ (2017) Cystic Fibrosis-related Liver Disease: Research Challenges and Future Perspectives. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.*65(4):443-8.
34. Dietrich CF, Bamber J, Berzigotti A, Bota S, Cantisani V, Castera L, Cosgrove D, Ferraioli G, Friedrich-Rust M, Gilja OH, Goertz RS, Karlas T, de Knegt R, de Ledinghen V, Piscaglia F, Procopet B, Saftoiu A, Sidhu PS, Sporea I, Thiele M (2017) EFSUMB Guidelines and Recommendations on the Clinical Use of Liver Ultrasound Elastography, Update 2017 (Long Version). *Ultraschall Med.*38(4):e16-e47.
35. Dooley S, ten Dijke P (2012) TGF-beta in progression of liver disease. *Cell Tissue Res.*347(1):245-56.
36. Efrati O, Barak A, Modan-Moses D, Augarten A, Viložni D, Katznelson D, Szeinberg A, Yahav J, Bujanover Y (2003) Liver cirrhosis and portal hypertension in cystic fibrosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol.*15(10):1073-8.
37. Engelmann G, Quader J, Teufel U, Schenk JP (2017) Limitations and opportunities of non-invasive liver stiffness measurement in children. *World J Hepatol.*9(8):409-17.
38. Fanconi G, Uehlinger E, Knauer C (1936) Das Coeliakiesyndrom bei angeborener zystischer Pankreasfibromatose und Bronchiektasien. *Wien Med Wochenschr.*86:753-6.

39. Feranchak AP, Sokol RJ (2001) Cholangiocyte biology and cystic fibrosis liver disease. *Semin Liver Dis.*21(4):471-88.
40. Ferkol T, Rosenfeld M, Milla CE (2006) Cystic fibrosis pulmonary exacerbations. *The Journal of pediatrics.*148(2):259-64.
41. Field A (2013) *Discovering statistics using IBM SPSS statistics*, sage.
42. Finnson KW, Philip A (2012) Endoglin in liver fibrosis. *J Cell Commun Signal.*6(1):1-4.
43. Flass T, Narkewicz MR (2013) Cirrhosis and other liver disease in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros.*12(2):116-24.
44. Flass T, Tong S, Frank DN, Wagner BD, Robertson CE, Kotter CV, Sokol RJ, Zemanick E, Accurso F, Hoffenberg EJ, Narkewicz MR (2015) Intestinal lesions are associated with altered intestinal microbiome and are more frequent in children and young adults with cystic fibrosis and cirrhosis. *PloS one.*10(2):e0116967.
45. Forns X, Ampurdanes S, Llovet JM, Aponte J, Quinto L, Martinez-Bauer E, Bruguera M, Sanchez-Tapias JM, Rodes J (2002) Identification of chronic hepatitis C patients without hepatic fibrosis by a simple predictive model. *Hepatology.*36(4 Pt 1):986-92.
46. Fraquelli M, Rigamonti C, Casazza G, Conte D, Donato MF, Ronchi G, Colombo M (2007) Reproducibility of transient elastography in the evaluation of liver fibrosis in patients with chronic liver disease. *Gut.*56(7):968-73.
47. Friedrich-Rust M, Schlueter N, Smaczny C, Eickmeier O, Rosewich M, Feifel K, Herrmann E, Poynard T, Gleiber W, Lais C, Zielen S, Wagner TO, Zeuzem S, Bojunga J (2013) Non-invasive measurement of liver and pancreas fibrosis in patients with cystic fibrosis. *J Cyst Fibros.*12(5):431-9.
48. Friedrich-Rust M, Wunder K, Kriener S, Sotoudeh F, Richter S, Bojunga J, Herrmann E, Poynard T, Dietrich CF, Vermehren J, Zeuzem S, Sarrazin C (2009) Liver fibrosis in viral hepatitis: noninvasive assessment with acoustic radiation force impulse imaging versus transient elastography. *Radiology.*252(2):595-604.
49. Geddes DM (1992) Cystic fibrosis and pregnancy. *J R Soc Med.*85 Suppl 19:36-7.
50. Gibson LE, Cooke RE (1959) A test for concentration of electrolytes in sweat in cystic fibrosis of the pancreas utilizing pilocarpine by iontophoresis. *Pediatrics.*23(3):545-9.
51. Gominon AL, Frison E, Hiriart JB, Vergniol J, Clouzeau H, Enaud R, Bui S, Fayon M, de Ledinghen V, Lamireau T (2018) Assessment of Liver Disease Progression in Cystic Fibrosis Using Transient Elastography. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.*66(3):455-60.

52. Goralski JL, Boucher RC, Button B (2010) Osmolytes and ion transport modulators: new strategies for airway surface rehydration. *Current opinion in pharmacology*.10(3):294-9.
53. Halilbasic E, Steinacher D, Trauner M (2017) Nor-Ursodeoxycholic Acid as a Novel Therapeutic Approach for Cholestatic and Metabolic Liver Diseases. *Dig Dis*.35(3):288-92.
54. Hayes D, Jr., Krishnamurthy R, Hu HH (2018) Magnetic resonance elastography demonstrates elevated liver stiffness in cystic fibrosis patients. *J Cyst Fibros*.17(6):e54-e6.
55. Hayes D, Jr., Warren PS, McCoy KS, Sheikh SI (2015) Improvement of hepatic steatosis in cystic fibrosis with ivacaftor therapy. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*.60(5):578-9.
56. Heidenreich K-R (2019) Translate Bio platzt mit Zwischenergebnissen zum mRNA-Inhalatium MRT5005 heraus from: <https://www.dcfh.de/translate-bio-platzt-mit-zwischenergebnissen-zum-mrna-inhalatium-mrt5005-heraus/>.
57. Heidenreich K-R (2019) USA: Boehringer Ingelheim geht mit ENaC-Inhibitor BI 1265162 in Phase 2. .
58. Hemmann S, Graf J, Roderfeld M, Roeb E (2007) Expression of MMPs and TIMPs in liver fibrosis - a systematic review with special emphasis on anti-fibrotic strategies. *Journal of hepatology*.46(5):955-75.
59. Herrmann U, Dockter G, Lammert F (2010) Cystic fibrosis-associated liver disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*.24(5):585-92.
60. Houwen RH, van der Doef HP, Sermet I, Munck A, Hauser B, Walkowiak J, Robberecht E, Colombo C, Sinaasappel M, Wilschanski M, Group ECFW (2010) Defining DIOS and constipation in cystic fibrosis with a multicentre study on the incidence, characteristics, and treatment of DIOS. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*.50(1):38-42.
61. Johansen JS, Jensen BV, Roslind A, Nielsen D, Price PA (2006) Serum YKL-40, a new prognostic biomarker in cancer patients? *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*.15(2):194-202.
62. Kaplan E, Shwachman H, Perlmutter AD, Rule A, Khaw KT, Holsclaw DS (1968) Reproductive failure in males with cystic fibrosis. *The New England journal of medicine*.279(2):65-9.
63. Karlas T, Neuschulz M, Oltmanns A, Wirtz H, Keim V, Wiegand J (2013) ARFI and transient elastography for characterization of cystic fibrosis related liver disease: first longitudinal follow-up data in adult patients. *J Cyst Fibros*.12(6):826-7.
64. Klotter V, Gunchick C, Siemers E, Rath T, Hudel H, Naehrlich L, Roderfeld M, Roeb E (2017) Assessment of pathologic increase in liver stiffness enables earlier

diagnosis of CFLD: Results from a prospective longitudinal cohort study. *PLoS one*.12(6):e0178784.

65. Knittel T, Saile B, Ramadori G (1998) [Fibrogenesis. Pathophysiology and therapeutic approaches]. *Internist (Berl)*.39(3):238-46.

66. Kobelska-Dubiel N, Klincewicz B, Cichy W (2014) Liver disease in cystic fibrosis. *Prz Gastroenterol*.9(3):136-41.

67. Koh C, Sakiani S, Surana P, Zhao X, Eccleston J, Kleiner DE, Herion D, Liang TJ, Hoofnagle JH, Chernick M, Heller T (2017) Adult-onset cystic fibrosis liver disease: Diagnosis and characterization of an underappreciated entity. *Hepatology*.66(2):591-601.

68. Kowdley KV (2000) Ursodeoxycholic acid therapy in hepatobiliary disease. *Am J Med*.108(6):481-6.

69. Kumagai E, Mano Y, Yoshio S, Shoji H, Sugiyama M, Korenaga M, Ishida T, Arai T, Itokawa N, Atsukawa M, Hyogo H, Chayama K, Ohashi T, Ito K, Yoneda M, Kawaguchi T, Torimura T, Nozaki Y, Watanabe S, Mizokami M, Kanto T (2016) Serum YKL-40 as a marker of liver fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Scientific reports*.6:35282.

70. Kuntz E, Kuntz H-D (2006) *Hepatology, Principles and practice: history, morphology, biochemistry, diagnostics, clinic, therapy*, Springer Science & Business Media.

71. Lam S, Nettel-Aguirre A, Van Biervliet S, Roeb E, Sadler MD, Friedrich-Rust M, Karlas T, Kitson MT, deBruyn JCC (2019) Transient Elastography in the Evaluation of Cystic Fibrosis-Associated Liver Disease: Systematic Review and Meta-analysis. *J Can Assoc Gastroenterol*.2(2):71-80.

72. Lebensztejn DM, Skiba E, Werpachowska I, Sobaniec-Lotowska ME, Kaczmarek M (2007) Serum level of YKL-40 does not predict advanced liver fibrosis in children with chronic hepatitis B. *Adv Med Sci*.52:120-4.

73. Lewindon PJ, Pereira TN, Hoskins AC, Bridle KR, Williamson RM, Shepherd RW, Ramm GA (2002) The role of hepatic stellate cells and transforming growth factor-beta(1) in cystic fibrosis liver disease. *The American journal of pathology*.160(5):1705-15.

74. Lewindon PJ, Shepherd RW, Walsh MJ, Greer RM, Williamson R, Pereira TN, Frawley K, Bell SC, Smith JL, Ramm GA (2011) Importance of hepatic fibrosis in cystic fibrosis and the predictive value of liver biopsy. *Hepatology*.53(1):193-201.

75. Lindblad A, Glaumann H, Strandvik B (1999) Natural history of liver disease in cystic fibrosis. *Hepatology*.30(5):1151-8.

76. Lörke J, Erhardt A, Vogt C, Häussinger D (2007) Nicht invasive Diagnostik der Leberzirrhose. *Dtsch Arztebl International*.104(24):1752-.

77. Malbrunot-Wagner AC, Bridoux L, Nousbaum JB, Riou C, Dirou A, Ginies JL, Maurage C, Cagnard B, Pelatan C, Dabadie A (2011) Transient elastography and portal hypertension in pediatric patients with cystic fibrosis Transient elastography and cystic fibrosis. *J Cyst Fibros.*10(5):338-42.
78. Maqbool A, Pauwels A (2017) Cystic Fibrosis and gastroesophageal reflux disease. *J Cyst Fibros.*16 Suppl 2:S2-S13.
79. May CD, Lowe CU (1949) Fibrosis of the pancreas in infants and children; an illustrated review of certain clinical features with special emphasis on the pulmonary and cardiac aspects. *The Journal of pediatrics.*34(6):663-87.
80. Melendez-Zajgla J, Del Pozo L, Ceballos G, Maldonado V (2008) Tissue inhibitor of metalloproteinases-4. The road less traveled. *Mol Cancer.*7:85.
81. Menten R, Leonard A, Clapuyt P, Vincke P, Nicolae AC, Lebecque P (2010) Transient elastography in patients with cystic fibrosis. *Pediatr Radiol.*40(7):1231-5.
82. Meurer SK, Alsamman M, Scholten D, Weiskirchen R (2014) Endoglin in liver fibrogenesis: Bridging basic science and clinical practice. *World J Biol Chem.*5(2):180-203.
83. Meurer SK, Tihaa L, Borkham-Kamphorst E, Weiskirchen R (2011) Expression and functional analysis of endoglin in isolated liver cells and its involvement in fibrogenic Smad signalling. *Cell Signal.*23(4):683-99.
84. Morikawa H, Fukuda K, Kobayashi S, Fujii H, Iwai S, Enomoto M, Tamori A, Sakaguchi H, Kawada N (2011) Real-time tissue elastography as a tool for the noninvasive assessment of liver stiffness in patients with chronic hepatitis C. *J Gastroenterol.*46(3):350-8.
85. Mueller-Abt PR, Frawley KJ, Greer RM, Lewindon PJ (2008) Comparison of ultrasound and biopsy findings in children with cystic fibrosis related liver disease. *J Cyst Fibros.*7(3):215-21.
86. Murphy G (2011) Tissue inhibitors of metalloproteinases. *Genome biology.*12(11):233.
87. Nadler EP, Li X, Onyedika E, Greco MA (2010) Differential expression of hepatic fibrosis mediators in sick and spontaneously recovered mice with experimental biliary atresia. *J Surg Res.*159(2):611-7.
88. Naehrlich L, Stuhmann-Spangenberg M, Barben J (2013) S2-Konsensus-Leitlinie "Diagnose der Mukoviszidose" (AWMF 026-023) unter Federführung der Gesellschaft für Pädiatrische Pneumologie. (026):1-28.
89. Nevens F, Andreone P, Mazzella G, Strasser SI, Bowlus C, Invernizzi P, Drenth JP, Pockros PJ, Regula J, Beuers U, Trauner M, Jones DE, Floreani A, Hohenester S, Luketic V, Shiffman M, van Erpecum KJ, Vargas V, Vincent C, Hirschfield GM, Shah

H, Hansen B, Lindor KD, Marschall HU, Kowdley KV, Hooshmand-Rad R, Marmon T, Sheeron S, Pencek R, MacConell L, Pruzanski M, Shapiro D, Group PS (2016) A Placebo-Controlled Trial of Obeticholic Acid in Primary Biliary Cholangitis. *The New England journal of medicine*.375(7):631-43.

90. O'Donnell DH, Ryan R, Hayes B, Fennelly D, Gibney RG (2009) Hepatocellular carcinoma complicating cystic fibrosis related liver disease. *J Cyst Fibros*.8(4):288-90.

91. O'Shea D, O'Connell J (2014) Cystic fibrosis related diabetes. *Curr Diab Rep*.14(8):511.

92. O'Sullivan BP, Freedman SD (2009) Cystic fibrosis. *Lancet*.373(9678):1891-904.

93. Parkins MD, Floto RA (2015) Emerging bacterial pathogens and changing concepts of bacterial pathogenesis in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros*.14(3):293-304.

94. Pereira TN, Lewindon PJ, Smith JL, Murphy TL, Lincoln DJ, Shepherd RW, Ramm GA (2004) Serum markers of hepatic fibrogenesis in cystic fibrosis liver disease. *Journal of hepatology*.41(4):576-83.

95. Pizano-Martinez O, Yanez-Sanchez I, Alatorre-Carranza P, Miranda-Diaz A, Ortiz-Lazareno PC, Garcia-Iglesias T, Daneri-Navarro A, Vazquez-Del Mercado M, Fafutis-Morris M, Delgado-Rizo V (2011) YKL-40 expression in CD14(+) liver cells in acute and chronic injury. *World J Gastroenterol*.17(33):3830-5.

96. Poulsen JH, Fischer H, Illek B, Machen TE (1994) Bicarbonate conductance and pH regulatory capability of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*.91(12):5340-4.

97. Radke C, Siemers E, Roderfeld M, Rath T, Roeb E (2014) Detektion einer Leberbeteiligung bei Mukoviszidose–Bestehende Richtlinien im Vergleich mit der transienten hepatischen Elastografie. *Zeitschrift für Gastroenterologie*.52(08):KG122.

98. Ramsey BW, Davies J, McElvaney NG, Tullis E, Bell SC, Drevinek P, Griese M, McKone EF, Wainwright CE, Konstan MW, Moss R, Ratjen F, Sermet-Gaudelus I, Rowe SM, Dong Q, Rodriguez S, Yen K, Ordonez C, Elborn JS, Group VXS (2011) A CFTR potentiator in patients with cystic fibrosis and the G551D mutation. *The New England journal of medicine*.365(18):1663-72.

99. Ramsey BW, Farrell PM, Pencharz P (1992) Nutritional assessment and management in cystic fibrosis: a consensus report. The Consensus Committee. *Am J Clin Nutr*.55(1):108-16.

100. Rasch B, Friese M, Hofmann WJ, Naumann E (2009) *Quantitative Methoden 1. Einführung in die Statistik für Psychologen und Sozialwissenschaftler*, Springer-Verlag.

101. Rath T, Hage L, Kugler M, Menendez Menendez K, Zachoval R, Naehrlich L, Schulz R, Roderfeld M, Roeb E (2013) Serum proteome profiling identifies novel and powerful markers of cystic fibrosis liver disease. *PloS one*.8(3):e58955.

102. Rath T, Menendez KM, Kugler M, Hage L, Wenzel C, Schulz R, Graf J, Nahrlich L, Roeb E, Roderfeld M (2012) TIMP-1/-2 and transient elastography allow non invasive diagnosis of cystic fibrosis associated liver disease. *Dig Liver Dis.*44(9):780-7.
103. Rath T, Roderfeld M, Guler C, Wenzel C, Graf J, Beitinger F, Roeb E, Zachoval R (2011) YKL-40 and transient elastography, a powerful team to assess hepatic fibrosis. *Scand J Gastroenterol.*46(11):1369-80.
104. Rath T, Zwaschka L, Hage L, Kugler M, Menendez K, Naehrlich L, Schulz R, Roderfeld M, Roeb E (2014) Identification of neutrophil activation markers as novel surrogate markers of CF lung disease. *PloS one.*9(12):e115847.
105. Reinhardt D, Götz M, Kraemer R, Schöni M (2013) Cystische Fibrose. In: *Cystische Fibrose*. In: Springer Berlin Heidelberg, Chapter 1.1.1, p. 3.
106. Reinhardt D, Götz M, Kraemer R, Schöni M (2013) Cystische Fibrose. In: *Cystische Fibrose*. In: Springer Berlin Heidelberg, Chapter 7.4.7 p. 343 ff.
107. Riordan JR (2008) CFTR function and prospects for therapy. *Annual review of biochemistry.*77:701-26.
108. Riordan JR, Rommens JM, Kerem B, Alon N, Rozmahel R, Grzelczak Z, Zielenski J, Lok S, Plavsic N, Chou JL, et al. (1989) Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. *Science.*245(4922):1066-73.
109. Roderfeld M (2018) Matrix metalloproteinase functions in hepatic injury and fibrosis. *Matrix Biol.*68-69:452-62.
110. Roeb E (2018) Matrix metalloproteinases and liver fibrosis (translational aspects). *Matrix Biol.*68-69:463-73.
111. Roeb E, Purucker E, Breuer B, Nguyen H, Heinrich PC, Rose-John S, Matern S (1997) TIMP expression in toxic and cholestatic liver injury in rat. *Journal of hepatology.*27(3):535-44.
112. Rowe SM, Miller S, Sorscher EJ (2005) Cystic fibrosis. *The New England journal of medicine.*352(19):1992-2001.
113. Rowntree RK, Harris A (2003) The phenotypic consequences of CFTR mutations. *Ann Hum Genet.*67(Pt 5):471-85.
114. Sandrin L, Fournier C, Miette V, Millonig G, Mueller S (2009) Fibroscan® in hepatology: a clinically-validated tool using vibration-controlled transient elastography. In: 2009 IEEE International Ultrasonics Symposium, pp. 1431-4, IEEE.
115. Schenk JP, Alzen G, Klingmuller V, Teufel U, El Sakka S, Engelmann G, Selmi B (2014) Measurement of real-time tissue elastography in a phantom model and comparison with transient elastography in pediatric patients with liver diseases. *Diagn Interv Radiol.*20(1):90-9.

116. Schirmacher P, Fleig WE, Dienes HP, Deutsche Gesellschaft für Pathologie DGfV-uSKH (2004) [Biopsy diagnosis of chronic hepatitis]. *Z Gastroenterol.*42(2):175-85.
117. Schöni MH (2013) Mukoviszidose- Zystische Fibrose Pädiatrie up2date.8(2):143-57.
118. Shei RJ, Peabody JE, Kaza N, Rowe SM (2018) The epithelial sodium channel (ENaC) as a therapeutic target for cystic fibrosis. *Current opinion in pharmacology.*43:152-65.
119. Sigrist RMS, Liao J, Kaffas AE, Chammas MC, Willmann JK (2017) Ultrasound Elastography: Review of Techniques and Clinical Applications. *Theranostics.*7(5):1303-29.
120. Sorscher EJ (2016) Mukoviszidose. In: Harrison Innere Medizin Chapter 313, pp. 2074-8, Georg Thieme Verlag, Stuttgart.
121. Staufer K, Halilbasic E, Trauner M, Kazemi-Shirazi L (2014) Cystic fibrosis related liver disease--another black box in hepatology. *International journal of molecular sciences.*15(8):13529-49.
122. Stephan U, Gotz M, Stephan K, Bender S (1980) Cystic fibrosis. *Ergeb Inn Med Kinderheilkd.*44:76-174.
123. Stoltz DA, Meyerholz DK, Welsh MJ (2015) Origins of cystic fibrosis lung disease. *The New England journal of medicine.*372(16):1574-5.
124. Stuhmann-Spangenberg M, Aulehla-Scholz C, Dworniczak B, Reiss J (2009) Leitlinie zur Molekulargenetischen Diagnostik der Cystischen Fibrose. *medizinische genetik* 21:268–75.
125. Szeifert GT, Szabo M, Papp Z (1985) Morphology of cystic fibrosis at 17 weeks of gestation. *Clinical genetics.*28(6):561-5.
126. Tannapfel A, Dienes H-P, Lohse AW (2012) Indikationen zur Leberbiopsie. *Dtsch Arztebl Int.*109(7).
127. Tao H, Yang JJ, Shi KH, Huang C, Zhang L, Lv XW, Li J (2014) The significance of YKL-40 protein in liver fibrosis. *Inflamm Res.*63(4):249-54.
128. van de Peppel IP, Bertolini A, Jonker JW, Bodewes F, Verkade HJ (2017) Diagnosis, follow-up and treatment of cystic fibrosis-related liver disease. *Curr Opin Pulm Med.*23(6):562-9.
129. Walsh KM, Timms P, Campbell S, MacSween RN, Morris AJ (1999) Plasma levels of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and tissue inhibitors of metalloproteinases -1 and -2 (TIMP-1 and TIMP-2) as noninvasive markers of liver

disease in chronic hepatitis C: comparison using ROC analysis. *Dig Dis Sci.*44(3):624-30.

130. Wilder J, Patel K (2014) The clinical utility of FibroScan((R)) as a noninvasive diagnostic test for liver disease. *Med Devices (Auckl)*.7:107-14.

131. Wilschanski M, Durie PR (2007) Patterns of GI disease in adulthood associated with mutations in the CFTR gene. *Gut*.56(8):1153-63.

132. Witters P, De Boeck K, Dupont L, Proesmans M, Vermeulen F, Servaes R, Verslype C, Laleman W, Nevens F, Hoffman I, Cassiman D (2009) Non-invasive liver elastography (Fibroscan) for detection of cystic fibrosis-associated liver disease. *J Cyst Fibros*.8(6):392-9.

133. Witters P, Libbrecht L, Roskams T, Boeck KD, Dupont L, Proesmans M, Vermeulen F, Strandvik B, Lindblad A, Stephenne X, Sokal E, Gosseye S, Heye S, Maleux G, Aerts R, Monbaliu D, Pirenne J, Hoffman I, Nevens F, Cassiman D (2011) Noncirrhotic presinusoidal portal hypertension is common in cystic fibrosis-associated liver disease. *Hepatology*.53(3):1064-5.

134. Woodruff SA, Sontag MK, Accurso FJ, Sokol RJ, Narkewicz MR (2017) Prevalence of elevated liver enzymes in children with cystic fibrosis diagnosed by newborn screen. *J Cyst Fibros*.16(1):139-45.

135. Wurnig M, Boss A (2013) MR-Elastographie der Leber. In: *Swiss Medical Forum*, pp. 784-5, EMH Media.

136. Yan L, Deng Y, Zhou J, Zhao H, Wang G, China Hep BRFARG (2018) Serum YKL-40 as a biomarker for liver fibrosis in chronic hepatitis B patients with normal and mildly elevated ALT. *Infection*.46(3):385-93.

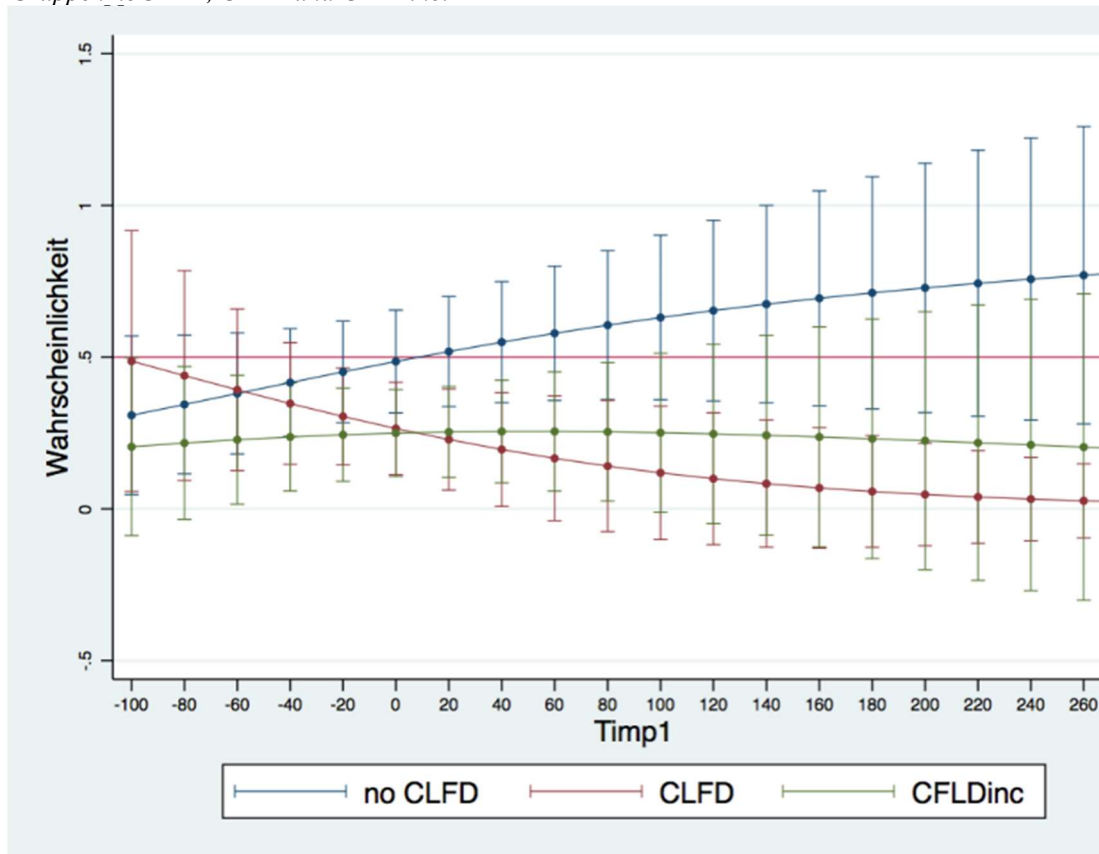
137. Yung B, Noormohamed FH, Kemp M, Hooper J, Lant AF, Hodson ME (2002) Cystic fibrosis-related diabetes: the role of peripheral insulin resistance and beta-cell dysfunction. *Diabet Med*.19(3):221-6.

138. Zhang W, Zhang X, Zhang YH, Strokes DC, Naren AP (2016) Lumacaftor/ivacaftor combination for cystic fibrosis patients homozygous for Phe508del-CFTR. *Drugs Today (Barc)*.52(4):229-37.

9 Anhang

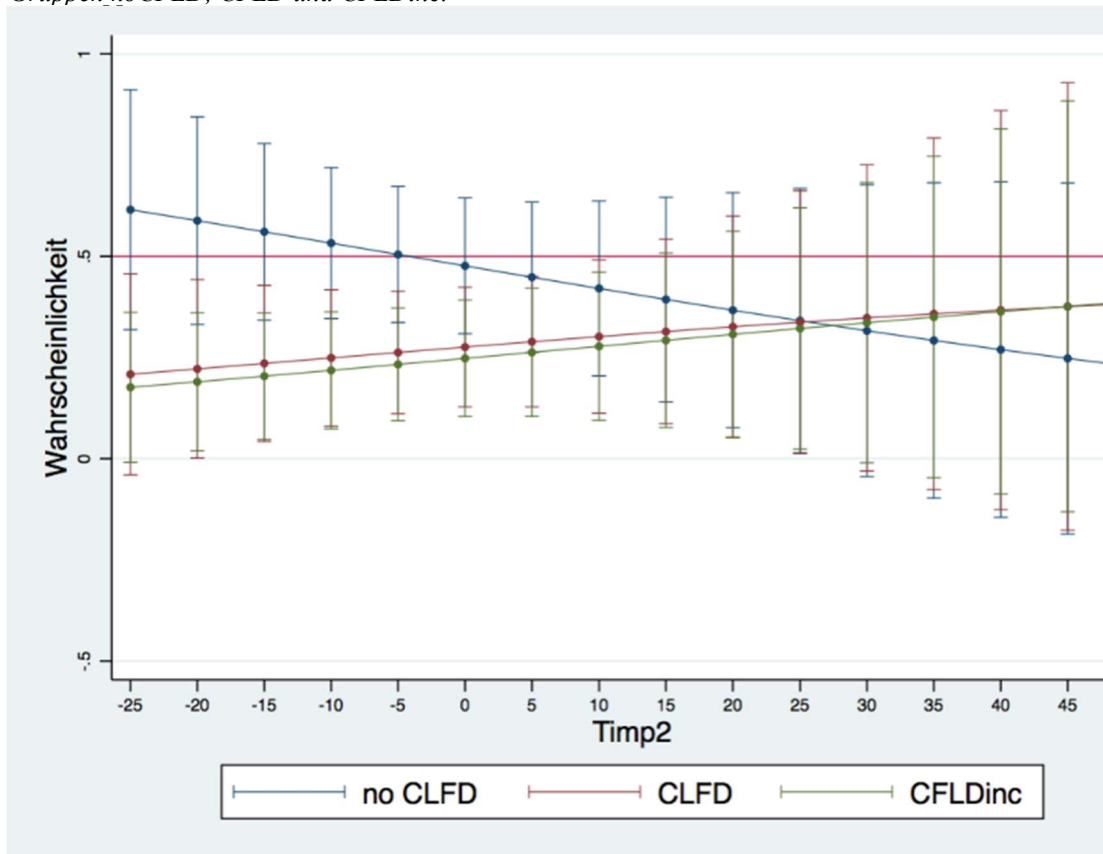
9.1 Multinomiale Regressionsanalyse

Abbildung 19) Graphische Darstellung der Logit-Regression der Variable TIMP-1 für die Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc.



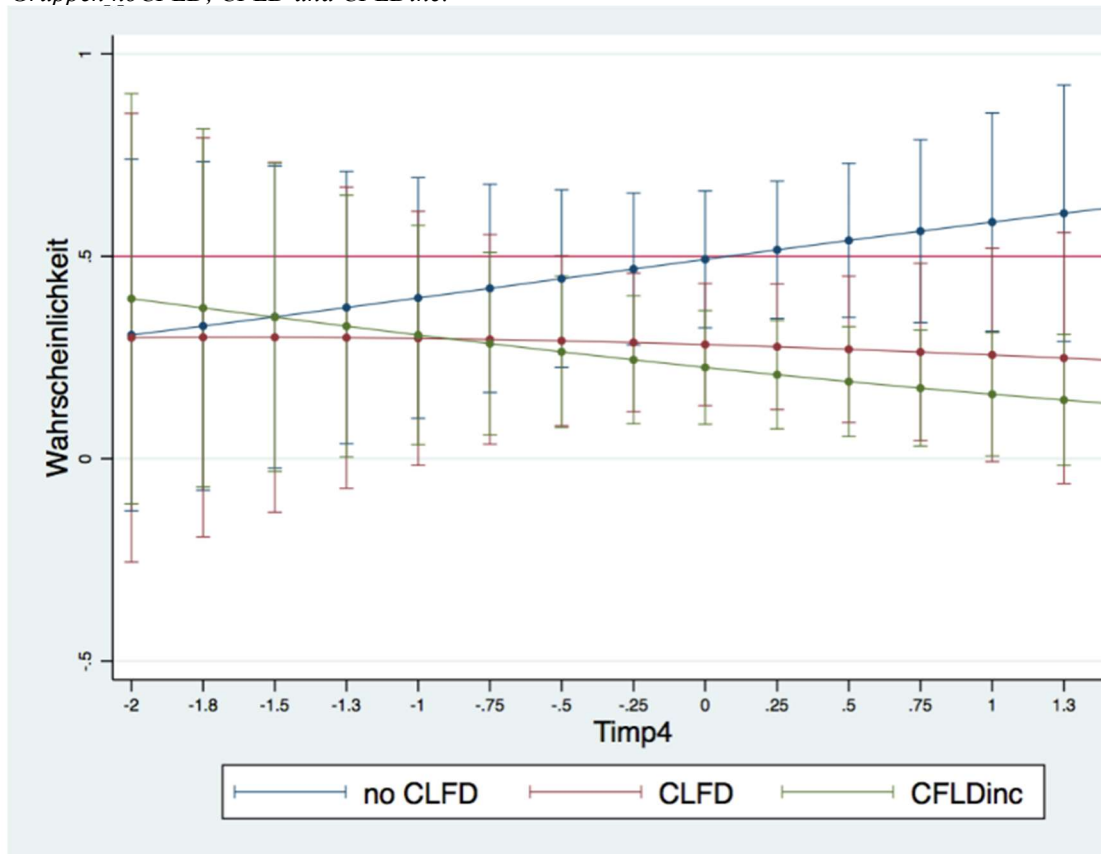
Die Graphik zeigt die logistische Funktion jeweils für die Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc. Die Kurven verlaufen im Wertebereich zwischen $y=0$ und $y=1$. Für jede Schätzung ist ein Marginsplot dargestellt der für verschiedene Werte der unabhängigen Variable (TIMP-1) das CI für die Wahrscheinlichkeit der jeweiligen CFLD Gruppe anzeigt. Die horizontal verlaufende Linie beschreibt als Standard die 50% Wahrscheinlichkeit. Anhand der vorliegenden Berechnung zeigte sich für die Variable TIMP-1 kein signifikantes Ergebnis. Das bedeutet es ließ sich anhand der TIMP-1 Expression keine Vorhersage zur Gruppenzugehörigkeit abschätzen.

Abbildung 20) Graphische Darstellung der Logit-Regression der Variable TIMP-2 für die Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc.



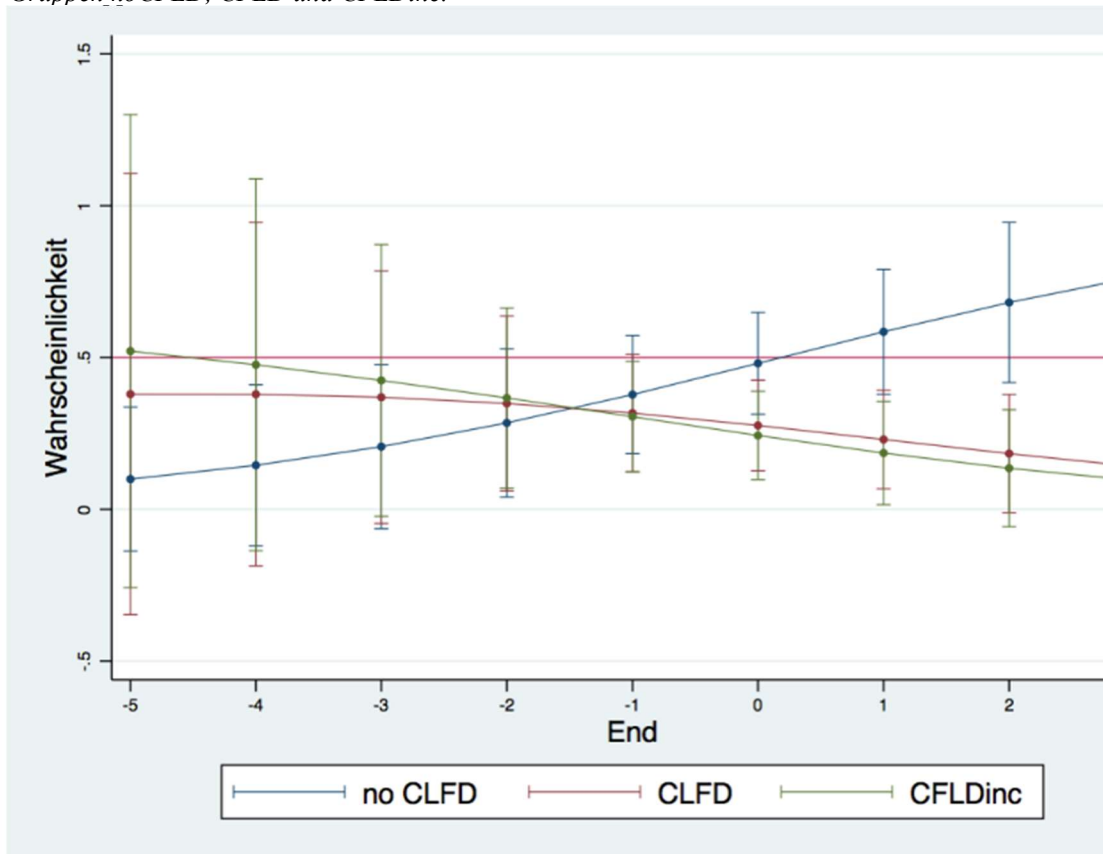
Die Graphik zeigt die logistische Funktion jeweils für die Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc. Die Kurven verlaufen im Wertebereich zwischen $y=0$ und $y=1$. Für jede Schätzung ist ein Marginsplot dargestellt der für verschiedene Werte der unabhängigen Variable (TIMP-2) das CI für die Wahrscheinlichkeit der jeweiligen CFLD Gruppe anzeigt. Die horizontal verlaufende Linie beschreibt als Standard die 50% Wahrscheinlichkeit. Anhand der vorliegenden Berechnung zeigte sich für die Variable TIMP-2 kein signifikantes Ergebnis. Das bedeutet es ließ sich anhand der TIMP-2 Expression keine Vorhersage zur Gruppenzugehörigkeit abschätzen.

Abbildung 21) Graphische Darstellung der Logit-Regression der Variable TIMP-4 für die Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc.



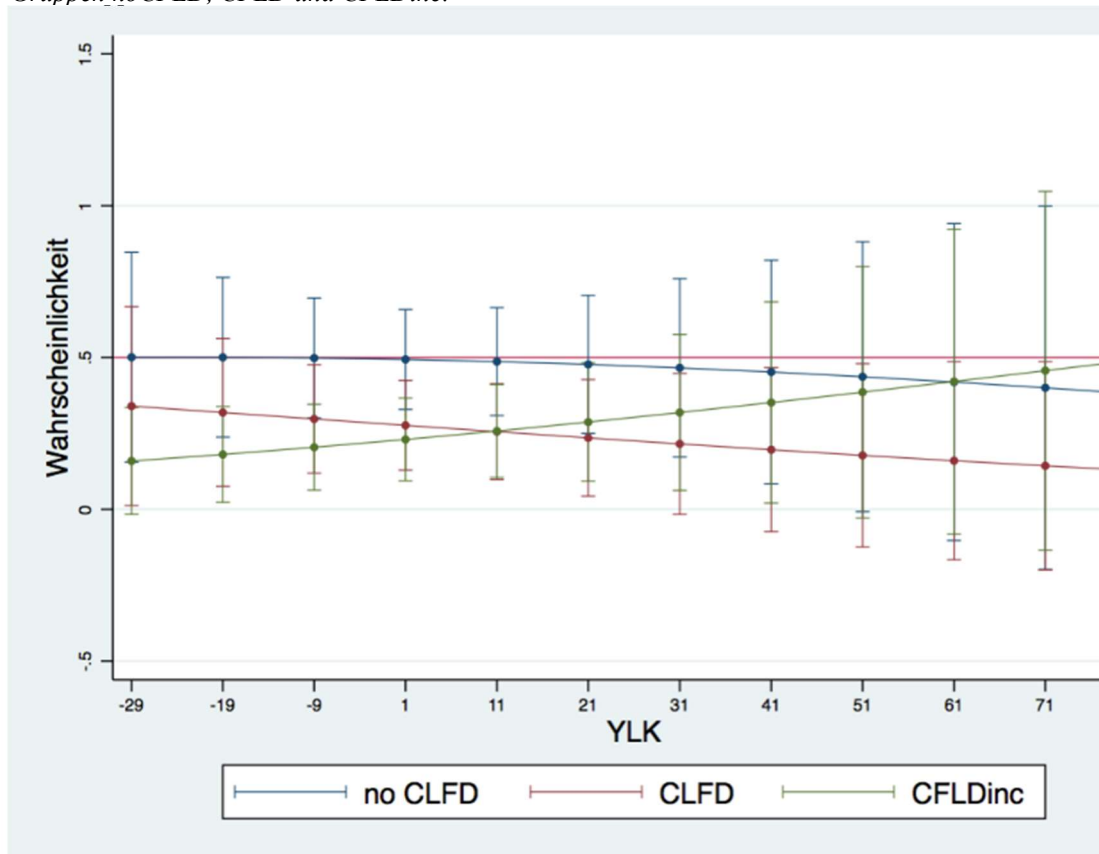
Die Graphik zeigt die logistische Funktion jeweils für die Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc. Die Kurven verlaufen im Wertebereich zwischen $y=0$ und $y=1$. Für jede Schätzung ist ein Marginsplot dargestellt der für verschiedene Werte der unabhängigen Variable (TIMP-4) das CI für die Wahrscheinlichkeit der jeweiligen CFLD Gruppe anzeigt. Die horizontal verlaufende Linie beschreibt als Standard die 50% Wahrscheinlichkeit. Anhand der vorliegenden Berechnung zeigte sich für die Variable TIMP-4 kein signifikantes Ergebnis. Das bedeutet es ließ sich anhand der TIMP-4 Expression keine Vorhersage zur Gruppenzugehörigkeit abschätzen.

Abbildung 22) Graphische Darstellung der Logit-Regression der Variable Endoglin für die Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc.



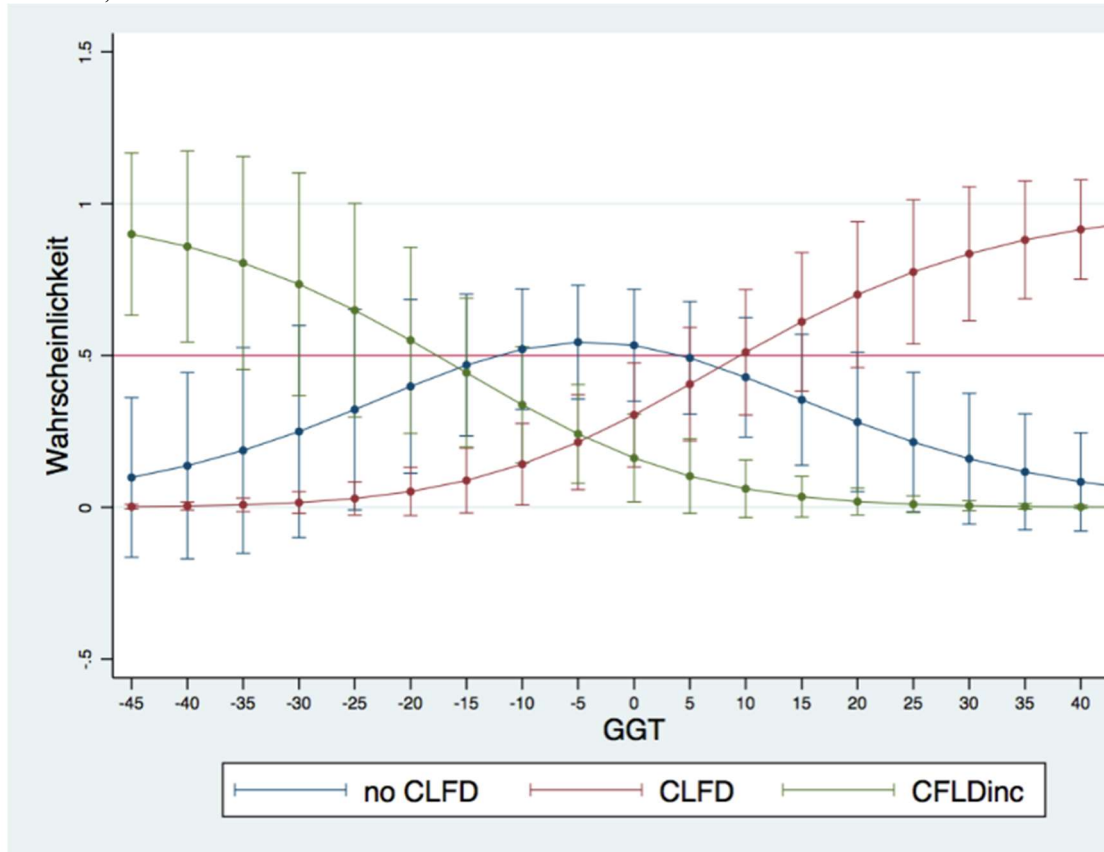
Die Graphik zeigt die logistische Funktion jeweils für die Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc. Die Kurven verlaufen im Wertebereich zwischen $y=0$ und $y=1$. Für jede Schätzung ist ein Marginsplot dargestellt der für verschiedene Werte der unabhängigen Variable (Endoglin) das CI für die Wahrscheinlichkeit der jeweiligen CFLD Gruppe anzeigt. Die horizontal verlaufende Linie beschreibt als Standard die 50% Wahrscheinlichkeit. Anhand der vorliegenden Berechnung zeigte sich für die Variable Endoglin kein signifikantes Ergebnis. Das bedeutet es ließ sich anhand der Endoglin Expression keine Vorhersage zur Gruppenzugehörigkeit abschätzen.

Abbildung 23) Graphische Darstellung der Logit-Regression der Variable YKL-40 für die Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc.



Die Graphik zeigt die logistische Funktion jeweils für die Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc. Die Kurven verlaufen im Wertebereich zwischen $y=0$ und $y=1$. Für jede Schätzung ist ein Marginsplot dargestellt der für verschiedene Werte der unabhängigen Variable (YKL-40) das CI für die Wahrscheinlichkeit der jeweiligen CFLD Gruppe anzeigt. Die horizontal verlaufende Linie beschreibt als Standard die 50% Wahrscheinlichkeit. Anhand der vorliegenden Berechnung zeigte sich für die Variable YKL-40 kein signifikantes Ergebnis. Das bedeutet es ließ sich anhand der YKL-40 Expression keine Vorhersage zur Gruppenzugehörigkeit abschätzen.

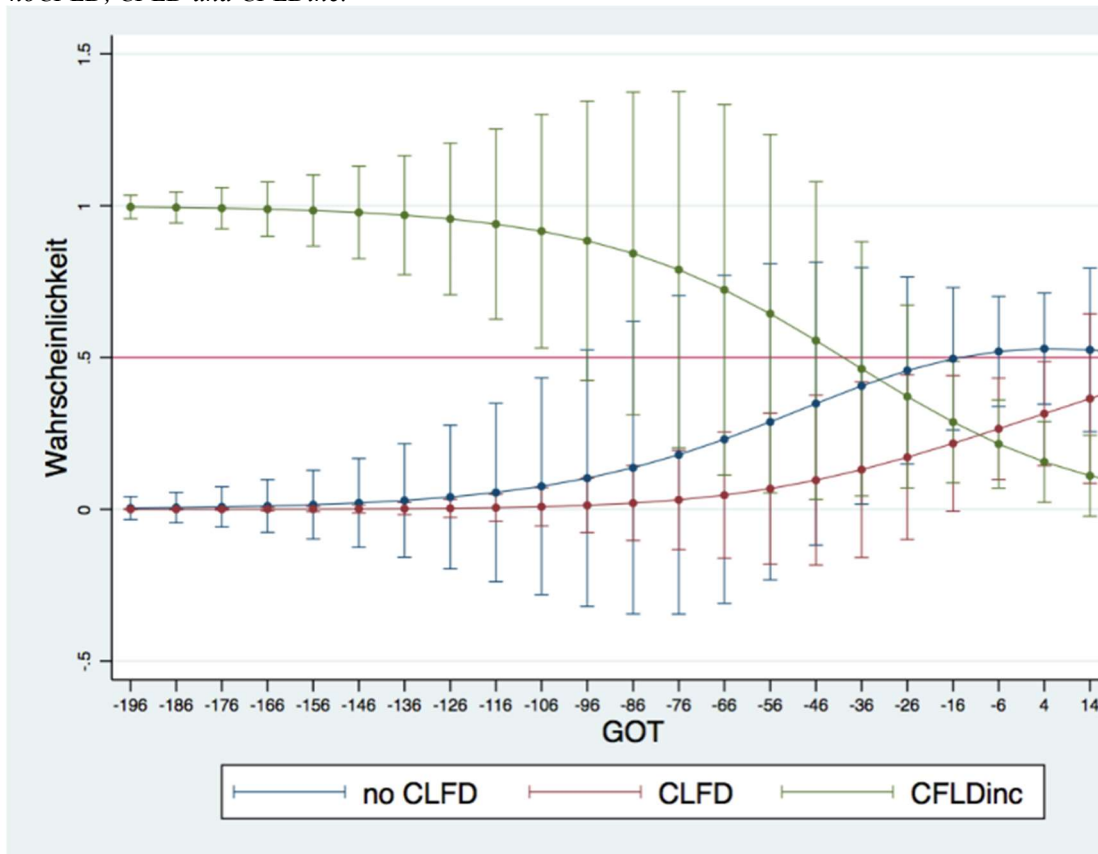
Abbildung 24) Graphische Darstellung der Logit-Regression der Variable γ GT für die Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc.



Die Graphik zeigt die logistische Funktion jeweils für die Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc. Die Kurven verlaufen im Wertebereich zwischen $y=0$ und $y=1$. Für jede Schätzung ist ein Marginsplot dargestellt der für verschiedene Werte der unabhängigen Variable (γ GT) das CI für die Wahrscheinlichkeit der jeweiligen CFLD Gruppe anzeigt. Die horizontal verlaufende Linie beschreibt als Standard die 50% Wahrscheinlichkeit.

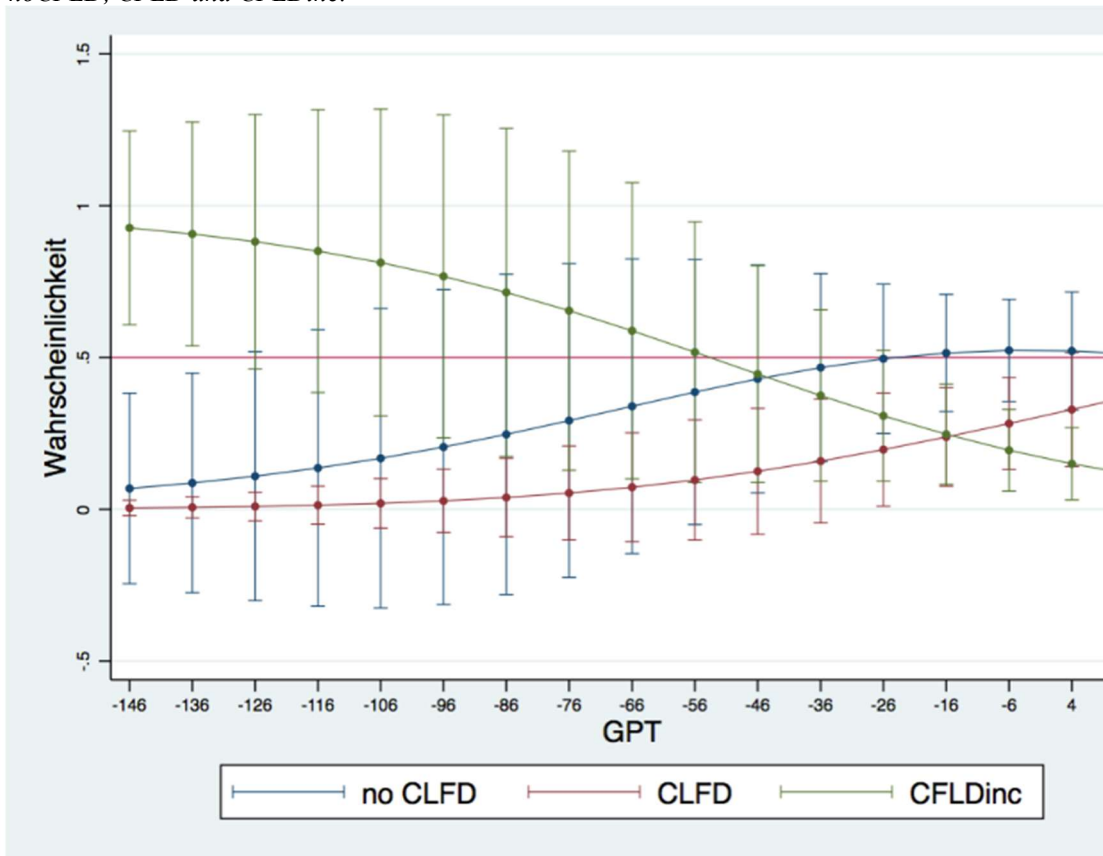
Für jeden Patienten der Kohorte wurde die Differenz der gemessenen γ GT-Werte zwischen der Baseline- und Follow-up Messung erhoben. Aus der Differenz wurde die Wahrscheinlichkeit für die Gruppenzugehörigkeit geschätzt. Die CFLD Gruppe fungierte als Referenzkategorie d.h. der Einfluss der unabhängigen Variable γ GT auf die noCFLD und CFLDinc Gruppe wurde im Vergleich zur CFLD Gruppe analysiert. Eine negative Differenz ($\Delta\gamma$ GT) bedeutet die Expression der γ GT war zur Follow-up Messung höher als zur Baseline Messung. Für die CFLDinc Gruppe zeigte sich ein signifikantes Ergebnis, der errechnete Regressionskoeffizient betrug ($b=-0.14$, SEM 0,045; $p=0,001$). Somit ließ sich aus der Differenz (baseline- follow-up) der γ GT Expression die Wahrscheinlichkeit der CFLDinc Gruppe zugeordnet zu werden abschätzen.

Abbildung 25) Graphische Darstellung der Logit-Regression der Variable GOT für die Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc.



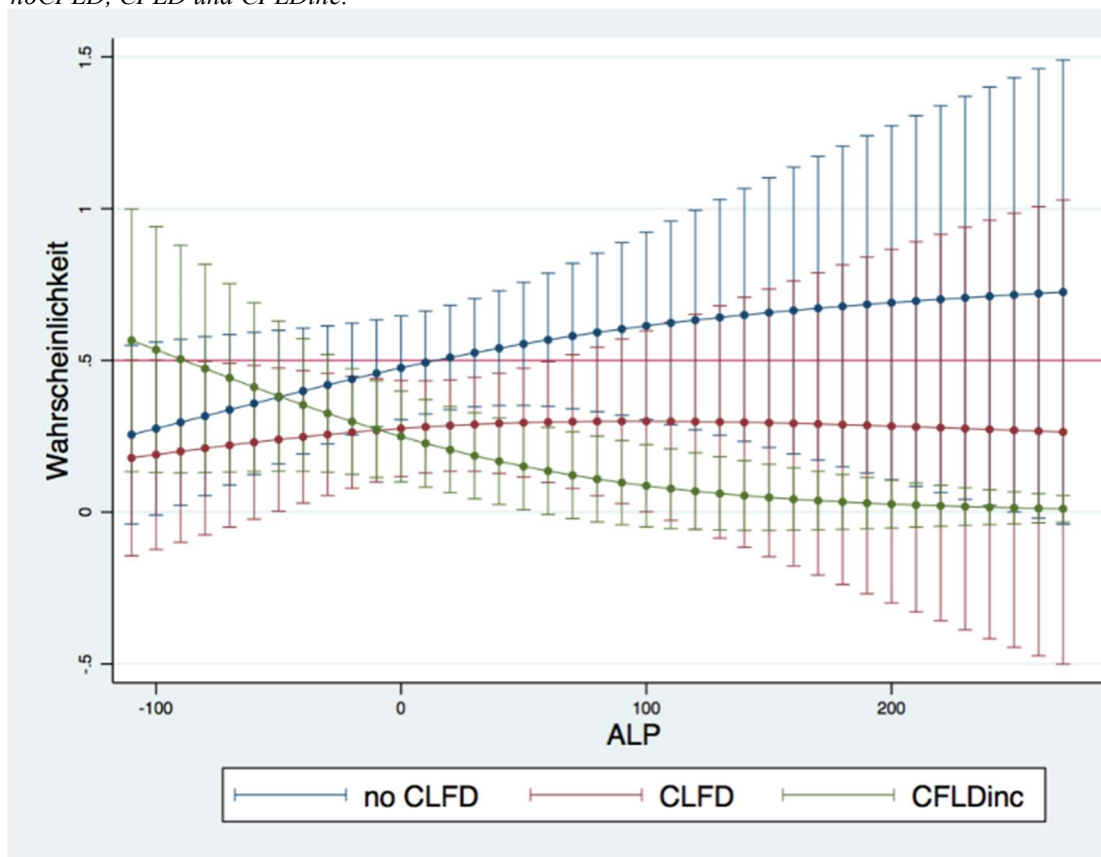
Die Graphik zeigt die logistische Funktion jeweils für die Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc. Die Kurven verlaufen im Wertebereich zwischen $y=0$ und $y=1$. Für jede Schätzung ist ein Marginsplot dargestellt der für verschiedene Werte der unabhängigen Variable (GOT) das CI für die Wahrscheinlichkeit der jeweiligen CFLD Gruppe anzeigt. Die horizontal verlaufende Linie beschreibt als Standard die 50% Wahrscheinlichkeit. Anhand der vorliegenden Berechnung zeigte sich für die Variable GOT kein signifikantes Ergebnis. Das bedeutet es ließ sich anhand der GOT Expression keine Vorhersage zur Gruppenzugehörigkeit abschätzen.

Abbildung 26) Graphische Darstellung der Logit-Regression der Variable GPT für die Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc.



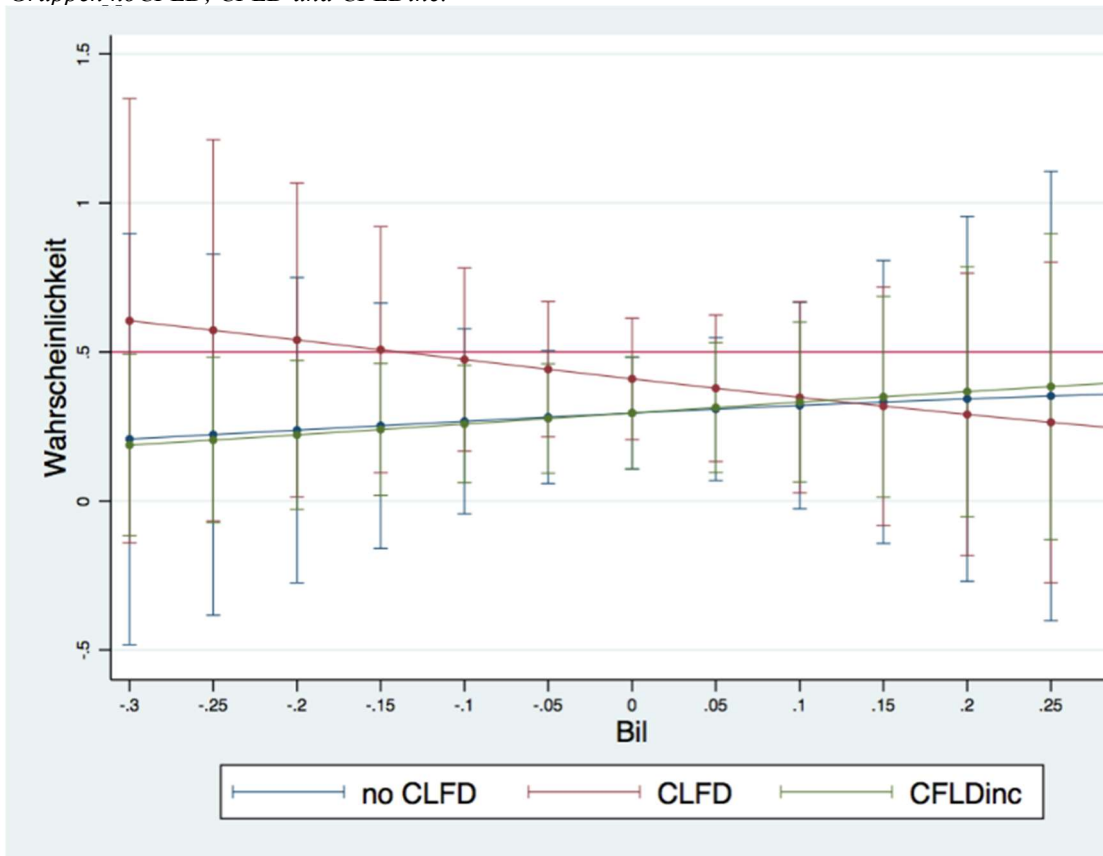
Die Graphik zeigt die logistische Funktion jeweils für die Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc. Die Kurven verlaufen im Wertebereich zwischen $y=0$ und $y=1$. Für jede Schätzung ist ein Marginsplot dargestellt der für verschiedene Werte der unabhängigen Variable (GPT) das CI für die Wahrscheinlichkeit der jeweiligen CFLD Gruppe anzeigt. Die horizontal verlaufende Linie beschreibt als Standard die 50% Wahrscheinlichkeit. Anhand der vorliegenden Berechnung zeigte sich für die Variable GPT kein signifikantes Ergebnis. Das bedeutet es ließ sich anhand der GPT Expression keine Vorhersage zur Gruppenzugehörigkeit abschätzen.

Abbildung 27) Graphische Darstellung der Logit-Regression der Variable ALP für die Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc.



Die Graphik zeigt die logistische Funktion jeweils für die Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc. Die Kurven verlaufen im Wertebereich zwischen $y=0$ und $y=1$. Für jede Schätzung ist ein Marginsplot dargestellt der für verschiedene Werte der unabhängigen Variable (ALP) das CI für die Wahrscheinlichkeit der jeweiligen CFLD Gruppe anzeigt. Die horizontal verlaufende Linie beschreibt als Standard die 50% Wahrscheinlichkeit. Anhand der vorliegenden Berechnung zeigte sich für die Variable ALP kein signifikantes Ergebnis. Das bedeutet es ließ sich anhand der ALP Expression keine Vorhersage zur Gruppenzugehörigkeit abschätzen.

Abbildung 28) Graphische Darstellung der Logit-Regression der Variable Bilirubin für die Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc.



Die Graphik zeigt die logistische Funktion jeweils für die Gruppen noCFLD, CFLD und CFLDinc. Die Kurven verlaufen im Wertebereich zwischen $y=0$ und $y=1$. Für jede Schätzung ist ein Marginsplot dargestellt der für verschiedene Werte der unabhängigen Variable (Bilirubin) das CI für die Wahrscheinlichkeit der jeweiligen CFLD Gruppe anzeigt. Die horizontal verlaufende Linie beschreibt als Standard die 50% Wahrscheinlichkeit. Anhand der vorliegenden Berechnung zeigte sich für die Variable Bilirubin kein signifikantes Ergebnis. Ein sichtbarer Indikator ist u.a. das Überschneiden der Graphen. Das bedeutet es ließ sich anhand der Bilirubin Expression keine Vorhersage zur Gruppenzugehörigkeit abschätzen.

9.2 Aufklärungsbogen



Justus-Liebig
Universität Gießen
Standort Gießen

Universitätsklinikum Gießen und Marburg, Medizinische Klinik II, Gastroenterologie,
Paul-Meimberg-Str. 5, 35385 Gießen

Patienteninformation zur Studie

**Früherkennung und Verlauf der
Leberbeteiligung bei Mukoviszidosepatienten
und anderen chronisch Lebererkrankten mittels
Elastographie (Fibroscan)**



Philipps-Universität
Marburg

Prof. Dr. med. Elke Roeb
Medizinische Klinik II, Gastroenterologie
Paul-Meimberg-Str. 5
35385 Gießen, GERMANY
☎ (0641) 89-42338
☎ (0641) 89-42339

eroeb@gmx.de
www.med.uni-giessen.de

Gießen, 29. Mai 2009

Sehr geehrte Patientin, sehr geehrter Patient!

Bei Ihnen wird die Durchführung einer Elastographie der Leber mittels Fibroscan vorgenommen. Über diese Untersuchung wurden Sie ausführlich vorher aufgeklärt. Die Elastographie-Untersuchung der Leber dient der Unterstützung von Diagnose und Betreuung von Leberpatienten. Die Ergebnisse werden nur von Leberspezialisten interpretiert, denen die Erkrankung des Patienten und der klinische Rahmen der Erkrankung bekannt sind. Die Untersuchung ist relativ ungefährlich. Sie entspricht in etwa einer Sonographie (Ultraschall). Die Fibroscan-Untersuchung sollte nicht angewendet werden bei anderen Organen als der Leber, bei Patienten mit aktiven implantierten Vorrichtungen wie Herzschrittmacher, Defibrillator oder Pumpen, auf Wunden, bei Schwangeren oder bei Patienten mit Aszites.

Im Schwerpunkt Gastroenterologie der Justus-Liebig-Universität Gießen werden chronische Lebererkrankungen hinsichtlich des Risikos der Entwicklung einer Fibrose oder Zirrhose hin erforscht. Zu diesem Zweck bitten wir Sie heute um die zusätzliche Entnahme einer geringen Menge Serum über den klinischen Zweck hinaus. Es werden keinerlei kommerzielle Ziele verfolgt. Vielmehr dient diese Forschung dazu, in Zukunft bessere Ratschläge bezüglich Diagnostik, Medikamentengabe und -dosierung bei bestimmten Leber-Erkrankungen geben zu können.

Ihr Einverständnis ist freiwillig; nach Einwilligung in die Teilnahme an dieser Studie ist es jederzeit möglich, diese Einwilligung teilweise oder ganz zu widerrufen, ohne dass Ihnen hieraus Nachteile entstehen. Etwasige weitere Fragen richten Sie bitte an Ihren behandelnden Arzt, der Sie mündlich aufklären wird.

Wir danken für Ihre Mitarbeit.

Das Team der Gastroenterologie

Univ.-Prof. Dr. med. Elke Roeb

9.3 Einwilligungserklärung



FACHBEREICH
MEDIZIN



Zentrum für Innere Medizin • Schwerpunkt Gastroenterologie
Univ.-Prof. Dr. E. Roeb • Klinikstr. 33. • 35385 Giessen

Medizinische Klinik u. Poliklinik II
Zentrum für Innere Medizin
-Gastroenterologie-
- Internistische Intensivmedizin -

Studie

**Früherkennung und Verlauf der Leberbeteiligung
bei
Mukoviszidose-Patienten und anderen chronisch
Lebererkrankten mittels Elastographie (Fibroscan)**

Leitung: Univ.- Prof. Dr. med. Elke
Roeb

35385 Giessen
(06 41) 985-4 23 38
(06 41) 985-4 23 39

E-Mail:
Elke.Roeb@innere.med.uni-giessen.de

Giessen,

Einwilligungserklärung

Ich habe die Patienteninformation über oben bezeichnete Studie gelesen und verstanden.

Über Wesen, Bedeutung und Reichweite der Studie sowie meine Beteiligung mit ihren Risiken bin ich durch Prof. Dr. Roeb und/oder deren Mitarbeiter mündlich aufgeklärt worden. Nach ausreichender Bedenkzeit gebe ich hiermit mein freiwilliges Einverständnis zur Teilnahme an dieser Studie. Alle meine Fragen wurden ausreichend beantwortet. Ich willige ein, dass die Ergebnisse der Elastographieuntersuchung sowie Serum für Forschungszwecke verwendet werden. Sollte es erforderlich sein, willige ich auch ein, 15 ml Blut (bei Kindern weniger) zur Verfügung zu stellen.

Mir ist bewusst, dass ich diese Einwilligung jederzeit widerrufen kann, ohne das mir dadurch Nachteile entstehen. Eine Kopie dieser Erklärung habe ich erhalten.


Giessen, den _____

Unterschrift Patient/-in oder
Gesetzliche/r Vertreter/-in

Giessen, den _____

Unterschrift Arzt/Ärztin

9.4 Dokumentationsbogen

 UNIVERSITÄTSKLINIKUM GIESSEN UND MARBURG	
<h3>FibroScan-Untersuchung</h3>	
Anfordernde Stelle:	<u>Für den Patienten/ für die Patientin:</u>
<u>Termin:</u>	
<u>Vorbefunde / Klinische Fragestellung:</u>	
<i>Muldenströmose - Sklerose</i>	
<hr/>	
Steife:	Normwert: 3 – 7
IQR:	
CS:	
Success in %:	

10 Publikationsverzeichnis

Abstract - Radke C., Siemers E., Roderfeld M., Rath T., Roeb E., 2015: Verbesserte Früherkennung der Leberbeteiligung bei Mukoviszidose; Zeitschrift für Gastroenterologie 2015; 53: A1-A77 Georg Thieme Verlag KG; (31. Jahrestagung der Deutschen Arbeitsgemeinschaft zum Studium der Leber; Poster/ Abstract)

Abstract - Radke C., Siemers E., Roderfeld M., Rath T., Roeb E., 2014: Integration der transienten hepatischen Elastographie in die Diagnostik der CF-assoziierten Leberbeteiligung 2015: (DGKJ 2015; Abstract/Poster)

Abstract - Radke C., Siemers E., Roderfeld M., Rath T., Roeb E., 2014: Detektion einer Leberbeteiligung bei Mukoviszidose- Bestehende Richtlinien im Vergleich mit der transienten hepatischen Elastographie; Zeitschrift für Gastroenterologie 2014, 52: Georg Thieme Verlag KG; (DGVS 2014; Abstract/ Vortrag)

Paper - Klotter V, Gunchick C, Siemers E, Rath T, Hudel H, Naehrlich L, et al. (2017) Assessment of pathologic increase in liver stiffness enables earlier diagnosis of CFLD: Results from a prospective longitudinal cohort study. PLoS ONE 12(6): e0178784. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178784>

12 Danksagung

Mein Dank gilt Frau Prof. Roeb für die Überlassung des interessanten und klinisch relevanten Themas. Sie haben mich während der gesamten Zeit unterstützt und im fachlichen Austausch zu neuen Denkanstößen angeregt.

Zudem möchte ich mich bei der gesamten Arbeitsgruppe (AG Roeb) für die lebendigen wissenschaftlichen Diskussionen bedanken. Mein besonderer Dank gilt allerdings Herrn PD Dr. Martin Roderfeld, der immer ein offenes Ohr für mich hatte und mir jederzeit mit konstruktiven Vorschlägen zur Seite stand und Annette Tschuschner die meine Laborzeit mit interessanten Gesprächen bereichert und mich sogar an einem Wochenende bei der Durchführung der Versuche unterstützt hat.

Bedanken möchte ich mich auch bei den Mitarbeitern der Mukoviszidose-Ambulanzen des Universitätsklinikums Gießen die mir maßgeblich bei der Datensammlung geholfen haben.

Meine Danksagung gilt darüber hinaus Herrn Dr. med. Doppel der mir stets, trotz eigenem Arbeitsaufkommen, den Sonographieraum überlassen hat um die Fibroscan-Untersuchungen durchzuführen.

Weiterhin gilt mein Dank Herrn Helge Hudel der mich in einem sehr freundlichen Gespräch zur statistischen Auswertung der Arbeit beraten hat.

Mein besonderer Dank gilt meiner Familie- meinen Eltern, Herrn Prof. Dr. med. Michael Radke und meiner Mutter Frau Dr. med. Beate Radke die mich neben dem Lektorat und der Betreuung meiner Tochter auch mit vehementer Ausdauer bis zur Fertigstellung der Arbeit begleitet und mich immer wieder an den persönlichen Wert einer wissenschaftlichen Arbeit erinnert haben. Danken möchte ich auch meiner Schwester, Dr. med. Josefine Radke, die neben Ihrer eigenen Familie, Arbeit und wissenschaftlichen Agenda, Zeit gefunden hat die Korrektur meiner Dissertation durchzuführen.

Zuletzt möchte ich meinem Mann Garrett danken. Er hat mir, in manchen Zeiten der Verzweiflung- Kraft, Freiräume und Motivation geschenkt um diese Arbeit fertig zu stellen.

13 Lebenslauf

Die Daten wurden aus Datenschutzgründen entfernt.



edition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

VVB LAUFERSWEILER VERLAG
STAUFENBERGRING 15
D-35396 GIESSEN

Tel: 0641-5599888 Fax: -5599890
redaktion@doktorverlag.de
www.doktorverlag.de

ISBN: 978-3-8359-6990-2



9 783835 196990 2