

# Entzündung im Magendarmtrakt bei Patienten mit Mukoviszidose

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

vorgelegt von Zimmermann, Anna  
aus Bernburg

Gießen 2018

Aus dem Zentrum für Kinderheilkunde und Jugendmedizin,  
unter der Leitung von Prof. Dr. med. Klaus-Peter Zimmer,  
des Fachbereichs Medizin der Justus-Liebig-Universität Gießen

1. Gutachter: Prof. Dr. Klaus-Peter Zimmer
2. Gutachter: Prof. Dr. Ulrich Grandel

Tag der Disputation: 13.02.2019

## Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1	Einführung	3
1.2	Zielsetzung	9
<b>2</b>	<b>Methodik</b>	<b>10</b>
2.1	Studiendesign	10
2.2	Kollektiv	10
2.3	Studienverlauf	11
2.4	Datenerhebung und Messmethoden	12
2.4.1	Anamnese	13
2.4.2	Fragebogen	14
2.4.2.1	Cystic fibrosis questionnaire-revised	14
2.4.2.2	Aktivitätsindex für CED Patienten	16
2.4.3	Befunde	16
2.4.3.1	Anthropometrie	16
2.4.3.2	Pulmonale Kriterien	16
2.4.3.3	Serumparameter	17
2.4.3.4	Abdominelle Untersuchung	19
2.4.3.5	Kolonwanddicke	19
2.4.3.6	Stuhlparameter	19
2.5	Statistik	22
<b>3</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>24</b>
3.1	Basisdaten	24
3.1.1	Kohortenbeschreibung	24

3.1.2	Mukoviszidosekohorte	24
3.1.3	CED Kohorte	28
3.1.4	Gemeinsam erhobene Parameter bei CED und Mukoviszidosepatienten	29
3.2	Stuhlparameter	30
3.3	Statistische Tests zur Analyse von FC	33
3.3.1	Korreliert FC mit anamnestischen Daten zu Komplikationen und Begleitmedikation, dem Ernährungszustand oder Ergebnissen des Lebensqualitäts-Fragebogens bei Mukoviszidosepatienten	33
3.3.2	Gibt es einen Zusammenhang zwischen FC und abdominellen Aspekten, weiteren Stuhlwerten wie der fäkalen Elastase und der Stuhlfettkonzentration oder der Darmwanddicke des Colon ascendens	37
3.3.3	Gibt es einen Zusammenhang von FC und der Lungensituation, charakterisiert durch Lungenfunktion oder bakterielle Besiedlung	41
3.3.4	Gibt es eine Beziehung zwischen FC und der generalisierten Entzündung, gemessen an Serumparametern wie Calprotectin, CRP, Gesamtzahl der Neutrophilen und IgG	43
<b>4</b>	<b>Diskussion</b>	<b>45</b>
4.1	Häufigkeit der Erhöhung des FC bei Mukoviszidose	45
4.2	Diskussion im Hinblick auf die Zielstellung	49
4.2.1	Klinische Symptomatik und FC	49
4.2.2	Begleiterkrankungen und FC	51
4.2.3	Darmwanddicke und FC	53
4.2.4	Zusammenhang von FC und Lungenerkrankung	57

4.2.5	Zusammenhang von FC und systemischer Inflammation	58
4.3	Bedeutung der Studie und Ausblick	62
4.3.1	Praxisorientierte Empfehlungen	62
4.3.2	Bedeutung des FC als Surrogatparameter der intestinalen Inflammation bei Mukoviszidose	64
4.4	Stärken und Schwächen der Studie	66
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>68</b>
<b>6</b>	<b>Summary</b>	<b>69</b>
<b>7</b>	<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>70</b>
<b>8</b>	<b>Abbildungsverzeichnis</b>	<b>73</b>
<b>9</b>	<b>Tabellenverzeichnis</b>	<b>74</b>
<b>10</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>76</b>
<b>11</b>	<b>Anhang</b>	<b>87</b>
<b>12</b>	<b>Ehrenwörtliche Erklärung</b>	<b>101</b>
<b>13</b>	<b>Danksagung</b>	<b>102</b>
<b>14</b>	<b>Tabellarischer Lebenslauf</b>	<b>104</b>

# 1 Einleitung

Mukoviszidose ist mit einer Inzidenz von 1:2500 die häufigste frühletale autosomal-rezessiv vererbte Multisystemerkrankung der kaukasischen Bevölkerung (O'Sullivan & Freedman 2009). Ursächlich ist eine Mutation im Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (*CFTR*) Gen auf dem langen Arm des Chromosoms 7 (Wainwright et al. 1985; Riordan et al. 1989). Mehr als 2000 unterschiedliche Mutationen sind bis heute beschrieben (O.V. (2011): Zugriff über Datenbank: Cystic Fibrosis Mutation Database. <http://www.genet.sickkids.on.ca/StatisticsPage.html>, [Stand: 25.04.2011]). Die häufigste Mutation in Europa ist F508del (cDNA-Name: c.1521\_1523delCTT) und führt zu einer Deletion des Phenylalanins an der Position 508 (Kerem et al. 1989). Die Mutationen werden nach ihren funktionellen Auswirkungen aktuell in sechs Defektklassen unterteilt. Das Spektrum des Gendefekts umfasst eine gestörte Proteinsynthese mit Restfunktion bis hin zum Ausbleiben der Synthese des Genprodukts (Zielenski & Tsui 1995; Zielenski 2000).

Das *CFTR* Genprodukt ist ein Chloridkanal, reguliert durch cyclisches Adenosinmonophosphat (cAMP), und wird in epithelialen Zellen exokriner Organe exprimiert. Eine *CFTR* Dysfunktion führt zu einem gestörten Elektrolyt- und Wassertransport in Schleimhäuten und exokrinen Organen. Folge ist eine verminderte Chloridsekretion mit sekundär verstärkter Natriumrückresorption und Wassereinstrom in die Zelle, was eine Dehydration der Sekrete bedingt (Tabcharani et al. 1993). Die viskösen Sekrete führen zu einer Obstruktion der betroffenen Organe und im Verlauf zur Funktionsabnahme aufgrund des fibrotischen Umbaus infolge chronisch inflammatorischer Prozesse (Rich et al. 1990; Farrell et al. 2008).

Ursächlich für die erhöhte Natrium- und Chloridkonzentration im Schweiß ist die verminderte Rückresorption der Chloridionen aus dem isotonen Primärschweiß in den Ausführungsgängen der Schweißdrüsen (Quinton 1983). Diese Verschiebung des Ionenhaushalts kann mithilfe des Schweißtests auf der Basis einer Pilocarpin-Iontophorese nachgewiesen werden und stellt den Goldstandard zur Diagnosesicherung der Mukoviszidose dar (GIBSON & COOKE 1959; Collie et al. 2014). Weiterhin werden genetische und elektrophysiologische Diagnoseverfahren eingesetzt (Boeck 2006).

Die pulmonale Manifestation ist entscheidend für den Verlauf der Erkrankung und stellt die häufigste Todesursache dar (O'Sullivan & Freedman 2009; Quon & Aitken 2012; Anonym 2016). Das visköse Bronchialsekret kann von den Zilien nicht ausreichend abtransportiert werden (gestörte mukoziliäre Clearance) und begünstigt eine chronisch bakterielle Infektion. Dadurch kommt es zu Entzündungsprozessen, an deren Ende die Destruktion der Lungenarchitektur mit fibrotischem Umbau sowie emphysematischen und atelektatischen Anteilen steht (Gibson et al. 2003). Klinisch fallen Mukoviszidosepatienten durch chronischen Husten, bronchiale Obstruktion und rezidivierende Bronchopneumonien auf. Die Beteiligung der oberen Atemwege äußert sich in Form von Polyposis nasi und Pansinusitiden (Ng et al. 2014).

Ferner manifestiert sich der Gendefekt in gastrointestinalen Organen, da *CFTR* unter anderem im Epithel des Gastrointestinaltrakt (GIT) exprimiert wird (Borowitz D 2005 Sep; De Lisle, R. C. & Borowitz 2013; Gelfond & Borowitz 2013). In den Pankreasgängen kommt es durch das wasserarme aber enzymreiche Pankreassekret zur Obstruktion, Autodigestion und Organdestruktion. Dieser progressive Funktionsverlust des Pankreas ist abhängig von der Mutationsklasse und führt in der Regel innerhalb des ersten Lebensjahres zu einer exokrinen Pankreasinsuffizienz (PI) bei 85 - 90 % der Betroffenen (Guy-Crotte et al. 1996). Mukoviszidosepatienten mit einer *CFTR* Restfunktion haben ein erhöhtes Risiko für rezidivierende Pankreatitiden und nachfolgende exokrine PI. Durch den resultierenden Mangel an pankreatischen Verdauungsenzymen kommt es zu einer Maldigestion mit Resorptionsstörung von Nahrungsbestandteilen, fettlöslichen Vitaminen und Spurenelementen (O'Sullivan & Freedman 2009). Die Maldigestion bedingt - unbehandelt - eine Mangelernährung, die sich in einer Gedeihstörung der Betroffenen äußert. Markant ist vor allem die verminderte Aufnahme von Fetten, was übel riechende, voluminöse Fettstühle zur Folge hat.

Im Intestinum kann durch mangelnde Chlorid- und Wassersekretion eine Eindickung des Darminhaltes beobachtet werden. Klinisch äußert sich das zum Beispiel als Mekoniumileus bei 10 - 15 % der an Mukoviszidose erkrankten Neugeborenen (Borowitz D 2005 Sep; Anonym 2016) und bei älteren Mukoviszidosepatienten als ein distal intestinales Obstruktionssyndrom (DIOS) (Borowitz D 2005 Sep; De Lisle, R. C. & Borowitz 2013; Gelfond & Borowitz 2013). Eine verlängerte intestinale Passagedauer (Bali et al. 1983; Dalzell et al. 1990; Escobar H 1992 Feb; Lewindon PJ

1998) sowie dehydrierter Stuhl stellen nur einige der Risikofaktoren für eine chronische Obstipation dar. Weitere gastrointestinale Komplikationen sind die Entwicklung eines gastrointestinalen Refluxes, Erkrankungen des hepatobiliären Systems, das Entstehen eines Diabetes mellitus, die Koinzidenz von chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (CED) sowie Zöliakie (Lloyd-Still JD. 1994 Apr; Fluge et al. 2009; Walkowiak et al. 2010) und das erhöhte Karzinomrisiko des GIT's (O'Sullivan & Freedman 2009; De Lisle, R. C. & Borowitz 2013; Gelfond & Borowitz 2013). Des Weiteren liegt in der Regel Sterilität bei männlichen Mukoviszidosepatienten infolge einer obstruktiven Azoospermie vor (Ahmad et al. 2013).

## 1.1 Einführung

Während für die Lunge der Zusammenhang zwischen gestörter mukoziliärer Clearance, Obstruktion, Infektion und Entzündung mit nachfolgender Vernarbung und Organverlust als pathophysiologisches Konzept etabliert ist und die Grundlage der aktuellen, symptomatischen Therapiestrategien darstellt, ist die Bedeutung der intestinalen Beteiligung mit Ausnahme des Mekoniumileus und des DIOS aktuell nicht eindeutig nachvollziehbar. Trotz optimierter, in der Regel hoher Dosen von Pankreasenzymen und einer hochkalorischen Ernährung sind weiterhin Untergewicht, Stuhlauffälligkeiten und gastrointestinale Symptome wie Meteorismus und abdominelle Beschwerden zu beobachten, was auf eine komplexere intestinale Dynamik, unabhängig von der Pankreasfunktion oder der Behandlung mit Pankreasenzympräparaten, hinweist (Baker et al. 2005). Die fibrosierende Kolonopathie, eine bei Mukoviszidosepatienten erstmals 1994 beschriebene Kolostenose aufgrund von Strikturen und Fibrosierungen (Smyth et al. 1994; Smyth 1996), ließ eine chronische Inflammation im Darm analog zur Lunge vermuten. Bei gastrointestinalen Lavagen (GIT Lavagen) ließen sich erhöhte Konzentrationen von Immunglobulin G (IgG), Albumin, Granulozyten Elastase, Interleukin 1 beta (IL-1 $\beta$ ) und Interleukin 8 (IL-8) nachweisen (Croft et al. 1995; Croft NM 1996 Mar).

Im Tiermodell konnten Hinweise auf eine intestinale Inflammation und deren klinische Auswirkungen dargestellt werden. Das Mausmodell der Mukoviszidose zeichnet sich durch eine frühe und schwere intestinale Obstruktion bei geringer pulmonaler Beteiligung aus (Grubb & Gabriel 1997). Mikroskopisch zeigte sich eine Mukusakkumulation in den Krypten und im Lumen des Intestinums (Grubb & Gabriel

1997), die teilweise durch gestörte exozytische Vorgänge der Becherzellen zu erklären ist (Liu et al. 2015). Der die Mikrovilli umgebende Mukus war stark mit gramnegativen Erregern besiedelt. Dieser Zustand bakterieller Besiedlung ist unter dem Begriff small intestinal bacterial overgrowth (SIBO) bekannt (Norkina O 2004). Weiterhin wurde eine eingeschränkte Funktion der Paneth-Körnerzellen sowie eine verlängerte intestinale Transitzeit beschrieben, was möglicherweise durch die Mukusretention bedingt ist und einen zusätzlichen Risikofaktor für SIBO darstellen könnte (Norkina O 2004; De Lisle, Robert C. 2007). Norkina et al. fanden auf genetischer Ebene Hinweise für eine intestinale Entzündungsreaktion. Hierzu wurde das Intestinum von Mausmodellen mittels DNA-Microarrays analysiert. Es stellte sich heraus, dass eine gesteigerte Expression von Genen vorlag, die größtenteils Komponenten des angeborenen Immunsystems kodierten. Auch die histologischen Befunde von Mastzell- und Neutrophileninfiltration im Intestinum von *CFTR* Null-Mäusen, welche in einer speziellen keimfreien Umgebung gehalten wurden, stärken den Verdacht von inflammatorischen Prozessen im GIT (Norkina et al. 2004). Weiterhin stellten De Lisle et al. einen veränderten Metabolismus von Eikosanoiden fest, bei denen eine proinflammatorische Wirkung vermutet wird (De Lisle, Robert C. et al. 2008). Interventionelle Studien zeigten durch den Einsatz von Breitband-Antibiotika eine Reduktion der Mukusakkumulation (De Lisle, Robert C. et al. 2006) und der bakteriellen Besiedlung sowie eine verminderte Expression inflammationsbezogener Gene (Norkina O 2004; De Lisle, Robert C. et al. 2006; Lynch et al. 2013). Diese Ergebnisse lassen einen Zusammenhang zwischen SIBO und intestinaler Inflammation bei *CFTR* Null-Mäusen vermuten. Die Förderung des Mukusabbaus und des -abtransportes durch N-Acetylcystein oder Laxantien führte ebenso zu einer Abnahme der bakteriellen Fehlbesiedlung (De Lisle, Robert C. et al. 2007). Zusätzlich konnte eine verminderte Expression von Genen des angeborenen Immunsystems durch Antibiotika (Norkina O 2004) oder Laxantien beobachtet werden (De Lisle, Robert C. et al. 2007). Diese Ansätze verweisen auf mögliche Therapieoptionen und zeigen die Beeinflussbarkeit der gastrointestinalen Problematik, speziell der intestinalen Inflammation bei *CFTR* Null-Mäusen. Bedeutend sind hierbei die positiven Effekte auf die Versuchstiere: neben der Normalisierung der intestinalen Transitzeit (De Lisle, Robert C. et al. 2007) konnte bei Knockout-Mäusen eine Verbesserung der Gewichtssituation festgestellt werden (Norkina O 2004).

Die Gleichsetzung von humanem und murinem Organismus ist problematisch. Die Schwierigkeit der Übertragung wird deutlich anhand des Fehlens einer pulmonalen Manifestation der Gen-veränderten Mäuse (Grubb & Gabriel 1997). Dennoch zeigen diese Arbeiten einen klinisch relevanten Zusammenhang von intestinaler Mukusakkumulation, Inflammation und negativer klinischer Auswirkung analog zur Lunge auf.

Die Hinweise für das Vorliegen eines gastrointestinalen Entzündungsprozesses bei Mukoviszidose verdichteten sich, trotz der erschwerten Darstellung beim Menschen (De Lisle, R. C. & Borowitz 2013; Munck 2014). Neben der fibrosierenden Kolonopathie (Smyth et al. 1994), zeigte sich eine verlängerte oro-caecale Transitzeit und eine beeinträchtigte Schleimhautbarriere des Dünndarms bei Mukoviszidosepatienten, was sich durch die erhöhte intestinale Permeabilität darstellen ließ (Bali et al. 1983; Dalzell et al. 1990; Escobar H 1992 Feb). Neben den Indizien durch GIT Lavagen (Croft et al. 1995), konnten mithilfe von Kapselendoskopien Mukosaveränderungen wie Erytheme, Erosionen und Ulzerationen in Jejunum und Ileum nachgewiesen werden. Pathologische Befunde wurden sowohl bei pankreassuffizienten als auch bei pankreasinsuffizienten Patienten beobachtet, wobei die zuletzt genannte Gruppe stärker ausgeprägte Schleimhautveränderungen aufwies (Werlin et al. 2010). In der Untersuchung von duodenalen Biopsien konnten Raia et al. eine erhöhte Aktivität von mononuklearen Zellen der Lamina propria belegen, welche verstärkt immunologisch assoziierte Gene exprimierten (Raia V 2000 Mar). Die angeführten Methoden sind von invasivem, aufwendigem Charakter, weshalb in diesen Arbeiten lediglich eine geringe Teilnehmerzahl untersucht wurde. Für weitere Studien zur intestinalen Inflammation bei Mukoviszidosepatienten wurde daher nach nicht-invasiven Diagnosemethoden gesucht.

In den 90ziger Jahren wurde eine Quantifizierung des Leukozytenproteins Calprotectin (Roseth et al. 1992) im Serum und aus Stuhlproben mittels Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) entwickelt. Anfänglich als Zystische Fibrose Antigen beschrieben, wird das Calcium- und Zink bindende Protein der Multigenfamilie S100 seit 1990 als Calprotectin beschrieben (Steinbakk et al. 1990). Beim Vorhandensein von entzündlichen Prozessen oder Zellproliferation wird das antimikrobiell wirkende Calprotectin von neutrophilen Granulozyten, Makrophagen und Monozyten direkt ins Serum oder Darmlumen sezerniert beziehungsweise gelangt nach Leukozytenmigration

ins Darmlumen (siehe Abbildung 1.1) (Roseth et al. 1992; Lee et al. 2012; Pang et al. 2014). Weiterhin wird diskutiert, ob Calprotectin auch aus dem Epithel (Foell et al. 2009) beziehungsweise den Enterozyten stammen könnte (Lee et al. 2012; Pang et al. 2014).

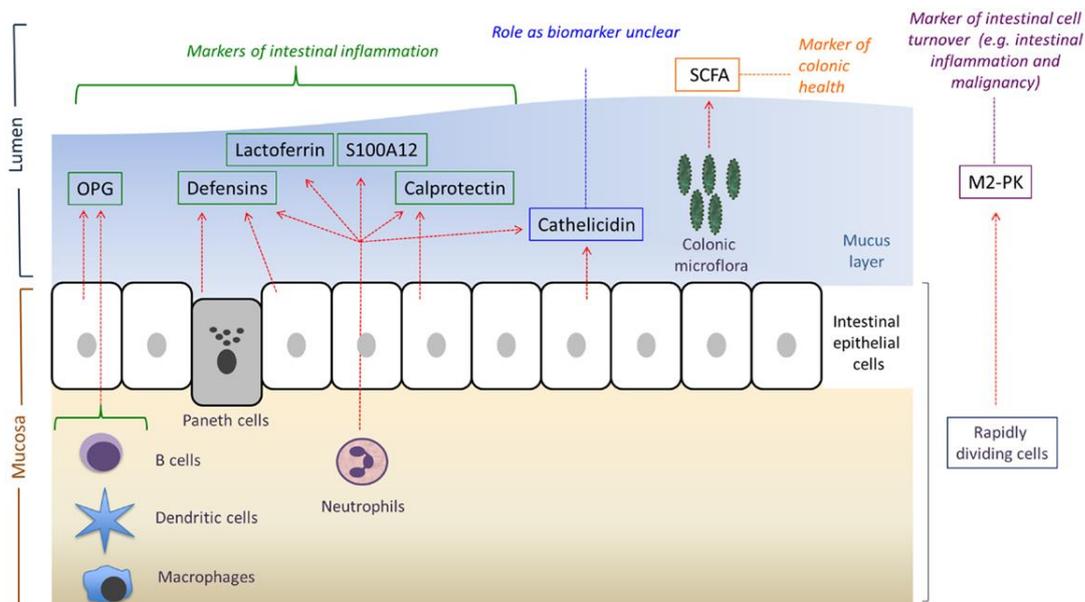


Abb. 1.1: Übersicht fäkaler Biomarker. Der Arbeit von Pang et al. direkt entnommen (Pang et al. 2014). Osteoprotegerin (OPG), kurzkettige Fettsäuren/short-chain fatty acids (SCFA), M2-Pyruvat Kinase (M2-PK)

Mit der Entwicklung Calprotectins als Surrogatparameter aus Stuhlproben, wurden der Gastroenterologie neue diagnostische Wege ermöglicht (Vaos et al. 2013). Das sogenannte fäkale Calprotectin (FC) erwies sich als hilfreich in der Erkennung von CED und zeigte auch bei gastrointestinalen Tumoren einen erhöhten Wert (Roseth et al. 1992; Bunn et al. 2001; Fagerberg et al. 2003; D'Inca et al. 2007). Nach der Vereinfachung der Methodik durch Tibble et al. konnte zwischen CED und funktionellen Beschwerden des GIT (zum Beispiel Reizdarmsyndrom) differenziert werden (Tibble & Bjarnason 2001). Eine weitere diagnostische Möglichkeit stellt die Funktion als Aktivitätsmarker bei Verlaufsuntersuchungen bei CED dar (Aadland & Fagerhol 2002). Im Rahmen der Mukoviszidose kann im Serum erhöhtes Calprotectin (Golden et al. 1996) als Maß der pulmonalen Inflammation bestimmt werden. Eine Verbesserung der Lungenfunktion und des Gewichts durch antibiotische Behandlung ging mit einer Reduktion der Serum Calprotectin Konzentration einher (Ratjen et al.

2012; Sagel et al. 2015). Zusätzlich können anhand einer Sputumanalyse bezüglich Calprotectin weitere Aussagen über den Entzündungsverlauf in der Lunge gewonnen werden (Gray et al. 2010).

Zum einen durch den erfolgreichen Einsatz der FC Bestimmung im gastroenterologischen Bereich zum anderen durch die nicht-invasive und wirtschaftlich günstige Messmethode, lag es nahe dieses aus Stuhl extrahierbare Protein als Parameter für die Entzündung im GIT bei Patienten mit Mukoviszidose zu untersuchen. Dabei zeigten sich erhöhte FC Konzentrationen gegenüber gesunden Kontrollgruppen (Lisowska et al. 2010; Werlin et al. 2010), die deutlich unter den Werten von CED Patienten lagen (Bruzzese et al. 2004). In der Arbeit von Lisowska et al. wurden Mukoviszidosepatienten anhand eines Wasserstoffatemtestes auch auf eine bakterielle Fehlbesiedlung des Dünndarms untersucht (SIBO). Es konnte kein Unterschied der FC Höhe zwischen SIBO positiven und SIBO negativen Mukoviszidosepatienten festgestellt werden. Folglich scheint eine pathogene Dünndarmbesiedlung nicht Hauptbeziehungsweise alleiniger Grund für die intestinale Inflammation bei Mukoviszidose zu sein (Lisowska et al. 2010). Bei Patienten, welche an SIBO jedoch nicht an Mukoviszidose erkrankt sind, zeigte sich sogar kein Hinweis für einen möglichen Zusammenhang zwischen SIBO und intestinaler Inflammation (Montalto et al. 2008; Fundaro et al. 2011). Dass eine modifizierte Mikroflora im GIT dennoch ein wesentlicher Grund für die intestinale Entzündung - zumindest bei Mukoviszidosepatienten - sein könnte, zeigt die Reduktion von erhöhten rektalen NO (Stickstoffmonoxid) Werten und Calprotectin Konzentrationen im Stuhl bei Kindern mit Mukoviszidose oder CED nach Gabe von Probiotika (Bruzzese et al. 2004). Weitere Studien zur Verminderung der FC Konzentration durch Probiotikabehandlung unterstützen diese These (Fallahi et al. 2013; Bruzzese et al. 2014; del Campo et al. 2014).

In den sich anschließenden Diskussionen wurden insbesondere durch Bruzzese et al. die Rolle von abdominellen Beschwerden, die klinisch häufig seitens der Mukoviszidosepatienten berichtet werden (Baker et al. 2005), als mögliche Folge der intestinalen Inflammation hinterfragt (Bruzzese et al. 2004). Gastrointestinale Symptome können im Rahmen einiger Krankheitsbilder (Mekoniumileus, DIOS) oder unabhängig davon auftreten (De Lisle, R. C. & Borowitz 2013) und scheinen nicht durch die Pankreasenzymtherapie beeinflusst zu werden (Baker et al. 2005), was für

eine multifaktorielle Genese spricht. Folglich stellte die Untersuchung des Zusammenhangs von FC zur gastrointestinalen Symptomatik einschließlich Stuhlcharakteristika einen der Hauptaspekte der vorliegenden Arbeit dar. Bei einem positiven Ergebnis könnte zukünftig eine zügige Identifikation von Mukoviszidosepatienten mit intestinaler Inflammation und der Einleitung eines entsprechenden Therapieschemas erfolgen. Darüber hinaus ist die Beziehung von FC zu Mukoviszidose typischen Komplikationen, Begleitmedikation, Gewichts- und Lungensituation aber auch zur Lebensqualität der Patienten sowie zur sonografisch bestimmten Darmwanddicke und Serumparametern Inhalt dieser Studie. Kürzlich erschienene Studien (Halilbasic E 2013; Dhaliwal et al. 2014; Rumman et al. 2014; Więcek et al. 2017) decken teilweise die hier untersuchten Bereiche ab und werden im Diskussionsteil erläutert.

Nach der Analyse der erhobenen Werte und Interpretation im Kontext des aktuellen wissenschaftlichen Kenntnisstandes soll die Frage nach dem diagnostischen Wert des FC als Surrogatparameter für die intestinale Inflammation bei Mukoviszidose geklärt werden. Die Ergebnisse dieser Arbeit könnten Aufschluss bringen inwieweit erhöhte FC Konzentrationen bereits klinisch zum Beispiel anhand der Vorgeschichte erfassbar sind oder aber, ob die Bedeutung des FC hinsichtlich der intestinalen Inflammation neu zu hinterfragen ist.

## 1.2 Zielsetzung

Das Ziel der hier vorgelegten Arbeit ist die Beziehung zwischen FC und den klinischen und anamnestischen Faktoren bei Mukoviszidosepatienten zu beschreiben. Dies erfolgt teilweise im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe und zu Patienten mit CED. Folgende Hypothesen sollen überprüft werden:

- 1) Korreliert FC mit anamnestischen Daten zu Komplikationen und Begleitmedikation, dem Ernährungszustand oder Ergebnissen des Mukoviszidose spezifischen Lebensqualitäts-Fragebogens?
- 2) Gibt es einen Zusammenhang zwischen FC und abdominellen Aspekten, weiteren Stuhlwerten wie der fäkalen Elastase und der Stuhlfettkonzentration oder der Darmwanddicke des Colon ascendens?
- 3) Gibt es einen Zusammenhang von FC und der Lungensituation, charakterisiert durch Lungenfunktion oder bakterielle Besiedlung?
- 4) Gibt es eine Beziehung zwischen FC und der generalisierten Entzündung, gemessen an Serumparametern wie Calprotectin, C-reaktivem Protein (CRP), Gesamtzahl der Neutrophilen und IgG?

## **2 Methodik**

### **2.1 Studiendesign**

Es handelte sich um eine kontrollierte, prospektive Querschnittsstudie, die in der Mukoviszidoseambulanz der Abteilung Allgemeine Pädiatrie und Neonatologie des Zentrums für Kinderheilkunde und Jugendmedizin des Universitätsklinikums Gießen und Marburg (UKGM) am Standort Gießen durchgeführt wurde. In der vorliegenden Arbeit soll der Wert von FC als Surrogatparameter für die intestinale Inflammation beurteilt werden. Nach zusätzlicher Datenerhebung wurden diesen klinische Angaben, Labor- und Funktionsparametern sowie Scoring-Systeme gegenübergestellt. Dafür wurde die Form einer deskriptiven Statistik anhand einer kontrolliert prospektiven Querschnittsuntersuchung gewählt.

### **2.2 Kollektiv**

In der Mukoviszidoseambulanz der Abteilung Allgemeine Pädiatrie und Neonatologie des Universitätsklinikums Gießen wurden Mukoviszidosepatienten für die Studie rekrutiert. Gesunde Geschwister, Eltern und Lebenspartner der Mukoviszidosepatienten bildeten hierbei die gesunde Kontrollgruppe (K). Die zweite Kontrollgruppe setzte sich aus Patienten mit gesicherter CED zusammen, welche in der pädiatrisch-gastroenterologischen Ambulanz der Abteilung Allgemeine Pädiatrie und Neonatologie oder in der Abteilung für Gastroenterologie der Medizinischen Klinik und Poliklinik II des UKGM betreut werden. Festgelegte Ein- sowie Ausschlusskriterien sind der Tabelle 2.1 zu entnehmen.

Tab. 2.1: Ein- und Ausschlusskriterien

	<b>Einschlusskriterien pro Gruppe</b>	<b>Ausschlusskriterien alle</b>
<b>Mukoviszidose Kohorte<sup>1</sup></b>	erhöhte Chloridkonzentration im Schweiß (> 60 mmol/l) bei mindestens zwei Untersuchungen  und/oder Nachweis zweier Mukoviszidose verursachender Mutationen  und/oder pathologische elektrophysiologische Untersuchung <sup>2</sup>	akut oder in den letzten vier Wochen aufgetretene:  - Gastroenteritis mit Durchfall oder Erbrechen - oder gastrointestinale Blutung  - oder abdominelle Operation - oder Infektexazerbation der Atemwege  - oder antibiotische Therapie mit Ausnahme der Dauertherapien
<b>I. Kontrollgruppe</b>	gesunde Geschwister, Eltern oder Lebenspartner von Mukoviszidosepatienten	
<b>II. Kontrollgruppe</b>	gesicherte CED	

<sup>1</sup> Mukoviszidose durch eines der folgenden Kriterien diagnostiziert

<sup>2</sup> zum Beispiel nasale Potentialdifferenzmessungen

## 2.3 Studienverlauf

Die Datenerhebung erfolgte in einem Zeitraum vom 01.09.2010 bis 11.01.2012 im Rahmen der regelmäßigen Routineuntersuchungen. Alle potentiellen Teilnehmer wurden über Studieninhalt und -ziele aufgeklärt. Dabei wurde Raum für Fragen gegeben, die Einhaltung des Datenschutzes erläutert und auf die Möglichkeit verwiesen, jederzeit ohne Nennung von Gründen das Einverständnis zurückzuziehen. Zur Aufnahme in die Studie wurde das Einverständnis aller teilnehmenden Probanden beziehungsweise deren Sorgeberechtigten, nach Aufklärung über die Studie, schriftlich eingeholt. Patienten unter 18 Jahren wurden im Beisein ihrer Eltern informiert. Die Aufnahme in die Studie erfolgte bei Vorliegen der Unterschriften von Kind und Eltern und wenn alle Einschlusskriterien und kein Ausschlusskriterium erfüllt werden konnten.

Nach Einwilligung zur Studienteilnahme wurden die Mukoviszidosepatienten beziehungsweise ihre Eltern gebeten zum nächsten Ambulanztermin den krankheitsspezifischen Fragebogen zur Lebensqualität und eine Stuhlprobe mitzubringen oder per Post zuzuschicken. Der Fragebogen betreffs anamnestischer Angaben, inklusive abdominellem Beschwerdeteil, wurde während des Termins durch einen abdominalen Untersuchungsbefund komplettiert. Die Routineuntersuchung

beinhaltete eine Lungenfunktionsmessung bei Patienten ab 4 Jahren sowie eine Blutentnahme. Hier war ein zusätzliches Serumröhrchen für die Messung von Calprotectin erforderlich.

Die Untersuchung der gesunden Kontrollgruppe beschränkte sich auf die Stuhlparameter. Die Eltern und gesunden Geschwisterkinder wurden direkt in der Ambulanz während eines Termins informiert und über die Stuhlabgabe aufgeklärt. In einigen Fällen wurde zusätzlich der Lebenspartner in die Studie aufgenommen. Nach erfolgter Einwilligung und Unterschrift wurde ein Termin für die Zusendung der Stuhlprobe vereinbart, die vorbeigebracht oder per Postweg zugestellt werden konnte.

Bei allen CED Patienten wurden nach Zustimmung zur Studienteilnahme anthropometrische Daten und ein klinischer Befund vom Abdomen erhoben. Des Weiteren wurde mittels Aktivitätsindizes (Harvey & Bradshaw 1980; Hyams et al. 1991) der derzeitige Krankheitszustand eingeschätzt. Zusätzlich zur routinemäßigen Blutentnahme erfolgten im Rahmen der Studie die Entnahme von Serum Calprotectin und die Abgabe einer Stuhlprobe.

Das Studienprotokoll wurde von der Ethikkommission der Universität Gießen beraten und genehmigt (Antrag-Nummer 124/10).

## **2.4 Datenerhebung und Messmethoden**

Die Studie setzt sich aus der Analyse von Routineparametern und -untersuchungen sowie aus ergänzenden Elementen in Form von Fragebögen und in der Bestimmung weiterer klinischer Werte zusammen. Dies wird in Tabelle 2.2 veranschaulicht. Anschließend werden die einzelnen Messverfahren erläutert um die angewandte Methodik zu demonstrieren.

Tab. 2.2: Erhobene Parameter

<b>Methode</b>	<b>Erläuterung</b>
Anamnese	Geschlecht Alter, Altersgruppe Mukoviszidose Komplikationen <sup>2</sup> , Begleitmedikation <sup>2</sup> , Stuhlcharakteristik <sup>2</sup>
Fragebögen	Mukoviszidose Lebensqualitäts-Fragebogen <sup>1,2</sup> CED Aktivitätsindex <sup>3</sup>
Befunde	Anthropometrie <sup>4</sup> Lungenfunktion und Sputumuntersuchung <sup>2</sup> Serumparameter <sup>4</sup> abdominelle Aspekte <sup>4</sup> Stuhlparameter

<sup>1</sup> exemplarisch ist im Anhang ein Fragebogen für Jugendliche ab 14 Jahren hinterlegt

<sup>2</sup> betrifft nur Mukoviszidosepatienten

<sup>3</sup> betrifft nur CED Patienten

<sup>4</sup> betrifft Mukoviszidose- und CED Patienten

Elf Mukoviszidose-, zwei CED Patienten sowie ein Studienteilnehmer der Kontrollgruppe gaben keine Stuhlprobe ab und wurden daher nicht in die Datenanalyse aufgenommen.

#### 2.4.1 Anamnese

Bei allen Studienteilnehmern wurden das Alter und das Geschlecht erhoben. Zusätzlich erfolgte eine Kategorisierung der unterschiedlichen Altersgruppen in Erwachsene (> 18 Jahre), Jugendliche (13 bis 18 Jahre) und Kinder (< 13 Jahre). Mukoviszidosepatienten wurden zusätzlich zu typischen Komplikationen und Manifestationen (Mekoniumileus, DIOS, Diabetes mellitus, Hepatopathie, abdominelle Operationen, Laktoseunverträglichkeit), zu studienrelevanten Aspekten ihrer aktuellen Medikation {Pankreasenzymtherapie, Mukolytikum, Probiotika, Protonenpumpen-Inhibitoren (PPI) oder Antazida, inhalative Glukokortikoide, antibiotische Behandlung (inhalativ, oral, inhalativ und oral)} und zu Stuhlcharakteristika (durchschnittliche Stuhlanzahl der letzten 5 Tage, Stuhlkonsistenz, abdominelle Schmerzen) befragt.

## 2.4.2 Fragebögen

### 2.4.2.1 Cystic fibrosis questionnaire-revised

Um beurteilen zu können wie sich die Erkrankung und ihre Therapie auf das alltägliche Leben der Patienten auswirkt, initiierte die Firma Hoffmann - La Roche 1994 die Entwicklung des Cystic fibrosis questionnaire (CFQ) am Institut für Gesundheitsökonomie und Lebensqualitätsforschung ARCOS in Frankreich (Henry et al. 2003). Später erfolgten Abänderungen der französischen Originalversion. Daraufhin wurde der CFQ für Deutschland und Amerika adaptiert und übersetzt. Nachdem diese Instrumente validiert worden waren, konnten die Versionen weiterentwickelt werden. Aus den Überarbeitungen durch die deutsche CFQ-Arbeitsgruppe<sup>1</sup> entstand der Cystic fibrosis questionnaire-revised (CFQ-R) (Wenninger et al. 2003).

Der Fragebogen lag für drei Altersgruppen vor. Es gab jeweils eine Version für Kinder von 6 - 13 Jahren (CFQk-R) und für deren Eltern (CFQe-R), eine für Jugendliche ab 14 (CFQ14+R) und eine für Erwachsene ab 18 Jahren (CFQ18+R). Für die Beantwortung der Items - mit unterschiedlicher Item-Anzahl je Fragebogen (Kinder=35, Eltern=44, Jugendliche oder Erwachsene=50) - konnte zwischen vier Antwortmöglichkeiten gewählt werden, die mit einem entsprechenden Punktwert von 1 - 4 kodiert waren. Daraus wurden unterschiedliche Skalen generiert, die sich nochmals anhand von Oberbegriffen in drei Module unterscheiden ließen (Tab. 2.3). Es handelte sich dabei um eine freie Skalierung ohne weitere Einteilung der Ergebnisse. Die Spannbreite der Skalenwerte erstreckte sich von 0 bis einschließlich 100, wobei 0 eine schlechte und 100 Skalenpunkte eine sehr gute Lebensqualität im jeweiligen Bereich darstellten.

---

<sup>1</sup> Abteilung für pädiatrische Pneumologie und Immunologie, Charité-Virchow-Klinikum, Humboldt-Universität, Augustenburgerplatz 1, 13353 Berlin (k. Wenninger, D. Staab, U. Wahn); ARCOS Health Economics and Quality of Life Research Institute, 31 rue Ernest Renan, 92130 Issy Les Moulinaux, Frankreich (B. Henry)

Tab. 2.3: CFQ-R Auswertung

<b>Modul</b>	<b>Skala</b>	<b>Abkürzung</b>
<b>Lebensqualitätsprofil</b>	körperliches Wohlbefinden psychisches Wohlbefinden Energie soziale Einschränkung Schulschwierigkeiten <sup>1</sup> oder Alltagsleben <sup>2</sup> Körperbild Essstörung Therapiebelastung	KÖR PSY ENE SOZ SCH TAG BLD ESS THE
<b>Allgemeine Gesundheits-einschätzung</b>	subjektive Gesundheits-einschätzung	SGE
<b>Symptome</b>	Gewichtsprobleme Respiratorische Symptome Gastrointestinale Symptome	GEW RES GAS

<sup>1</sup> nur bei Kindern von 6 bis 13 Jahren

<sup>2</sup> nur bei Jugendlichen ab 14 und Erwachsenen ab 18 Jahren

Während Eltern, Jugendliche und Erwachsene ihre Fragebögen selbständig ausfüllten, wurde für Kinder die Form eines Interviews gewählt. Dies erfolgte mithilfe zweier unterschiedlicher Farbkarten. Sie beinhalteten jeweils vier Antwortoptionen (orange Karte: stimmt genau/ stimmt eher/ stimmt eher nicht/ stimmt überhaupt nicht; blaue Karte: immer/ oft/ manchmal/ nie), von denen immer nur eine ausgewählt werden konnte. Nach dem Vorlesen der CFQ-R Einleitung, erfolgte die Erklärung der Antwortmöglichkeiten anhand von Beispielen und dann die Durchführung des Interviews unter Verwendung der genannten Karten.

Für die vorliegende Arbeit wurden die Skalen Essstörung (ESS), Gewichtsprobleme (GEW) und gastrointestinale Symptome (GAS) ausgewählt. Die verwendeten Fragebögen wurden uns von der CFQ-Arbeitsgruppe um Fr. PD Dr. Staab zur Verfügung gestellt (Weninger et al. 2003). Zur Auswertung wurde die Software Gilead CFQ-R herangezogen (Version 1.0, Gilead Sciences GmbH, Foster City, USA, 2008).

#### 2.4.2.2 Aktivitätsindex für CED Patienten

Bei CED Patienten wurde die derzeitige Krankheits-Aktivität mittels Aktivitätsindizes erfasst. Diese beinhalten neben Fragen zu abdominellen Beschwerden und Stuhlcharakteristik zusätzlich unter anderem Labor- und gastroenterologische Befunde und sind daher nicht als reine Fragebögen anzusehen. Bei erwachsenen CED Patienten wurde der Harvey-Bradshaw-Index benutzt (Harvey & Bradshaw 1980), während für Kinder der Aktivitätsindex nach Hyams Crohn's disease activity index (CDAI) zur Anwendung kam (Hyams et al. 1991).

#### 2.4.3 Befunde

##### 2.4.3.1 Anthropometrie

Die Bestimmung von Körpergröße (m) und -gewicht (kg) ist zur Objektivierung der Ernährungssituation insbesondere bei gastrointestinalen Erkrankungen wie Mukoviszidose und CED unerlässlich. Beide Parameter werden routinemäßig bei den vierteljährlichen Kontrolluntersuchungen in der Ambulanz bestimmt. Eine bessere Vergleichbarkeit innerhalb der Alters- und Gewichtsklasse bietet hierbei der body mass index (BMI). Der standardmäßigen Berechnung<sup>2</sup> liegen Referenzwerte für Kinder (Kromeyer-Hauschild et al. 2001) und Erwachsene (Hemmelmann et al. 2010) zugrunde (Arbeitsgemeinschaft Adipositas Kindes- und Jugendalter). Um eine altersabhängige Analyse zu ermöglichen, wurde mittels Softwarepaket auf der Internetseite des Labors Limbach {JavaScript Implementierung für Typo3 der Firma Limbach} die Standardabweichung des BMI, standard deviation score (SDS) und folgend als BMI Z Score beschrieben, bestimmt (MVZ Labor Dr. Limbach & Kollegen GbR 2013). Zusätzlich wurde eine Variable für Untergewicht aus den anthropometrischen Daten abgeleitet. Dabei wurde ein BMI < 18,5 kg/m<sup>2</sup> bei Erwachsenen beziehungsweise ein Perzentilenwert < 15 bei unter 18 Jährigen als untergewichtig definiert (Zhang & Lai 2004).

##### 2.4.3.2 Pulmonale Kriterien

Als Parameter für den klinischen Zustand der Mukoviszidosepatienten wurde im Rahmen des routinemäßigen Lungenfunktionstests das forcierte expiratorische

---

<sup>2</sup> BMI = Körpergewicht (kg) geteilt durch das Quadrat der Körpergröße (cm<sup>2</sup>)

Volumen der ersten Sekunde in Prozent des altersabhängigen Vorhersagewertes (FEV<sub>1</sub> % pred) herangezogen. Es galten die Standards der European Respiratory Society (ERS) und der American Thoracic Society (ATS) (Miller et al. 2005) sowie die Referenzwerte für Kinder und Jugendliche (Zapletal et al. 1987) und Erwachsene (Knudson et al. 1983). Zwei Mukoviszidosepatienten im Alter von 4 Jahren wurden aufgrund von Arbeiten zu Lungenfunktionsparametern bei Vorschulkindern mit eingeschlossen (Zapletal & Chalupova 2003; Beydon et al. 2007; Gaffin et al. 2010).

Im Zuge der Routineuntersuchungen wurden Sputumproben zur mikrobiologischen Untersuchung der Lunge bei allen Studienteilnehmern der Mukoviszidose Kohorte gewonnen. Die Analyse erfolgte im **Institut für Medizinische Mikrobiologie des UKGM am Standort Gießen**. Für die Untersuchung wurde die Prävalenz der Besiedlung mit *Staphylococcus aureus* und *Pseudomonas aeruginosa* ausgewählt.

#### 2.4.3.3 Serumparameter

Ein weiterer Bestandteil der Kontrolluntersuchungen ist die Blutentnahme zur Analyse von biochemischen Parametern. Serumproben standen sowohl von den Mukoviszidosepatienten als auch von der CED Gruppe zur Verfügung. Bei der gesunden Kontrollgruppe wurde auf eine Blutentnahme verzichtet, da dies zu reinen Studienzwecken nicht nötig erschien. Die unten aufgeführten Parameter wurden bis auf Serum Calprotectin innerhalb der Routinediagnostik im Institut für Laboratoriumsmedizin, Pathobiochemie und Molekulare Diagnostik des UKGM bestimmt (Tab. 2.4).

Tab. 2.4: Serumparameter und Referenzwerte des UKGM

Analyt	Alter	Referenzbereich	Einheit
Calprotectin		< 10	mg/l
CRP <sup>1</sup>	Erwachsene	< 1,0	mg/l
IgG <sup>2</sup>	2 - 6 Jahre	5,0 - 14,4	g/l
	6 - 13 Jahre	5,7 - 15,1	g/l
	> 13 Jahre	8,0 - 17,0	g/l
neutrophile Granulozyten	2 - 5 Jahre	1,5 - 8,5	Giga/l
	5 - 12 Jahre	1,6 - 8,0	Giga/l
	> 12 Jahre	1,8 - 7,7	Giga/l

<sup>1</sup> C-reaktives Protein (CRP)

<sup>2</sup> Immunglobulin G (IgG)

Das Calprotectin im Serum wurde mittels CALPROLAB™ Calprotectin ELISA (CALP0270, Calpro AS, Lysaker, Norwegen) gemessen. Dazu wurde bei der Blutentnahme ein zusätzliches EDTA-Röhrchen für die Untersuchung gewonnen und bis zur Messung bei -20 °C eingefroren.

Die Probenaufbereitung begann, nachdem die Proben und Reagenzien Zimmertemperatur erreicht hatten. Die Blutentnahmeröhrchen wurden für 10 min bei 3000 rpm zentrifugiert. Um ein Ansaugen von Leukozyten zu verhindern, wurden nur die oberen Zweidrittel des Serums verwendet und dazu mit einer Pipette entnommen. Im letzten Schritt der Vorbereitung wurde das Serum mit dem Probenverdünnungspuffer in einem Verhältnis von 1:20 verdünnt. Die Testdurchführung verlief ab diesem Punkt analog der Messung von FC<sup>3</sup>. Um die Konzentration des Calprotectins im Serum in der Einheit mg/l angeben zu können, wurden die Ergebnisse mit 1/50 multipliziert. Zur Auswertung wurden die gemessenen Extinktionen bei 450 nm Wellenlänge nach Abzug der Referenzwellenlänge von 620 nm herangezogen. Der Normbereich wurde hierbei laut Studienprotokoll für einen Wert < 10 mg/l definiert (Gray et al. 2010).

---

<sup>3</sup> Übersicht der Testdurchführung für CALPROLAB™ Calprotectin ELISA im Anhang hinterlegt, abgewandelte Darstellung aus dem Calprolab Manual

#### 2.4.3.4 Abdominelle Untersuchung

Im Rahmen der Routineuntersuchung wurde bei Mukoviszidosepatienten ein Untersuchungsbefund des Abdomens, welcher Meteorismus, Resistenzen im Unterbauch, Hepato- und Splenomegalie erfassen sollte, durch einen erfahrenen Arzt der Mukoviszidoseambulanz erhoben. Gleiches erfolgte in der gastroenterologischen Ambulanz bei den CED Patienten.

#### 2.4.3.5 Kolonwanddicke

Die Kolonwanddicke wurde im rechten Unterbauch am Colon ascendens bei Mukoviszidosepatienten ausgemessen. Die Untersuchung erfolgte durch einen erfahrenen Radiologen, der in Bezug auf Mukoviszidose typische Komplikationen, Begleitmedikation, Lebensqualität, abdominelle Aspekte sowie alle im Rahmen der Studie erhobenen Befunde (Lungenfunktion, Pankreasfunktion, Stuhl- und Serummarker) verblindet war. Es wurde ein Linearschallkopf mit 8 MHz benutzt. Der Normbereich der Darmwanddicke im Colon ascendens wurde bei  $< 2$  mm festgelegt (E. Pfadler 1999).

#### 2.4.3.6 Stuhlparameter

Es wurden Probenröhrchen bereitgestellt, in welche die Teilnehmer zu Hause eine ca. zwei Esslöffel große Menge ihres Stuhls füllten. Es wurde darum gebeten, dass Probenröhrchen schnellstmöglich auf dem Postweg zuzusenden oder direkt in der Mukoviszidoseambulanz abzugeben. Bei Eintreffen in der Ambulanz durfte der Stuhl nicht älter als 72 h sein, um die Qualität der Probe nicht zu gefährden. Die Proben wurden mit vollständigem Namen und Geburtsdatum des Studienteilnehmers sowie mit Tag und Uhrzeit der Abnahme gekennzeichnet und umgehend bei  $-20$  °C bis zur Weiterverarbeitung eingefroren. Ein weiterer wichtiger Aspekt war das Zeitintervall der Blutentnahme bezogen auf die Stuhlabgabe. Ein anfänglich angenommenes Zeitfenster von 72 h war aufgrund logistischer Schwierigkeiten nicht realisierbar, sodass ein Zeitintervall von  $\pm 4$  Wochen angestrebt und bei 90 % der Patienten eingehalten wurde. Während bei Mukoviszidosepatienten die Stuhlabgabe und Blutentnahme häufig auf denselben Tag fielen (Zeitraum zwischen Stuhlabgabe und Blutentnahme, Median=0 Tage), erfolgte die Blutentnahme bei CED Patienten häufig vor der Stuhlabgabe (Zeitraum zwischen Stuhlabgabe und Blutentnahme, Median=6 Tage).

Bei allen Studienteilnehmern erfolgte die Auswertung der FC Konzentration. Die fäkale Elastase wurde bei den Mukoviszidose- und CED Patienten untersucht, während die Stuhlfettkonzentration nur für die Mukoviszidosekohorte bestimmt wurde.

### Fäkales Calprotectin

Nachdem alle Teilnehmer ihre Stuhlproben eingesandt hatten, begannen die Analysen des FC mittels ELISA. Zuerst mussten alle Proben aufgetaut und auf Raumtemperatur (18 - 25 °C) gebracht werden. Für die folgende Messung wurde CALPROLAB™ Calprotectin ELISA (CALP0270, Calpro AS, Lysaker, Norwegen) verwendet. Die mitgelieferten Reagenzien, Proben und Kontrollen wurden ebenfalls auf Raumtemperatur gebracht und die Konzentrate - wie Probenverdünnungspuffer, Waschlösung und Stuhlextraktionspuffer - wurden nach vorgegebenem Verhältnis verdünnt.

Vor Beginn der Testdurchführung wurde aus den Stuhlproben ein Stuhlprobenextrakt mittels Einwiegen nach den Vorgaben des CALPROLAB Handbuchs hergestellt<sup>4</sup>. Das entstandene Extrakt entsprach einer Verdünnung von 1:50 der Stuhlproben. Durch Zugabe des Probenverdünnungspuffers ergab sich ein Verhältnis von 1:100. Nachdem 100 µl des verdünnten Probenextraktes, der Kontrollen und Standards in je 2 Wells der Mikrotiterplatte pipettiert (Doppelbestimmung) und für 40 ± 5 min auf einem Plattenschüttler inkubiert worden sind, wurden die Flüssigkeiten aus den Vertiefungen verworfen. Es folgte der Waschvorgang mit drei mal 300 µl Waschlösung und danach die Zugabe von 100 µl Enzymkonjugat, bestehend aus Meerrettichperoxidase, Immunaффinitäts-aufgereinigten Antikörpern gegen Calprotectin. Nach nochmaliger Inkubation auf dem Plattenschüttler für 40 ± 5 min und Waschen (wie oben geschildert) wurde 100 µl TMB Enzymsubstrat hinzugegeben. Nach 20 - 30 min Inkubation unter Abdeckung wurden 100 µl Stopplösung hinzugefügt. Es erfolgte ein Farbumschlag von blau zu gelb. Die Messung der Extinktion bei 450 nm Wellenlänge wurde einmal ohne und einmal gegen eine Referenzwellenlänge von 620 nm durchgeführt. Es wurden die Ergebnisse, die ohne Referenzwellenlänge ermittelt wurden, in die Datenbank aufgenommen. Aufgrund der Doppelbestimmung erfolgte vorher eine Mittelung der Ergebnisse.

---

<sup>4</sup> Übersichtstabelle zur Extraktionsmethode im Anhang (CALPROLAB™)

Mithilfe der Standards wurde eine 4-Parameter Funktionskurve für die Auswertung erstellt. Anhand dieser Kalibrationskurve konnten die FC Konzentrationen (ng/ml) anhand ihrer Optical Density-Werte (OD-Werte) abgelesen werden. Um die Konzentration des FC in der Einheit  $\mu\text{g/g}$  angeben zu können, wurden die Ergebnisse mit fünf multipliziert. Eine Erhöhung des FC wurde ab einem Wert von  $100 \mu\text{g/g}$  Stuhl festgelegt (Fagerberg et al. 2003; Bruzzese et al. 2004; Diamanti et al. 2010).

## Fäkale Elastase

Die fäkale Elastase, synonym als pankreatische Elastase 1 bezeichnet, wurde mithilfe des Schebo® Pankreatische Elastase 1-Stuhltest (Artikel-Nr.: 07, ScheBo® Biotech AG, Gießen) für die Mukoviszidose- und CED Kohorte untersucht. Zuerst wurden die Proben, die Mikrotiterplatte und alle Lösungen auf Raumtemperatur gebracht. Es erfolgte eine Stuhlextraktion mittels Einwiegemethode nach den Vorgaben des Handbuchs<sup>5</sup>. Zur weiteren Vorbereitung gehörte die Herstellung des Proben-/Waschpuffers. Mit diesem erfolgte die Verdünnung des Stuhlprobenextraktes in einem Verhältnis von 1:250 ( $10 \mu\text{l}$  Stuhlprobenextrakt +  $2,5 \text{ ml}$  Proben-/Waschpuffer).

Von den Kontrollen, Standards, Blank (entspricht Proben-/Waschpuffer) und Proben wurden  $50 \mu\text{l}$  in je 2 Vertiefungen pipettiert (Doppelbestimmung) und dann für 30 min bei Raumtemperatur inkubiert. Der Waschvorgang beinhaltete das Verwerfen der Flüssigkeiten aus den Vertiefungen, dreimaliges Waschen mit je  $250 \mu\text{l}$  Proben-/Waschpuffer (Einwirkzeit bei jedem Waschen 1 - 2 min) und das Ausklopfen der Mikrotiterplatte auf sauberen Papiertüchern. Dann wurden  $50 \mu\text{l}$  des monoklonalen anti Elastase 1-Biotin-Peroxidase-Streptavidin-Komplexes in jede Vertiefung dazu pipettiert und abgedeckt für 15 min bei Raumtemperatur inkubiert. Der anschließende Waschvorgang erfolgte wie oben geschildert. Danach wurden  $100 \mu\text{l}$  Substratlösung pro Vertiefung hinzugegeben. Nach fünfzehnminütiger Inkubation unter Abdeckung bei Raumtemperatur wurde in jede Vertiefung  $100 \mu\text{l}$  Stopplösung pipettiert. Die Extinktionsmessung erfolgte bei  $405 \text{ nm}$  innerhalb von 5 - 30 min nach Zugabe der Stopplösung. Zur Auswertung wurden die gemessenen Extinktionen unter einer Referenzwellenlänge von  $492 \text{ nm}$  herangezogen und zuvor der Mittelwert berechnet.

---

<sup>5</sup> Übersichtstabelle zur Extraktionsmethode im Anhang (ScheBo®)

Die Ergebnisse wurden mit der ELISA-Software ausgewertet. Dazu war es nötig die Belegung der Platten hinsichtlich der Blanks (= je zwei Vertiefungen mit Proben-/Waschpuffer), Standards und Proben zu definieren. Die log-log Skalierung bei linearer Regression diente hierbei als Methodik. Ein Wert  $< 200 \mu\text{g/g}$  Stuhl wurde laut Studienprotokoll als PI gewertet (Löser et al. 1996).

## Stuhlfett

Die Stuhlfettbestimmung erfolgte bei Mukoviszidosepatienten im Rahmen der Routineuntersuchungen mittels Nahinfrarot-Analyse (NIRA) vor dem Einfrieren der Proben. Die Messdaten wurden im Labor für Gastroenterologie und Ernährung der Medizinische Klinik III im Zentrum für Innere Medizin des UKGM erhoben. Als normwertig wurde laut Studienprotokoll eine Stuhlfettkonzentration unter 7 % angesehen.

## 2.5 Statistik

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Softwarepaket PASW Statistics 21 (Version 21.0.0, IBM Corporation, Armonk, 2012). Zur Darstellung der Daten wurde neben SPSS auch Microsoft Excel benutzt (Version 14.0.6112.5000, Microsoft Corporation, Redmont, 2010).

Vor der deskriptiven und explorativen Auswertung wurden die Daten mithilfe des Shapiro-Wilk-Tests auf Normalverteilung untersucht. Für normalverteilte Daten wurden Lageparameter wie Mittelwert (MW), Standardabweichung (SD) und Extremwerte als Minimum (Min) und Maximum (Max) dargestellt. In der vorliegenden Arbeit waren die Parameter IgG, der BMI Z Score und die Absolutwerte von Kolonwanddicke und  $\text{FEV}_1 \%$  pred normalverteilt. Für nicht normalverteilte Variablen wurde der Median (MD) sowie die 25. und 75. Perzentile (range) als Lagemaße bestimmt.

Um Unterschiede bei quantitativen Variablen von Mukoviszidosepatienten, CED Patienten und Gesunden zu überprüfen wurde bei Normalverteilung der t-Test für unabhängige Stichproben hinzugezogen, während bei nicht normalverteilten Variablen der Mann-Whitney-U-Test für 2 beziehungsweise der Kruskal-Wallis-Test für k unabhängige Stichproben verwendet wurde. Die Verteilung von kategorialen Variablen wie Geschlecht, Altersgruppe, abdomineller Tastbefund, Untergewicht, PI und

intestinale Inflammation wurden mittels Chi-Quadrat Test auf Zusammenhänge überprüft.

Das FC stellte sich bezüglich der gesamten Studiengruppe und innerhalb der Mukoviszidosepatienten als nicht normalverteilt heraus. Korrelationen zu intervallskalierten Parametern wurden daher stets durch den Korrelationskoeffizienten ( $r$ ) nach Spearman angegeben. Die Abweichung der Mediane des FC innerhalb kategorialer Variablen wurde mittels Mann-Whitney-U-Test für 2 unabhängige Stichproben beziehungsweise dem Kruskal-Wallis-Test für  $k$  unabhängige Stichproben berechnet. Um den Einfluss mehrerer Variablen auf die FC Konzentration zu untersuchen, wurde eine Regressionsanalyse durchgeführt.

Die graphische Auswertung erfolgte anhand Box-Whisker-Plots und Häufigkeitsdiagrammen. Bei allen Testverfahren galt eine Irrtumswahrscheinlichkeit von  $p < 0,05$  als statistisch signifikant.

## 3 Ergebnisse

### 3.1 Basisdaten

#### 3.1.1 Kohortenbeschreibung

Es wurden 50 Patienten mit Mukoviszidose (MV), 26 Patienten mit CED und 24 gesunde Teilnehmer als Kontrollgruppe (K) in die Studie eingeschlossen, die überwiegend aus Kindern und Jugendlichen bestand und hinsichtlich der Geschlechterverteilung gleich war. Wegen fehlender Normalverteilung wurden für die Altersverteilung der Median und die 25. und 75. Perzentile (range) benutzt, wobei ein Unterschied im Alter bei den Mukoviszidose- und den CED Patienten berechnet wurde (Tab. 3.1).

Tab. 3.1: Kohortenbeschreibung der Studienteilnehmer

	<b>MV</b>	<b>CED</b>	<b>K</b>	<b>p- Wert</b>
<b>N</b>	50	26	24	
<b>Geschlecht m (%)</b>	25 (50 %)	15 (58 %)	11 (46 %)	<i>n.s.</i>
<b>Alter in Jahren (range)</b>	13 (10 - 17)	16 (15 - 19)	16 (12 - 23)	<i>n.s.</i> MV-K <i>n.s.</i> CED-K <i>p=0,017</i> MV-CED
<b>Altersgruppen<sup>1</sup></b>				
<b>Kinder (%)</b>	20 (40 %)	3 (12 %)	6 (25 %)	<i>p=0,038</i>
<b>Jugendliche (%)</b>	21 (42 %)	17 (65 %)	9 (37,5 %)	
<b>Erwachsene (%)</b>	9 (18 %)	6 (23 %)	9 (37,5 %)	

<sup>1</sup> Aufteilung in Kinder < 13 Jahre, Jugendliche 13 - 18 Jahre und Erwachsene > 18 Jahre

#### 3.1.2 Mukoviszidosekohorte

Bei der Mukoviszidosekohorte handelte es sich zum Zeitpunkt der Untersuchung um eine Gruppe mit mildem Krankheitszustand, was unter anderem den moderaten FEV<sub>1</sub> % pred Ergebnissen zu entnehmen ist (Tab. 3.2). Die Pankreasfunktion der Mukoviszidosepatienten wurde mithilfe der fäkalen Elastase bei einem Cut off Wert < 200 µg/g Stuhl bestimmt und zeigte innerhalb der Mukoviszidosegruppe mit 96 % einen hohen Anteil an pankreasinsuffizienten Patienten. Dies war übereinstimmend mit der Anzahl der Patienten, die mit Pankreasenzymen substituiert wurden.

Tab. 3.2: Klinischer Status der Mukoviszidosepatienten

	<b>N</b>	<b>positiv (%)</b>	<b>negativ (%)</b>
<b>PI<sup>1</sup></b>	50/50	48 (96 %)	2 (4 %)
<b>Untergewicht</b>	50/50	16 (32 %)	34 (68 %)
<b>Pseudomonas aeruginosa</b>	50/50	11 (22%)	39 (78 %)
<b>Staphylococcus aureus</b>	50/50	33 (66 %)	17 (34 %)
		<b>MW ± SD</b>	<b>Min - Max</b>
<b>FEV<sub>1</sub> % pred</b>	50/50	73 ± 13	37 - 95
<b>BMI Z Score</b>	50/50	-0,8 ± 1,1	-3,4 - 2,0
		<b>MD</b>	<b>range</b>
<b>Stuhlfett %</b>	44/50	7,8	5,3 - 10,0
<b>fäkale Elastase µg/g</b>	50/50	0	0 - 0,3

<sup>1</sup> Pankreasinsuffizienz (PI) lag vor bei fäkale Elastase Werten < 200 µg/g

Die Mukoviszidosekohorte war zu annähernd einem Drittel untergewichtig (16/50). Im Kontrast dazu standen die Ergebnisse der subjektiven Selbstwahrnehmung mittels CFQ-R für die Skalen Essprobleme und Gewichtsstörung. Die Werte für die gastrointestinale Symptomatik lagen trotz niedrigerer Ergebnisse noch im guten Wertebereich (Tab. 3.3).

Tab. 3.3: Lebensqualitätsergebnisse des CFQ-R bei Mukoviszidosepatienten

<b>CFQ-R</b>	<b>N</b>	<b>MD</b>	<b>range</b>
<b>Skalenwert</b>			
<b>ESS</b>	44/50	100	78 - 100
<b>GEW</b>	44/50	100	33 - 100
<b>GAS</b>	44/50	78	67 - 93

Deutung der Werte: 0 entspricht schlechtem Skalenwert (Min), 100 entspricht gutem Skalenwert (Max); Essstörung (ESS), Gewichtsprobleme (GEW), gastrointestinale Symptome (GAS)

Die häufigsten Begleiterkrankungen der untersuchten Mukoviszidosepatienten waren die Hepatopathie, abdominelle Voroperationen, Mekoniumileus und Diabetes mellitus (Tab. 3.4). Weiterhin wurde eine Auswahl an für die Studie relevanten Medikamenten getroffen. Dabei zeigten sich ein hoher Anteil an Patienten, die mit Mukolytika behandelt wurden sowie der fehlende Einsatz von Probiotika und Laxantien (Tab. 3.5).

Tab. 3.4: Aktuelle Begleiterkrankungen und Komplikationen der Mukoviszidosepatienten

	<b>N</b>	<b>positiv (%)</b>	<b>negativ (%)</b>
<b>Mekoniumileus</b>	49/50	9 (18 %)	40 (82 %)
<b>DIOS</b>	49/50	6 (12 %)	43 (88 %)
<b>Diabetes mellitus</b>	49/50	5 (10 %)	44 (90 %)
<b>Hepatopathie<sup>1</sup></b>	49/50	18 (37 %)	31 (63 %)
<b>abdominelle Operation</b>	48/50	11 (23 %)	37 (77 %)
<b>Laktoseunverträglichkeit<sup>2</sup></b>	45/50	4 (9 %)	41 (91 %)

<sup>1</sup> Definition: persistierende Erhöhung der Leberwerte und/oder Leberauffälligkeiten bei der klinischen Untersuchung (Hepatomegalie) oder Sonografie (zum Beispiel Echogenitätsanhebung)

<sup>2</sup> anamnestisch erfasst und nicht anhand eines Tests validiert

Tab. 3.5: Studienrelevante Medikation bei Mukoviszidosepatienten zum Untersuchungszeitpunkt

	<b>N</b>	<b>positiv (%)</b>	<b>negativ (%)</b>
<b>Pankreasenzymtherapie</b>	50/50	48 (96 %)	2 (4 %)
<b>Mukolytikum</b>	49/50	39 (80 %)	10 (20 %)
<b>PPI<sup>1</sup>/Antazida</b>	49/50	8 (16 %)	41 (84 %)
<b>Probiotika</b>	49/50	0	49 (100 %)
<b>Laxantien</b>	46/50	0	46 (100 %)
<b>Glukokortikoide inhalativ</b>	49/50	7 (14 %)	42 (86 %)
<b>Antibiotika</b>	49/50	21 (43 %)	28 (57 %)
		<b>Inhalativ</b>	5 (10 %)
		<b>Oral</b>	8 (16 %)
		<b>inhalativ + oral</b>	8 (16 %)

<sup>1</sup> Protonenpumpen-Inhibitoren (PPI)

Die Mehrheit der Mukoviszidosepatienten berichtete über 2 oder weniger Stühle pro Tag sowie eine unauffällige Stuhlkonsistenz. Ein Viertel der Patienten beschrieb eine breiige Stuhlbeschaffenheit. Abdominelle Schmerzen traten bei annähernd der Hälfte der Mukoviszidosepatienten auf (Tab. 3.6).

Tab. 3.6: Abdominelle Schmerzen und Stuhlcharakteristik der Mukoviszidosepatienten

	<b>N</b>	<b>positiv (%)</b>	<b>negativ (%)</b>
<b>abdominelle Schmerzen</b>	49/50	24 (49 %)	25 (51 %)
<b>Leicht</b>		17 (35 %)	
<b>Mittel</b>		3 (6 %)	
<b>Schwer</b>		4 (8 %)	
<b>Stuhlanzahl in Tagen (d)<sup>1</sup></b>	49/50		
<b>1x jeden 2. Tag</b>		1 (2%)	
<b>1x/d</b>		22 (45 %)	
<b>1-2x/d</b>		8 (16 %)	
<b>2x/d</b>		11 (23 %)	
<b>3x/d</b>		3 (6 %)	
<b>4x/d</b>		1 (2 %)	
<b>5x/d</b>		3 (6 %)	
<b>Stuhlkonsistenz</b>	49/50		
<b>Fest</b>		36 (73 %)	
<b>Breiiig</b>		12 (25 %)	
<b>Flüssig</b>		0	
<b>Blutbeimengung</b>		1 (2 %)	

<sup>1</sup> Durchschnitt der letzten 5 Tage

Die sonografische Untersuchung des Darms erfolgte bei 45/50 Mukoviszidosepatienten. Bei einem angenommenen Grenzwert von 2 mm konnte eine verdickte Darmwand des Colon ascendens bei über 80 % der Mukoviszidosepatienten bestimmt werden. Erhöhte Lageparameter {MW ± SD (Min - Max): 2,7 ± 0,9 mm (1,0 - 4,7 mm)} wurden ebenfalls ermittelt (Abb. 3.1)

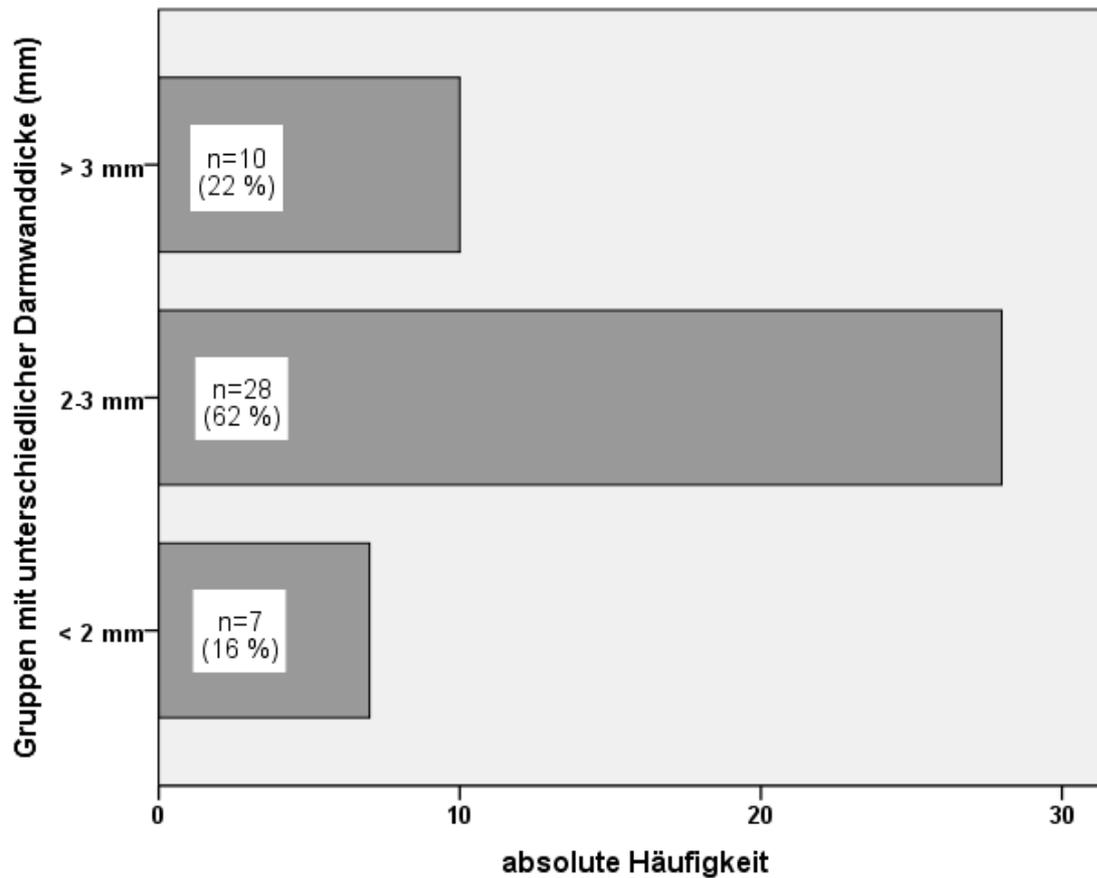


Abb. 3.1: Darmwanddicke im Colon ascendens bei Mukopolysaccharidosepatienten - absolute Häufigkeit verschiedener Darmwanddicken (Normalbefund < 2 mm)

### 3.1.3 CED Kohorte

Bei der CED Kohorte handelte es sich um ein Patientenkollektiv mit moderatem bis mildem Krankheitszustand bei Morbus Crohn und Colitis ulcerosa zum Untersuchungszeitpunkt (Tab. 3.7). Die anhand von CDAI und Harvey-Bradshaw Index ermittelte Krankheitsaktivität war bei keinem CED Patient als hoch einzustufen. Der überwiegende Teil der Patienten war normalgewichtig. Es konnte kein Unterschied zur Anzahl der untergewichtigen Patienten der Mukopolysaccharidosekohorte ermittelt werden.

Tab. 3.7: Klinischer Status der CED Patienten

	<b>N</b>	<b>positiv (%)</b>	<b>negativ (%)</b>
<b>Diagnose</b>	26/26		
<b>Morbus Crohn</b>		23 (88 %)	
<b>Colitis ulcerosa</b>		3 (12 %)	
<b>Aktivitäts-Score</b>	24/26		
<b>Remission</b>		18 (75 %)	
<b>leichte Aktivität</b>		6 (25 %)	
<b>hohe Aktivität</b>		0	
<b>Untergewicht</b>	26/26	4 (15 %)	22 (85 %)
	<b>N</b>	<b>MD</b>	<b>Range</b>
<b>BMI Z Score</b>	26/26	-0,2 ± 1,0	-2,3 - 1,5

### 3.1.4 Gemeinsam erhobene Parameter bei CED und Mukoviszidosepatienten

Hinsichtlich der Höhe der Serumparameter unterschieden sich Mukoviszidose- und CED Patienten nicht (Tab. 3.8). Es konnten erhöhte Werte für CRP bei beiden Patientengruppen bei annähernd der Hälfte der Teilnehmer gefunden werden, während dies für die anderen Parameter bei einer geringeren Patientenanzahl zutraf (Tab. 3.9).

Tab. 3.8: Serumparameter von Mukoviszidose- und CED Patienten

	<b>MV (N)</b>	<b>MD (range)</b>	<b>CED (N)</b>	<b>MD (range)</b>	<b>P-Wert</b>
<b>CRP (mg/l)</b>	49/50	0,4 (0,4 - 6,1)	23/26	1,7 (0,4 - 10,5)	<i>n.s.</i>
<b>neutrophile Granulozyten (Giga/l)</b>	47/50	4,6 (3,6 - 6,6)	19/26	5,5 (3,5 - 7,6)	<i>n.s.</i>
<b>Serum Calprotectin (mg/l)</b>	49/50	2,7 (1,8 - 5,0)	25/26	2,5 (1,3 - 5,9)	<i>n.s.</i>
		<b>MW ± SD (Min - Max)</b>		<b>MW ± SD (Min - Max)</b>	
<b>IgG (g/l)</b>	48/50	11,6 ± 4,4 (1,6 - 19,9)	12/26	9,9 ± 2,1 (6,9 - 12,9)	<i>n.s.</i>

Tab. 3.9: Übersicht der Mukoviszidose- und CED Patienten mit erhöhten Serumparametern

	<b>MV (N)</b>	<b>positiv (%)</b>	<b>CED (N)</b>	<b>positiv (%)</b>
<b>CRP</b> <b>&gt; 1 mg/l</b>	49/50	22 (45 %)	23/26	12 (52 %)
<b>neutrophile</b> <b>Granulozyten</b> <b>Giga/l<sup>1</sup></b>	47/50	7 (15 %)	19/26	4 (21 %)
<b>Serum</b> <b>Calprotectin</b> <b>&gt; 10 mg/l</b>	49/50	1 (2%)	25/26	1 (4 %)
<b>IgG g/l<sup>1</sup></b>	48/50	9 (19 %)	12/26	0

<sup>1</sup> altersabhängige Erhöhung von IgG (2 - 6 Jahre 5,0 - 14,4 g/l; 6 - 13 Jahre 5,7 - 15,1 g/l; > 13 Jahre 8,0 - 17,0 g/l) und der neutrophilen Granulozyten (2 - 5 Jahre 1,5 - 8,5 Giga/l; 5 - 12 Jahre 1,6 - 8,0 Giga/l; > 12 Jahre 1,8 - 7,7 Giga/l), Referenzbereiche aus dem Labor des UKGM

Die Untersuchung des Abdomens ergab bei CED Patienten weder Hepato- noch Splenomegalie, aber ein stärkeres Vorkommen von Resistenzen im Unterbauch im Vergleich zu Mukoviszidosepatienten (p=0,029). Ein geblähtes Abdomen wurde zu ähnlichen Verhältnissen bei beiden Patientengruppen dokumentiert (Tab. 3.10).

Tab.3.10: Abdomineller Tastbefund bei Mukoviszidose- und CED Patienten

	<b>MV (N)</b>	<b>positiv (%)</b>	<b>CED (N)</b>	<b>positiv (%)</b>
<b>Meteorismus</b>	49/50	7 (14 %)	26/26	5 (19 %)
<b>Resistenz</b>	49/50	4 (8 %)	26/26	7 (27 %)
<b>Hepatomegalie</b>	49/50	3 (6 %)	26/26	0
<b>Splenomegalie</b>	49/50	2 (4 %)	26/26	0

### 3.2 Stuhlparameter

Die Tabelle 3.11 zeigt die erhobenen Stuhlparameter mit signifikanten Unterschieden von fäkaler Elastase und FC zwischen den drei untersuchten Gruppen. Die FC Konzentrationen bei Mukoviszidosepatienten lagen signifikant höher im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe, jedoch unter den Werten der CED Patienten (Abb. 3.2). Aufgrund dieser Messwerte konnten Eigenschaften wie die Pankreasfunktion, anhand der fäkalen Elastase, und die intestinale Inflammation, mithilfe des FC Werts, abgeleitet werden. Letztere ist festgelegt durch FC Konzentrationen über 100 µg/g und lag demnach bei 70 % der Mukoviszidose- und annähernd 100 % bei CED Patienten vor. In der gesunden Kontrollgruppe wurden erhöhte FC Konzentrationen bei 8 % der

Studienteilnehmer gemessen. In den folgenden Tabellen sind die FC Konzentrationen in der Einheit  $\mu\text{g/g}$  Stuhl angegeben.

Tab. 3.11: Stuhlwerte und abgeleitete Funktionen

	<b>MV</b> <b>MD (range)</b>	<b>CED</b> <b>MD (range)</b>	<b>K</b> <b>MD (range)</b>	<b>p-Wert</b>
<b>fäkales Calprotectin <math>\mu\text{g/g}</math> (MD, range)</b>	182 (66 - 363)	587 (270 - 1659)	17 (7 - 42)	<i>p</i> <0,001 MV-CED <i>p</i> <0,001 MV-K <i>p</i> <0,001 CED-K
<b>N</b>	50/50	26/26	24/24	
<b>fäkale Elastase <math>\mu\text{g/g}</math> (MD, range)</b>	0 (0 - 0,3)	579 (336 - 579)	/	<i>p</i> <0,001
<b>N</b>	50/50	26/26	/	
	<b>MV</b> <b>N (%)</b>	<b>CED</b> <b>N (%)</b>	<b>K</b> <b>N (%)</b>	<b>p-Wert</b>
<b>erhöhte Stuhlfettkonzentration (&gt; 7%)</b>	28 (64 %)	/	/	
<b>N</b>	44/50	/	/	
<b>Pankreasinsuffizienz (FE* &lt;200 <math>\mu\text{g/g}</math>)</b>	48 (96 %)	3 (12 %)	/	<i>p</i> <0,001
<b>N</b>	50/50	26/26	/	
<b>intestinale Inflammation (FC &gt; 100 <math>\mu\text{g/g}</math>)</b>	35 (70 %)	25 (96 %)	2 (8 %)	<i>p</i> <0,001
<b>N</b>	50/50	26/26	24/24	

\* fäkale Elastase (FE)

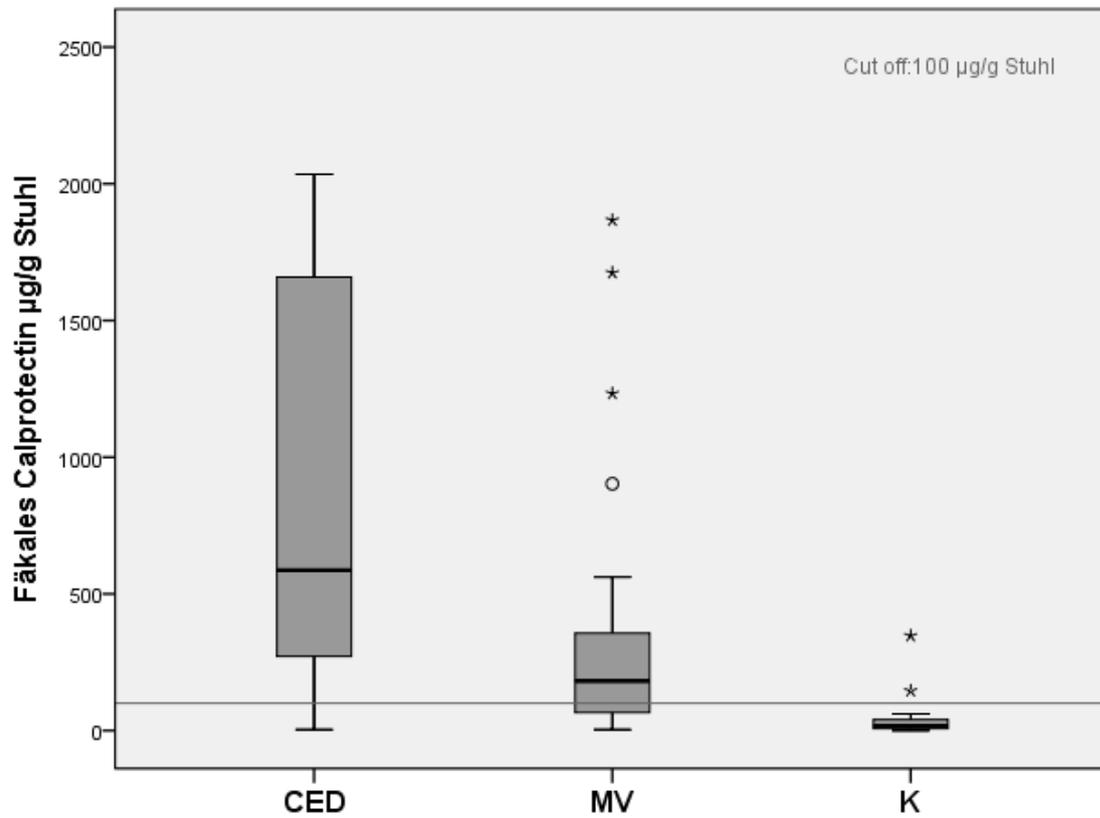


Abb. 3.2: Verteilung des FC innerhalb der einzelnen Gruppen, Median und range für CED (587 µg/g, 270 - 1659 µg/g), Mukoviszidose (182 µg/g, 66 - 363 µg/g) und K (19 µg/g, 7 - 45µg/g). Mittelwertvergleiche von Mukoviszidose zu CED ( $p < 0,001$ ), Mukoviszidose zu K ( $p < 0,001$ ) und CED zu K signifikant ( $p < 0,001$ ) nach Mann-Whitney-U-Test

Die FC Konzentration zeigte bei keiner der drei Teilnehmergruppen eine altersabhängige Verteilung (Tab. 3.12):

Tab. 3.12: Verteilung von FC auf unterschiedliche Altersgruppen

	Kinder	Jugendliche	Erwachsene	<i>p-Wert</i>
<b>MV</b>	166	167	298	<i>n.s.</i>
<b>MD (range)</b>	(43 - 273)	(92 - 397)	(169 - 643)	
<b>N (%)</b>	20 (40 %)	21 (42 %)	9 (18 %)	
<b>CED</b>	595	992	276	<i>n.s.</i>
<b>MD (range)</b>	(543 - 2035*)	(310 - 992)	(226 - 437)	
<b>N (%)</b>	3 (12 %)	17 (65 %)	6 (23 %)	
<b>K</b>	20	31	8	<i>n.s.</i>
<b>MD (range)</b>	(11 - 110)	(10 - 45)	(2 - 41)	
<b>N (%)</b>	6 (25 %)	10 (37 %)	9 (37 %)	

\* anstelle der 75. Perzentile (durch SPSS nicht berechnet) ist hier das Maximum dargestellt

### 3.3 Statistische Tests zur Analyse von FC

Im Folgenden wurden die Fragen der Zielstellung betrachtet und dabei untersucht, wie sich FC zu den unterschiedlichen in der Studie erhobenen Merkmalen verhielt. Die FC Konzentrationen wurden innerhalb der Mukoviszidosekohorte beschrieben und teilweise mit den Ergebnissen der CED Patienten oder der gesunden Kontrollgruppe verglichen.

#### 3.3.1 Korreliert FC mit anamnestischen Daten zu Komplikationen und Begleitmedikation, dem Ernährungszustand oder Ergebnissen des Lebensqualitäts-Fragebogens bei Mukoviszidosepatienten?

Das Vorhandensein eines Diabetes mellitus oder einer abdominalen Operation in der Anamnese zeigte bei Mukoviszidosepatienten einen Zusammenhang zu hohen FC Konzentrationen (Tab. 3.13). Bei den weiteren Mukoviszidose typischen Komplikationen sowie der medikamentösen Therapie konnte keine Beziehung zu erhöhten FC Werten ermittelt werden (Tab. 3.14). Die Höhe der FC Konzentrationen verteilte sich unabhängig von der Ausprägung des jeweiligen Charakteristikums. Beispielhaft dafür ist die Einnahme von Antibiotika gezeigt (Abb. 3.3).

Tab. 3.13: Zusammenhang von FC Konzentrationen und Mukoviszidose typischen Begleiterkrankungen

	<b>positiv (%)</b>	<b>MD (range)</b>	<b>negativ (%)</b>	<b>MD (range)</b>	<b>p-Wert</b>
<b>Mekoniumileus</b>	9 (18 %)	298 (145 - 648)	40 (82 %)	166 (57 - 340)	<i>n.s.</i>
<b>DIOS</b>	6 (12 %)	135 (60 - 1723)	43 (88 %)	197 (66 - 340)	<i>n.s.</i>
<b>Diabetes mellitus</b>	5 (10 %)	332 (279 - 1289)	44 (89 %)	171 (57 - 354)	<i>p=0,025</i>
<b>Hepatopathie</b>	18 (37 %)	297 (151 - 386)	31 (63 %)	156 (54 - 346)	<i>n.s.</i>
<b>abdominelle Operation</b>	11 (23 %)	383 (175 - 903)	37 (77 %)	167 (51 - 338)	<i>p=0,036</i>
<b>Laktoseunverträglichkeit</b>	4 (9 %)	273 (86 - 374)	41 (91 %)	167 (59 - 315)	<i>n.s.</i>

Tab. 3.14: Zusammenhang von FC Konzentrationen und medikamentöser Therapie der Mukoviszidosepatienten

	<b>positiv (%)</b>	<b>MD (range)</b>	<b>negativ (%)</b>	<b>MD (range)</b>	<b>p-Wert</b>
<b>Pankreasenzymtherapie<sup>1</sup></b>	48 (96 %)	192 (78 - 376)	2 (4 %)	27 (6 - 47)*	<i>n.s.</i> ( <i>p=0,051</i> )
<b>Mukolytikum</b>	39 (80 %)	187 (82 - 394)	10 (20 %)	138 (21 - 363)	<i>n.s.</i>
<b>PPI/Antazida</b>	8 (16 %)	261 (181 - 508)	41 (84 %)	167 (59 - 370)	<i>n.s.</i>
<b>Glukokortikoide inhalativ</b>	7 (14 %)	224 (64 - 356)	42 (86 %)	182 (63 - 386)	<i>n.s.</i>
<b>Antibiotika</b>	21 (43 %)	296 (84 - 416)	28 (57 %)	171 (65 - 330)	<i>n.s.</i>
inhalativ	5 (10 %)	332 (216 - 407)			
oral	8 (16 %)	225 (47 - 387)			
inhalativ + oral	8 (16 %)	261 (64 - 817)			

<sup>1</sup> range entspricht den Werten der beiden pankreassuffizienten Patienten

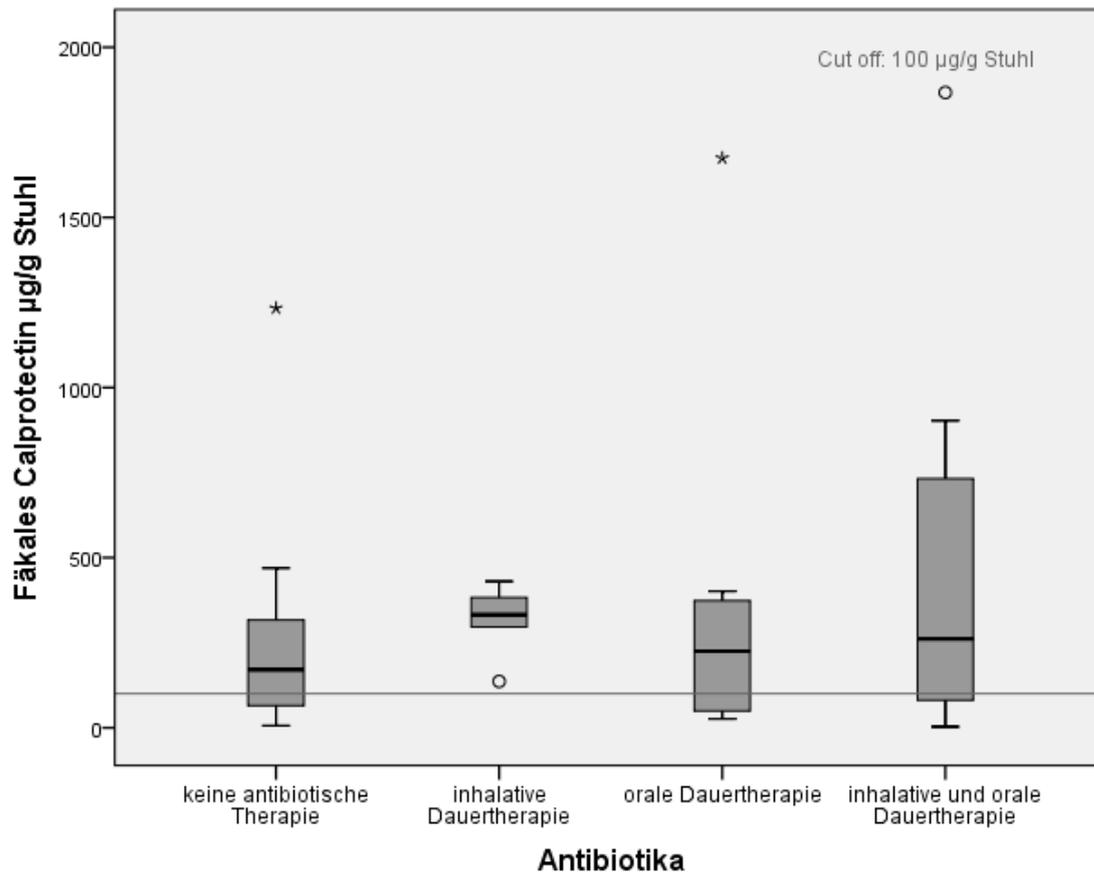


Abb. 3.3: Verteilung von FC auf unterschiedliche Applikationsformen der Antibiose bei Mukoviszidosepatienten (n.s.)

Ein Unterpunkt in diesem Teil der Aufgabenstellung befasste sich mit dem Ernährungsstatus der Mukoviszidosepatienten. Das Vorliegen des Risikofaktors Untergewicht oder der BMI Z Score bei Mukoviszidosepatienten zeigte keine Auswirkung auf die Höhe des FC Wertes (Tab. 3.15). Normalgewichtige Mukoviszidosepatienten wiesen teilweise höhere FC Werte auf als Patienten mit Untergewicht. Im Vergleich dazu wurden die anthropometrischen Daten der CED Patienten hinzugezogen, welche ebenfalls auf keinen Zusammenhang zwischen dem Stuhlmarker FC und einem schlechteren Ernährungszustand deuteten.

Tab. 3.15: Gewichtssituation der Mukoviszidose- und CED Patienten bezogen auf FC

	<b>positiv (%)</b>	<b>MD (range)</b>	<b>negativ (%)</b>	<b>MD (range)</b>	<b>p-Wert</b>
<b>MV</b>	16 (32 %)	187	34 (68 %)	181	<i>n.s.</i>
<b>Untergewicht</b>		(57 - 370)		(74 - 363)	
<b>CED</b>	4 (15 %)	786	22 (85 %)	578	<i>n.s.</i>
<b>Untergewicht</b>		(552 - 1699)		(266 - 1659)	
	<b>Korrelationskoeffizient r (Spearman)</b>				<b>p-Wert</b>
<b>MV BMI Z Score</b>	r= -0,107				<i>n.s.</i>
<b>CED BMI Z Score</b>	r= -0,227				<i>n.s.</i>

Um die Lebensqualität bei Mukoviszidosepatienten zu beurteilen, wurde der CFQ-R benutzt, wobei die Skalen für Essstörung (ESS), Gewichtsprobleme (GEW) und gastrointestinale Symptome (GAS) besonders im Vordergrund standen. Anhand des Fragebogens wurde mithilfe von Items ein Skalenwert ermittelt, wobei das Minimum 0 für eine schlechte Lebensqualität und das Maximum 100 für eine sehr gute Lebensqualität standen (Tab.3.3). Der Korrelationskoeffizient nach Spearman bezüglich FC war für keine der Skalen signifikant (Tab.3.16). Dies wird stellvertretend für alle drei Skalen durch die Abbildung 3.4 gezeigt. Betrachtet man den Bereich der hohen FC Konzentrationen, so fällt auf, dass diese in dem Wertebereich für eine leicht ausgeprägte bis fehlende gastrointestinale Symptomatik liegen. Vergleichbare Ergebnisse fanden sich für die anderen beiden Skalen. Eine Gruppenbildung mit Skalenwerten von > 75, 75 bis 50 und < 50 zeigte keinen signifikanten Effekt.

Tab. 3.16: Ausgewählte Skalen des CFQ-R bezogen auf FC bei Mukoviszidosepatienten

	<b>Korrelationskoeffizient r (Spearman)</b>	<b>p-Wert</b>
<b>CFQ-R ESS</b>	r= 0,065	<i>n.s.</i>
<b>CFQ-R GEW</b>	r= 0,066	<i>n.s.</i>
<b>CFQ-R GAS</b>	r= 0,158	<i>n.s.</i>

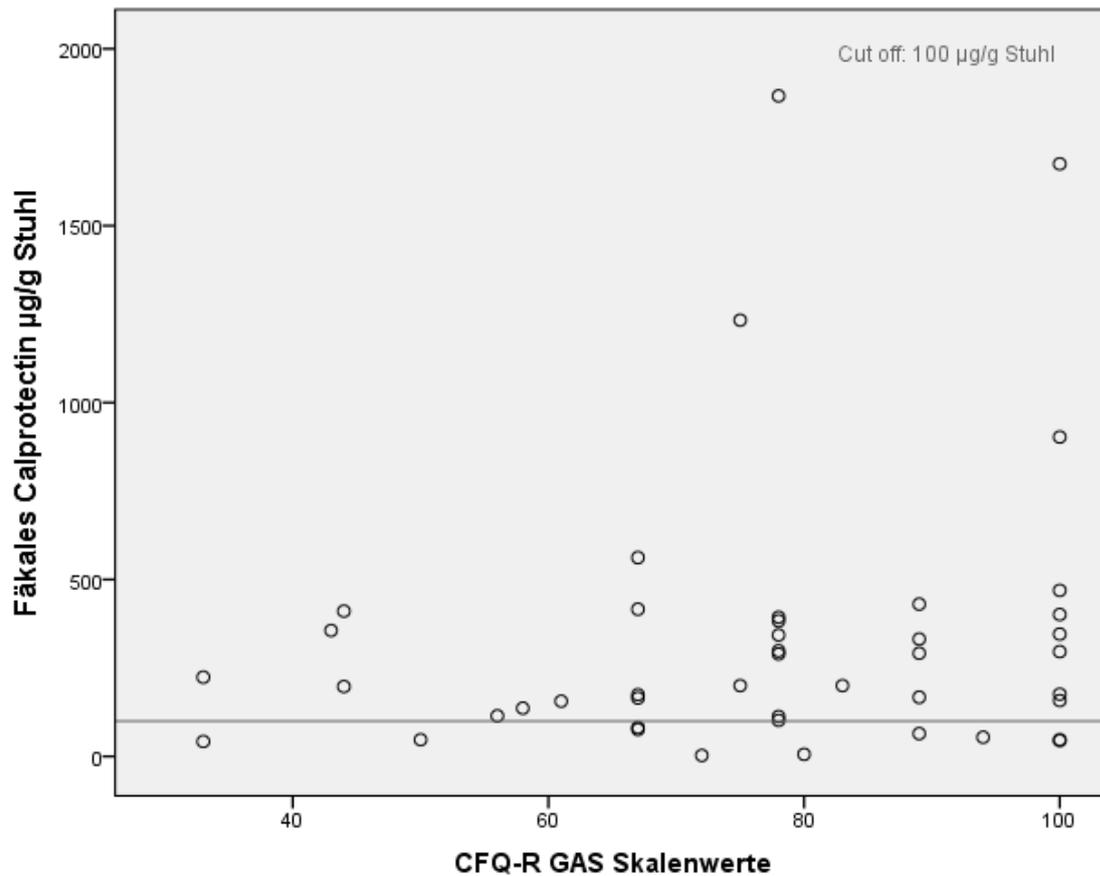


Abb. 3.4: Verteilung des FC bezogen auf die Skala gastrointestinale Symptome (GAS) des CFQ-R, mögliche Skalenwerte von 0 bis 100, ein niedriger Skalenwert steht für schlechte Lebensqualität und ein hoher für eine gute Lebensqualität in diesem Bereich

### 3.3.2 Gibt es einen Zusammenhang zwischen FC und abdominalen Aspekten, weiteren Stuhlwerten wie der fäkalen Elastase und der Stuhlfettkonzentration oder der Darmwanddicke des Colon ascendens?

Dass erhöhte FC Werte womöglich nicht mit der Symptomatik des GIT zusammenhängen, konnte durch weitere Befunde dieser Studie belegt werden. Bei der klinischen Untersuchung des Abdomens konnte weder bei Mukoviszidose- noch bei CED Patienten ein Zusammenhang zum FC ermittelt werden (Tab. 3.17).

Tab. 3.17: Abdomineller Tastbefund bei Mukoviszidose- und CED Patienten bezogen auf die FC Konzentrationen

	<b>positiv (%)</b>	<b>MD (range)</b>	<b>negativ (%)</b>	<b>MD (range)</b>	<b>p-Wert</b>
<b>MV</b>					
<b>Meteorismus</b>	7 (14 %)	66 (19 - 401)	42 (86 %)	199 (80 - 363)	<i>n.s.</i>
<b>Resistenz</b>	4 (8 %)	101 (31 - 283)	45 (92 %)	197 (70 - 388)	<i>n.s.</i>
<b>Hepatomegalie</b>	3 (6 %)	42 (10 - 903)*	46 (94 %)	192 (74 - 363)	<i>n.s.</i>
<b>Splenomegalie</b>	2 (4 %)	10 (102)*	47 (96 %)	197 (66 - 383)	<i>n.s.</i>
<b>CED<sup>1</sup></b>					
<b>Meteorismus</b>	5 (19 %)	992 (131 - 1953)	21 (81 %)	580 (276 - 1532)	<i>n.s.</i>
<b>Resistenz</b>	7 (27 %)	1659 (561 - 1827)	19 (73 %)	360 (260 - 1159)	<i>n.s.</i>

<sup>1</sup> keine Hepato- oder Splenomegalie bei den CED Patienten

\* Absolutwerte der zugehörigen Patienten angegeben

Mukoviszidosepatienten wurden zu abdominellen Schmerzen und zur Stuhlcharakteristik befragt (Tab. 3.18). Es konnte kein Trend von hohen FC Konzentrationen zu den Stuhlcharakteristika berechnet werden. Es zeigte sich eher eine inverse Korrelation mit hohen FC Ergebnissen bei milder Symptomatik beziehungsweise Schmerzfreiheit, wenn abdominelle Schmerzen gegen die FC Konzentrationen aufgetragen wurden (Abb. 3.5).

Tab. 3.18: Stuhlcharakteristik und abdominelle Schmerzen bezogen auf die FC Konzentrationen bei Mukoviszidosepatienten

	<b>N (%)</b>	<b>MD (range)</b>	<b>p-Wert</b>
<b>abdominelle Schmerzen</b>			<i>n.s.</i>
<b>keine</b>	25 (51 %)	200 (79 - 375)	
<b>leicht</b>	17 (35 %)	198 (78 - 406)	
<b>mittel</b>	3 (6 %)	136 (54 - 224)*	
<b>schwer</b>	4 (8 %)	57 (26 - 93)	
<b>Stuhlanzahl in Tagen (d)</b>			<i>n.s.</i>
<b>1x jeden 2. Tag</b>	1 (2%)	411*	
<b>1x/d</b>	22 (45 %)	182 (69 - 405)	
<b>1-2x/d</b>	8 (16 %)	248 (126-334)	
<b>2x/d</b>	11 (23 %)	136 (45 - 383)	
<b>3x/d</b>	3 (6 %)	224 (19 - 292)*	
<b>4x/d</b>	1 (2 %)	115*	
<b>5x/d</b>	3 (6 %)	66 (39 - 903)*	
<b>Stuhlkonsistenz</b>			<i>n.s.</i>
<b>fest</b>	36 (73 %)	199 (78 - 376)	
<b>breiig</b>	12 (25 %)	136 (46 - 383)	
<b>Blutbeimengung</b>	1 (2 %)	42*	

\* Absolutwerte aller zugehörigen Patienten angegeben

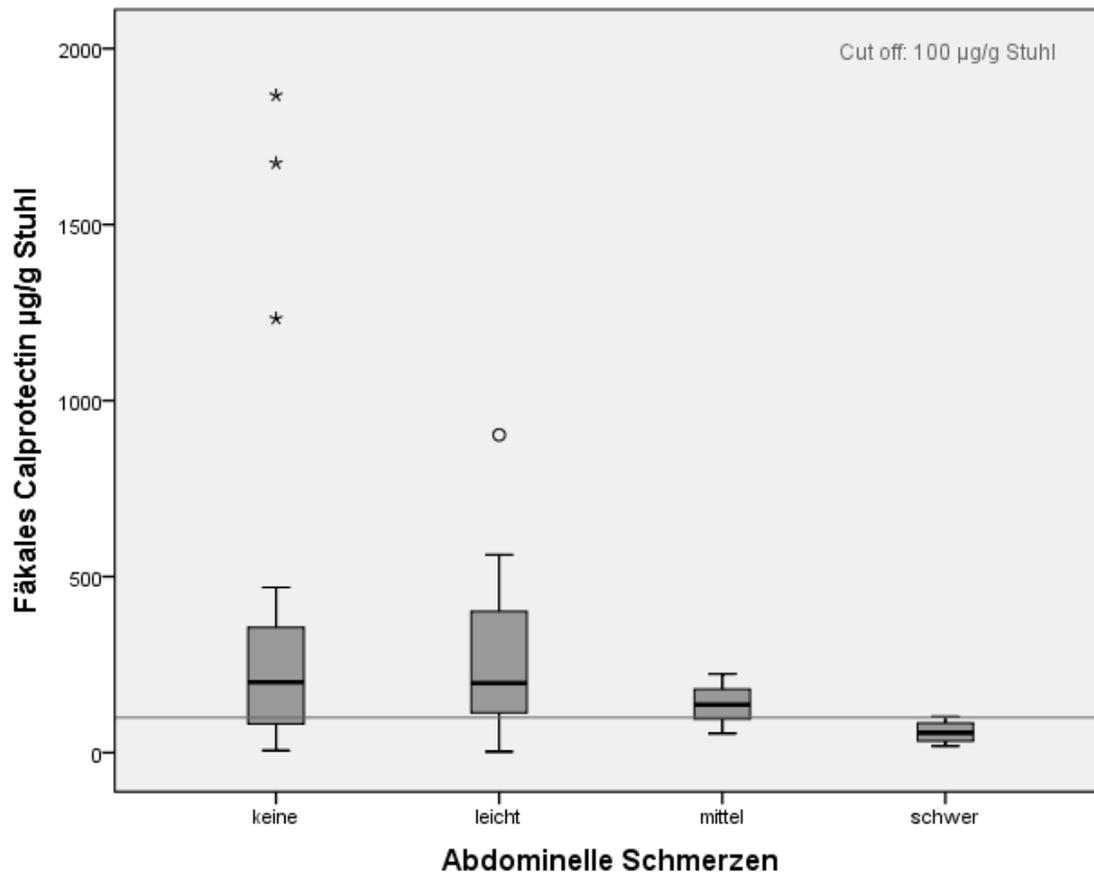


Abb. 3.5: Verteilung von FC bezogen auf unterschiedlich starke, abdominelle Schmerzen bei Mukoviszidosepatienten (n.s.)

Die Extremwerte des FC unterstützen die Hypothese, dass hohe FC Konzentrationen eher bei Mukoviszidosepatienten in gutem klinischem Zustand messbar sind und sich der überwiegende Teil der FC Werte davon unabhängig auf die unterschiedlichen bisher dargestellten Merkmale verteilt.

Es konnte keine Korrelation zwischen den absoluten Werten der Darmwanddicke von Mukoviszidosepatienten zur FC Konzentration gefunden werden (Tab. 3.23). Eine Unterteilung der Mukoviszidosepatienten in Gruppen mit unterschiedlicher Darmwanddicke zeigte signifikante Unterschiede zwischen der Patientengruppe mit normaldicker Darmwand und den anderen beiden Gruppen mit Werten über 2 mm für die Darmwanddicke des Colon ascendens (Tab. 3.19).

Tab. 3.19: Zusammenhang der Darmwanddicke von Mukoviszidosepatienten zur FC Konzentration

	<b>N (%)</b>	<b>MD (range)</b>	<b>p-Wert</b>
<b>Darmwanddicke</b>			<i>p=0,04</i>
< 2 mm (1)	7 (16 %)	45 (19 - 66)	<i>p=0,017</i> (1) zu (2)
2-3 mm (2)	28 (62 %)	212 (105 - 354)	<i>n.s.</i> (2) zu (3)
> 3 mm (3)	10 (22 %)	186 (105 - 412)	<i>p=0,025</i> (3) zu (1)
<b>Korrelationskoeffizient r (Spearman)</b>			<b>p-Wert</b>
<b>Darmwanddicke absolut</b>	<i>r= 0,187</i>		<i>n.s.</i>

Bei den Mukoviszidose- und CED Patienten konnte keine Korrelation von FC zu fäkaler Elastase ermittelt werden. Beim Vergleich der FC Konzentrationen von pankreassuffizienten (n=2) und insuffizienten (n=48) Mukoviszidosepatienten gab es allerdings Hinweise (*p=0,051*) für eine mögliche Beziehung der Pankreasfunktion zu FC. Die bei Mukoviszidosepatienten gemessene Stuhlfettkonzentration korrelierte nicht mit den FC Werten, ebenso brachte eine zusätzliche Einteilung der Mukoviszidosepatienten in eine Gruppe mit erhöhter Stuhlfettkonzentration keine weiteren Ergebnisse (Tab. 3.20).

Tab. 3.20: Zusammenhang von fäkaler Elastase und Stuhlfett zur FC Konzentration

	<b>Korrelationskoeffizient r (Spearman)</b>		<b>p- Wert</b>		
<b>fäkale Elastase bei MV</b>	<i>r= -0,175</i>		<i>n.s.</i>		
<b>fäkale Elastase bei CED</b>	<i>r= -0,203</i>		<i>n.s.</i>		
<b>Stuhlfettkonzentration bei MV</b>	<i>r= 0,292</i>		<i>n.s.</i>		
	<b>positiv (%)</b>	<b>MD (range)</b>	<b>negativ (%)</b>	<b>MD (range)</b>	<b>p-Wert</b>
<b>erhöhte Stuhlfettkonzentration (&gt; 7%) bei MV</b>	28 (64 %)	199 (90 - 399)	16 (34 %)	156 (49 - 273)	<i>n.s.</i>

### 3.3.3 Gibt es einen Zusammenhang von FC und der Lungensituation, charakterisiert durch Lungenfunktion oder bakterielle Besiedlung?

Die untersuchten bakteriellen Erreger in der Lunge von Mukoviszidosepatienten zeigten keine Wechselwirkung mit der Höhe der FC Werte (Tab. 3.25). Es konnte keine Korrelation der absoluten FEV<sub>1</sub> % pred Werte zu FC gefunden werden, jedoch zeigte eine Aufteilung in zwei Gruppen in Patienten mit FEV<sub>1</sub> % pred Werten über (n=40) und

unter (n=10) 60 % pred eine Tendenz (p=0,073) für höhere FC Konzentrationen bei schlechterer Lungenfunktion (Tab. 3.21 und Abb. 3.6).

Tab. 3.21: Zusammenhang von FC und pulmonalen Aspekten der Mukoviszidosepatienten

	positiv (%)	MD (range)	negativ (%)	MD (range)	p-Wert
<b>Pseudomonas aeruginosa</b>	11 (22%)	224 (64 - 383)	39 (78 %)	176 (66 - 356)	n.s.
<b>Staphylococcus aureus</b>	33 (66 %)	197 (79 - 406)	17 (34 %)	165 (47 - 339)	n.s.
<b>FEV<sub>1</sub> &lt; 60 % pred<sup>1</sup></b>	10 (20 %)	341 (221 - 1096)	40 (80 %)	166 (65 - 340)	n.s. (p=0,073)
<b>Korrelationskoeffizient r (Spearman)</b>					<b>p- Wert</b>
<b>FEV<sub>1</sub> % pred</b>	r= -0,230				n.s.

<sup>1</sup> Einteilung der Patienten anhand des FEV<sub>1</sub> % pred Wertes in > 60 und < 60 % pred

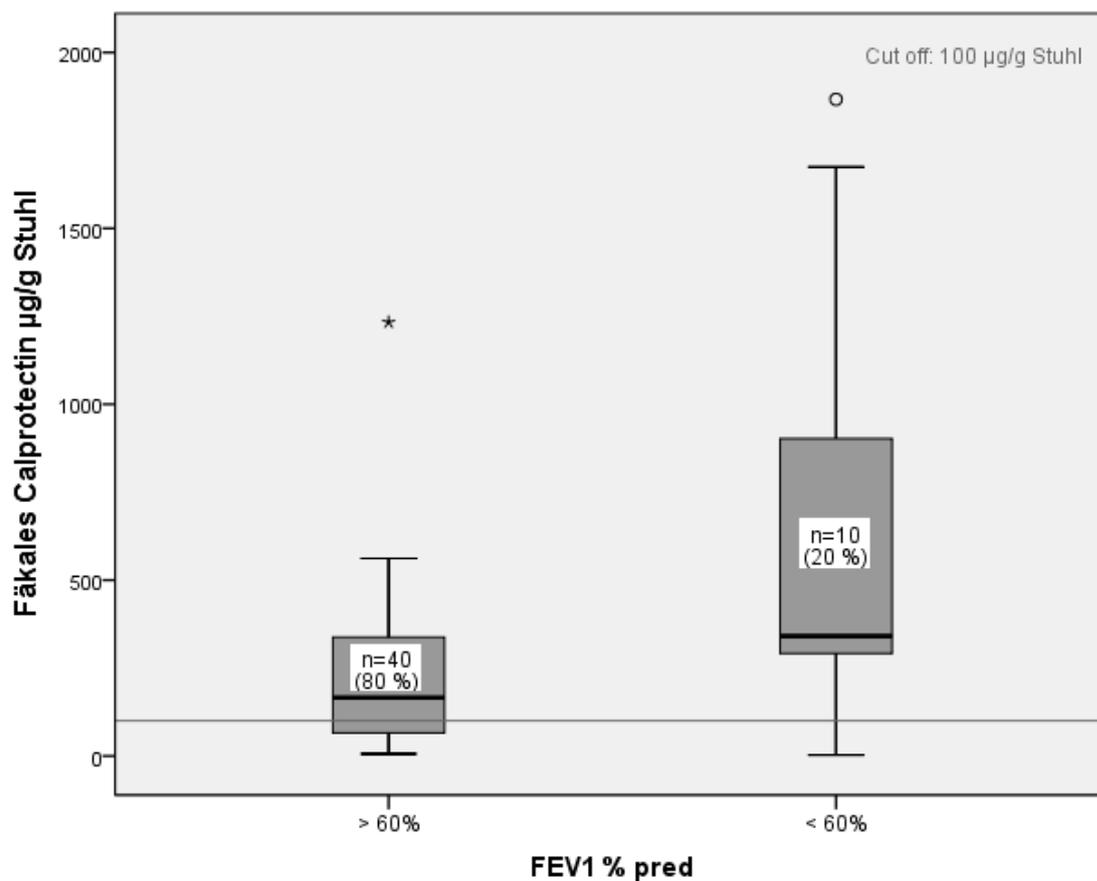


Abb. 3.6: Verteilung von FC bezogen auf die Lungenfunktion der Mukoviszidosepatienten

### 3.3.4 Gibt es eine Beziehung zwischen FC und der generalisierten Entzündung, gemessen an Serumparametern wie Calprotectin, CRP, Gesamtzahl der Neutrophilen und IgG?

Bei der Analyse der Korrelation in Bezug auf die Serumparameter fiel auf, dass bei Mukoviszidosepatienten im Gegensatz zu den CED Patienten hohe Serumwerte mit FC korrelierten (Tab. 3.22). Eine Aufteilung der Patienten anhand der in der Methodik erwähnten Normwerte für die ausgewählten Serumparameter zeigte, dass bei beiden Patientengruppen erhöhte CRP Werte mit hohen FC Konzentrationen korrelierten. Mukoviszidosepatienten mit erhöhten Konzentrationen an IgG und erhöhter Anzahl neutrophiler Granulozyten zeigten ebenfalls höhere FC Konzentrationen, sodass bei Mukoviszidosepatienten in dieser Arbeit ein Zusammenhang der generalisierten Entzündung zu hohen FC Konzentrationen ermittelt werden konnte (Tab. 3.23).

Tab. 3.22: Zusammenhang von FC und Serumparametern bei Mukoviszidose- und CED Patienten

	<b>MV (N)</b>	<b>Korrelationskoeffizient r (Spearman)</b>	<b>P-Wert</b>
	<b>MV</b>		
<b>CRP mg/l</b>	49/50	$r = 0,361$	$p = 0,011$
<b>neutrophile Granulozyten Giga/l</b>	47/50	$r = 0,455$	$p = 0,011$
<b>Serum Calprotectin mg/l</b>	49/50	$r = 0,299$	$p = 0,037$
<b>IgG g/l</b>	48/50	$r = 0,362$	$p = 0,012$
	<b>CED (N)</b>	<b>Korrelationskoeffizient r (Spearman)</b>	<b>P-Wert</b>
<b>CRP mg/l</b>	23/26	$r = 0,394$	<i>n.s</i>
<b>neutrophile Granulozyten Giga/l</b>	19/26	$r = 0,009$	<i>n.s</i>
<b>Serum Calprotectin mg/l</b>	25/26	$r = 0,340$	<i>n.s</i>
<b>IgG g/l</b>	12/26	$r = 0,389$	<i>n.s</i>

Tab. 3.23: Zusammenhang von FC zu erhöhten Serumparametern bei Mukoviszidose- und CED Patienten

<b>MV</b>	<b>positiv (%)</b>	<b>MD (range)</b>	<b>negativ (%)</b>	<b>MD(range)</b>	<b>p-Wert</b>
<b>CRP &gt; 1 mg/l</b>	22 (45 %)	294 (144 - 416)	27 (55 %)	136 (47 - 332)	<i>0,033</i>
<b>neutrophile Granulozyten Giga/l<sup>1</sup></b>	7 (15 %)	394 (290 - 903)	40 (85 %)	166 (57 - 342)	<i>0,016</i>
<b>Serum Calprotectin &gt; 10 mg/l</b>	1 (2%)	12*	48 (98 %)	192 (78 - 376)	<i>n.s.</i>
<b>IgG g/l<sup>1</sup></b>	9 (19 %)	298 (191 - 1289)	39 (81 %)	167 (47 - 346)	<i>0,031</i>
<b>CED</b>	<b>positiv (%)</b>	<b>MD (range)</b>	<b>negativ (%)</b>	<b>MD(range)</b>	<b>p-Wert</b>
<b>CRP &gt; 1 mg/l</b>	12 (52 %)	1075 (486 - 1851)	11 (48%)	281 (198 - 561)	<i>0,001</i>
<b>neutrophile Granulozyten Giga/l<sup>1</sup></b>	4 (21 %)	767 (284 - 1117)	15 (79%)	595 (294 - 1659)	<i>n.s.</i>
<b>Serum Calprotectin &gt; 10 mg/l</b>	1 (4 %)	11*	24 (96%)	587 (211 - 1595)	<i>n.s.</i>
<b>IgG g/l<sup>1</sup></b>	0	0	12 (100%)	752 (405 - 1595)	/

<sup>1</sup> altersabhängige Erhöhung von IgG (2 - 6 Jahre 5,0 - 14,4 g/l, 6 - 13 Jahre 5,7 - 15,1 g/l, > 13 Jahre 8,0 - 17,0 g/l) und neutrophilen Granulozyten (2 - 5 Jahre (1,5 - 8,5 Giga/l, 5 - 12 Jahre 1,6 - 8,0 Giga/l, > 12 Jahre 1,8 - 7,7 Giga/l), Referenzbereiche aus dem Labor des UKGM

\*Absolutwerte aller zugehörigen Patienten angegeben

Bei Mukoviszidosepatienten wurde eine Regressionsanalyse durchgeführt um den Einfluss der Serumparameter auf FC zu klären. Dabei konnte ein  $R^2=0,363$  ermittelt werden ( $p=0,001$ ), was für die Modelgüte steht und bei 1 einen perfekten Zusammenhang widerspiegeln würde. Die Signifikanz der einzelnen erklärenden Variablen war hierbei nur für das CRP signifikant ( $p=0,039$ ).

## 4 Diskussion

### 4.1 Häufigkeit der Erhöhung des FC bei Mukoviszidose

*Prozentwerte und Cut off.* In unserer Kohorte überwiegend jugendlicher Mukoviszidosepatienten mit milder Lungenbeteiligung und altersentsprechender Häufigkeit von Begleiterkrankungen zeigt sich bei 70 % eine Erhöhung des FC über 100 µg/g Stuhl. Abgesehen von den Arbeiten von Bruzzese et al. (Bruzzese et al. 2004), Adriaanse et al. (Adriaanse, Marlou P M et al. 2015) und Parisi et al. (Parisi et al. 2017), welche erhöhte FC Werte bei über 90 % ihrer Mukoviszidosekohorten fanden (Tabelle 4.1), deckt sich unser Ergebnis mit den Arbeiten (61 - 84 %) von Halilbasic et al. (Halilbasic E 2013), Rumman et al. (Rumman et al. 2014), Ellemunter et al. (Ellemunter et al. 2017) und einer späteren Arbeit von Bruzzese et al. (Bruzzese et al. 2014). Zusätzlich beinhaltet die Übersichtstabelle 4.1 zum Vergleich von FC Werten anhand einiger ausgewählter Arbeiten auch Studien mit niedrigeren Cut off Werten als dem von unserer Arbeitsgruppe verwendeten.

Grundsätzlich dient ein Cut off Wert zur Beschreibung der oberen Grenze des Normbereiches. Darüber liegende Werte sind als erhöht zu bewerten und werden bei FC als Hinweis auf eine intestinale Inflammation beurteilt. Die Höhe des Cut off Wertes im Rahmen von Studien bei Mukoviszidosepatienten leiten sich von den Erfahrungen aus gastroenterologischen Untersuchungen ab: Die Arbeitsgruppe um Berni Canani wertete FC Werte bei Kindern aus und legte anhand der receiver operating characteristic-Kurve (ROC-Kurve) zur Grenzwertoptimierung einen Wert von 102,9 µg/g Stuhl fest, um Patienten mit organischen Beschwerden von gesunden Probanden und Teilnehmern mit funktionellen Beschwerden des GIT unterscheiden zu können (Berni Canani et al. 2004). Daraus ergibt sich vereinfacht ein Cut off von 100 µg/g Stuhl. Neben diesem lassen sich auch Studien mit niedrigeren Cut off Werten finden. Der von Fagerberg et al. für Erwachsene und Kinder anhand gesunder Probanden ermittelte Cut off Wert liegt bei 50 µg/g Stuhl (Fagerberg et al. 2003). In der Tabelle 4.1 ist dargestellt, dass dieser Grenzwert von den Arbeitsgruppen um Rumman (Rumman et al. 2014), Dhaliwal (Dhaliwal et al. 2014), Adriaanse (Adriaanse, Marlou P M et al. 2015) und Ellemunter et al. (Ellemunter et al. 2017) benutzt wurde.

Tab. 4.1: Auswahl klinischer Arbeiten zum Vergleich von FC Werten

Arbeit	N (MV)	Alter in Jahren (Median, range)	FC in µg/g (Median, range)	Cut off in µg/g	erhöhte Werte nach Cut off in N (%)
<b>Eigene</b>	50	13 (10 - 17)	182 (66 - 363)	100	35 (70 %)
<b>Adriaanse 2015</b>	43	16,0 (0,7 - 46,3)	524 (98 - 905)	50	40 (93 %)
<b>Ellemunter 2017</b>	171	18,9 (9,5 - 28,5)	60,9 (27,5 - 103,4)	50	66,66%
<b>Ooi 2012</b>	39	3,5 (4 - 18)	71,9 (33,1 - 135)	n.d. <sup>1</sup>	n.d. <sup>1</sup>
<b>Rumman 2014</b>	59	0,67 (0,04 - 4,58)	94,29 (10 - 200)	50	41 (70 %)
<b>Lisowska 2010</b>	25	9,4 (5 - 16)	80 (1,8 - 302,5)	15	21 (84 %)

Arbeit	N (MV)	Alter in Jahren (MW ± SD, range)	FC in µg/g (MW ± SD)	Cut off in µg/g	erhöhte Werte nach Cut off in N (%)
<b>Bruzzese 2004</b>	30	10,7 ± 5,5 (1 - 16)	219 ± 94	100*	29 (97 %)**
<b>Bruzzese 2014</b>	19	7*** (2 - 9)	184 ± 146	100*	12 (63 %)
<b>Dhaliwal 2014</b>	28	8,4 ± 3,3	94,3 ± 100,6	50	17 (61 %)
<b>Halilbasic<sup>2</sup> 2013</b>	19	35 ± 9 (24 - 58)	b.E. <sup>3</sup>	100	13 (68 %)
<b>Parisi 2017</b>	54	18,6 ± 12,4 (1 - 52)	598,7 ± 277,5	100	54 (100 %)
<b>Wiecek 2017</b>	41	4 (0,6 - 18)	1390,8 ng/dl	3000 ng/dl	4 (9,7 %)

<sup>1</sup> n.d. = nicht definiert

<sup>2</sup> Studie zum Zeitpunkt nicht vollständig, daher nur Zwischenergebnisse angegeben

<sup>3</sup> b.E. = bisherige Ergebnisse; über dem Cut off Wert lagen 68 % mit MW ± SD von 185,1 ± 87,0 µg/g Stuhl; darunter lagen 32 % mit 56,0 ± 18,6 µg/g Stuhl

\* zusätzlich Definition eines intermediären Wertebereichs von 50 - 100 µg/g Stuhl in Anlehnung an Fagerberg et al. (Fagerberg et al. 2003)

\*\* zwei Patienten davon im intermediären Bereich

\*\*\* Median verwendet

Die in dieser Arbeit bestimmte Prävalenz von 70 % stimmt mit den erhöhten FC Konzentrationen der untersuchten Mukoviszidosekohorte von Rumman et al. überein (MD, range; 94,29 µg/g, 10 - 200 µg/g) (Rumman et al. 2014) und liegt annähernd 10 % über dem Ergebnis von Dhaliwal et al. (MW ± SD; 94,3 ± 100,6 µg/g) (Dhaliwal et al.

2014). Aus der Tabelle wird ersichtlich, dass teilweise weitaus niedrigere Grenzwerte gewählt wurden, die im Vergleich zu den vorherigen stark abweichen (Lisowska et al. 2010; Więcek et al. 2017). Der von Lisowska et al. benutzte Cut off von 15 µg/g Stuhl könnte von dem Median Wert gesunder Kinder von 13.6 µg/g Stuhl abgeleitet sein (Fagerberg et al. 2003). Im starken Kontrast steht die Studie von Wiecek et al., die eine FC Erhöhung ab einem Cut off von 3000 ng/dl bei 9,7 % des Mukoviszidosekollektivs darstellt (Więcek et al. 2017) und damit weit unter den hier präsentierten Werten sowie den Ergebnissen der bisher erwähnten Arbeiten zu FC liegt. Eine nicht in der Tabelle aufgeführte Interventionsstudie mit Probiotika bei Kindern mit Mukoviszidose stellte erhöhte FC Konzentrationen (Cut off: 50 µg/g Stuhl) bei 66 % fest (Fallahi et al. 2013) ähnlich den Ergebnissen aus der 12-jährigen Longitudinalstudie von Ellemunter et al. (Ellemunter et al. 2017). Zusammenfassend kann anhand dieser Daten bei einer Mehrheit der Mukoviszidosepatienten erhöhte FC Konzentrationen vermutet werden, wobei ein Anteil von mindestens 60 % in Betracht gezogen werden muss.

*Absolutwerte.* Die FC Konzentration bei unseren Mukoviszidosepatienten lagen signifikant höher als die Werte der überwiegend aus Jugendlichen und Erwachsenen bestehenden gesunden Kontrollgruppe (MD, range; 182 µg/g, 66 - 363 µg/g versus 17 µg/g, 7 - 42 µg/g;  $p < 0,001$ ). Weiterhin stellte sich das FC Ergebnis der Mukoviszidosekohorte (MD, range; 182 µg/g, 66 - 363 µg/g) mit einer bis zu dreifachen Erhöhung im Vergleich zu den Medianwerten anderer Arbeiten dar (Lisowska et al. 2010; C.Y. Ooi 2012; Rumman et al. 2014; Ellemunter et al. 2017), während bei einzelnen Patienten sogar eine 10- bis 20-fache Erhöhung festgestellt werden konnte (FC Median: Patient G003=1675 µg/g, Patient G021=903 µg/g, Patient G036=1867 µg/g, Patient G058=1233 µg/g). In Studien aus dem Jahr 2017 wurden - unabhängig von der Art des Lageparameters - weitaus höhere FC Konzentrationen bei Mukoviszidosepatienten als bisher beschrieben bestimmt (Adriaanse, Marlou P M et al. 2015; Parisi et al. 2017). Die Patientenkollektive der Vergleichsarbeiten waren teilweise deutlich jünger als in der vorgelegten Studie (Lisowska et al. 2010; C.Y. Ooi 2012; Rumman et al. 2014). Ein möglicher altersabhängiger Anstieg der FC Konzentrationen bei Mukoviszidosepatienten soll weiter unten im Text diskutiert werden.

Einige Arbeiten hingegen stellten den Mittelwert der FC Konzentration dar und kamen, abgesehen vom Einsatz des anderen Lageparameters, zu vergleichbaren (Halilbasic E 2013; Bruzzese et al. 2014) oder höheren Ergebnissen für FC (Bruzzese et

al. 2004; Dhaliwal et al. 2014; Parisi et al. 2017). An dieser Stelle ist festzuhalten, dass der Vergleich beider Lageparameter nur eingeschränkt durchführbar ist. Deutlich wird das unter anderem durch eine stärkere Auswirkung von Ausreißern auf den Mittelwert im Vergleich zum Median.

Bei der Gruppe älterer Jugendlicher mit CED, die sich hauptsächlich in Remission befanden oder bei denen eine leichte Krankheitsaktivität vorlag, konnte bei 96 % eine erhöhte FC Konzentration gemessen und im Vergleich zur Mukoviszidosekohorte im Durchschnitt dreimal höhere FC Werte festgestellt werden (MD, range; 182  $\mu\text{g/g}$ , 66 - 363  $\mu\text{g/g}$  versus 587  $\mu\text{g/g}$ , 270 - 1659  $\mu\text{g/g}$ ;  $p < 0,001$ ). Dieses Verhältnis der hier untersuchten Gruppen (Mukoviszidose-, CED-, gesunde Kontrollgruppe) untereinander bezogen auf die FC Konzentration entsprach den Ergebnissen anderer Arbeiten (Bruzese et al. 2004; C.Y. Ooi 2012; Dhaliwal et al. 2014).

*Altersabhängigkeit.* Die hier ermittelte FC Konzentration für Mukoviszidosepatienten von 182  $\mu\text{g/g}$  Stuhl (range 66 - 363  $\mu\text{g/g}$  Stuhl) lag höher im Vergleich zu den Median- und auch Mittelwerten der meisten anderen Arbeiten (Tabelle 4.1.). Allerdings waren die Teilnehmer jener Studien im Schnitt jünger als die in dieser Arbeit untersuchte Kohorte. Untersuchungen mit älteren Probanden zeigten hohe FC Konzentrationen ähnlich unseren Ergebnissen (Halilbasic E 2013; Bruzese et al. 2014) beziehungsweise deutlich höhere FC Werte (Adriaanse, Marlou P M et al. 2015; Parisi et al. 2017). Folglich deutet sich in der hinzugezogenen Literatur ein Anstieg der FC Konzentration mit zunehmendem Lebensalter bei Mukoviszidosepatienten an (Garg et al. 2017). Dieser Trend war in unserer Querschnittsstudie nicht reproduzierbar. In der longitudinalen Untersuchung von Ellemunter et al. konnte ebenfalls kein Anhalt für einen Zusammenhang von Alter und FC Konzentration eruiert werden (Ellemunter et al. 2017).

*S100 Proteine.* Neben FC wurden weitere S100 Proteine untersucht. Dabei zeigte sich ein Unterschied in Bezug auf die Aussagekraft der Entzündungsreaktion im Vergleich zu Patienten mit CED: während für diese hohe Konzentrationen von S100A12 im Stuhl bestimmt werden können, nähern sich die Werte für Mukoviszidosepatienten denen von gesunden Probanden (C.Y. Ooi 2012; Dhaliwal et al. 2014). Weiterhin wurde kürzlich eine neue Funktion der S100 Proteine entdeckt: über die Regulation extrazellulärer Kinasen oder den Signalweg des

nuclear factor kappa b (NF-κB) kommt es zu einer gesteigerten Transkription eines Muzin-Proteins (MUC5AC) und folgend zu einer vermehrten Mukusproduktion im Respirationstrakt (Kang et al. 2015). Es stellt sich die Frage, ob die S100 Proteine in den epithelialen Zellen des GIT gleichermaßen eine Mukusproduktion induzieren können.

## 4.2 Diskussion im Hinblick auf die Zielstellung

### 4.2.1 Klinische Symptomatik und FC

*Abdominelle Aspekte und Stuhlwerte.* Im klinischen Alltag berichten Mukoviszidosepatienten häufig über gastrointestinale Beschwerden, welche bei 78 % einer adulten Studienpopulation erfasst werden konnte (Halilbasic E 2013). In unserer Kohorte zeigte sich keine Korrelation zwischen FC Werten und gastroenterologischer Anamnese oder klinischem Untersuchungsbefund, was den Ergebnissen anderer Arbeiten entsprach (Halilbasic E 2013; Dhaliwal et al. 2014; Rumman et al. 2014). Das Spektrum der Stuhlhäufigkeit und -konsistenz bei Mukoviszidosepatienten stellte sich dabei trotz Einnahme von Pankreasenzymen als sehr variabel heraus. In einer weiteren Studie wurde die Verteilung von gastrointestinalen Symptomen bei Mukoviszidosepatienten analysiert. Es konnte kein Unterschied zwischen pankreassuffizienten und -insuffizienten, mit Pankreasenzymen behandelten Patienten, dargestellt werden (Baker et al. 2005). Daher kann in Übereinstimmung mit unseren Ergebnissen abgeleitet werden, dass die unspezifische abdominelle Klinik bei Mukoviszidosepatienten sich nicht als klinischer Hinweis für eine intestinale Inflammation eignet.

*Begleittherapie, Ernährungsstatus, CFQ-R.* Es zeigten sich in unserer Studie keine Unterschiede hinsichtlich der Begleittherapie und des Ernährungsstatus. In dem jährlichen Bericht der Cystic fibrosis foundation von 2015 liegt der Anteil der Unterernährung bei Diagnosestellung der Mukoviszidose bei 30 %. Dieses Ergebnis ist mit unseren Daten von bereits behandelten Mukoviszidosepatienten nicht vergleichbar. Weiterhin wurde der Anteil für Mukoviszidosepatienten die unter der 10. Perzentile (bezogen auf das Gewicht) lagen mit 12,4 % für 2015 angegeben. Dieser Anteil ist seit 2000 von 25,2 % kontinuierlich gesunken und lag 2010 bei 15,2 %. Damit befinden sich die Ergebnisse unserer Arbeit für Untergewicht mit 16 % (Datenerhebung im Zeitraum vom 01.09.2010 bis 11.01.2012) im zu erwartenden internationalen Bereich.

Sowohl bei CED als auch bei Mukoviszidosepatienten scheint Untergewicht weder Folge noch Ursache einer möglichen intestinalen Entzündung zu sein. Auch in anderen Arbeiten wurde kein Trend zwischen FC Konzentration und Ernährungsstatus beobachtet (Werlin et al. 2010; Rumman et al. 2014; Więcek et al. 2017). Im Gegensatz dazu beschrieb die Arbeitsgruppe um Dhaliwal hohe FC Konzentrationen im Zusammenhang mit verminderten Wachstum, dargestellt durch die Z-Scores für Gewicht und Größe (Dhaliwal et al. 2014). Allerdings ist zur Diagnose einer Mangelernährung die BMI Perzentile für Gewicht und Längenbeurteilung besser geeignet und akzeptiert (Zhang & Lai 2004; Stern et al. 2008; Hirche et al. 2009). In neueren Studien hingegen wird von einem Zusammenhang von hohen FC Konzentrationen bei Untergewicht ausgegangen (Adriaanse, Marlou P M et al. 2015; Parisi et al. 2017).

Es kann keine Aussage getroffen werden, inwieweit bei der vorliegenden Studie ein negativer Effekt der Antazida auf die bakterielle Besiedlung vermieden werden konnte. Die dazu benötigten Untersuchungen waren nicht Bestandteil dieser Arbeit. Jedoch zeigen Studien bei nicht an Mukoviszidose erkrankten Probanden, dass eine PPI Medikation mit einer Veränderung der gastrointestinalen Mikrobiomzusammensetzung und einer geringeren bakteriellen Diversität einhergeht, wie zum Beispiel einem erhöhten Vorkommen von *Streptokokken*, *Staphylokokken* und *Laktobazillen* (Rosen et al. 2014; Jackson et al. 2016; Paroni Sterbini et al. 2016). Über einen Zusammenhang von PPI und erhöhten FC Konzentrationen berichtete die Arbeitsgruppe um Adriaanse (Adriaanse, Marlou P M et al. 2015), was im Kontrast zu unseren sowie den Ergebnissen von Parisi et al. steht (Parisi et al. 2017).

Weiterhin zeigte sich in der vorliegenden Arbeit bei Mukoviszidosepatienten keine Korrelation zwischen FC Werten und systematisch erfasster Lebensqualität im Hinblick auf Essstörung, Gewichtsprobleme und gastrointestinale Symptome. Unerwartet waren hohe FC Konzentrationen bei guten Ergebnissen der Lebensqualität (stellvertretend sei hier auf die Abb. 3.4 verwiesen). Eine vermehrte Aktivität von regulatorischen T-Zellen, welche die immunologische Reaktion zur Verhinderung einer überschießenden Immunantwort oder dem Auftreten einer Autoimmunerkrankung modulieren (Liston & Gray, Daniel H D 2014; Campbell 2015), könnte hierfür eine Erklärung sein: Dies zeigen Studien bei Mukoviszidosepatienten, in denen eine verminderte Konzentrationen an regulatorischen T-Zellen messbar war bei (1) Patienten

mit schlechterer FEV<sub>1</sub> (Anil & Singh 2014), (2) mit nicht-allergischer bronchopulmonaler Aspergillose (Kreindler et al. 2010) oder (3) mit *Pseudomonas aeruginosa* Besiedlung der Lunge (Hector et al. 2015) im Vergleich zu Mukoviszidosepatienten, die bezüglich dieser Merkmale bessere Ausprägungen zeigten. Rückschließend könnte, bezogen auf die Ergebnisse dieser Arbeit, vermutet werden, dass bei Mukoviszidosepatienten mit guten Ergebnissen im Lebensqualitätsfragebogen eine normale oder eventuell gesteigerte Aktivität der regulatorischen T-Zellen vorliegt.

#### 4.2.2 Begleiterkrankungen und FC

*Komorbiditäten.* Im Mittelpunkt der vorliegenden Studie standen Komplikationen mit Bezug zum GIT wie Mekoniumileus, DIOS und/oder abdominelle Operationen in der Anamnese sowie aktueller Diabetes mellitus, Hepatopathie und/oder Laktoseunverträglichkeit. In unserer Mukoviszidosekohorte konnte unter diesen Komplikationen und übereinstimmend mit anderen Studienergebnissen (Adriaanse, Marlou P M et al. 2015; Parisi et al. 2017) ein signifikant erhöhter FC Wert bei Patienten mit Diabetes mellitus gezeigt werden. Für abdominelle Voroperationen kann zumindest ein Trend zu erhöhten FC Konzentrationen vermutet werden. Dies deckte sich mit den Ergebnissen anderer Arbeiten, die teilweise die gleichen Komorbiditäten untersuchten wie Mekoniumileus, DIOS, Operationen, intestinale Resektion und/oder Leberbeteiligung, beurteilt durch Transaminasenmessung (Rumman et al. 2014; Więcek et al. 2017).

Im Allgemeinen ist bei Patienten mit der Diagnose Diabetes mellitus das Calprotectinlevel im Serum erhöht (Typ I Jin et al. 2013 und Typ II Diabetes Pedersen et al. 2014 betreffend). Ein manifester Diabetes mellitus und bereits die prädiabetische Stoffwechsellage (Tofé et al. 2005) bei Mukoviszidosepatienten führen bei inadäquater Therapie häufig zu einem reduzierten Ernährungszustand, einer Progression der Lungenerkrankung (Bismuth et al. 2008) sowie einer steigenden Mortalität (Lewis et al. 2015). In Übereinstimmung mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit konnte in weiteren Studien gezeigt werden, dass erhöhte systemische Inflamationsparameter mit dem Mukoviszidose bezogenem Diabetes mellitus korrelieren (Hammana et al. 2007; Bismuth et al. 2008). Einen Erklärungsansatz hierfür zeigt die Arbeitsgruppe um Ntimbane et al. auf: Proinflammatorische Zytokine und oxidativer Stress aktivieren unter anderem den Signalweg von NF-κB. Dies kann im Zellkern, neben der Transkription von Genen für weitere proinflammatorische Zytokine, zu einer

veränderten Insulinsekretion bis hin zur Apoptose der Inselzellen führen (Ntimbane et al. 2009).

Die abdominellen Operationen waren in der Mukoviszidosekohorte der vorliegenden Arbeit häufig auf einen Mekoniumileus zurückzuführen. Eine großangelegte Studie zur Genomanalyse bei Mukoviszidosepatienten deutete auf einen Zusammenhang von Mekoniumileus und modifizierten Genen, welche apikale Zellbestandteile kodieren, hin. Diese zeigten sich zudem unabhängig vom *CFTR* Basisdefekt (Sun et al. 2012). Über eine größere Zeitspanne betrachtet, wäre ein proinflammatorischer Einfluss dieser Gene durchaus denkbar. Im Verlauf könnten Verwachsungen möglicherweise die intestinale Passage behindern, was eine erhöhte DIOS Rate zur Folge hätte (Houwen et al. 2010), und dadurch indirekt die Inflammation beeinflussen würde.

*Pankreasfunktion.* Die fortschreitende Verschlechterung der Pankreasfunktion stellt eine der großen Komplikationen einer Mukoviszidoseerkrankung dar. Eine exokrine PI liegt bei 85-90 % der Mukoviszidosepatienten vor und ist abhängig von der *CFTR* Genotypisierung (Guy-Crotte et al. 1996). Der Zusammenhang zwischen FC und PI wird kontrovers diskutiert. Die Beobachtungen reichen von keinem Unterschied zwischen pankreassuffizienten und -insuffizienten Mukoviszidosepatienten (Rumman et al. 2014), über häufiger erhöhte FC Werte bei Patienten mit PI (Halilbasic E 2013), bis hin zu einer großen Mehrheit der pankreasinsuffizienten Mukoviszidosepatienten mit erhöhten FC Konzentrationen (Werlin et al. 2010; C.Y. Ooi 2012; Dhaliwal et al. 2014; Adriaanse, Marlou P M et al. 2015; Ellemunter et al. 2017; Parisi et al. 2017). Im Vergleich dazu wurden in der vorliegenden Arbeit bei zwei pankreassuffizienten Mukoviszidosepatienten FC Werte im Normbereich ermittelt. Ein Vergleich mit den FC Werten von pankreasinsuffizienten Mukoviszidosepatienten deutete zwar auf eine Tendenz von hohen FC Konzentrationen bei PI hin (MD, range; 192 µg/g, 78 - 376 µg/g versus 27 µg/g, 6 - 47 µg/g; p=0,051), war statistisch jedoch aufgrund der geringen Teilnehmerzahl nicht verwendbar. Ein möglicher Erklärungsansatz für normwertige FC Werte bei pankreassuffizienten Mukoviszidosepatienten beinhaltet, dass diese Chymus besser aufspalten können und folglich eine geringere Anzahl an Antigen-wirkenden Nahrungsbestandteilen auf die Darmschleimhaut einwirkt (Raia V 2000 Mar).

Wie in der Einleitung bereits erwähnt stellen die Zöliakie (Fluge et al. 2009; Walkowiak et al. 2010) und CED (Lloyd-Still JD. 1994 Apr; Chaun 2001)

multifaktorielle Erkrankungen dar, welche bei Patienten mit Mukoviszidose als Komorbidität mit einer deutlich erhöhten Prävalenz im Vergleich zur Normalbevölkerung auftreten können. Ob es sich bei den CED Fällen um eine CED im eigentlichen Sinne oder eine Überinterpretation einer unspezifischen intestinalen Inflammation handelt, ist nicht abschließend zu beurteilen. In der Literatur finden sich bei den betroffenen Mukoviszidosepatienten auch histologische Hinweise auf eine CED im Sinne ileozökal lokalisierter Granulome (Behrens et al. 1989; Lloyd-Still JD. 1994 Apr). In einer weiteren Arbeit wurden erhöhte Anti-Saccharomyces cerevisiae Antikörper (ASCA), einem serologischen Marker bei CED Patienten, bei Mukoviszidosepatienten nachgewiesen. Allerdings sollten zur Diagnosesicherung zusätzlich endoskopische und histologische Befunde hinzugezogen werden, da rein serologische Untersuchungen sowohl falsch positiv als auch negativ ausfallen können (Condino et al. 2005). Die Arbeitsgruppe um Bresso et al. führte DNA-Analysen bei CED Patienten durch: Im Gegensatz zu der in der Literatur gefestigten Annahme, CED und Mukoviszidose koexistieren häufiger als in der Normalbevölkerung, beschrieben sie einen protektiven Effekt bei heterogener F508del Mutation bezüglich der CED (Bresso et al. 2007). Damit stellt sich erneut die Frage, ob eine CED bei Mukoviszidosepatienten Ausdruck einer unspezifischen intestinalen Inflammation darstellen könnte und nicht als eigenständige Komorbidität zu werten ist.

#### 4.2.3 Darmwanddicke und FC

*Darmwanddicke und fibrosierende Kolonopathie.* In unserer Mukoviszidosekohorte zeigte sich bei 80 % eine Darmwandverdickung des Colon ascendens (MW  $\pm$  SD, Min - Max;  $2,7 \pm 0,9$  mm, 1,0 - 4,7 mm). Eine verdickte Kolonwand bei Mukoviszidosepatienten wurde mit der zum ersten Mal 1994 beschriebenen fibrosierenden Kolonopathie in Verbindung gebracht (Smyth et al. 1994; Smyth 1996). Nach ineffektiver Behandlung eines vermeintlichen Mekoniumileus konnten bei der chirurgischen Intervention bei 4 von 5 Mukoviszidosepatienten Strikturen des Colon ascendens sowie fibrotische Mukosa und Submukosa Areale identifiziert werden (Smyth et al. 1994). Dabei wurde ein Zusammenhang zwischen jenen Darmveränderungen und spezifischen Arten von Pankreasenzymen, den sogenannten high-strength pancreatic enzymes in hohen Dosismengen, diskutiert (Smyth et al. 1995; FitzSimmons et al. 1997). Croft et al. schwächten diese These ab und stellten aufgrund ihrer Studienergebnisse von GIT Lavagen Überlegungen zu immunologischer Aktivität

im GIT bei einer Minderheit der Mukoviszidosepatienten in den Vordergrund (Croft et al. 1995; Croft NM 1996 Mar). In einer späteren Arbeit von Smyth und Croft wurde kein Zusammenhang zwischen intestinaler Inflammation, beschrieben durch die Parameter der GIT Lavage, und der fibrosierenden Kolonopathie oder hochdosierter Pankreasenzymgabe festgestellt (Smyth et al. 2000). Obwohl der Einfluss von hohen Pankreasenzymdosen nie eindeutig geklärt werden konnte, wurden seit der Einschränkung der Enzymdosen über keine weiteren Fälle diesbezüglich berichtet. Trotz allem bleiben die pathophysiologischen Hintergründe der fibrosierenden Kolonopathie bis heute ungeklärt.

*Sonographische Untersuchungen des Kolon.* Ausgelöst durch das Auftreten der fibrosierenden Kolonopathie untersuchten mehrere Arbeitsgruppen besonders Mitte und Ende der 90er Jahre den Darm bei Mukoviszidosepatienten mittels Ultraschall (Mac Sweeney et al. 1995; Pohl et al. 1997; Pickhardt et al. 1998; Connett et al. 1999; E. Pfadler 1999; Dialer et al. 2003; Uliasz et al. 2010). Die Arbeitsgruppe um Ramsden benutzte einen Cut off von 1,5 mm für die Darmwanddicke des gesamten Dickdarms. Unabhängig von der Lokalisation im Kolon stellten sie eine verdickte Darmwand bei 41 % der Mukoviszidosepatienten (35 von 86) fest, während die Lageparameter für das Colon ascendens in Höhe von 1,2 mm und 0,7 - 2,5 mm (MW, range) angegeben wurden. Unter Einbeziehung der Daten des Colon transversum und descendens erhielten sie Messwerte für den kompletten Dickdarm von 1,6 mm und 1,1 - 3,1 mm (MW, range). Die Ergebnisse waren signifikant höher als die der gesunden Kontrollgruppe mit 1,3 mm und 1,0 - 1,5 mm (MW, range) (Ramsden et al. 1998). Sowohl die Daten für das Colon ascendens als auch für den gesamten Dickdarm lagen damit unter den Absolut- und prozentualen Ergebnissen der vorliegenden Arbeit zur Darmwanddicke des Colon ascendens. Die Arbeit von Haber et al. untersuchte 90 Kinder mit Mukoviszidose bezüglich ihrer Dünn- und Dickdarm-Wanddicke und stellte sonografisch bei 81 % eine Verdickung von 2 oder mehr als 2 mm fest. Dieses Ergebnis entspricht der von uns beschriebenen Häufigkeit von 80 %, welche allerdings nur die Messung des Colon ascendens beinhaltet und somit eingeschränkt vergleichbar ist. Im Gegensatz zu der vorliegenden Arbeit wurde wie bei Ramsden et al. (Ramsden et al. 1998) ein Vergleich mit den Messergebnissen einer Kontrollgruppe durchgeführt und es zeigte sich ebenfalls, dass die Darmwände der Mukoviszidosepatienten signifikant dicker waren. Die Lagemaße unserer Kohorte mit  $2,7 \pm 0,9$  mm und 1,0 - 4,7 mm

(MW  $\pm$  SD, Min - Max) befanden sich über den Werten der Studie von Haber mit  $2,3 \pm 0,3$  mm, 2,0 mm und 0,6 - 6,5 mm (MW  $\pm$  SD, MD, range) (Haber et al. 1997). In einer weiteren Arbeit wurde die Dicke der Darmwand mithilfe eines 7 oder 5 MHz Linear Schallkopf bei 51 Mukoviszidosepatienten untersucht und ein Wert größer 2 mm als verdickt definiert. Eine Wandverdickung über diesen Cut off Wert fanden Pfadler et al. bei 35,3 % der Patienten im Caecum beziehungsweise Colon ascendens. Darüber hinaus wiesen 17,6 % eine vergrößerte Darmwand des terminalen Ileums auf (E. Pfadler 1999). Unsere Mukoviszidosekohorte wies im Vergleich zu den Ergebnissen der Münchener Arbeitsgruppe (E. Pfadler 1999) eine höhere Anzahl an Patienten mit verdickter Darmwand auf. Die fortschreitende Verbesserung der Ultraschall Diagnostik und eine damit verbundene höhere Sensitivität bei der Erkennung struktureller Darmveränderungen kann hierfür ein möglicher Erklärungsversuch sein.

*Darmwanddicke und intestinale Entzündung.* Eine verdickte Darmwand des Kolons allein entspricht nicht gleich einer intestinalen Entzündung. Jedoch konnten bei der untersuchten Kohorte bei einem Mukoviszidosepatienten eine leichte Hyperämie der Darmwandschichten und bei weiteren vier Mukoviszidosepatienten eine erhöhte Aktivität von Lymphknoten, im Sinne einer leichten Vergrößerung beziehungsweise einer gesteigerten Durchblutung, sonografisch erfasst werden (nicht im Ergebnisteil dargestellt). Obwohl statistisch nicht verwertbar, deuten diese Beobachtungen dennoch auf einen möglichen Zusammenhang zum Immunsystem hin. Eine mögliche intestinale Inflammation bei Mukoviszidosepatienten wird heute mehr denn je diskutiert (Smyth et al. 2000; Bruzzese et al. 2004; Werlin et al. 2010). Als mögliche Gründe werden eine erhöhte intestinale Permeabilität (Bali et al. 1983; Dalzell et al. 1990; Escobar H 1992 Feb; van Hendriks HJ 2001 Sep), der intestinale saure pH (R. E. Knauff and J. A. Adams 1968; O'Sullivan & Freedman 2009), der *CFTR* Basisdefekt an sich (Smyth et al. 2000) und/oder Antigen-wirkende Nahrungsbestandteile (Raia V 2000 Mar) aufgrund von Maldigestion und -absorption bei PI sowie durch verlangsamtem Nahrungstransport (Bali et al. 1983; Dalzell et al. 1990; Escobar H 1992 Feb; Lewindon PJ 1998) vermutet. Seit einiger Zeit erlangt die gestörte Komposition der intestinalen Mikroflora in diesem Kontext zunehmende Bedeutung und wird kurz als Dysbiose im Rahmen des intestinalen Mikrobioms bezeichnet (Madan et al. 2012; Bruzzese et al. 2014; del Campo et al. 2014; Flass et al. 2015). In der vorliegenden Arbeit konnten bei Mukoviszidosepatienten mit Darmwanddicken zwischen 2 und 3 mm ( $p=0,017$ ) oder

mehr als 3 mm ( $p=0,025$ ) im Vergleich zu Patienten mit normwertigen Darmwanddicken ( $< 2$  mm) signifikant höhere FC Konzentrationen ermittelt werden. Diese Ergebnisse könnten unter Hinzuziehung der Literatur einer unspezifischen lokalen Entzündung entsprechen.

*Kapselendoskopie und Biopsien.* Während bei CED Patienten histologische und endoskopische Befunde im GIT mit erhöhten FC Werten korrelieren (Roseth et al. 1997; Hanai et al. 2004; D'Inca et al. 2007; Canani et al. 2008), konnte bei Mukoviszidosepatienten mit kapselendoskopisch nachgewiesenen Läsionen im GIT kein Unterschied der FC Höhe zu Mukoviszidosepatienten - mit morphologisch unauffälligem Darm - nachgewiesen werden (Werlin et al. 2010; Flass et al. 2015). In duodenalen Biopsien von Mukoviszidosepatienten konnte eine erhöhte Genexpression immunologischer Faktoren wie interzelluläres Adhäsions Molekül-1 (ICAM-1), Interleukin-2 Rezeptor (IL-2 Rezeptor), IL-2 und Interferon-gamma (IFN- $\gamma$ ) nachgewiesen werden (Raia V 2000 Mar). Die von Raia et al. als morphologisch unauffällig beschriebene Mukosa des Duodenums steht dabei im Gegensatz zu den in der Kapselendoskopie beschriebenen Schleimhautläsionen (Werlin et al. 2010; Flass et al. 2015). Die kürzere Verweildauer von Chymus in proximalen, duodenalen Darmanteilen im Vergleich zu distalen Bereichen des GIT könnte eine geringere Einwirkungsdauer der partiell antigen-wirkenden Nahrungsbestandteile bedingen und somit die fehlenden makroskopischen Veränderungen erklären (Raia V 2000 Mar). Die Arbeitsgruppe um Werlin et al. wertete die Daten der Kapselendoskopie nach der Klassifikation von Maiden et al. (Maiden et al. 2007) aus und beschrieb bei 26 von 41 Mukoviszidosepatienten (63 %) Pathologien der Mukosa in Form von Erythemen, Zottenatrophie, Erosionen und Ulzeration. Patienten mit PI zeigten in der Regel schwerere Schleimhautschäden, die vereinzelt und in ähnlich starker Ausprägung auch bei pankreassuffizienten Patienten beobachtet werden konnten (Werlin et al. 2010). Der unklare Einfluss der Pankreasfunktion zeigte sich ebenfalls in der sonografischen Arbeit von Pfadler et al: Hier wurde bei 2 von insgesamt 3 pankreassuffizienten Patienten eine Darmwandverdickung gemessen (E. Pfadler 1999). Ein direkter Zusammenhang zur Pankreasenzymtherapie konnte damit bei beiden Arbeiten ausgeschlossen werden. Das FC scheint nicht mit direkten Entzündungszeichen in Form von endoskopisch aufgedeckten Läsionen des Dünndarms (Werlin et al. 2010), vielleicht aber mit den

indirekten sonografischen Hinweisen - dargestellt durch die verdickte Kolonwand der hier untersuchten Kohorte - zusammenzuhängen.

Ein möglicher Erklärungsansatz wäre, dass sich die Entzündungsprozesse im GIT auf mikroskopischer Ebene zeitlich vor beziehungsweise unabhängig von den makroskopischen Läsionen erkennen lassen (Raia V 2000 Mar). Weiterhin soll das Krankheitsbild der rechts-gelegenen mikroskopischen Kolitis (engl.: right-sided microscopic colitis) kurz diskutiert werden. Namensgebend war hier eine veränderte Mukosa, hauptsächlich des Caecums und des Colon ascendens. Die Ergebnisse der bioptischen Proben zeigten Veränderungen der Kryptenarchitektur (Atrophie, Distorsionen, irreguläre Verzweigungen), teilweise Kryptenabszesse und eine Infiltration der Lamina propria mit immunologischen Zellen (Chaun 2001). Trotz unklarer Pathogenese zeigt dies eine weitere Affektion des GIT im Wechselspiel mit immunologischen Faktoren. Auf makroskopischer Ebene hingegen können Leberzirrhose, intestinale Dysbiose (Flass et al. 2015) oder PI (Werlin et al. 2010) als Kofaktoren oder Hauptursache erwogen werden.

#### 4.2.4 Zusammenhang von FC und Lungenerkrankung

*Calprotectin in unterschiedlichen Kompartimenten.* Die bisher herangezogenen Studien zu FC beschrieben die pulmonale Situation ihrer Mukoviszidosepatienten als mild bis moderat (Bruzzese et al. 2004; Lisowska et al. 2010; Dhaliwal et al. 2014; Rumman et al. 2014) und sind mit den FEV<sub>1</sub> % pred Werten der vorliegenden Studie vergleichbar. In mehreren Arbeiten wurde kein Zusammenhang der FC Konzentration zu FEV<sub>1</sub> % pred Werten (Dhaliwal et al. 2014; Rumman et al. 2014) oder allgemein zu Symptomen des Respirationstrakt ermittelt (Więcek et al. 2017). Andere Arbeitsgruppen hingegen konnten erhöhte FC Konzentrationen bei reduzierter Lungenfunktion (Adriaanse, Marlou P M et al. 2015; Parisi et al. 2017), dem vermehrten Vorkommen von pulmonalen Exazerbationen sowie einem schweren Erscheinungsbild der Mukoviszidose (definiert durch *Pseudomonas aeruginosa* Besiedlung, FEV<sub>1</sub> % pred < 50 %, PI, Untergewicht) zeigen (Parisi et al. 2017). Ausgehend von den Ergebnissen der vorliegenden Studie scheint die bakterielle Besiedlung der Atemwege nicht im Zusammenhang mit der FC Höhe zu stehen, während sich in unserer Kohorte, ähnlich den Arbeiten von Adriaanse und Parisi et al. (Adriaanse, Marlou P M et al. 2015; Parisi et al. 2017), ein Trend zu höheren FC Werten bei Patienten mit schwerer Lungenfunktionsstörung zeigen ließ. Bei den für die

Mukoviszidose typischen pulmonalen Exazerbationen können im Blut erhöhte Entzündungswerte gemessen werden (Golden et al. 1996; Gray et al. 2010; Sagel et al. 2015) - häufig untersucht wurden Serum Calprotectin, CRP, Interleukine (IL-6, IL-8), Serum Amyloid A, Myeloperoxidase und Neutrophilen Elastase. Interventionsstudien mit Antibiotika zur Therapie der pulmonalen Exazerbation zeigten teilweise eine Verminderung der inflammatorischen Serummarker (Sagel et al. 2015). Diese Untersuchungen lassen einen systemischen Aspekt der Mukoviszidose vermuten. Häufiger Diskussionspunkt war und ist die Frage, ob erhöhte Calprotectin Konzentrationen im Stuhl auf lokale Prozesse im GIT oder auf mit dem Sputum verschlucktes Calprotectin zurückzuführen sind. Untermauert wird die letzte der beiden Hypothesen durch Arbeiten, welche bei Patienten mit pulmonaler Exazerbation a) eine Senkung von Sputum- und Serum Calprotectin Konzentrationen durch antibiotische Behandlung (Gray et al. 2010) und b) eine Senkung von FC Konzentrationen durch inhalative Antibiotikaapplikation (Rumman et al. 2014) zeigten. Im Kontrast dazu stehen die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit: Es konnte kein Unterschied der FC Konzentrationen von Mukoviszidosepatienten mit und ohne Antibiose erfasst werden. Weiterhin zeigte eine bisher noch nicht abgeschlossene Arbeit mit Lungentransplantierten Patienten, dass bei 13 von 19 Mukoviszidoseeteilnehmern (68 %) erhöhte FC Konzentrationen messbar waren (Halilbasic E 2013). Aus der Beobachtung dieser „Lungengesunden Mukoviszidosepatienten“ geht hervor, dass das im Stuhl enthaltene Calprotectin zumindest nicht ausschließlich durch verschlucktes Sputum und pulmonale Inflammation zu erklären ist.

#### 4.2.5 Zusammenhang von FC und systemischer Inflammation

*Serologie und systemische Zusammenhänge.* Im Gegensatz zu den Mukoviszidosepatienten, bei denen hohe Inflammationsparameter im Serum mit den FC Konzentrationen korrelieren, konnte bei den CED Patienten, mit bis zu dreifach erhöhten FC Konzentrationen und geringeren systemischen Inflammationszeichen laut CED-Aktivitäts-Indizes, kein Zusammenhang in der vorliegenden Arbeit gefunden werden. In der Literatur werden Fälle einer pulmonalen Manifestation des Morbus Crohn in Form von Bronchiektasien, Erythemen und Ulzerationen bei einigen wenigen Patienten beschrieben (Lemann et al. 1987; Lu et al. 2014). Unabhängig davon gibt es Arbeiten, in welchen über eine negative Korrelation zwischen Spirometrie und Krankheitsaktivität bei Patienten mit Morbus Crohn berichtet wird (Koek et al. 2002).

Aufgrund dieser Ergebnisse wäre es vorstellbar, dass Morbus Crohn Patienten mit Lungenmanifestation eine Korrelation von erhöhten FC Konzentrationen und serologischen Inflammationsparametern zeigen, was in der vorliegenden Arbeit jedoch nicht untersucht worden ist. Unterstrichen werden unsere Ergebnisse bezüglich der Mukoviszidosepatienten durch die kürzlich veröffentlichte Longitudinalstudie von Ellemunter et al., in welcher ebenfalls ein Zusammenhang von erhöhten CRP und erhöhten FC Werten dargestellt werden konnte (Ellemunter et al. 2017). Damit scheint sich die bisher bei Mukoviszidosepatienten angenommene Rolle für FC als ausschließlich lokaler Entzündungsmarker für den GIT vor dem Hintergrund einer eher systemischen Inflammation zu relativieren. Hinweisend für Mukoviszidose als eine systemisch-entzündliche Erkrankung waren bereits Studien mit erhöhten inflammatorischen Serumparametern bei Patienten ohne pulmonale Exazerbation oder anderweitigem aktuellem Entzündungsgeschehen (Ratjen et al. 2012). Weitere Anzeichen dafür, dass die Inflammation über die Grenzen der Darmwand hinausgeht, erbrachten Interventionsstudien mit unterschiedlichsten Behandlungsansätzen.

*Interventionsstudien.* Nach antibiotischer Therapie in Form von oral verabreichtem Azithromycin zeigte sich eine Reduktion der serologischen Parameter sowie eine Verbesserung der Lungenfunktion und Gewichtssituation, einhergehend mit abnehmenden Konzentrationen des Serum Calprotectins (Ratjen et al. 2012). Bei Mukoviszidosepatienten, die die ungesättigte Fettsäure Docosahexaensäure (DHA) erhielten, wurde eine Abnahme von Serumparametern wie tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ) und IL-8 sowie eine Reduktion der FC Konzentration gemessen (Leggieri et al. 2013). Dem antioxidativen Glutathion konnte eine positive Wirkung auf Wachstumsparameter sowie die Senkung von FC nachgewiesen werden (Visca et al. 2015). In einer weiteren Arbeit wurden rückblickend Endoskopien mit bioptischer Probenentnahme ausgewertet. Dabei wurden bei 9 von 12 Mukoviszidosepatienten entzündlich veränderte Mukosaareale in Form von Duodenitis, chronischer unspezifischer inaktiver Gastritis, Enteropathie mit teilweiser Zottenatrophie oder unspezifischer Colitis entdeckt. Nach einer antiinflammatorischen und immunsuppressiven Therapie - eingesetzte Medikamente umfassten Prednisolon, Azathioprin, Methotrexat, Ketotifen, Mesalazin, und Sulfasalazin - konnten bei Kontrolluntersuchungen bei 5 Mukoviszidosepatienten endoskopisch und histologisch

Verbesserungen des intestinalen Entzündungsprozesses dokumentiert werden (Shah et al. 2013).

Vielversprechend scheinen überdies die Studienergebnisse mit Probiotika zu sein: Nach lokaler, intestinaler Therapie wurden extraintestinale Auswirkungen wie ein positiver Einfluss auf die gastrointestinale Gesundheit - beurteilt durch das Messinstrument gastrointestinal quality of life index (GIQLI) - (del Campo et al. 2014), eine Gewichtszunahme bei Mukoviszidosepatienten (Bruzzese et al. 2007) und insbesondere pulmonale Veränderungen dokumentiert. Letztere umfassten die Verbesserung der Lungenfunktion (Bruzzese et al. 2007), weniger Krankenhausaufenthalte (Bruzzese et al. 2007) und/oder weniger häufig auftretende pulmonale Exazerbationen (Bruzzese et al. 2007; Weiss et al. 2010; Di Nardo et al. 2014). Die positiven Ergebnisse der Probiotika-Studien sind größtenteils auf eine Korrektur der bakteriellen Fehlbesiedlung des GIT bei Mukoviszidosepatienten im Sinne eines SIBO zurückzuführen (Lewindon PJ 1998; De Lisle, Robert C. 2007). SIBO stellt eine spezielle Ausprägung einer gestörten Darmflora dar und lässt sich dem Oberbegriff des Mikrobioms zuordnen. Die aktuellsten Erkenntnisse zum Mikrobiom bei Mukoviszidosepatienten werden in zwei Übersichtsartikeln dargestellt, in denen zusammenfassend formuliert wird, dass im Vergleich zu Gesunden das bakterielle Vorkommen sowie die biologische Diversität bei Mukoviszidosepatienten reduziert sei (Li & Somerset 2014; Manor et al. 2016). Weiterhin kann von einer qualitativ und/oder quantitativ veränderten Artenvielfalt beziehungsweise einer intestinalen Dysbiose ausgegangen werden (Bruzzese et al. 2014; del Campo et al. 2014; Flass et al. 2015), was sich zum Beispiel in einem hohen Vorkommen von *Proteobakterien* und *Aktinobakterien* bei geringem Vorkommen von *Firmicuten*, *Bacteroidetes* und *Verrucomikrobien* bei Kindern mit Mukoviszidose im Vergleich zu gesunden Kindern zeigte (Manor et al. 2016). Durch die Expression von *CFTR* im GIT kommt es zur Elektrolytverschiebung mit Dehydration des Darmsekrets - diese Änderung des intestinalen Milieus könnte eine der Ursachen für die veränderte Zusammensetzung der Mikrobioms bei Mukoviszidosepatienten darstellen (Lee et al. 2012).

Eine Angleichung der intestinalen bakteriellen Mikroflora bei Mukoviszidose - ähnlich wie bei gesunden Probanden - konnte durch Interventionsstudien mit Probiotika teilweise erzielt werden (Bruzzese et al. 2014; del Campo et al. 2014). Darüber hinaus wurden auch die bereits erwähnten extraintestinalen Wirkungen der Probiotika

beschrieben. Insbesondere der positive Einfluss auf pulmonalen Faktoren war hier interessant, da diese zeigten, dass Interventionen am Darm Auswirkungen auf die Lunge haben können (Bruzzese et al. 2007; Weiss et al. 2010; Di Nardo et al. 2014).

*Darm-Lungen-Achse.* Diese mögliche Interaktion zwischen Lunge und Darm bei Mukoviszidosepatienten spiegelte sich in unserer Arbeit in dem Trend von hohen FC Konzentrationen bei schlechterer Lungenfunktion wieder. Sowohl bei der Lunge als auch beim Darm handelt es sich um Organe, die sich durch ihre Mukosa in einer ständigen Auseinandersetzung mit Umweltfaktoren befinden (Keely et al. 2012). Im Gegensatz zum Mikrobiom des GIT ist die Theorie der „sterilen, keimfreien Lunge“ erst seit einigen Jahren widerlegt (Charlson et al. 2011; Dickson et al. 2015): In verschiedenen Arbeiten wurde gezeigt, dass ein Mikrobiom der Lunge bei gesunden Probanden, hauptsächlich bestehend aus den Bakterienstämmen *Bacteroidetes*, *Firmicuten*, *Proteobakterien* und *Aktinobakterien*, existiert (Charlson et al. 2011; Pragman et al. 2012; Sze et al. 2012). Bei Mukoviszidosepatienten wurden geringere Vorkommen dieser Kernstämme bei gleichzeitig höheren Besiedlungsraten von opportunistischen Erregern wie zum Beispiel *Pseudomonaden*, *Staphylokokken*, *Alcaligenaceae*, *Prevotella* und *Streptokokken* gemessen (Li et al. 2016). Weiterhin wurde eine Abhängigkeit der bakteriellen Diversität und Besiedlung der Lunge vom Lebensalter, der *CFTR* Mutation sowie der vorausgehenden bakteriellen Besiedlung des GIT beschrieben (Cox et al. 2010; Madan et al. 2012).

Eine Beziehung zwischen beiden Organen lässt sich vermuten, da der Einsatz modulierender Substanzen im Darm, insbesondere die Therapie mit Probiotika (Mortaz et al. 2013), einen positiven Effekt auf die pulmonale Situation bei Mukoviszidosepatienten zeigte (Bruzzese et al. 2007; Weiss et al. 2010; Di Nardo et al. 2014). Dieses Phänomen ist neben dem Krankheitsbild der Mukoviszidose weiterhin bei Asthma (Björkstén et al. 1999), chronic obstructive pulmonary disease (COPD) und CED (Keely et al. 2012) als Darm-Lungen Achse (engl.: gut-lung axis) bekannt (Marsland et al. 2015; Budden et al. 2016). In einem Mausmodell wurde die Beziehung vom Mikrobiom des Respirationstraktes zu vaginalem und intestinalem Bakterienvorkommen verglichen (Barfod et al. 2013). Dabei zeigte sich eine Übereinstimmung von mehreren Bakteriengattungen zwischen Lunge und Darm mit signifikant höheren Bakterienzahlen für *Firmicuten* und *Bacteroidetes* im Caecum (Barfod et al. 2013; Flass et al. 2015). Auf genetischer Ebene wurden veränderte

mikrobielle Muster mit bestimmten Mutationen bei Mukoviszidose in Zusammenhang gebracht (Schippa et al. 2013), was in ähnlicher Form für die Lunge gezeigt werden konnte (Cox et al. 2010). Weitere Hinweise für eine pulmonal-intestinale Wechselwirkung wurde kürzlich durch eine Studie an Mukoviszidosepatienten im Säuglingsalter (n=7) verdeutlicht: Eine Auswahl an Bakteriengattungen - zuerst im Mikrobiom des Darms lokalisiert - waren zeitlich versetzt auch in der Lunge nachweisbar, wodurch ihnen ein Vorhersagewert zugeordnet wurde. Ein Zusammenhang zur Ernährungsweise konnte erst nach einer Clustereinteilung ermittelt werden. Zusammenfassend vermuteten Madan et al. aufgrund dieser Ergebnisse, dass Ernährungsfaktoren und die Mikroflora des Darms die mikrobielle Zusammensetzung in der Lunge beeinflussen können. Außerdem wurde auf die Bedeutung eines frühen Einsatzes von Probiotika an dieser Stelle verwiesen (Madan et al. 2012). Unter Berücksichtigung dieser Annahmen, ist eine organübergreifende Wirkung von Inflammationsmediatoren bei Mukoviszidosepatienten nicht auszuschließen und wird durch den in unserer Kohorte dargestellten Zusammenhang von erhöhten serologischen Entzündungswerten und hohen FC Konzentrationen bei Mukoviszidosepatienten unterstrichen.

## **4.3 Bedeutung der Studie und Ausblick**

### **4.3.1 Praxisorientierte Empfehlungen**

In der Vergangenheit beschriebene makro- und mikroskopische Verfahren bezüglich des GIT von Mukoviszidosepatienten zeigten Läsionen der Dünndarmmukosa (Werlin et al. 2010; Flass et al. 2015), erhöhte Werte von Cytokinen, Immunglobulinen und Proteinen in GIT Lavagen (Croft et al. 1995) sowie verstärkte Immunaktivität auf genetischer Ebene (Raia V 2000 Mar). Weitere Hinweise auf entzündliche Vorgänge des GIT wurden im Rahmen von Mausmodellen (Norkina et al. 2004) und anhand eines Enterozyten-spezifischen Bindeproteins namens intestinal fatty acid binding protein (I-FABP), welches bei Schädigung der Darmmukosa serologisch nachgewiesen werden kann, aufgezeigt (Adriaanse, Marlou P M et al. 2015). Diese Arbeiten unterstrichen die Behauptung der intestinalen Inflammation als eigenständige Entität der Mukoviszidoseerkrankung (De Lisle, R. C. & Borowitz 2013; Munck 2014). Ziel dieser Arbeit war es, diese Entzündungsreaktion mithilfe von FC als Surrogatparameter zu untersuchen. Generell zeigte sich bei unserer Mukoviszidosekohorte kein

Zusammenhang von FC Konzentrationen zu krankheitstypischen Manifestationen, gastroenterologischer Symptomatik, Fragebögen oder anthropometrischen Daten. Ein schweres gastrointestinales Beschwerdebild spiegelte sich nicht, wie vermutet, in hohen FC Konzentrationen wieder. Teilweise zeigten sich eher paradoxe Ergebnisse: hohe FC Konzentrationen bei guten Ergebnissen, beispielsweise bezüglich der Lebensqualität (milde gastrointestinale Symptomatik, unauffälliges Essverhalten, normale Gewichtssituation).

*FC Erhöhung und verdickte Darmwand im Colon ascendens.* Zu den signifikanten Ergebnissen dieser Studie gehören die sonografischen Befunde mit verdickter Darmwand im Colon ascendens bei mindestens 80 % der Mukoviszidosepatienten. Dabei wurden höhere FC Konzentrationen bei beiden Gruppen mit Darmwanddicken  $\geq 2$  mm im Vergleich zu der Gruppe mit Darmwanddicken kleiner 2 mm, hier als normwertig beurteilt, festgestellt. Es ist vorstellbar, dass das FC in diesem Zusammenhang einen wichtigen Hinweis auf eine klinisch unspezifische Inflammation darstellt. Routinemessung der FC Werte sowie die sonografische Kontrolle der Darmwanddicke sollten daher im Verlauf bei Mukoviszidosepatienten dokumentiert werden.

*FC Erhöhung und systemische Inflammation korrelieren.* Neben den sonografischen Ergebnissen bei Mukoviszidosepatienten erbrachte die vorliegende Studie weiterhin Hinweise auf ein über den GIT hinausreichendes Entzündungsgeschehen, dargestellt durch die Korrelation von erhöhten FC Konzentrationen und erhöhten inflammatorischen Serumparametern (Ellemunter et al. 2017). Die organübergreifende Wirkung von Entzündungsmediatoren kann anhand des Modells einer Darm-Lungen-Achse aufgezeigt werden (Li et al. 2016). Hier wurde bereits ausführlich über Interventionen am Darm mit positiven extraintestinalen Auswirkungen, insbesondere bezüglich der Lunge bei Mukoviszidosepatienten (Budden et al. 2016), berichtet. Eine kürzlich veröffentlichte Arbeit deutet zudem auf die gegensätzliche Wirkrichtung hin: Manipulationen der Lunge können sich auf den GIT bei Mukoviszidosepatienten auswirken. Hinweise lieferten Untersuchungen mit Bronchialzellen von Mukoviszidosepatienten und gesunden Probanden, die mit Prostaglandinen stimuliert wurden und deren Überstand zur Inkubation von Kolonzellen genutzt wurde. Bei den Kolonzellen, welche mit dem Überstand der Mukoviszidosebronchialzellen behandelt wurden, zeigte sich im Vergleich zu denen,

die mit dem Überstand der von Gesunden abstammenden Bronchialzellen inkubiert wurden, eine signifikant gesteigerte Produktion von Zytokinen in vitro (IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ ). O'Callaghan et al. schlussfolgerten aus ihren Ergebnissen, dass entzündliche Veränderungen der Lunge die Zytokinproduktion und folglich die intestinale Inflammation im GIT bei Mukoviszidosepatienten beeinflussen könnten (O'Callaghan G 2014).

Neuere Studien zeigen neben den symptomatischen Therapien auch kausale Behandlungsansätze auf (Bargon et al. 1992; Kerem 2006). Die Modulation des *CFTR*-Gens beziehungsweise *CFTR*-Genprodukts kann durch unterschiedliche Pharmazeutika induziert werden, wobei ihr Wirkungsort die in der Einleitung erwähnten 6 Defektklassen beinhaltet (Mall & Galiotta, Luis J V 2015). Der CFTR Potentiator Ivacaftor, welcher lediglich bei Mukoviszidosepatienten mit der Punktmutation G551D eingesetzt werden kann, ist das erfolgreichste Beispiel dieser Arzneistoffgruppe (Jones & Helm 2009; van Goor et al. 2009). Durch ein verlängertes Öffnen des defekten Chloridkanals und damit höherer Wahrscheinlichkeit eines Ionentransports konnte in den klinischen Studien über eine verbesserte Lungenfunktion sowie die Reduktion von pulmonalen Exazerbationen berichtet werden (McPhail & Clancy 2013). Neben den pulmonalen Parametern sollten aufgrund der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit sowie der vermuteten Darm-Lungen-Achse zusätzlich GIT Parameter als Studienendpunkte bei der Therapie mittels *CFTR*-Modulation etabliert werden (Bodewes, Frank A J A et al. 2015).

#### 4.3.2 Bedeutung des FC als Surrogatparameter der intestinalen Inflammation bei Mukoviszidose

*Intestinale Entzündung in Abhängigkeit vom Krankheitsbild.* Die intestinale Inflammation bei Mukoviszidosepatienten kann nicht gleichgesetzt werden mit dem bei CED Patienten beobachtbaren Entzündungsgeschehen im Darm. Gleiches gilt für die Aussagekraft des FC als inflammatorischer Marker des GIT bei Mukoviszidosepatienten. Diese Aussagen können durch folgende Punkte belegt werden: Wesentlich höhere FC Konzentrationen bei CED Patienten im Vergleich zu Mukoviszidosepatienten (Bruzese et al. 2004; C.Y. Ooi 2012; Dhaliwal et al. 2014) und normwertige Konzentrationen von fäkalem S100A12 und Osteoprotegerin bei Mukoviszidosepatienten verglichen mit erhöhten Werten bei CED Patienten (Dhaliwal et al. 2014). Ferner korrelierten bei CED Patienten erhöhte FC Werte mit klinischen

Aktivitäts-Scores: Der Rachmilewitz Score für Colitis ulcerosa (Hanai et al. 2004) und der CDAI für Morbus Crohn (Costa et al. 2003; Canani et al. 2008) beinhalten Items wie abdominelle Schmerzen, Blut im Stuhl und Stuhlfrequenz/-konsistenz. In mehreren Arbeiten konnte ein Zusammenhang zu gastrointestinalen Symptomen (Fagerberg et al. 2005), die teilweise durch die Scores abgedeckt werden, sowie zu endoskopischen und histologischen Befunden gezeigt werden (Roseth et al. 1997; Hanai et al. 2004; D'Inca et al. 2007; Fagerberg et al. 2007; Canani et al. 2008). Im Gegensatz dazu, konnte in der vorliegenden Arbeit kein Zusammenhang des benutzten klinischen Scores (CFQ-R) bei Mukoviszidosepatienten zu FC ermittelt werden. Studien auf diesem Gebiet sind nötig um umfassendere Aussagen zu diesem Thema formulieren zu können.

Kolo- oder Gastroenteroskopien bei Mukoviszidosepatienten gehören nicht zu den Routineuntersuchungen. In der vorliegenden Arbeit erfolgte ebenfalls keine endoskopische Untersuchung des GIT, wodurch eine Analyse bezüglich der FC Konzentration hinsichtlich dieses Aspektes nicht möglich war. In den wenigen Arbeiten zu Kapselendoskopien bei Mukoviszidosepatienten wurde kein Zusammenhang von Dünndarmläsionen und FC Konzentrationen ermittelt (Werlin et al. 2010; Flass et al. 2015). Einem von Flass et al. erstellten Streudiagramm ist zu entnehmen, dass höhergradige intestinale Läsionen (Punktwert  $\geq 4$  nach Maiden Klassifikation Maiden et al. 2007) gehäuft bei Mukoviszidosepatienten mit Leberzirrhose erfasst werden konnten (Flass et al. 2015). Dies könnte ein Hinweis sein, dass die makroskopischen Befunde des GIT nicht allein durch die intestinale Inflammation hervorgerufen werden. Neben den zirrhotischen Veränderungen können wie bereits erwähnt die intestinale Dysbiose (Flass et al. 2015) und/oder PI (Werlin et al. 2010) als Kofaktoren oder Hauptursache der Läsionen im GIT diskutiert werden.

*Schlusswort.* Das Vorhandensein einer intestinalen Inflammation ist aufgrund von Studien bei Mukoviszidosepatienten (Croft et al. 1995; Raia V 2000 Mar; Chaun 2001; Werlin et al. 2010; Parisi et al. 2017) und Tiermodellen (Norkina et al. 2004) nicht mehr von der Hand zu weisen. Die vorliegende Arbeit zeigte keinen direkten Zusammenhang des FC zur Lebensqualität, gastrointestinalen Symptomen, anthropometrischen Daten oder der Begleitmedikation, erbrachte aber Indizien für eine systemische Inflammation sowie für eine Verdickung der Kolonwand bei Mukoviszidosepatienten. Die teilweise unklaren Korrelationen erschweren die Beurteilung der FC Konzentration als Surrogatparameter. Zusammenfassend kann

formuliert werden, dass sich die FC Konzentration nicht als angemessener Parameter für die intestinale Inflammation bei Mukoviszidosepatienten eignet. Es sollte ein möglicher Bezug zur Darm-Lungen-Achse oder zur systemischen Inflammation berücksichtigt sowie eine Verlaufsmessung von FC Werten und Darmwanddicke angestrebt werden. Im klinischen Setting ist die frühe und sensitive Erkennung von Patienten mit Mukoviszidose assoziierter intestinaler Inflammation wichtig. Ob dies jedoch mithilfe der Messung des FC Verlaufs darstellbar ist, scheint in Anbetracht der vorherigen Überlegungen eher unwahrscheinlich. Weitere Studien werden gebraucht, um diese Hypothesen zu untersuchen und um andere Surrogatparameter oder Verfahren zur Erfassung der intestinalen Inflammation zu etablieren.

#### **4.4 Stärken und Schwächen der Studie**

Das eigentliche Ziel, die Erfassung der gesamten in der Mukoviszidoseambulanz des UKGM betreuten 130 Patienten, wurde aufgrund logistischer Umstände, insbesondere der Stuhlsammlung, nicht erreicht. Die FC Konzentrationen der gesunden Kontrollgruppe entstammen lediglich einer Messung der Stuhlprobe, aufgrund eventuell verunreinigter Proben mit extrem hohen Werten. Bei allen anderen Studienteilnehmern setzt sich der FC Wert durch die Analyse zweier Eppendorfgefäße und anschließender Mittelwertbildung zusammen.

Weiterhin stellt sich die Frage nach dem Effekt der Raumtemperatur bei der in diesem Studienprotokoll vorgegebenen Transportdauer der Stuhlproben von maximal 72 h. Die Stuhlprobenlagerung bei Raumtemperatur vor der Untersuchung hat unter anderem Einfluss auf die Zusammensetzung des per DNA nachzuweisenden fäkalen Mikrobioms, wobei die Zeitspanne bis zum Einfrieren 15 min (Gorzalak et al. 2015) beziehungsweise 2 h (Guo et al. 2016) nicht unterschreiten sollte. Ebenso wird von einer Kühlung der Stuhlproben in haushaltsüblichen Kühlschränken länger als 3 Tage abgeraten (Gorzalak et al. 2015). Bei Mukoviszidosepatienten wurde ein verändertes Mikrobiom, sprich Dysbiosis (Bruzze et al. 2014; del Campo et al. 2014; Li & Somerset 2014; Flass et al. 2015) sowie erhöhte FC Konzentrationen gemessen (vorliegende Arbeit sowie weitere Quellen Bruzze et al. 2004; Halilbasic E 2013; Bruzze et al. 2014; Rumman et al. 2014). Inwieweit ein Zusammenhang zwischen der Raumtemperatur und der FC Konzentration im bereits abgenommenen Stuhl besteht, ist

in der Literatur bisher nicht untersucht wurden. Laut Roseth et al. sind die Stuhlproben bezüglich Calprotectin für 7 Tage bei Raumtemperatur verwertbar (Roseth et al. 1992).

Um die Bedeutung der erhöhten Serumwerte bei CED und insbesondere bei Mukoviszidosepatienten zu unterstreichen hätte eine serologische Untersuchung bei der gesunden Kontrollgruppe zu direkten Vergleichbarkeit aufschlussreich sein können. Dies wurde für ethisch nicht vertretbar und notwendig angesehen, da bei gesunden Probanden von Entzündungswerten im Referenzbereich ausgegangen werden kann. Verglichen damit ist der Ultraschall der Darmwand ein nicht-invasives Verfahren. Eine sonografische Messung der Darmwanddicke bei Gesunden hätte durchaus einen Erkenntniszuwachs gebracht. Weiterhin muss in Einzelfällen der zeitliche Abstand von bis zu 4 Wochen zwischen Stuhlsammlung und Blutentnahme berücksichtigt werden. Der Zusammenhang dieser beiden Aspekte ist durch größere zeitliche Abstände eingeschränkt.

## 5 Zusammenfassung

Hintergrund:

Zunehmend gibt es Hinweise für eine Entzündungsreaktion im Gastrointestinaltrakt (GIT) analog zur Lunge bei Patienten mit Mukoviszidose (MV). Die Messung der intestinalen Inflammation (II) erfolgte über den Stuhlparameter fäkales Calprotectin (FC). Es soll geklärt werden inwieweit ein Zusammenhang zwischen II und Manifestationen, Klinik und weiteren Parametern besteht.

Methodik:

FC Bestimmung (Cut off von 100  $\mu\text{g/g}$  Stuhl) bei 50 MV Patienten (MD, range: 13, 10 - 17 Jahre), 26 Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (CED) (MD, range: 16, 15 - 19 Jahre) und 24 gesunden Teilnehmern (MD, range: 16, 12 - 27 Jahre) als Kontrollgruppe (K). Untersucht wurde der Zusammenhang von FC zu MV typischen Manifestationen, Medikation, anthropometrischen Daten, Lebensqualität, abdomineller Symptomatik und Stuhlcharakteristik, FEV<sub>1</sub> % pred, Serumparametern [Calprotectin, C-reaktives Protein (CRP), Neutrophile, Immunglobulin G (IgG)] und sonografisch bestimmter Darmwanddicke des Colon ascendens (Cut off < 2 mm).

Ergebnisse:

FC Konzentrationen der MV Patienten waren höher (MD, range: 182, 66 - 363  $\mu\text{g/g}$ ) im Vergleich zu den Werten der K Gruppe (MD, range: 17, 7 - 42  $\mu\text{g/g}$ ), aber niedriger als bei CED Patienten (MD, range: 587, 270 - 1659  $\mu\text{g/g}$ ). Erhöhte Werte im Sinne einer II lagen bei 70 % (35/50) der MV Patienten vor. Es gab einen Trend von höheren FC Konzentrationen bei schwerer Lungenfunktionsstörung. Eine verdickte Darmwand mit signifikant höheren FC Werten hatten 80 % der MV Patienten verglichen mit MV Patienten mit normal dicker Darmwand ( $p=0,04$ ). Im Gegensatz zu den CED Patienten korrelierten systemische Inflammationsparameter mit den FC Werten bei MV Patienten.

Schlussfolgerung:

Die Indizien für die Darmwandverdickung sowie das Vorliegen einer intestinalen und systemischen Inflammation bei MV unterstreichen das Konzept einer Darm-Lungen-Achse. Die fehlenden Zusammenhänge von FC zu klinischen Parametern oder Charakteristika bei MV stellen die Bedeutung des FC als Surrogatparameter der II in Frage.

## 6 Summary

Background:

There is evidence to suggest an intestinal inflammation (II) in the gastrointestinal tract in patients with cystic fibrosis (CF) comparable to the lung situation. The fecal calprotectin (FC) concentration is used to detect II. Our aim was to examine the relation between II and CF manifestations, symptoms and further parameters.

Methods:

FC (cut off: 100  $\mu\text{g/g}$  stool) was measured in 50 CF patients (MD, range: 13, 10 - 17 years), 26 patients with intestinal bowel disease (IBD) (MD, range: 16, 15 - 19 years) and 24 healthy controls (HC) (MD, range: 16, 12 - 27 years). We analyzed the correlation of FC with CF manifestations, medication, growth parameters, quality of life, abdominal and stool characteristics, FEV<sub>1</sub> % pred, inflammatory blood markers [serum calprotectin, C-reactive protein (CRP), neutrophil granulocytes, immunoglobulin G (IgG)] and colonic wall thickening in the colon ascendens determined with sonography (cut off < 2 mm).

Results:

FC concentrations were higher in CF patients (MD, range: 182, 66 - 363  $\mu\text{g/g}$ ) compared to HC (MD, range: 17, 7 - 42  $\mu\text{g/g}$ ), but lower compared to IBD patients (MD, range: 587, 270 - 1659  $\mu\text{g/g}$ ). Increased FC values detected II in 70 % (35/50) of CF patients. There was a trend between increased FC concentrations and severe lung dysfunction. CF patients showed colonic wall thickening in 80 %. Those had significantly higher FC concentrations compared to patients with wall thickness below 2 mm ( $p=0,04$ ). Inflammatory blood markers correlated with high FC concentrations in CF patients compared to IBD patients.

Conclusion:

The evidence for colonic wall thickness, II and systemic inflammation emphasize the model of a gut-lung-axis. There was no link from FC to CF related clinical parameters and characteristics, therefore it is essential to question the meaning of FC as surrogate parameter for II.

## 7 Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ASCA	Anti-Saccharomyces cerevisiae Antikörper
ATS	American Thoracic Society
BMI	Body mass index
BMI Z Score	Body mass index Z score, entspricht dem standard deviation score
cAMP	Cyclisches Adenosinmonophosphat
CDAI	Crohn's disease activity index
CED	Chronisch entzündliche Darmerkrankungen
CF	Cystic fibrosis
CFQ	Cystic fibrosis questionnaire
CFQ-R	Cystic fibrosis questionnaire-revised
CFTR	Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator
COPD	Chronic obstructive pulmonary disease
CRP	C-reaktives Protein
DHA	Docosahexaensäure
DIOS	Distal intestinales Obstruktionssyndrom
E. coli	Escherichia coli
engl.	Englisch
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
ERS	European Respiratory Society
ESS	Essstörung
FC	Fäkales Calprotectin
FE	Fäkale Elastase
FEV <sub>1</sub> % pred	FEV <sub>1</sub> % predicted, Prozent des altersabhängigen Vorhersagewertes
GAS	Gastrointestinale Symptome

GEW	Gewichtsprobleme
GIQLI	Gastrointestinal quality of life index, Messinstrument
GIT	Gastrointestinaltrakt
GIT Lavage	Gastrointestinale Lavage
HC	Healthy controls, entspricht der Kontrollgruppe
IBD	Intestinal bowel syndrome, entspricht CED
ICAM-1	Interzelluläres Adhäsionsmolekül-1
IFN- $\gamma$	Interferon-gamma
IgG	Immunglobulin G
II	Intestinale Inflammation
IL	Interleukin
IL-1 $\beta$	Interleukin 1 beta
IL-2 Rezeptor	Interleukin 2 Rezeptor
IL-6	Interleukin 6
IL-8	Interleukin 8
I-FABP	Intestinal fatty acid binding protein
K	Kontrollgruppe
m	Männlich
Max	Maximum
MD	Median
Min	Minimum
MV	Mukoviszidose
MW	Mittelwert
M2-PK	M2-Pyruvat Kinase
N	Anzahl
NF- $\kappa$ B	Nuclear factor-kappa B
NIRA	Nahinfrarot-Analyse
NO	Stickstoffmonoxid

OD-Werte	Optical Density-Werte
OPG	Osteoprotegerin
PI	Pankreasinsuffizienz
PPI	Protonenpumpen-Inhibitoren
r	Korrelationskoeffizient nach Spearman
range	25. und 75. Perzentile
ROC-Kurve	Receiver operating characteristics-Kurve
SCFA	Short-chain fatty acids, kurzkettige Fettsäuren
SD	Standardabweichung
SDS	Standard deviation score, entspricht dem body mass index Z score
SIBO	Small intestinal bacterial overgrowth
Tab.	Tabelle
TNF- $\alpha$	Tumor necrosis factor-alpha
UKGM	Universitätsklinikum Gießen und Marburg

## 8 Abbildungsverzeichnis

Abb.		Seitenzahl
1.1	Übersicht fäkaler Biomarker	6
3.1	Darmwanddicke im Colon ascendens bei Mukoviszidosepatienten	28
3.2	Verteilung des FC innerhalb der einzelnen Gruppen	32
3.3	Verteilung von FC auf unterschiedliche Applikationsformen der Antibiose bei Mukoviszidosepatienten	35
3.4	Verteilung von FC bezogen auf die Skala gastrointestinale Symptome (GAS) des CFQ-R	37
3.5	Verteilung von FC bezogen auf unterschiedlich starke, abdominelle Schmerzen bei Mukoviszidosepatienten	40
3.6	Verteilung von FC bezogen auf die Lungenfunktion der Mukoviszidosepatienten	42

## 9 Tabellenverzeichnis

<u>Tab.</u>	<u>Seitenzahl</u>	
2.1	Ein- und Ausschlusskriterien	11
2.2	Erhobene Parameter	13
2.3	CFQ-R Auswertung	15
2.4	Serumparameter und Referenzwerte des UKGM	18
3.1	Kohortenbeschreibung der Studienteilnehmer	24
3.2	Klinischer Status der Mukoviszidosepatienten	25
3.3	Lebensqualitätsergebnisse des CFQ-R bei Mukoviszidosepatienten	25
3.4	Aktuelle Begleiterkrankungen und Komplikationen der Mukoviszidosepatienten	26
3.5	Studienrelevante Medikation bei Mukoviszidosepatienten zum Untersuchungszeitpunkt	26
3.6	Abdominelle Schmerzen und Stuhlcharakteristik der Mukoviszidosepatienten	27
3.7	Klinischer Status der CED Patienten	29
3.8	Serumparameter von Mukoviszidose- und CED Patienten	29
3.9	Übersicht der Mukoviszidose- und CED Patienten mit erhöhten Serumparametern	30
3.10	Abdomineller Tastbefund bei Mukoviszidose- und CED Patienten	30
3.11	Stuhlwerte und abgeleitete Funktionen	31
3.12	Verteilung von FC auf unterschiedliche Altersgruppen	33
3.13	Zusammenhang von FC Konzentrationen und Mukoviszidose typischen Begleiterkrankungen	34
3.14	Zusammenhang von FC Konzentrationen und medikamentöser Therapie der Mukoviszidosepatienten	34

3.15	Gewichtssituation der Mukoviszidose- und CED Patienten bezogen auf FC	36
3.16	Ausgewählte Skalen des CFQ-R bezogen auf FC bei Mukoviszidosepatienten	36
3.17	Abdomineller Tastbefund bei Mukoviszidose- und CED Patienten bezogen auf die FC Konzentrationen	38
3.18	Stuhlcharakteristik und abdominelle Schmerzen bezogen auf die FC Konzentrationen bei Mukoviszidosepatienten	39
3.19	Zusammenhang der Darmwanddicke von Mukoviszidosepatienten zur FC Konzentration	41
3.20	Zusammenhang von fäkaler Elastase und Stuhlfett zur FC Konzentration	41
3.21	Zusammenhang von FC und pulmonalen Aspekten der Mukoviszidosepatienten	42
3.22	Zusammenhang von FC und Serumparametern bei Mukoviszidose- und CED Patienten	43
3.23	Zusammenhang von FC zu erhöhten Serumparametern bei Mukoviszidose- und CED Patienten	44
4.1	Auswahl klinischer Arbeiten zum Vergleich von FC Werten	46

## 10 Literaturverzeichnis

- Aadland, E. & Fagerhol, M. K. (2002) Faecal calprotectin: a marker of inflammation throughout the intestinal tract. *European journal of gastroenterology & hepatology* **14** (8), 823–825.
- Adriaanse, Marlou P M, van der Sande, Linda J T M & van den Neucker, Anita M et al. (2015) Evidence for a Cystic Fibrosis Enteropathy. *PLoS ONE* **10** (10), e0138062.
- Ahmad, A., Ahmed, A. & Patrizio, P. (2013) Cystic fibrosis and fertility. *Current opinion in obstetrics & gynecology* **25** (3), 167–172.
- Anil, N. & Singh, M. (2014) CD4(+)CD25(high) FOXP3(+) regulatory T cells correlate with FEV1 in North Indian children with cystic fibrosis. *Immunological investigations* **43** (6), 535–543.
- Anonym (2016) *Cystic Fibrosis Foundation Patient Registry, 2015*. Annual data report to the center directors, Bethesda, Maryland.
- Arbeitsgemeinschaft Adipositas Kindes- und Jugendalter Body-Mass-Index für deutsche Kinder und Jugendliche. <http://www.mybmi.de/main.php>. Accessed 9/11/2012.
- Baker, S. S., Borowitz, D., Duffy, L., Fitzpatrick, L., Gyamfi, J. & Baker, R. D. (2005) Pancreatic enzyme therapy and clinical outcomes in patients with cystic fibrosis. *The Journal of Pediatrics* **146** (2), 189–193.
- Bali, A., Stableforth, D. E. & Asquith, P. (1983) Prolonged small-intestinal transit time in cystic fibrosis. *British medical journal (Clinical research ed.)* **287** (6398), 1011–1013.
- Barfod, K. K., Roggenbuck, M. & Hansen, L. H. et al. (2013) The murine lung microbiome in relation to the intestinal and vaginal bacterial communities. *BMC microbiology* **13**, 303.
- Bargon, J., Trapnell, B. C. & Chu, C. S. et al. (1992) Down-regulation of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene expression by agents that modulate intracellular divalent cations. *Molecular and cellular biology* **12** (4), 1872–1878.
- Behrens, R., Segerer, H., Böwing, B. & Bender, S. W. (1989) Crohn's disease in cystic fibrosis. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* **9** (4), 528–531.
- Berni Canani, R., Rapacciuolo, L. & Romano, M. T. et al. (2004) Diagnostic value of faecal calprotectin in paediatric gastroenterology clinical practice. *Digestive and liver disease official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver* **36** (7), 467–470.
- Beydon, N., Davis, S. D. & Lombardi, E. et al. (2007) An official American Thoracic Society/European Respiratory Society statement: pulmonary function testing in preschool children. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* **175** (12), 1304–1345.
- Bismuth, E., Laborde, K. & Taupin, P. et al. (2008) Glucose tolerance and insulin secretion, morbidity, and death in patients with cystic fibrosis. *The Journal of pediatrics* **152** (4), 540-5, 545.e1.
- Björkstén, B., Naaber, P., Sepp, E. & Mikelsaar, M. (1999) The intestinal microflora in allergic Estonian and Swedish 2-year-old children. *Clinical and experimental allergy journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology* **29** (3), 342–346.
- Bodewes, Frank A J A, Verkade, H. J., Taminiau, Jan A J M, Borowitz, D. & Wilschanski, M. (2015) Cystic fibrosis and the role of gastrointestinal outcome

- measures in the new era of therapeutic CFTR modulation. *Journal of cystic fibrosis official journal of the European Cystic Fibrosis Society* **14** (2), 169–177.
- Boeck, K. de (2006) Cystic fibrosis: terminology and diagnostic algorithms. *Thorax* **61** (7), 627–635.
- Borowitz D, D. P. C. L. W. S. T. C. S. J. L. R. L. P. L. S. S. M. B. R. B. S. V. H. L. M. S. V. J. M. B. R. H. J. de (2005 Sep) Gastrointestinal outcomes and confounders in cystic fibrosis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* ;14(2):204-7. **41** (3), 273–285.
- Bresso, F., Askling, J. & Astegiano, M. et al. (2007) Potential role for the common cystic fibrosis DeltaF508 mutation in Crohn's disease. *Inflammatory bowel diseases* **13** (5), 531–536.
- Bruzzese, E., Callegari, M. L. & Raia, V. et al. (2014) Disrupted Intestinal Microbiota and Intestinal Inflammation in Children with Cystic Fibrosis and Its Restoration with Lactobacillus GG: A Randomised Clinical Trial. *PLoS ONE* **9** (2), e87796.
- Bruzzese, E., Raia, V. & Gaudiello, G. et al. (2004) Intestinal inflammation is a frequent feature of cystic fibrosis and is reduced by probiotic administration. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics* **20** (7), 813–819.
- Bruzzese, E., Raia, V. & Spagnuolo, M. I. et al. (2007) Effect of Lactobacillus GG supplementation on pulmonary exacerbations in patients with cystic fibrosis: a pilot study. *Clinical nutrition (Edinburgh, Scotland)* **26** (3), 322–328.
- Budden, K. F., Gellatly, S. L. & Wood, David L A et al. (2016) Emerging pathogenic links between microbiota and the gut-lung axis. *Nature reviews. Microbiology*.
- Bunn, S. K., Bisset, W. M., Main, M. J. & Golden, B. E. (2001) Fecal calprotectin as a measure of disease activity in childhood inflammatory bowel disease. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* **32** (2), 171–177.
- C.Y. Ooi, J. L. S. L. T. K. A. D. A. J. (2012) Intestinal Inflammation in CF: stool markers and correlation with pancreatic enzymes. *Journal of Cystic Fibrosis* (11), 114.
- Campbell, D. J. (2015) Control of Regulatory T Cell Migration, Function, and Homeostasis. *Journal of immunology (Baltimore, Md. 1950)* **195** (6), 2507–2513.
- Canani, R. B., Terrin, G. & Rapacciuolo, L. et al. (2008) Faecal calprotectin as reliable non-invasive marker to assess the severity of mucosal inflammation in children with inflammatory bowel disease. *Digestive and liver disease official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver* **40** (7), 547–553.
- Charlson, E. S., Bittinger, K. & Haas, A. R. et al. (2011) Topographical continuity of bacterial populations in the healthy human respiratory tract. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* **184** (8), 957–963.
- Chaun, H. (2001) Colonic disorders in adult cystic fibrosis. *Canadian journal of gastroenterology = Journal canadien de gastroenterologie* **15** (9), 586–590.
- Collie, J. T. B., Massie, R. J., Jones, O. A. H., LeGrys, V. A. & Greaves, R. F. (2014) Sixty-five years since the New York heat wave: advances in sweat testing for cystic fibrosis. *Pediatric pulmonology* **49** (2), 106–117.
- Condino, A. A., Hoffenberg, E. J. & Accurso, F. et al. (2005) Frequency of ASCA seropositivity in children with cystic fibrosis. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* **41** (1), 23–26.
- Connett, G. J., Lucas, J. S., Atchley, J. T., Fairhurst, J. J. & Rolles, C. J. (1999) Colonic wall thickening is related to age and not dose of high strength pancreatin microspheres in children with cystic fibrosis. *European journal of gastroenterology & hepatology* **11** (2), 181–183.

- Costa, F., Mumolo, M. G. & Bellini, M. et al. (2003) Role of faecal calprotectin as non-invasive marker of intestinal inflammation. *Digestive and liver disease official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver* **35** (9), 642–647.
- Cox, M. J., Allgaier, M. & Taylor, B. et al. (2010) Airway microbiota and pathogen abundance in age-stratified cystic fibrosis patients. *PLoS ONE* **5** (6), e11044.
- Croft, N. M., Marshall, T. G. & Ferguson, A. (1995) Gut inflammation in children with cystic fibrosis on high-dose enzyme supplements. *Lancet* **346** (8985), 1265–1267.
- Croft NM, M. T. F. A. (1996 Mar) Direct assessment of gastrointestinal inflammation and mucosal immunity in children with cystic fibrosis. *Postgrad Med J.* **72** (2), 32–36.
- Dalzell, A. M., Freestone, N. S., Billington, D. & Heaf, D. P. (1990) Small intestinal permeability and oro-caecal transit time in cystic fibrosis. *Archives of disease in childhood* **65** (6), 585–588.
- De Lisle, R. C. & Borowitz, D. (2013) The Cystic Fibrosis Intestine. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine* **3** (9), a009753.
- De Lisle, Robert C. (2007) Altered transit and bacterial overgrowth in the cystic fibrosis mouse small intestine. *American journal of physiology* **293** (1), G104–11.
- De Lisle, Robert C., Meldi, L., Flynn, M. & Jansson, K. (2008) Altered eicosanoid metabolism in the cystic fibrosis mouse small intestine. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* **47** (4), 406–416.
- De Lisle, Robert C., Roach, E. & Jansson, K. (2007) Effects of laxative and N-acetylcysteine on mucus accumulation, bacterial load, transit, and inflammation in the cystic fibrosis mouse small intestine. *American journal of physiology* **293** (3), G577–84.
- De Lisle, Robert C., Roach, E. A. & Norkina, O. (2006) Eradication of small intestinal bacterial overgrowth in the cystic fibrosis mouse reduces mucus accumulation. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* **42** (1), 46–52.
- del Campo, R., Garriga, M. & Pérez-Aragón, A. et al. (2014) Improvement of digestive health and reduction in proteobacterial populations in the gut microbiota of cystic fibrosis patients using a *Lactobacillus reuteri* probiotic preparation: A double blind prospective study. *Journal of Cystic Fibrosis.*
- Dhaliwal, J., Leach, S. & Katz, T. et al. (2014) Intestinal Inflammation and Impact on Growth in Children With Cystic Fibrosis. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition.*
- Di Nardo, G., Oliva, S. & Menichella, A. et al. (2014) *Lactobacillus reuteri* ATCC55730 in Cystic Fibrosis. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* **58** (1), 81–86.
- Dialer, I., Hundt, C., Bertele-Harms, R.-M. & Harms, H. K. (2003) Sonographic evaluation of bowel wall thickness in patients with cystic fibrosis. *Journal of clinical gastroenterology* **37** (1), 55–60.
- Diamanti, A., Panetta, F. & Basso, M. S. et al. (2010) Diagnostic work-up of inflammatory bowel disease in children: the role of calprotectin assay. *Inflammatory bowel diseases* **16** (11), 1926–1930.
- Dickson, R. P., Erb-Downward, J. R. & Freeman, C. M. et al. (2015) Spatial Variation in the Healthy Human Lung Microbiome and the Adapted Island Model of Lung Biogeography. *Annals of the American Thoracic Society* **12** (6), 821–830.
- D'Inca, R., Dal Pont, E. & Di Leo, V. et al. (2007) Calprotectin and lactoferrin in the assessment of intestinal inflammation and organic disease. *International journal of colorectal disease* **22** (4), 429–437.

- E. Pfadler, H. H. R. F. B. H. P. E. (1999) Darmveränderungen bei Mukoviszidosepatienten in Korrelation mit Enzymsubstitution und Klinik: Sonografische Befunde im Bereich des terminalen Ileums, Zäkums und Colon ascendens. *Monatsschrift Kinderheilkunde* (147), 1081–1085.
- Ellemunter, H., Engelhardt, A., Schüller, K. & Steinkamp, G. (2017) Faecal Calprotectin in Cystic Fibrosis and IT'S Relation to Disease Parameters - a Longitudinal Analysis Over 12 Years. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*.
- Escobar H, P. M. V. F. C. C. d. O. M. S. L. (1992 Feb) Intestinal permeability to <sup>51</sup>Cr-EDTA and orocecal transit time in cystic fibrosis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. ;14(2):204-7. **14** (2), 204–207.
- Fagerberg, U. L., Loof, L., Lindholm, J., Hansson, L.-O. & Finkel, Y. (2007) Fecal calprotectin: a quantitative marker of colonic inflammation in children with inflammatory bowel disease. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* **45** (4), 414–420.
- Fagerberg, U. L., Loof, L., Merzoug, R. D., Hansson, L.-O. & Finkel, Y. (2003) Fecal calprotectin levels in healthy children studied with an improved assay. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* **37** (4), 468–472.
- Fagerberg, U. L., Loof, L., Myrdal, U., Hansson, L.-O. & Finkel, Y. (2005) Colorectal inflammation is well predicted by fecal calprotectin in children with gastrointestinal symptoms. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* **40** (4), 450–455.
- Fallahi, G., Motamed, F. & Yousefi, A. et al. (2013) The effect of probiotics on fecal calprotectin in patients with cystic fibrosis. *The Turkish journal of pediatrics* **55** (5), 475–478.
- Farrell, P. M., Rosenstein, B. J. & White, T. B. et al. (2008) Guidelines for diagnosis of cystic fibrosis in newborns through older adults: Cystic Fibrosis Foundation consensus report. *The Journal of pediatrics* **153** (2), S4-S14.
- FitzSimmons, S. C., Burkhart, G. A. & Borowitz, D. et al. (1997) High-dose pancreatic-enzyme supplements and fibrosing colonopathy in children with cystic fibrosis. *The New England journal of medicine* **336** (18), 1283–1289.
- Flass, T., Tong, S. & Frank, D. N. et al. (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.
- Fluge, G., Olesen, H. V. & Gilljam, M. et al. (2009) Co-morbidity of cystic fibrosis and celiac disease in Scandinavian cystic fibrosis patients. *Journal of cystic fibrosis official journal of the European Cystic Fibrosis Society* **8** (3), 198–202.
- Foell, D., Wittkowski, H. & Roth, J. (2009) Monitoring disease activity by stool analyses: from occult blood to molecular markers of intestinal inflammation and damage. *Gut* **58** (6), 859–868.
- Fundaro, C., Fantacci, C. & Ansuini, V. et al. (2011) Fecal calprotectin concentration in children affected by SIBO. *European review for medical and pharmacological sciences* **15** (11), 1328–1335.
- Gaffin, J. M., Shotola, N. L., Martin, T. R. & Phipatanakul, W. (2010) Clinically useful spirometry in preschool-aged children: evaluation of the 2007 American Thoracic Society Guidelines. *The Journal of asthma official journal of the Association for the Care of Asthma* **47** (7), 762–767.
- Garg, M., Leach, S. T. & Coffey, M. J. et al. (2017) Age-dependent variation of fecal calprotectin in cystic fibrosis and healthy children. *Journal of Cystic Fibrosis*.
- Gelfond, D. & Borowitz, D. (2013) Gastrointestinal Complications of Cystic Fibrosis. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* **11** (4), 333–342.

- Gibson, R. L., Burns, J. L. & Ramsey, B. W. (2003) Pathophysiology and management of pulmonary infections in cystic fibrosis. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* **168** (8), 918–951.
- GIBSON, L. E. & COOKE, R. E. (1959) A test for concentration of electrolytes in sweat in cystic fibrosis of the pancreas utilizing pilocarpine by iontophoresis. *Pediatrics* **23** (3), 545–549.
- Golden, B. E., Clohessy, P. A., Russell, G. & Fagerhol, M. K. (1996) Calprotectin as a marker of inflammation in cystic fibrosis. *Archives of disease in childhood* **74** (2), 136–139.
- Gorzalak, M. A., Gill, S. K., Tasnim, N., Ahmadi-Vand, Z., Jay, M. & Gibson, D. L. (2015) Methods for Improving Human Gut Microbiome Data by Reducing Variability through Sample Processing and Storage of Stool. *PLoS ONE* **10** (8), e0134802.
- Gray, R. D., Imrie, M., Boyd, A. C., Porteous, D., Innes, J. A. & Greening, A. P. (2010) Sputum and serum calprotectin are useful biomarkers during CF exacerbation. *Journal of cystic fibrosis official journal of the European Cystic Fibrosis Society* **9** (3), 193–198.
- Grubb, B. R. & Gabriel, S. E. (1997) Intestinal physiology and pathology in gene-targeted mouse models of cystic fibrosis. *The American journal of physiology* **273** (2 Pt 1), G258-66.
- Guo, Y., Li, S.-H. & Kuang, Y.-S. et al. (2016) Effect of short-term room temperature storage on the microbial community in infant fecal samples. *Scientific reports* **6**, 26648.
- Guy-Crotte, O., Carrere, J. & Figarella, C. (1996) Exocrine pancreatic function in cystic fibrosis. *European journal of gastroenterology & hepatology* **8** (8), 755–759.
- Haber, H. P., Benda, N. & Fitzke, G. et al. (1997) Colonic wall thickness measured by ultrasound: striking differences in patients with cystic fibrosis versus healthy controls. *Gut* **40** (3), 406–411.
- Halilbasic E, S. K. H. S. N. A. J. P. M. G. H.-W. E. K. W. V. H. T. M. K.-S. L. (2013) Higher levels of fecal calprotectin are associated with SIBO in cystic fibrosis after lung transplantation. *Journal of Cystic Fibrosis* (12 Suppl. 1).
- Hammana, I., Malet, A. & Costa, M. et al. (2007) Normal adiponectin levels despite abnormal glucose tolerance (or diabetes) and inflammation in adult patients with cystic fibrosis. *Diabetes & Metabolism* **33** (3), 213–219.
- Hanai, H., Takeuchi, K. & Iida, T. et al. (2004) Relationship between fecal calprotectin, intestinal inflammation, and peripheral blood neutrophils in patients with active ulcerative colitis. *Digestive diseases and sciences* **49** (9), 1438–1443.
- Harvey, R. F. & Bradshaw, J. M. (1980) A simple index of Crohn's-disease activity. *Lancet* **1** (8167), 514.
- Hector, A., Schäfer, H. & Pöschel, S. et al. (2015) Regulatory T-cell impairment in cystic fibrosis patients with chronic pseudomonas infection. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* **191** (8), 914–923.
- Hemmelmann, C., Brose, S., Vens, M., Hebebrand, J. & Ziegler, A. (2010) Perzentilen des Body-Mass-Index auch für 18- bis 80-Jährige? Daten der Nationalen Verzehrsstudie II. *DMW - Deutsche Medizinische Wochenschrift* **135** (17), 848–852.
- Henry, B., Aussage, P., Grosskopf, C. & Goehrs, J.-M. (2003) Development of the Cystic Fibrosis Questionnaire (CFQ) for assessing quality of life in pediatric and adult patients. *Quality of life research an international journal of quality of life aspects of treatment, care and rehabilitation* **12** (1), 63–76.

- Hirche, T. O., Hirche, H., Jungblut, S., Stern, M., Wagner, T. O. & Wiedemann, B. (2009) Statistical limitations of percent ideal body weight as measure for nutritional failure in patients with cystic fibrosis. *Journal of cystic fibrosis official journal of the European Cystic Fibrosis Society* **8** (4), 238–244.
- Houwen, R. H., van der Doef, Hubert P & Sermet, I. et al. (2010) Defining DIOS and constipation in cystic fibrosis with a multicentre study on the incidence, characteristics, and treatment of DIOS. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* **50** (1), 38–42.
- Hyams, J. S., Ferry, G. D. & Mandel, F. S. et al. (1991) Development and validation of a pediatric Crohn's disease activity index. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* **12** (4), 439–447.
- Jackson, M. A., Goodrich, J. K. & Maxan, M.-E. et al. (2016) Proton pump inhibitors alter the composition of the gut microbiota. *Gut* **65** (5), 749–756.
- Jin, Y., Sharma, A. & Carey, C. et al. (2013) The expression of inflammatory genes is upregulated in peripheral blood of patients with type 1 diabetes. *Diabetes care* **36** (9), 2794–2802.
- Jones, A. M. & Helm, J. M. (2009) Emerging treatments in cystic fibrosis. *Drugs* **69** (14), 1903–1910.
- Kang, J. H., Hwang, S. M. & Chung, I. Y. (2015) S100A8, S100A9 and S100A12 activate airway epithelial cells to produce MUC5AC via extracellular signal-regulated kinase and nuclear factor- $\kappa$ B pathways. *Immunology* **144** (1), 79–90.
- Keely, S., Talley, N. J. & Hansbro, P. M. (2012) Pulmonary-intestinal cross-talk in mucosal inflammatory disease. *Mucosal immunology* **5** (1), 7–18.
- Kerem, B., Rommens, J. M. & Buchanan, J. A. et al. (1989) Identification of the cystic fibrosis gene: genetic analysis. *Science (New York, N* **245** (4922), 1073–1080.
- Kerem, E. (2006) Mutation specific therapy in CF. *Paediatric respiratory reviews* **7 Suppl 1**, S166-9.
- Knudson, R. J., Lebowitz, M. D., Holberg, C. J. & Burrows, B. (1983) Changes in the normal maximal expiratory flow-volume curve with growth and aging. *The American review of respiratory disease* **127** (6), 725–734.
- Koek, G. H., Verleden, G. M., Evenepoel, P. & Rutgeerts, P. (2002) Activity related increase of exhaled nitric oxide in Crohn's disease and ulcerative colitis: a manifestation of systemic involvement? *Respiratory medicine* **96** (7), 530–535.
- Kreindler, J. L., Steele, C. & Nguyen, N. et al. (2010) Vitamin D3 attenuates Th2 responses to *Aspergillus fumigatus* mounted by CD4+ T cells from cystic fibrosis patients with allergic bronchopulmonary aspergillosis. *The Journal of clinical investigation* **120** (9), 3242–3254.
- Kromeyer-Hauschild, K., Wabitsch, M. & Kunze, D. et al. (2001) Perzentile für den Body-mass-Index für das Kindes- und Jugendalter unter Heranziehung verschiedener deutscher Stichproben. *Monatsschrift Kinderheilkunde* **149** (8), 807–818.
- Lee, J. M., Leach, S. T., Katz, T., Day, A. S., Jaffe, A. & Ooi, C. Y. (2012) Update of Faecal Markers of Inflammation in Children with Cystic Fibrosis. *Mediators of Inflammation* **2012** (1, supplement), 1–6.
- Leggieri, E., Biase, R. V. de, Savi, D., Zullo, S., Halili, I. & Quattrucci, S. (2013) Clinical effects of diet supplementation with DHA in pediatric patients suffering from cystic fibrosis. *Minerva pediatrica* **65** (4), 389–398.
- Lemann, M., Messing, B., D'Agay, F. & Modigliani, R. (1987) Crohn's disease with respiratory tract involvement. *Gut* **28** (12), 1669–1672.

- Lewindon PJ, R. T. M. D. D. G. M. A. (1998) Bowel dysfunction in cystic fibrosis: importance of breath testing. *J Paediatr Child health* **34**, 79–82.
- Lewis, C., Blackman, S. M. & Nelson, A. et al. (2015) Diabetes-related mortality in adults with cystic fibrosis. Role of genotype and sex. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* **191** (2), 194–200.
- Li, J., Hao, C., Ren, L., Xiao, Y., Wang, J. & Qin, X. (2016) Data Mining of Lung Microbiota in Cystic Fibrosis Patients. *PLoS ONE* **11** (10), e0164510.
- Li, L. & Somers, S. (2014) The clinical significance of the gut microbiota in cystic fibrosis and the potential for dietary therapies. *Clinical Nutrition*.
- Lisowska, A., Madry, E., Pogorzelski, A., Szydłowski, J., Radzikowski, A. & Walkowiak, J. (2010) Small intestine bacterial overgrowth does not correspond to intestinal inflammation in cystic fibrosis. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation* **70** (5), 322–326.
- Liston, A. & Gray, Daniel H D (2014) Homeostatic control of regulatory T cell diversity. *Nature reviews. Immunology* **14** (3), 154–165.
- Liu, J., Walker, N. M., Ootani, A., Strubberg, A. M. & Clarke, L. L. (2015) Defective goblet cell exocytosis contributes to murine cystic fibrosis-associated intestinal disease. *The Journal of clinical investigation* **125** (3), 1056–1068.
- Lloyd-Still JD. (1994 Apr) Crohn's disease and cystic fibrosis. *Dig Dis Sci.* **39** (4), 880–885.
- Löser, C., Möllgaard, A. & Fölsch, U. R. (1996) Faecal elastase 1: a novel, highly sensitive, and specific tubeless pancreatic function test. *Gut* **39** (4), 580–586.
- Lu, D.-G., Ji, X.-Q., Liu, X., Li, H.-J. & Zhang, C.-Q. (2014) Pulmonary manifestations of Crohn's disease. *World journal of gastroenterology* **20** (1), 133–141.
- Lynch, S. V., Goldfarb, K. C., Wild, Y. K., Kong, W., Lisle, R. C. de & Brodie, E. L. (2013) Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator knockout mice exhibit aberrant gastrointestinal microbiota. *Gut Microbes* **4** (1), 41–47.
- Mac Sweeney, E. J., Oades, P. J., Buchdahl, R., Rosenthal, M. & Bush, A. (1995) Relation of thickening of colon wall to pancreatic-enzyme treatment in cystic fibrosis. *Lancet* **345** (8952), 752–756.
- Madan, J. C., Koestler, D. C. & Stanton, B. A. et al. (2012) Serial Analysis of the Gut and Respiratory Microbiome in Cystic Fibrosis in Infancy: Interaction between Intestinal and Respiratory Tracts and Impact of Nutritional Exposures. *mBio* **3** (4), e00251-12.
- Maiden, L., Thjodleifsson, B. & Seigal, A. et al. (2007) Long-term effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and cyclooxygenase-2 selective agents on the small bowel: a cross-sectional capsule enteroscopy study. *Clinical gastroenterology and hepatology the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association* **5** (9), 1040–1045.
- Mall, M. A. & Galiotta, Luis J V (2015) Targeting ion channels in cystic fibrosis. *Journal of cystic fibrosis official journal of the European Cystic Fibrosis Society* **14** (5), 561–570.
- Manor, O., Levy, R. & Pope, C. E. et al. (2016) Metagenomic evidence for taxonomic dysbiosis and functional imbalance in the gastrointestinal tracts of children with cystic fibrosis. *Scientific reports* **6**, 22493.
- Marsland, B. J., Trompette, A. & Gollwitzer, E. S. (2015) The Gut-Lung Axis in Respiratory Disease. *Annals of the American Thoracic Society* **12 Suppl 2**, S150-6.
- McPhail, G. L. & Clancy, J. P. (2013) Ivacaftor: the first therapy acting on the primary cause of cystic fibrosis. *Drugs of today (Barcelona, Spain 1998)* **49** (4), 253–260.

- Miller, M. R., Hankinson, J. & Brusasco, V. et al. (2005) Standardisation of spirometry. *The European respiratory journal official journal of the European Society for Clinical Respiratory Physiology* **26** (2), 319–338.
- Montalto, M., Santoro, L. & Dalvai, S. et al. (2008) Fecal calprotectin concentrations in patients with small intestinal bacterial overgrowth. *Digestive diseases (Basel, Switzerland)* **26** (2), 183–186.
- Mortaz, E., Adcock, I. M., Folkerts, G., Barnes, P. J., Paul Vos, A. & Garssen, J. (2013) Probiotics in the management of lung diseases. *Mediators of Inflammation* **2013**, 751068.
- Munck, A. (2014) Cystic fibrosis: Evidence for gut inflammation. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* **52**, 180–183.
- MVZ Labor Dr. Limbach & Kollegen GbR (2013) BMI - Perzentile und SDS. [http://www.labor-limbach.de/BMI-Perzentile-und.549.0.html?&no\\_cache=1](http://www.labor-limbach.de/BMI-Perzentile-und.549.0.html?&no_cache=1). Accessed 9/11/2012.
- Ng, M. Y., Flight, W. & Smith, E. (2014) Pulmonary complications of cystic fibrosis. *Clinical radiology* **69** (3), e153-62.
- Norkina, O., Kaur, S., Ziemer, D. & Lisle, R. C. de (2004) Inflammation of the cystic fibrosis mouse small intestine. *American journal of physiology* **286** (6), G1032-41.
- Norkina O, B. T. L. R. de (2004) Bacterial overgrowth in the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator null mouse small intestine. *Infection and immunity* **72**, 6040–6049.
- Ntimbane, T., Comte, B. & Mailhot, G. et al. (2009) Cystic fibrosis-related diabetes: from CFTR dysfunction to oxidative stress. *The Clinical biochemist. Reviews* **30** (4), 153–177.
- O.V. (2011): Zugriff über Datenbank: Cystic Fibrosis Mutation Database. <http://www.genet.sickkids.on.ca/StatisticsPage.html>, [Stand: 25.04.2011] Cystic Fibrosis Mutation Database. Accessed 7/14/2016.
- O’Callaghan G, H. A. S. F. P. B. (2014) Modulation of Cystic Fibrosis gut inflammation- a pivotal role of the lung-gut axis. *Journal of Cystic Fibrosis* (13 Suppl. 2).
- O’Sullivan, B. P. & Freedman, S. D. (2009) Cystic fibrosis. *Lancet* **373** (9678), 1891–1904.
- Pang, T., Leach, S. T., Katz, T., Day, A. S. & Ooi, C. Y. (2014) Fecal biomarkers of intestinal health and disease in children. *Frontiers in pediatrics* **2**, 6.
- Parisi, G. F., Papale, M. & Rotolo, N. et al. (2017) Severe disease in Cystic Fibrosis and fecal calprotectin levels. *Immunobiology* **222** (3), 582–586.
- Paroni Sterbini, F., Palladini, A. & Masucci, L. et al. (2016) Effects of Proton Pump Inhibitors on the Gastric Mucosa-Associated Microbiota in Dyspeptic Patients. *Applied and Environmental Microbiology* **82** (22), 6633–6644.
- Pedersen, L., Nybo, M., Poulsen, M. K., Henriksen, J. E., Dahl, J. & Rasmussen, L. M. (2014) Plasma calprotectin and its association with cardiovascular disease manifestations, obesity and the metabolic syndrome in type 2 diabetes mellitus patients. *BMC cardiovascular disorders* **14**, 196.
- Pickhardt, P. J., Yagan, N., Siegel, M. J., Balfe, D. M. & Rothbaum, R. J. (1998) Cystic fibrosis: CT findings of colonic disease. *Radiology* **206** (3), 725–730.
- Pohl, M., Krackhardt, B., Posselt, H. G. & Lembcke, B. (1997) Ultrasound studies of the intestinal wall in patients with cystic fibrosis. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* **25** (3), 317–320.

- Pragman, A. A., Kim, H. B., Reilly, C. S., Wendt, C. & Isaacson, R. E. (2012) The lung microbiome in moderate and severe chronic obstructive pulmonary disease. *PLoS ONE* **7** (10), e47305.
- Quinton, P. M. (1983) Chloride impermeability in cystic fibrosis. *Nature* **301** (5899), 421–422.
- Quon, B. S. & Aitken, M. L. (2012) Cystic fibrosis: what to expect now in the early adult years. *Paediatric respiratory reviews* **13** (4), 206–214.
- R. E. Knauff and J. A. Adams (1968) Doudenal fluid pH in CF. *Clin Chem* **14**, 477–479.
- Raia V, M. L. R. G. V. B. V. L. C. R. A. S. L. M. de (2000 Mar) Evidence of chronic inflammation in morphologically normal small intestine of cystic fibrosis patients. *Pediatr Res.* **47** (3), 344–350.
- Ramsden, W. H., Moya, E. F. & Littlewood, J. M. (1998) Colonic wall thickness, pancreatic enzyme dose and type of preparation in cystic fibrosis. *Archives of disease in childhood* **79** (4), 339–343.
- Ratjen, F., Saiman, L. & Mayer-Hamblett, N. et al. (2012) Effect of azithromycin on systemic markers of inflammation in patients with cystic fibrosis uninfected with *Pseudomonas aeruginosa*. *Chest* **142** (5), 1259–1266.
- Rich, D. P., Anderson, M. P. & Gregory, R. J. et al. (1990) Expression of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator corrects defective chloride channel regulation in cystic fibrosis airway epithelial cells. *Nature* **347** (6291), 358–363.
- Riordan, J. R., Rommens, J. M. & Kerem, B. et al. (1989) Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. *Science (New York, N* **245** (4922), 1066–1073.
- Rosen, R., Amirault, J. & Liu, H. et al. (2014) Changes in Gastric and Lung Microflora With Acid Suppression. *JAMA Pediatrics* **168** (10), 932.
- Roseth, A. G., Aadland, E., Jahnsen, J. & Raknerud, N. (1997) Assessment of disease activity in ulcerative colitis by faecal calprotectin, a novel granulocyte marker protein. *Digestion* **58** (2), 176–180.
- Roseth, A. G., Fagerhol, M. K., Aadland, E. & Schjonsby, H. (1992) Assessment of the neutrophil dominating protein calprotectin in feces. A methodologic study. *Scandinavian journal of gastroenterology* **27** (9), 793–798.
- Rumman, N., Sultan, M. & El-Chammas, K. et al. (2014) Calprotectin in Cystic Fibrosis. *BMC pediatrics* **14** (1), 133.
- Sagel, S. D., Thompson, V. & Chmiel, J. F. et al. (2015) Effect of Treatment of Cystic Fibrosis Pulmonary Exacerbations on Systemic Inflammation. *Annals of the American Thoracic Society*.
- Schippa, S., Iebba, V. & Santangelo, F. et al. (2013) Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) allelic variants relate to shifts in faecal microbiota of cystic fibrosis patients. *PLoS ONE* **8** (4), e61176.
- Shah, N., Tan, H.-I., Sebire, N., Suri, R. & Leuven, K. (2013) The role of endoscopy and biopsy in the management of severe gastrointestinal disease in cystic fibrosis patients. *Pediatric pulmonology* **48** (12), 1181–1189.
- Smyth, R. L. (1996) Fibrosing colonopathy in cystic fibrosis. *Archives of disease in childhood* **74** (5), 464–468.
- Smyth, R. L., Ashby, D. & O'Hea, U. et al. (1995) Fibrosing colonopathy in cystic fibrosis: results of a case-control study. *Lancet* **346** (8985), 1247–1251.
- Smyth, R. L., Croft, N. M., O'Hea, U., Marshall, T. G. & Ferguson, A. (2000) Intestinal inflammation in cystic fibrosis. *Archives of disease in childhood* **82** (5), 394–399.

- Smyth, R. L., van Velzen, D., Smyth, A. R., Lloyd, D. A. & Heaf, D. P. (1994) Strictures of ascending colon in cystic fibrosis and high-strength pancreatic enzymes. *Lancet* **343** (8889), 85–86.
- Steinbakk, M., Naess-Andresen, C. F., Langaas, E., Dale, I., Brandtzaeg, P. & Fagerhol, M. K. (1990) Antimicrobial actions of calcium binding leucocyte L1 protein, calprotectin. *Lancet* **336** (8718), 763–765.
- Stern, M., Wiedemann, B. & Wenzlaff, P. (2008) From registry to quality management: the German Cystic Fibrosis Quality Assessment project 1995 2006. *The European respiratory journal* **31** (1), 29–35.
- Sun, L., Rommens, J. M. & Corvol, H. et al. (2012) Multiple apical plasma membrane constituents are associated with susceptibility to meconium ileus in individuals with cystic fibrosis. *Nature genetics* **44** (5), 562–569.
- Sze, M. A., Dimitriu, P. A. & Hayashi, S. et al. (2012) The lung tissue microbiome in chronic obstructive pulmonary disease. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* **185** (10), 1073–1080.
- Tabcharani, J. A., Rommens, J. M. & Hou, Y. X. et al. (1993) Multi-ion pore behaviour in the CFTR chloride channel. *Nature* **366** (6450), 79–82.
- Tibble, J. A. & Bjarnason, I. (2001) Fecal calprotectin as an index of intestinal inflammation. *Drugs of today (Barcelona, Spain 1998)* **37** (2), 85–96.
- Tofé, S., Moreno, J. C., Máiz, L., Alonso, M., Escobar, H. & Barrio, R. (2005) Insulin-secretion abnormalities and clinical deterioration related to impaired glucose tolerance in cystic fibrosis. *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies* **152** (2), 241–247.
- Uliasz, M., Bragoszewska, H. & Iwanowska, B. et al. (2010) Sonography of small bowel, colon and appendix in children with cystic fibrosis. *Medycyna wieku rozwojowego* **14** (1), 15–27.
- van Goor, F., Hadida, S. & Grootenhuis, Peter D J et al. (2009) Rescue of CF airway epithelial cell function in vitro by a CFTR potentiator, VX-770. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **106** (44), 18825–18830.
- van Hendriks HJ, K. B. F. P. (2001 Sep) Effects of therapy with lansoprazole on intestinal permeability and inflammation in young cystic fibrosis patients. *J Pediatr Gastroenterol Nutr. ;14(2):204-7.* **33** (3), 260–265.
- Vaos, G., Kostakis, I. D., Zavras, N. & Chatzemichael, A. (2013) The Role of Calprotectin in Pediatric Disease. *BioMed Research International* **2013** (6), 1–8.
- Visca, A., Bishop, C. T., Hilton, S. & Hudson, V. M. (2015) Oral Reduced L-Glutathione Improves Growth in Pediatric Cystic Fibrosis Patients: A Randomized Clinical Trial. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition.*
- Wainwright, B. J., Scambler, P. J. & Schmidtke, J. et al. (1985) Localization of cystic fibrosis locus to human chromosome 7cen-q22. *Nature* **318** (6044), 384–385.
- Walkowiak, J., Blask-Osipa, A. & Lisowska, A. et al. (2010) Cystic fibrosis is a risk factor for celiac disease. *Acta biochimica Polonica* **57** (1), 115–118.
- Weiss, B., Bujanover, Y., Yahav, Y., Vilozni, D., Fireman, E. & Efrati, O. (2010) Probiotic supplementation affects pulmonary exacerbations in patients with cystic fibrosis: A pilot study. *Pediatric pulmonology*, n/a.
- Weninger, K., Aussage, P., Wahn, U. & Staab, D. (2003) The revised German Cystic Fibrosis Questionnaire: validation of a disease-specific health-related quality of life instrument. *Quality of life research an international journal of quality of life aspects of treatment, care and rehabilitation* **12** (1), 77–85.

- Werlin, S. L., Benuri-Silbiger, I. & Kerem, E. et al. (2010) Evidence of intestinal inflammation in patients with cystic fibrosis. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* **51** (3), 304–308.
- Więcek, S., Woś, H., Kordys-Darmolińska, B., Sankiewicz-Szkółka, M. & Grzybowska-Chlebowczyk, U. (2017) The concentration of calprotectin in the stools of children with diagnosed cystic fibrosis. *Przegląd gastroenterologiczny* **12** (1), 38–43.
- Zapletal, A. & Chalupova, J. (2003) Forced expiratory parameters in healthy preschool children (3-6 years of age). *Pediatric pulmonology* **35** (3), 200–207.
- Zapletal, A., Šamánek, M. & Paul, T. (1987) *Lung function in children and adolescents: Methods, reference values*. Karger, Basel, New York.
- Zhang, Z. & Lai, H. J. (2004) Comparison of the use of body mass index percentiles and percentage of ideal body weight to screen for malnutrition in children with cystic fibrosis. *The American journal of clinical nutrition* **80** (4), 982–991.
- Zielenski, J. (2000) Genotype and phenotype in cystic fibrosis. *Respiration; international review of thoracic diseases* **67** (2), 117–133.
- Zielenski, J. & Tsui, L. C. (1995) Cystic fibrosis: genotypic and phenotypic variations. *Annual review of genetics* **29**, 777–807.

# 11 Anhang

## I. Methodik

Tabelle 13.2: Stuhlextraktion mittels Einwiegen nach CALPROLAB™ für fäkales Calprotectin

Punkt	Ablauf
1	Extraktionspuffer herstellen (Verhältnis 1:2,5) : 90 ml Extraktionspuffer + 135 ml Aqua dest./entionisiertes H <sub>2</sub> O (
2	das leere Röhrchen und Impföse wiegen
3	mit der Impföse ca. 100 mg der Stuhlprobe in das Röhrchen überführen
4	Messen des Nettogewichts durch Wiegen der Stuhlprobe und des Röhrchens mit Öse
5	obere Hälfte der Öse abbrechen, unterer Teil der Öse bleibt im Röhrchen
6	Extraktionslösung hinzupipettieren, sodass ein Verhältnis von 1:50 entsteht (100 mg Stuhlprobe + 4,9 ml Extraktionspuffer)
7	Probenröhrchen verschließen, mind. 30 Sekunden vortexen
8	Mischen durch einen Schüttler bei 1000 rpm für 30±5 min Öse im Röhrchen dient als Rührer
9	Röhrchen kurz ruhen lassen, damit sich Partikel absetzen können Flüssigkeit aus dem oberen Röhrchen-Bereich in ein neues Gefäß pipettieren

Tabelle 13.1: Testdurchführung CALPROLAB™ Calprotectin ELISA

Punkt	Ablauf
1	Standards, Kontrollen und Proben in die Mikrotiterplatte als Doppelbestimmung pipettieren
2	Inkubation
3	Flüssigkeiten aus der Platte verwerfen Wells drei mal mit Waschpuffer waschen Mikrotiterplatte auf saugfähigem Papier ausschlagen
4	Zugabe von Enzymkonjugat in jedes Well
5	Inkubation
6	Waschvorgang entsprechend Punkt 3 wiederholen
7	Zugabe von Substratlösung in jedes Well
8	Inkubation
9	Zugabe der Stopplösung in jedes Well Farbumschlag
10	Extinktionmessung im Photometer (nm)
11	Auswertung (qualitativ, quantitativ)

<sup>1</sup> Abdecken der Mikrotiterplatte mit Klebefolie

Tabelle 13.3: Stuhlextraktion mittels Einwiegen nach ScheBo® für Pankreatische Elastase

<b>Punkt</b>	<b>Ablauf</b>
1	Extraktionspuffer herstellen (Verhältnis 1:5) : 100 ml Extraktionspuffer plus 400 ml H <sub>2</sub> O bidest
2	das leere Röhrchen und Impföse wiegen
3	mit der Impföse ca. 100 mg der Stuhlprobe in das Röhrchen überführen
4	Messen des Nettogewichts durch Wiegen der Stuhlprobe und des Röhrchens mit Öse
5	Zugabe des Extraktionspuffers, sodass ein Stuhlprobenextrakt mit der Endkonzentration von 10 mg Stuhl/ml Extraktionspuffer entsteht (100 mg Stuhl + 10 ml Extraktionspuffer)
6	mehrfach vortexen, mindestens 5 min Extraktion, nochmals vortexen
7	Röhrchen kurz ruhen lassen, damit sich Partikel absetzen können Flüssigkeit aus dem oberenRöhrchen-Bereich in ein neues Gefäß pipettieren

---

*Vom Betreuungspersonal vor Aushändigung des Fragebogens auszufüllen:*

Patienten ID/Fragebogennummer

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

Tag der Befragung

--	--	--	--	--	--	--	--

**Fragebogen**  
**zur Lebensqualität bei Mukoviszidose (CFQ 14+R)**  
*(revidierte Fassung 8/03)*  
für Patienten von 14 - 17 Jahren

*Von der Patientin/dem Patienten auszufüllen:*

Geschlecht

weiblich   
männlich

Alter:

--	--



---

## ANLEITUNG

---

Dein Wissen über die Auswirkungen deiner Krankheit und der Therapie auf deinen Alltag ist für den Arzt von großer Bedeutung, um deinen Gesundheitszustand besser erfassen und die Behandlung exakter anpassen zu können.

Wir haben zu diesem Zweck einen Fragebogen über die Lebensqualität erstellt, der sich an Menschen wendet, die an Mukoviszidose erkrankt sind.

Die folgenden Fragen beziehen sich auf deine Gesundheit, so wie du sie aktuell empfinden. Diese Auskunft ermöglicht uns ein besseres Verständnis deiner Gefühle in deinem Alltag.

### WIE SOLL DER FRAGEBOGEN AUSGEFÜLLT WERDEN?

Bitte beantworte alle Fragen, indem du die entsprechende Antwort ankreuzt. Wenn du nicht genau weißt, welche Antwort korrekt ist, dann kreuze diejenige an, die deiner Situation am ehesten gerecht wird. Kreuze bei jeder Frage bitte nur eine Antwort an.

*Beziehe dich bei den folgenden Fragen bitte auf deinen Gesundheitszustand in den letzten 2 Wochen:*

**Wie schwierig war es für dich,**

Kreuze an, welche Antwort auf dich zutrifft

	sehr schwierig	ziemlich schwierig	ein wenig schwierig	überhaupt nicht schwierig
1. größere körperliche Anstrengungen wie z.B. Rennen oder Sport zu unternehmen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. genauso schnell zu gehen wie andere . . . .	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3. schwere Gegenstände aufzuheben und zu tragen (Bücher, Einkaufstasche, Aktentasche) .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4. eine Etage hochzusteigen.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5. die Treppen genauso schnell hinaufzusteigen wie andere .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

**Gib an, wie du dich in den letzten 2 Wochen gefühlt hast:**

Kreuze an, welche Antwort auf dich zutrifft

	immer	oft	manchmal	nie
6. Du hast dich in guter Verfassung gefühlt	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7. Du hast dir Sorgen gemacht .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8. Du hast dich nutzlos gefühlt.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
9. Du hast dich müde gefühlt .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
10. Du hast dich voller Energie gefühlt .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
11. Du hast dich erschöpft gefühlt.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
12. Du hast dich traurig oder niedergeschlagen gefühlt.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

*Bitte kreuze an, welche der folgenden Aussagen auf dich zutreffen. Denke dabei an den Zeitraum der **letzten 2 Wochen**:*

Bitte kreuze nur eine Antwort an:

**13. Inwieweit hast du Schwierigkeiten beim Gehen:**

- Du kannst lange gehen, ohne zu ermüden. ....
- Du kannst lange gehen, ermüdest jedoch. ....
- Du gehst nicht sehr lange, weil du schnell ermüdest. ....
- Du vermeidest das Gehen wo immer du kannst, weil es dich zu sehr ermüdet. ....

Bitte kreuze nur eine Antwort an:

**14. Inwieweit sind Mahlzeiten ein Problem für dich?**

- Schon wenn vom Essen gesprochen wird, wird dir übel. ....
- Du isst nie gern .....
- Manchmal isst du gern .....
- Du isst gern .....

Bitte kreuze nur eine Antwort an:

**15. Wie stark fühlst du dich durch deine tägliche Therapie (einschließlich Inhalieren und Krankengymnastik) belastet?**

- überhaupt nicht / ein wenig .....
- mäßig .....
- stark .....
- sehr stark .....

Bitte kreuze nur eine Antwort an:

**16. Wie viel Zeit wendest du zur Zeit täglich für deine Therapie auf?**

- sehr viel .....
- mäßig viel .....
- etwas .....
- sehr wenig .....

Bitte kreuze nur eine Antwort an:

17. **Wie schwierig ist es für dich, die tägliche Therapie (inklusive der Medikamenteneinnahme) durchzuführen?**

- gar nicht schwierig .....
- ein bisschen schwierig .....
- ziemlich schwierig .....
- sehr schwierig .....

Bitte kreuze nur eine Antwort an:

18. **Wie schätzt du deinen derzeitigen Gesundheitszustand ein?**

- sehr gut .....
- eher gut .....
- eher schlecht .....
- sehr schlecht .....

*Bitte kreuze an, inwieweit die folgenden Aussagen auf dich zutreffen. Denke dabei an den Zeitraum der letzten 2 Wochen:*

	stimmt genau	stimmt eher	stimmt eher nicht	stimmt überhaupt nicht
19. Nach einer körperlichen Anstrengung erhole ich mich nur schwer .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
20. Ich muss größere körperliche Anstrengungen wie Rennen und Sporttreiben einschränken.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
21. Ich zwinge mich zu essen .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
22. Ich bleibe öfter zu Hause als ich möchte.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
23. Es fällt mir leicht, mit anderen über meine Erkrankung zu reden.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
24. Ich finde mich zu dünn .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
25. Ich finde, dass ich körperlich anders bin als andere.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
26. Ich fühle mich oft unsicher wegen meines Aussehens .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
27. Die Leute haben Angst, dass meine Krankheit ansteckend ist .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
28. Ich besuche oft meine Freunde .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
29. Ich habe das Gefühl, dass mein Husten andere stört .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
30. Ich gehe ohne zu zögern abends aus	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
31. Ich fühle mich oft allein .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
32. Ich fühle mich körperlich wohl und habe den Eindruck, nicht krank zu sein .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
33. Ich kann längerfristig nichts planen....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
34. Ich lebe ein normales Leben .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

---

 SCHULE UND ARBEIT
 

---

*Die Fragen 35 bis 38 beziehen sich auf Schule, berufliche Tätigkeit oder deine anderen täglichen Aufgaben.*

35. **Inwieweit hattest du in den letzten zwei Wochen aus gesundheitlichen Gründen Probleme in der Schule/Ausbildung, im Beruf oder bei deinen anderen täglichen Aufgaben?** Bitte kreuze nur eine Antwort an
- Du hattest keinerlei Probleme, deine Aufgaben zu erledigen ...
- Du hast Wege gefunden, mit deinen Aufgaben nicht in Verzug zu geraten, manchmal allerdings mit Schwierigkeiten. ....
- Du bist mit deinen Aufgaben in Verzug geraten .....
- Du konntest gar keiner Tätigkeit nachgehen. ....
- 
36. **Wie häufig hast du in den letzten zwei Wochen aus gesundheitlichen Gründen in der Schule/Ausbildung oder bei der Arbeit gefehlt?** Bitte kreuze nur eine Antwort an
- immer.....
- oft.....
- manchmal.....
- nie.....
- 
37. **Wie oft stört dich deine Krankheit beim Erreichen persönlicher Ziele (Schule, Beruf, privat)** Bitte kreuze nur eine Antwort an
- immer.....
- oft.....
- manchmal.....
- nie.....

38. **Wie oft hindert dich deine Krankheit, das Haus zu verlassen (z.B. zum Einkaufen oder ähnlichen Aktivitäten)** Bitte kreuze nur eine Antwort an
- immer.....
- oft.....
- manchmal.....
- nie.....

---

## SYMPTOMFRAGEBOGEN

---

*Bitte gib an, wie du dich **in den letzten 2 Wochen** gefühlt hast. Kreuze an, welche Antwort auf dich zutrifft:*

- |   | stark                    | mäßig                    | ein wenig                | überhaupt nicht  |
|---|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--|
| 39. Hattest du Schwierigkeiten, dein Gewicht zu halten? ..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/>   |
| 40. Hattest du verschleimte Atemwege?                         | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/>   |
| 41. Hast du tagsüber gehustet? .....                          | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/>   |
| 42. Hattest du Auswurf? .....                                 | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> →<br><b>falls überhaupt nicht, gehe zu Frage 44</b> |

43. **Wie sah der Auswurf meistens aus?**
- klar     hell bis gelblich     dunkel bis grünlich     blutig     weiß nicht

**Gib an, wie du dich in den letzten  
2 Wochen gefühlt hast:**

	täglich	oft	manchmal	nie
44. Traten bei der Atmung Pfeifgeräusche auf? .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
45. Hattest du Schwierigkeiten bei der Atmung? .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
46. Bist du wegen des Hustens nachts aufgewacht? .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
47. Hattest Du Probleme mit Blähungen?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
48. Hattest du Durchfall? .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
49. Hattest du Bauchschmerzen? .....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
50. Hattest Du Essprobleme?.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

*Bevor du den Fragebogen abgibst, prüfe bitte, ob du alle Fragen beantwortet hast.*

**VIELEN DANK FÜR DEINE MITARBEIT!**

---



---



# WORKSHEET

based on the Harvey-Bradshaw Index\*

PATIENT NAME	DATE (YYYY / MM / DD)	PERSONAL HEALTH NUMBER
		Score
1. Patient's general well-being (for the previous day) (0 = very well, 1 = slightly below par, 2 = poor, 3 = very poor, 4 = terrible)		_____
2. Abdominal pain (for the previous day) (0 = none, 1 = mild, 2 = moderate, 3 = severe)		_____
3. Number of liquid stools per day (for the previous day) (score 1 per movement)		_____
4. Abdominal mass (0 = none, 1 = dubious, 2 = definite, 3 = definite and tender)		_____
5. Complications (score 1 per item)		
arthralgia		_____
uveitis		_____
erythema nodosum		_____
aphthous ulcers		_____
pyoderma gangrenosum		_____
anal fissure		_____
new fistula		_____
abscess		_____
Please insert the value of the total score in the appropriate area in either section 5 or 7 on the form HLTH 5368.		TOTAL

\* The worksheet is based from the article Harvey RF, Bradshaw JM. A simple index of Crohn's disease activity. *Lancet*. 1980;1:514.

Harvey-Bradshaw Index Score	
Remission	<5
Mild Disease	5 - 7
Moderate Disease	8 - 16
Severe Disease	>16

HLTH 5374 2012/09/14

**PRINT**

**RESET**

## Studie Calprotectin/CED Gruppe

Patienten ID \_\_\_\_\_ Untersuchungsdatum \_\_\_\_\_.

Geb.Datum \_\_\_\_\_ Geschlecht \_\_\_\_\_.

Körpergewicht: \_\_\_\_\_ (P ) Körperlänge: \_\_\_\_\_ (P )

Diagnose \_\_\_\_\_.

Anamnese: Berichtete/Vermutetet Unverträglichkeit (Ja =1; Nein= 0)

Milchzucker: \_\_\_\_\_ Fruktzucker: \_\_\_\_\_

Medikation:

Medikament	Dosis	Applikationshäufigkeit

<u>Untersuchungsbefund:</u>	Ja	Nein
Abdomen gebläht	0	0
Resistenzen/Konglomerat	0	0
Hepatomegalie	0	0
Splenomegalie	0	0

Abnahmedatum von Stuhlprobe: \_\_\_\_\_

Abnahme von Blutprobe: \_\_\_\_\_

CED -Aktivitätsindex nach Hyams

		Punkte	Summe
Bauchschmerzen	keine	0	
	mild, kurz, keine Unterbrechung	5	
	Mäßig/schwer, täglich, länger anhaltend, auch nachts zur Unterbrechung führend	10	+_____
Stühle pro Tag	< 2 halb-geformte und etwas Blut	0	
	2-5 flüssige Stühle	5	
	> 6 flüssige Stühle oder nächtliche Defäkation oder mass GIB	10	+_____
Allgemeinzustand	keine Einschränkung	0	
	Ab und zu Probleme, die üblichen Aktivitäten zu erfüllen	5	
	Häufige Einschränkung, schlechter Allgemeinzustand	10	+_____

Nährlich, 23.05.2011

**bitte wenden!**

		Punkte	Summe
Zwischensumme			-----
Laborwerte:	HK	0 2,5 5 Punkte	0
	<10 J:	>= 33, 28-32, < 28	2,5
	11-14 männl:	>= 35, 30-34, < 30	5
	15-19 männl:	>=37; 32-36 < 32	
	11-19 weibl:	>= 34, 29-33, < 29	+_____
	BKS (mm/h in 1.Stunde)	<20	0
		20-50	2,5
		>50	5,0
			+_____
	Albumin g/l	>=3,5	0
		3,1-3,4	5
		<=3,0	10
			+_____
Gewicht:	stabil/gewollter Stillstand/Abnahme		0
	Unfreiwilliger Verlust 1-9%		5
	Gewichtsverlust > 10%		10
			+_____
Größe	hGV >-1 SDS		0
	hGV < - 1 SDS > -2 SDS		5
	hGV < -2 SDS		10
			+_____
Abdomenbefund	kein Druckschmerz, kein Konglomerat		0
	Druckschmerz oder Masse ohne Druckschmerz		5
	Druckschmerz, Abwehrspannung		10
			+_____
Perianal	oB		0
	1-2 schmerzlose Fisteln, nicht nässend, kein Druckschmerz		5
	Aktive nässende Fistel, schmerzhaft oder Abzess		10
			+_____
EIM	Fieber > 38,5 C für 3 tage der letzten Woche, eindeutige Arthritis		
	Uveitis, EB, P gangr		
	Nein		0
	1 Symptom		5
	> 2 Symptome		10
			+_____
Gesamtsumme			_____
	<b>Remission 0-10P</b>		
	<b>Leichte Aktivität 11-30 P</b>		
	<b>Mäßige/hohe Aktivität &gt; 31 P</b>		

**Bitte Einverständnis, Patientenbogen und Serumprobe (möglichst 2 ml Vollblut) umgehend an Herrn Haus (DECT 56772), Frau Streichert (56946) oder Dr Nährlich (56770) weiterleiten! Bei Fragen an Lufu-Anmeldung melden 57620! Vielen Dank!**

Nährlich, 23.05.2011

bitte wenden!

## 12 Ehrenwörtliche Erklärung

„Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nichtveröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten sowie ethische, datenschutzrechtliche und tierschutzrechtliche Grundsätze befolgt. Ich versichere, dass Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, oder habe diese nachstehend spezifiziert. Die vorgelegte Arbeit wurde weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt und indirekt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren. Mit der Überprüfung meiner Arbeit durch eine Plagiatserkennungssoftware bzw. ein internetbasiertes Softwareprogramm erkläre ich mich einverstanden.“

---

Ort, Datum

---

Unterschrift

## 13 Danksagung

An erster Stelle bedanke ich mich bei meinem Doktorvater Professor Dr. med. Klaus-Peter Zimmer für die Vergabe des Themas und für die Möglichkeit diese Studie unter seiner Leitung durchzuführen. Ich danke Ihm für die fachlichen Diskussionen bei der Fertigstellung dieser Arbeit.

Inbesondere möchte ich mich herzlich bei meinem Betreuer Dr. med. Lutz Nährlich für die Unterstützung und Geduld sowie die vielen bereichernden Gespräche und Emails bedanken. Er hat sich stets meinen inhaltlichen und zeitlichen Schwierigkeiten angenommen und somit das Gelingen dieser Arbeit entscheidend gefördert.

Ein Dankeschön möchte ich außerdem an jedes Mitglied des Asthma- und Mukoviszidose-Ambulanzteams der Kinderklinik des UKGM Gießens richten, für die Geduld während meiner Anwesenheit und die Bereitstellung von Räumlichkeiten, wenn dies möglich war.

Weiterhin gilt mein besonderer Dank allen Mukoviszidose und CED Patienten und Probanden sowie deren Angehörigen, die sich für Messungen zur Verfügung gestellt haben und damit diese Arbeit erst möglich gemacht haben.

Ich danke meinem Vater Jens Zimmermann sowie Michael und Hannes Kahl für das ausführliche Korrekturlesen und ihre wertvollen Vorschläge zur Fertigstellung dieser Arbeit.

Mein ganz besonderer Dank gilt meinem Freund Gunther Kahl für seine uneingeschränkte Hilfsbereitschaft und Liebe, für unermüdliche Ermutigungen sowie für sein Verständnis, während der Höhen und Tiefen bei der Anfertigung dieser Doktorarbeit.

Ich danke meinen Eltern und deren Lebenspartnern sowie meiner Schwester für ihre liebevolle und wertvolle Unterstützung über all die Jahre meines Medizinstudiums und darüber hinaus. Ferner möchte ich mich bei meinen Großeltern bedanken, die mir einen ganz besonderen Rückhalt im Leben geben. Vielen Dank auch an meine

Schwiegereltern, in deren Wintergarten ich ungestört einige Verbesserungen zu Papier brachte.

Und zum Schluss danke ich Mieke für die kleinen Tritte während der letzten Korrekturen dieser Arbeit, die mir jedes Mal ein Lächeln bereiteten und mich durchhalten ließen.

**Der Lebenslauf wurde aus der elektronischen  
Version der Arbeit entfernt.**

**The curriculum vitae was removed from the  
electronic version of the paper.**