

Aus der Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin
der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Charakterisierung
von inflammatorischen und infektiologischen Biomarkern von Kindern mit zystischer
Fibrose unter neu begonnener CFTR-Modulator
(Lumacaftor/ Ivacaftor) Therapie

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der
Medizin
der Universitätsmedizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Vorgelegt von

Juliane Rößler
aus Zwiesel

Mainz, 2023

Wissenschaftlicher Vorstand: Univ.-Prof. Dr. Hansjörg Schild

Tag der Promotion: 13. September 2024

I. Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Literaturdiskussion	2
2.1	Störung des CFTR-Kanals.....	2
2.2	Lungenerkrankung.....	3
2.3	Lungenfunktionsmessungen	4
2.4	Inflammation	4
2.4.1	Infektion	10
2.4.2	Mukoviszidose- eine Multisystem-Erkrankung.....	12
2.4.3	CFTR-Modulatoren (z.B. Lumacaftor/Ivacaftor Orkambi®).....	14
2.4.4	BMI	17
2.4.5	CFQR.....	17
3	Materialien, Methoden und Kollektiv	19
3.1	Kollektiv	19
3.1.1	Ausschlusskriterien.....	20
3.1.2	Durchführung der Studie	20
3.2	Methoden.....	21
3.2.1	Fragebogen CFQR.....	21
3.2.2	Definition der Exazerbation	22
3.2.3	Messung der Lungenfunktionsparameter	22
3.2.4	Blutentnahme.....	22
3.2.5	Gewinnung der Stuhlprobe.....	22
3.2.6	Probenasservierung.....	22
3.2.7	Probenprozessierung.....	22
3.3	Statistische Methoden.....	24
3.3.1	Verwendete Software	24
3.3.2	Auswertung der Fragebögen.....	24
3.3.3	Deskriptive Statistik	24
3.3.4	ANOVA mit Messwiederholung	24
3.3.5	Lineares gemischtes Modell	25
3.3.6	Gepaarter T-Test.....	25
3.3.7	Spearman-Korrelationen.....	26
4	Ergebnisse	27
4.1	Darstellung der gewonnen Proben.....	27
4.2	Darstellung der mikrobiologisch nachgewiesenen Bakterien- und Pilzspezies in Sputumproben und Rachenabstrichen	29
4.3	Exazerbationen und Antibiotikaeinnahmen.....	34
4.4	Systemische Entzündungsparameter	35
4.4.1	IgG.....	35
4.4.2	CRP	41

4.5.1	IL-8 im Blut.....	43
4.6	Intestinale Inflammationsparameter	45
4.6.1	Calprotectin	45
4.6.2	Alkalische Phosphatase	47
4.7	Cathepsin-Bestimmung aus Urinüberstand	49
4.8	Inflammationsparameter im Sputum	51
4.8.1	Bestimmung von TNF- α , IL-1 β , IL-6 und IL-8 mittels Cytometric Bead Array	51
4.8.2	Neutrophile Elastase	55
4.8.3	Leukozyten-Zählung im prozessierten Sputum	56
4.9	BMI-Perzentilen Berechnungen der Patienten	58
4.10	Lungenfunktionsparameter.....	60
4.10.1	FEV1 in Prozent vom Sollwert.....	60
4.10.2	FVC -Messung	63
4.10.3	LCI-Messung.....	65
4.11	Symptome und Nebenwirkungen	67
4.11.1	Symptom-Fragebogen	67
4.11.2	Leberwertveränderung als Nebenwirkung.....	69
4.12	Iontophorese	73
4.13	Cystic fibrosis Questionnaire Revised.....	75
4.13.1	CFQR - Mittelwerte.....	75
4.13.2	CFQR – Behandlungsaufwand	77
4.13.3	CFQR- Respiratorische Symptome	78
4.13.4	CFQR- Intestinale Kategorien.....	83
4.14	Korrelationen.....	91
5	Ergebnisdiskussion.....	95
5.1	Sputumexpektoration und mikrobielle Analysen	95
5.2	Exazerbation und Antibiotikaeinnahme	98
5.3	Entzündungsparameter im Sputum.....	99
5.4	Lungenfunktionsparameter.....	102
5.5	Entzündungsparameter im Blut	103
5.6	CFTR Modulation unter dem Zwerchfell.....	103
5.6.1	Veränderung der Calprotectin-Konzentration	104
5.6.2	Cathepsin B	104
5.6.3	Lumacaftor/Ivacaftor und die Leber.....	104
5.6.4	Gastrointestinale Symptome.....	105
5.7	BMI	105
5.8	Nebenwirkungen und CFQR	106
5.9	Die Veränderung der Parameter im zweiten Studienjahr	107
5.10	Limitierungen der Ergebnisinterpretation	107
5.10.1	Compliance.....	107

5.10.2	Heterogenität der Studienteilnehmer	107
5.10.3	Ein Visit- nur eine Momentaufnahme?	108
5.10.4	Probenprozessierung.....	108
5.10.5	Calprotectin-Bestimmung.....	108
5.10.6	Fragebögen: Die Beeinflussung der Kinder durch die Eltern.....	108
5.10.7	Die Kohorte- zu kleine Fallzahl, zu heterogen	109
5.10.8	Probleme bei der Erhebung von Antibiotikagebrauch und Exazerbation	109
5.10.9	Zystische Fibrose und die Covid-19 Pandemie	109
5.11	Was kam zuerst: Inflammation oder Infektion?	109
5.12	Exkurs - Entwicklung der Modulatoren-Therapie.....	110
5.12.1	Schlussfolgerung und Implikationen für die Praxis	111
6	Zusammenfassung	112

II. Abkürzungsverzeichnis

ALT	Alanin- Aminotransferase
ANOVA	Varianzanalyse
AP	Alkalische Phosphatase
ASL	Airway surface liquid
AST	Aspartat-Aminotransferase
BAL	bronchoalveoläre Lavage
BMI	Body Mass Index
CF	Zystische Fibrose
CFRD	Cystic fibrosis-related Diabetes
CFQR	Cystic fibrosis Questionnaire Revised
CFTR	Cystic fibrosis transmembrane Receptor
CRP	C-reaktives Protein
CYP3A4	Isoenzym aus dem Cytochrom P450-System
ELISA	Enzyme- linked immunosorbent assay
ENaC	Epithelialer Natrium-Kanal
ER	Endoplasmatisches Retikulum
FEV1	Forciertes expiratorisches Volumen (Einsekundenkapazität)
FRC	Funktionelle Residualkapazität
FVC	Forcierte Vitalkapazität
F508del	Deletionsmutation an der Stelle 508 mit der Aminosäure Phenylalanin
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
H. influenzae	Haemophilus influenzae
IL-1β	Interleukin-1 β
IL-6	Interleukin-6
IL-8	Interleukin-8
IL-10	Interleukin-10
IL-17	Interleukin-17
IFN-γ	Interferon-gamma
LCI	Lung clearance Index
LPS	Lipopolysaccharide

Mean	Mittelwert
MRSA	Methicillin-resistenter <i>Staphylococcus aureus</i>
MSD	Membran-spanning domain
NE	Neutrophile Elastase
NET	Neutrophil extracellular trap
NF-κB	nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells
<i>P. aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
PAMP	Pathogen-assoziierte molekulare Muster
PERT	Pancreatic enzyme replacement therapy
PPI	Protonenpumpeninhibitoren
PRR	Pathogen-Recognition Receptor
ROS	Reaktive Sauerstoffspezies
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S. maltophilia</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
SD	Standarddeviation
TH17-Zellen	T-Helfer-Zelle mit IL-17 Produktion
TNF-α	Tumor Nekrose Faktor α

III. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: CFTR im Gesunden (nach Schneider et al., 2017)	3
Abbildung 2 Schematische Darstellung der Funktion der gemessenen Parameter in vivo	9
Abbildung 3 Darstellung der Zusammenhänge der Multisystemerkrankung nach Liou et al.	9
Abbildung 4 Veranschaulichung der Zeitleiste des Studienplans aus dem Studienprotokoll	21
Abbildung 5 Überblick über die verwendeten statistischen Tests	26
Abbildung 6 Anzahl der gewonnenen Sputumproben und Rachenabstriche über die Visits	27
Abbildung 7 Darstellung der Sputumproben für die mikrobiologische Analyse	28
Abbildung 8 Darstellung der Sputumproben, die genug Volumen für die inflammatorische Analyse aufwiesen.....	28
Abbildung 9 Darstellung der gefunden Bakterien und Pilze über den Untersuchungszeitraum und fehlende Nachweise pro Patienten und die Legende.....	31
Abbildung 10 Nachweise in Sputum und Rachenabstrich.....	32
Abbildung 11 Anzahl der verschiedenen nachgewiesenen Bakterien- und Pilzarten im Mittelwert	33
Abbildung 12 mikrobiologischer Nachweis von Bakterien- und Pilzarten im Sputum aller Patienten zum 1. Visit, 5. Visit und 9. Visit.....	33
Abbildung 13 mikrobiologischer Nachweis der Bakterien- und Pilzarten im Rachenabstrich aller Patienten zum 1. Visit, 5. Visit und 9. Visit.....	33
Abbildung 14 Darstellung der Anzahl der Exazerbationen;	34
Abbildung 15 Darstellung der Antibiotikaeinnahmen.....	34
Abbildung 16 IgG (g/l) aus Blutproben über den Untersuchungszeitraum.....	35
Abbildung 17 absolute IgG (g/l) Konzentrationen der einzelnen Patienten über den Untersuchungszeitraum.....	36
Abbildung 18 Konzentration der Leukozyten im Blut über den Untersuchungszeitraum	38
Abbildung 19 Fallende Konzentration der Leukozyten-Anzahl im Blut der einzelnen Patienten über den Untersuchungszeitraum.....	39
Abbildung 20 Darstellung des CRP Wertes im Blut im Verlauf.....	41
Abbildung 21 Darstellung des CRP Wertes im Blut im Verlauf.....	42
Abbildung 22 Darstellung IL-8 (pg/ml) über den Zeitraum.....	43
Abbildung 23 Darstellung IL8 (pg/ml) über den Zeitraum	44
Abbildung 24 Darstellung der Calprotectin Konzentration aus Stuhlproben.....	45
Abbildung 25 Konzentration von Calprotectin ($\mu\text{g/g}$) im Stuhl für den Untersuchungszeitraum	46
Abbildung 26 Darstellung der Konzentration der alkalischen Phosphatase (U/l) im Untersuchungszeitraum.....	47
Abbildung 27 Darstellung der Konzentration der alkalischen Phosphatase (U/l) im Untersuchungszeitraum.....	48
Abbildung 28 Cathepsin B Bestimmung aus Urinüberstand	49
Abbildung 29 Cathepsin B Konzentration der einzelnen Patienten	50
Abbildung 30 Übersicht zu Konzentrationen (pg/ml) der Inflammationsparameter (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8) aus Sputum Überstand	52
Abbildung 31 TNF Konzentration der Sputumproben für Visit 1 bis Visit 5	53
Abbildung 32 IL-1 β Konzentration im Sputum Überstand für Visit 1 bis Visit 5	53
Abbildung 33 IL-6 Konzentration im Sputum Überstand für Visit 1 bis Visit 5	54
Abbildung 34 IL-8 Konzentration im Sputum Überstand für Visit 1 bis Visit 5	54
Abbildung 35 Konzentration der neutrophilen Elastase aus Sputum Überstand	55
Abbildung 36 Leukozyten-Zählung auf 106 Zellen.....	57
Abbildung 37 BMI Perzentilen.....	58
Abbildung 38 BMI Perzentilen der Patienten im Untersuchungszeitraum	59
Abbildung 39 Darstellung der FEV1 Messung in Prozent vom Soll-Wert.....	60
Abbildung 40 Darstellung der FEV1 Messung in Prozent vom Soll-Wert.....	61
Abbildung 41 Absolute Veränderung vom Ausgangswert über den Untersuchungszeitraum	62
Abbildung 42 FVC in Prozent vom Soll für den Untersuchungszeitraum.....	63

Abbildung 43 FVC in Prozent vom Soll für den Untersuchungszeitraum.....	64
Abbildung 44 Darstellung der vorhandenen LCI-Messungsergebnisse	65
Abbildung 45 Darstellung der LCI Messung in absoluten Werten,	66
Abbildung 46 Darstellung der LCI-Messung in Prozent vom Sollwert	67
Abbildung 47 genannte Symptome zusammengefasst über alle Visits.....	68
Abbildung 48 Absolute Anzahl der genannten Symptome über alle Visits	68
Abbildung 49 Darstellung der GOT Konzentration über den Untersuchungszeitraum;	69
Abbildung 50 Darstellung der GOT Konzentration über den Untersuchungszeitraum	70
Abbildung 51 Konzentration der GPT über den Untersuchungszeitraum.....	71
Abbildung 52 Darstellung der GPT Konzentration über den Untersuchungszeitraum	72
Abbildung 53 Darstellung der signifikanten Abnahme der Schweißchlorid-Konzentration im ersten Untersuchungsjahr, n=7;.....	73
Abbildung 54 Darstellung der einzelnen Messwerte der Schweißchlorid-Messung im ersten Untersuchungsjahr	74
Abbildung 55 Mittelwerte aller Kategorien der einzelnen Eltern-Fragebogen dargestellt in Boxplots	75
Abbildung 56 Mittelwerte aller Kategorien der einzelnen Eltern-Fragebogen	76
Abbildung 57 In der Kategorie "Treat" wurde die Aufwändigkeit der Behandlung widergespiegelt.	77
Abbildung 58 Auswertung der Kategorien "Respiratory" des Elternfragebogens. Es wurden das Auftreten von respiratorischen Symptomen abgefragt.	79
Abbildung 59 Auswertung der Kategorien "Respiratory" des Elternfragebogens. Es wurden das Auftreten von respiratorischen Symptomen abgefragt	80
Abbildung 60 Die Abbildung zeigt die signifikanten Veränderungen nach 90 Tagen (Visit 2), einem Jahr (Visit 5) und zwei Jahren (Visit 9).	81
Abbildung 61 Auswertung der Kategorien "Respiratory" des Kinderfragebogens. Es wurden das Auftreten von respiratorischen Symptomen abgefragt.	81
Abbildung 62 Auswertung der Kategorien "Respiratory" des Kinderfragebogens. Es wurden das Auftreten von respiratorischen Symptomen abgefragt.	82
Abbildung 63 Die Abbildung zeigt die signifikanten Veränderungen nach 90 Tagen (Visit 2), einem Jahr (Visit 5) und zwei Jahren (Visit 9).	83
Abbildung 64 Vergleich der Mittelwerte der Kategorie "Respiratory" bei der Beantwortung der Eltern- und Kinderfragebögen.....	83
Abbildung 65 Auswertung der Kategorien "Eat" des Elternfragebogens. Es wurden Essverhalten und Appetit abgefragt.....	84
Abbildung 66 Auswertung der Kategorien "Eat" des Elternfragebogens.	85
Abbildung 67 Auswertung der Kategorien "Body" des Elternfragebogens.....	86
Abbildung 68 Auswertung der Kategorien "Body" des Elternfragebogens.....	87
Abbildung 69 Auswertung der Kategorien "Digestive" des Elternfragebogens	89
Abbildung 70 Auswertung der Kategorien "Digestive" des Elternfragebogens	90
Abbildung 71 Grafische Darstellung der signifikanten Spearman Korrelationen.....	93
Abbildung 85 Vergleich der Domäne „Respiratory“	107
Abbildung 84 Vergleich des BMI.....	107
Abbildung 86 Zeitverlauf der Medikamenteneinführung	110
Abbildung 75 Vortexen des Sputum-DTT-Gemisches für 15 Sekunden.....	121
Abbildung 76 Trennung von Sputum und Saliva.....	121
Abbildung 77 Benötigte Reagenzien	122
Abbildung 78 exaktes Wiegen der Falconröhrchen um.....	122
Abbildung 79 Physiotherapie	122
Abbildung 80 Großer Bildausschnitt mit Zählkammer.....	123
Abbildung 81 Leukozyten und Plattenepithelzellen.....	124
Abbildung 82 Leukozyten.....	124

IV. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 nach (Courtney et al., 2004) mit Ergänzungen; Übersicht über die Funktionen der unterschiedlichen Zytokine	7
Tabelle 2 Einteilung der Mutationsklassen	15
Tabelle 3 Aufführung der verschiedenen Wirkstoffe.....	15
Tabelle 4 chemische Strukturformel Lumacaftor/Ivacaftor	17
Tabelle 5 CFQR Kategorien für die Eltern betroffener Kinder von 6-13 Jahren.....	18
Tabelle 6 CFQR Kategorien für betroffene Kinder von 6-13 Jahren	18
Tabelle 7 Probandenbeschreibung nach Alter, Größe, Gewicht und BMI.....	19
Tabelle 8 Alter bei Diagnose.....	19
Tabelle 9 Medikamentenübersicht zum Zeitpunkt Visit 1.....	19
Tabelle 10 Medikamentenübersicht zum Zeitpunkt Visit 5	20
Tabelle 11 Medikamentenübersicht zum Zeitpunkt Visit 9	20
Tabelle 12 Effektstärken Cohens´f.....	24
Tabelle 13 Effektstärke Cohen´s dz	25
Tabelle 14 Deskriptive Statistik für IgG während des Untersuchungszeitraums	36
Tabelle 15 Auswertung der ANOVA mit Messwiederholung für das erste Untersuchungsjahr .	36
Tabelle 16 Auswertung der ANOVA mit Messwiederholung für das zweite Untersuchungsjahr (V5 – V9).....	37
Tabelle 17 Deskriptive Statistik der Leukozyten-Anzahl	39
Tabelle 18 Auswertung der ANOVA mit Messwiederholung für die Leukozyten-Anzahl im ersten Untersuchungsjahr	39
Tabelle 19 Auswertung der ANOVA mit Messwiederholung für die Leukozyten-Anzahl im zweiten Untersuchungsjahr	40
Tabelle 20 Deskriptive Statistik der CRP Konzentration über 9 Visits;	42
Tabelle 21 Auswertung der ANOVA mit Messwiederholung für die CRP- Konzentration (V1- V5)	42
Tabelle 22 Deskriptive Statistik der IL-8 Konzentration	44
Tabelle 23 Probenanzahl n; Mittelwert (Mean), Standardabweichung (SD), Median und Quartil von Calprotectin ($\mu\text{g/g}$),.....	46
Tabelle 24 Auswertung der ANOVA mit Messwiederholung für Visit 1 bis 5	46
Tabelle 25 deskriptive Statistik der alkalischen Phosphatase (U/l)	48
Tabelle 26 Auswertung der ANOVA mit Messwiederholung für Visit 1 bis 5	48
Tabelle 27 Deskriptive Statistik der Cathepsin Konzentration (ng/ml) im Urin für Visit 1 bis Visit 5.....	50
Tabelle 28 Auswertung der ANOVA mit Messwiederholung für Visit 1 bis 5	50
Tabelle 29 Darstellung des Mittelwertes (Mean) und der Standardabweichung (SD) für TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 über den Untersuchungszeitraum	51
Tabelle 30 Darstellung des Medians für TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 über den Untersuchungszeitraum.....	51
Tabelle 31 Absolute Anzahl von Leukozyten im prozessierten Sputum gerechnet auf 106 Zellen/ml.....	56
Tabelle 32 deskriptive Statistik der BMI Perzentilen über den Untersuchungszeitraum;	59
Tabelle 33 Auswertung der ANOVA mit Messwiederholung für Visit 1 bis 5	59
Tabelle 34 Deskriptive Statistik des FEV1 Wertes in Prozent vom Soll-Wert	61
Tabelle 35 ANOVA mit Messwiederholung; Auswertung für das erste Jahr.....	61
Tabelle 36 Deskriptive Statistik für FVC in Prozent vom Sollwert.....	64
Tabelle 37 ANOVA mit Messwiederholung für Visit 1 bis Visit 5.....	64
Tabelle 38 Mittelwert und Median der LCI Messung in Prozent vom Soll;.....	67
Tabelle 39 Veränderung der GOT (U/l) im Mittel und Median.....	70
Tabelle 40 ANOVA mit Messwiederholung für Visit 1 bis Visit 5.....	70
Tabelle 41 Mittelwert (SD= Standardabweichung) und Median mit Quartile,.....	72
Tabelle 42 Auswertung der ANOVA mit Messwiederholung für Visit 1 bis 5 für die GPT Konzentration; n=7	72
Tabelle 43 Mittelwert und Median der Schweißchlorid-Messung.....	74

Tabelle 44 Auswertung der ANOVA mit Messwiederholung; n=7.....	74
Tabelle 45 Deskriptive Statistik der Mittelwerte aller Kategorien des Eltern-Fragebogens; n=7 ab Visit 6 n=6.....	76
Tabelle 46 ANOVA mit Messwiederholung für Mittelwerte des Elternfragebogens.....	76
Tabelle 47 Deskriptive Statistik der Kategorie „Treat“; n=7 ab Visit 6 n=6.....	77
Tabelle 48 ANOVA mit Messwiederholung für die Kategorie „Treat“ des Elternfragebogens für Visit 1 - 5.....	78
Tabelle 49 Deskriptive Statistik der Kategorie „Respiratory des Elternfragebogens“; n=7 ab Visit 6 n=6.....	80
Tabelle 50 deskriptive Statistik der Kategorie "Respiratory" des Kinderfragebogens.....	82
Tabelle 51 ANOVA mit Messwiederholung für die Kategorie "Respiratory" des Kinderfragebogens.....	82
Tabelle 52 Auswertung der Kategorie "Eat" des Eltern-Fragebogens.....	85
Tabelle 53 ANOVA mit Messwiederholung für die Kategorie "EAT" des Elternfragebogens für Visit 1 - 5.....	86
Tabelle 54 deskriptive Statistik der Kategorie "Body" des Elternfragebogens.....	87
Tabelle 55 Auswertung der ANOVA der Kategorie "Body" des Elternfragebogens.....	88
Tabelle 56 Auswertung der ANOVA der Kategorie "Digestive" des Elternfragebogens.....	90
Tabelle 57 Auswertung der ANOVA der Kategorie "Digestive" des Elternfragebogens.....	91
Tabelle 58 Korrelation CFQR Mittelwert mit einzelnen Kategorien des Elternfragebogens.....	91
Tabelle 59 Korrelation der Lungenfunktion und der Inflammation der Lunge in Blut bzw. Sputum.....	92
Tabelle 60 Korrelation der Inflammation in Sputum, Stuhl und Blut.....	92
Tabelle 61 Korrelation der Lungenfunktion und der Fragebogen-Beantwortung.....	92
Tabelle 62 Korrelation der Fragebögen mit Inflamationsparametern.....	93
Tabelle 63 Vergleich mit der "CFSpIT"-Studie von Ronchetti et al mit OrkambiKIDS.....	96
Tabelle 64 Auflistung der häufigsten nachgewiesenen Keime dieser Studie.....	96
Tabelle 65 Vergleich mit Eickmeier; Vergleich mit älteren Patienten und P. aeruginosa infizierten Patienten (Eickmeier et al., 2010).....	101
Tabelle 66 Vergleich mit Eickmeier et al.; Vergleich mit gesunden Personen (Eickmeier et al., 2010).....	101
Tabelle 67 Vergleich der Studie mit (Milla et al., 2017); Ausgangswerte vor Studienbeginn....	106
Tabelle 68 Vergleich der Parameter BMI, CFQR "Respiratory" und Schweißchlorid im Verlauf.....	106

v. Anhangsverzeichnis

Untersuchungsbogen	120
Protokoll der Sputum Prozessierung	121
Mikroskopie	123
Neutrophile Elastase Messung	125
Sputuminduktion- Physiotherapeutisches Protokoll.....	126
Sputumproben und Rachenabstriche in der Mikrobiologie der Universitätsmedizin Mainz.....	127
Symptome-Fragebogen	128
Cystic fibrosis Questionnaire -Revised Fragebögen	129
Cystic fibrosis Questionnaire -Revised Fragebögen	138
44 th European Cystic Fibrosis Conference - Abstract	138
Deutsche Mukoviszidose Tagung 2019.....	139
Deutsche Mukoviszidose Tagung 2021.....	141

Im Folgenden werden aus Gründen der besseren Lesbarkeit bei Personenbezeichnungen und personenbezogenen Hauptwörtern die männliche Form verwendet. Damit sind sowohl Patientinnen und Patienten gemeint.

1 Einleitung

Ziel der Dissertation

Die Veränderungen der Inflammationsparameter und der Lungenfunktion unter der Medikation mit den CFTR-Kanal-Modulatoren Lumacaftor/Ivacaftor (Orkambi®) sollen bei Kindern mit Mukoviszidose untersucht werden. Dies stellt einen wichtigen Beitrag zum pathogenetischen Verständnis der systemischen und pulmonalen Inflammation dar. Die gewonnenen Erkenntnisse können die CFTR-Modulatoren-Therapie für Kinder mit Mukoviszidose verbessern und noch sicherer machen.

Wissenschaftlicher Hintergrund

Die autosomal-rezessiv vererbte Stoffwechselerkrankung zystische Fibrose (CF), auch Mukoviszidose genannt, manifestiert sich an mehreren Organen, wie zum Beispiel dem Respirationstrakt. Vor allem die Schädigung der Lunge entscheidet über den Krankheitsverlauf (Poplawska K., 2018).

Die Mutation führt zu einem gestörtem Cystic-Fibrosis-Transmembran-Receptor (CFTR)-Ionenkanal, der sich an der Oberfläche vieler Zellen befindet. Es folgen weitreichende Veränderungen, wie zum Beispiel Elektrolytstörungen. In der Lunge setzt sich zäher Mukus fest, wodurch es zur bakteriellen Besiedelung und Inflammation kommt.

Der CFTR-Modulator Orkambi® setzt sich aus den Wirkstoffen Ivacaftor und Lumacaftor zusammen. Lumacaftor wirkt wie ein Chaperon und verhindert den frühzeitigen Abbau des Proteins, somit wird der Einbau des CFTR-Kanals in die Zellmembran gefördert. Ivacaftor erhöht die Öffnungswahrscheinlichkeit des Kanals. Somit liegt die Wirkweise des Medikaments nicht auf der Behandlung der Symptome, sondern greift aktiv in die Pathogenese ein. Verbesserungen des Lung Clearance Index (LCI), bei Schweißchlorid-Messungen und beim Ernährungsstatus sowie der gesundheitsbezogenen Lebensqualität wurden bereits nachgewiesen (Milla et al., 2017). Ob auch Einflüsse auf die Inflammation vorliegen, muss überprüft werden (Roesch et al., 2018). Inflammatorische Prozesse finden sich bei Mukoviszidose-Patienten im gesamten Körper, sodass eine umfangreiche Analyse hierrüber Aufschluss bringen soll.

Methoden

7 Patienten zwischen 6 und 12 Jahren wurden in die prospektive, longitudinale Observationsstudie eingeschlossen. In den ersten beiden Jahren der Therapie mit Lumacaftor/Ivacaftor wurden im Intervall von drei Monaten Proben gesammelt. Die erste Probensammlung fand unmittelbar vor der ersten Medikamenteneinnahme statt. Im ersten Jahr wurden zu jedem Visit Sputum-, Urin-, Blut- und Stuhlproben gesammelt, im zweiten Jahr nur bei jedem zweiten Untersuchungstermin. Insgesamt wurden zu 9 Zeitpunkten Daten erhoben. Außerdem wurden Lungenfunktionsparameter und die Schweißchlorid-Konzentration gemessen und mikrobiologische Analysen durchgeführt. Für das Aufzeigen von subjektiven Veränderungen der Lebensqualität und von Nebenwirkungen wurden der Cystic Fibrosis Questionnaire-Revised (CFQ-R) und ein Nebenwirkungsfragebogen von den Studienteilnehmern ausgefüllt.

Um inflammatorische Vorgänge im gesamten Körper zu messen, wurden aus Sputum-Überstand die Konzentrationen von Tumornekrosefaktor- α (TNF- α), Interleukin-1 β (IL-1 β), Interleukin-6 (IL-6), Interleukin-8 (IL-8) und der neutrophilen Elastase (NE) bestimmt. Mit einem Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) erfolgte die Bestimmung der Cathepsin B Konzentration aus Urin-Überstand. Die Messungen von Calprotectin aus Stuhlproben und Blutparametern wurden im Zentrallabor der Universitätsmedizin Mainz durchgeführt. Natives Sputum und Rachenabstriche wurden zur mikrobiologischen Analyse in die Mikrobiologie der Universitätsmedizin Mainz versendet.

2 Literaturdiskussion

Die autosomal-rezessiv vererbte Erkrankung der zystischen Fibrose tritt bei einem von 3000 lebendgeborenen Kinder in Nordeuropa auf (Ratjen et al., 2015). Bereits 1989 wurde der verursachende Gendefekt beschrieben (Riordan et al., 1989), wobei die Mutation Phe508del am häufigsten auftritt. Ungefähr 95 % der Patienten mit zystischer Fibrose (CF) tragen diese Art der Mutation auf mindestens einem Allel (Zhang et al., 2016) und 38% sind homozygot (Milla et al., 2017). Durch die Phe508del Deletionsmutation kommt es zu einer gestörten Faltung und Thermoinstabilität des CFTR-Kanals (Molinski et al., 2017). Der CFTR-Kanal ist ein cAMP- und cGMP gesteuerter Chlorid- und Bicarbonat-Kanal (Zhang et al., 2016). In der Anzahl verminderte und in ihrer Funktionalität beeinflusste Kanäle an der Zelloberfläche führen zum Beispiel zu geringerer Menge an Oberflächenflüssigkeit im Respirationstrakt (airway surface liquid (ASL)), vermehrter Verstopfung durch Mukus und Versagen der mukoziliären Clearance. Dadurch wird die Entstehung von chronischen bakteriellen Infektionen und exzessiver Inflammation begünstigt (Zhang et al., 2016). Insgesamt gibt es aber über 2000 Mutationen, von denen ca. 150 als krankheitsauslösend beschrieben sind.

Aufgrund der Vorteile eines frühen Therapiebeginns für die Erkrankten, gibt es seit dem 1. September 2016 in Deutschland das Neugeborenen-Screening auf zystische Fibrose. Für die in der Studie aufgeführten Patienten wird eine Lebenserwartung von 53 Jahren prognostiziert. Auf Grund der immer besser werdenden Therapiemöglichkeiten ist eine Steigerung der Lebenserwartung jährlich von ca. 1,8 % zu erwarten (Ratjen et al., 2015). Allerdings ist zu beachten, dass auch hier multifaktorielle Einflüsse wirken, wie zum Beispiel die Ernährung, Bewegung, Therapieadhärenz und wahrscheinlich auch das Geschlecht (Griesenbach and Alton, 2015).

2.1 Störung des CFTR-Kanals

Die physiologische Funktion des CFTR-Proteins ist sehr vielfältig und bis heute nicht vollständig erklärt. Die Ausprägung als Multisystem-Erkrankung begründet sich durch das Vorkommen des betroffenen Proteins in verschiedenen Organen, wie zum Beispiel in den Epithelzellen der Bronchien, in den β -Zellen und Epithelzellen des Pankreas und in den Immunzellen, wie zum Beispiel den neutrophilen Granulozyten. Der Ionenkanal transportiert Chlorid und Bicarbonat und reguliert die Aktivität anderer Ionenkanäle, sowie epithelialer Tight-Junctions (Liou, 2019). Aber auch intrazelluläre Prozesse, wie zum Beispiel die Azidität der Zellorganellen und in Folge dessen deren Funktion werden beeinflusst (Liou, 2019). Im Folgenden werden nur die Defekte und Funktionsweisen der F508del – Mutation beschrieben, da diese Mutation bei allen Patienten homozygot vorlag. Es existieren noch zahlreiche andere Mutationsformen. Der molekulare Aufbau des Ionenkanals besteht aus fünf Domänen. Zwei transmembranen Domänen, sogenannte membran-spanning domains (MSD), zwei Nukleotid-Bindungsdomänen (NBD1 und NBD2) und einer Regulationsdomäne (RD). Für die Konformationsänderung und Kanalöffnung ist die Bindung und Spaltung von ATP und die Phosphorylierung der Regulationsdomäne durch die Proteinkinase A notwendig (Poplawska K., 2018). Der molekulare Aufbau wird schematisch in Abbildung 1 dargestellt. Die Deletion des Phenylalanin im Codon 508 führt zu Instabilität der NBD1, wodurch die Proteinfaltung stark beeinflusst wird (Cutting, 2015). Bereits im endoplasmatischen Retikulum werden die Proteine zum Teil aufgrund der veränderten Formation erkannt und wieder abgebaut (Brodlie et al., 2015). Insgesamt erreichen weniger funktionale Ionenkanäle die Zellmembran und werden vorzeitig eliminiert.

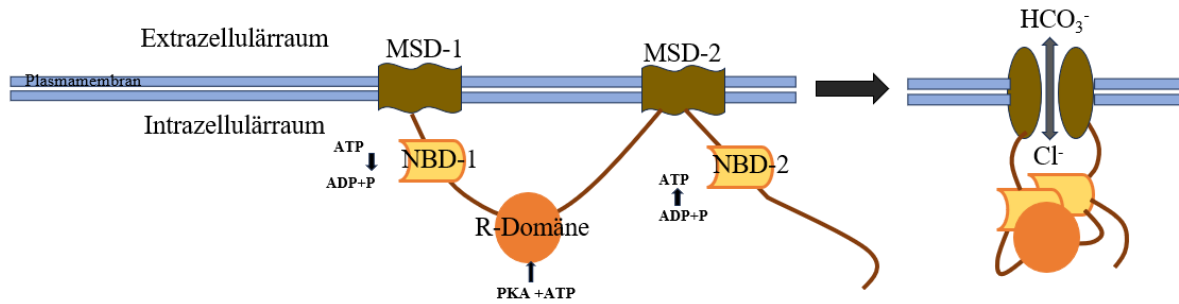


Abbildung 1: CFTR im Gesunden (nach Schneider et al., 2017)

2.2 Lungenerkrankung

Die Morbidität und Mortalität der an Mukoviszidose erkrankten Patienten wird wesentlich durch die Auswirkungen der Mutation auf die Lunge bestimmt. Durch die gestörte Chlorid-Sekretion an der Oberfläche der Epithelzellen und die vermehrte Natriumabsorption über den epithelialen Natriumkanal (ENaC) in den Intrazellulärraum, wird das osmotische Gleichgewicht empfindlich gestört. Es kommt zu einem Einstrom von Wasser in die Zellen und gleichzeitig wird der Flüssigkeitsgehalt des Oberflächenfilm (ASL) in den Bronchien vermindert. Der CFTR-Kanal beeinflusst somit auch andere Ionenkanäle, wie z.B. den ENaC (Shei et al., 2018). Die Zusammensetzung des ASL spielt eine bedeutende Rolle für die mukoziliäre Clearance. Zäher Mukus beeinträchtigt die Zilien in ihrer Funktion und verschließt die Atemwege, v.a. in den mittleren und kleinen Bronchien (Khan et al., 2019). Der Erkrankungsbeginn in den kleinen Bronchien und Bronchiolen wird dadurch erklärt. Hier können schon beim Neugeborenen Pathologien nachgewiesen werden. Der ASL ist zudem azider und schränkt pH-abhängige Enzyme in ihrer Funktion ein, wodurch die Viskosität zunimmt und die Wirtsabwehr weiter geschwächt wird (Bhagirath et al., 2016). Eine funktionierende mukoziliäre Clearance ist entscheidend für den Abtransport von Bakterien. Bei der Erkrankung Mukoviszidose siedeln sich diese, u.a. *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) im Mukus an. Auch der Gehalt an Muzin ist geringer. Dieses erfüllt im Gesunden die Aufgabe Bakterien zu binden und diese zu eliminieren. Einmal infiziert, können die meisten Bakterien nicht mehr eradiziert werden (Roesch et al., 2018). Durch diese Mechanismen kommt es zur Infektion und Inflammation (Ratjen, 2009). Noch nicht sicher belegt ist, ob die Inflammation auch allein durch den mutierten CFTR-Kanal ausgelöst wird (z.B. über NF-κB), oder ob Infektionen die alleinigen Auslöser der Inflammation sind (Roesch et al., 2018). Die inflammatorische Antwort ist aber auf jeden Fall prolongiert (Ratjen, 2009). Sputumretention, Infektion und Inflammation begünstigen sich gegenseitig, da zum Beispiel durch die Inflammation neutrophile Granulozyten Elastase abgeben, welche die Mukussekretion fördert (Ratjen, 2009). Durch die chronische Inflammation wird das Epithel der Lunge verletzt und Mukus verengt die Bronchien. Der Sauerstoffaustausch wird dadurch deutlich erschwert und die expiratorischen Volumenströme werden vermindert (Eickmeier et al., 2010). Die Mechanismen, die zur pulmonalen Exazerbation führen, sind bis zum gegenwärtigen Zeitpunkt noch nicht vollständig verstanden. Als Risikofaktoren zählen das weibliche Geschlecht, Ernährungszustand, CF-Komorbiditäten wie Diabetes und Pankreasinsuffizienz (Wojewodka et al., 2014). Die Schädigung der Lungen im Verlauf des Lebens führt schließlich zu Bronchiektasien, Atelektasen, Lungenfibrose und emphysematischen Veränderungen, diese bedingen wiederum eine Hypoxie, pulmonale Hypertonie und Rechtsherzbelastung (Hayes et al., 2014). Die Vorhersage von Dauer und Frequenz der Exazerbationen durch Inflammationsparametern ist Gegenstand aktueller Forschung und spielt auch in der vorliegenden Arbeit eine entscheidende Rolle.

Das Verständnis der Erkrankung hat sich im Verlauf der letzten Jahrzehnte deutlich verbessert, auf Grund intensiver Forschungsarbeiten und der Analyse der bedeutsamen klinischen

Parameter. Eine der größten Herausforderungen dieser komplexen Krankheit ist es, valide und sensitive altersadaptierte Biomarker für das Therapieansprechen zu finden.

2.3 Lungenfunktionsmessungen

Schon kurz nach der Geburt können strukturelle Veränderungen der Lunge festgestellt werden (Sly et al., 2009). Diese Veränderungen sollen beobachtet werden, um bei einer Verschlechterung schnell reagieren zu können, bzw. therapeutische Effekte sichtbar zu machen. Unter den verschiedenen etablierten Verfahren zur Testung der Lungenfunktionsfähigkeit wird die Einsekundenkapazität (forced expiratory volume in 1 second - FEV1) als Standard durch die European Medicines Agency (EMA) angesehen.

Die FEV1 entspricht beim Gesunden meist 75-80% der Vitalkapazität und ist bei obstruktiven pulmonalen Erkrankungen pathologisch verändert. Da die Messung bereits seit langem etabliert ist, ist eine Vergleichbarkeit mit anderen Studienergebnissen gut möglich. Schon seit 50 Jahren wird die Mortalität, die Morbidität, das Exazerbationsrisiko und die Hospitalisierungsrate mit der Abnahme der FEV1 in Verbindung gebracht (Szczeniak et al., 2017). Ziel von klinischen Interventionen ist es, mit Therapien und Medikamenten die Verminderung der FEV1 abzuschwächen. Um restriktive Erkrankungen zu diagnostizieren, wird die forcierte Vitalkapazität (FVC) verwendet. Restriktive Veränderungen können mit diesem Parameter oft schon früher detektiert werden (VanDevanter and Pasta, 2013).

Die Erkrankung beginnt in den kleinen Atemwegen. Die sensitivste Messung der Obstruktion und Verteilungsstörung der kleinen Atemwege erfolgt durch den Lung Clearance Index (LCI). Diese Testung wurde durch die ECFS standardisation committee (European cystic fibrosis society) akzeptiert und wird mittlerweile in vielen Studien durchgeführt.

Bei der Messung des LCI handelt es sich um einen Mehratemzug-Gasauswaschtest (Multiple breath washout MBW). Der in der Lunge befindliche Stickstoff wird durch das Einatmen von 100%igem Sauerstoff ausgewaschen. Durch entspannte Tidal-Atmung werden Verteilungsstörungen der Ventilation sichtbar gemacht. Die Konzentrationsveränderung des inerten Gases werden massenspektrometrisch bestimmt (Robinson et al., 2013a). Es sind keine komplexen Atemmannöver nötig, sodass diese Verfahren auch für sehr junge Probanden geeignet sind (Robinson et al., 2013a). Mit zunehmender Krankheitsschwere steigt der LCI-Wert an. Eine Veränderung der FEV1 würde erst bei sehr viel stärkeren Schäden ersichtlich werden (Horsley, 2009). Somit schließt die Messung des LCI eine wichtige Lücke zwischen dem Beginn pathologischer Veränderung und der Detektion von Veränderung in der Lungenfunktion (silent phase) und wird vermehrt zur Überwachung von therapeutischen Veränderungen eingesetzt. Die Interpretation der Ergebnisse lässt allerdings eine gewisse Subjektivität zu. Empfohlen wird die Mittelwertbildung aus drei (mindestens aber zwei) Messungen, bei denen sich die FRC (funktionelle Residualkapazität) um weniger als 10% unterscheidet (Robinson et al., 2013b). Die Berechnung des LCI-Wertes ergibt sich durch folgende Formel:

$$LCI = \frac{CEV \text{ (Kumulatives expiratorisches Volumen)}}{FRC \text{ (Funktionelle Residualkapazität)}}$$

2.4 Inflammation

Biomarker

Da das Voranschreiten der Erkrankung bei den Patienten sehr unterschiedlich ist, werden Inflammationsparameter verwendet, um den Verlauf zu beobachten und möglichst frühzeitig zu intervenieren. Auch erhofft man sich weitere Einblicke in das Verständnis der Krankheit (Sagel et al., 2012). Um die komplexen Zusammenhänge darzustellen, ist das Analysieren von möglichst vielen Biomarkern sinnvoll. Als Biomarker wird dabei ein charakteristischer, objektiv gemessener und ausgewerteter Marker gesehen, der in normalen biologischen oder

pathologischen Prozessen vorkommt oder sich durch therapeutische Intervention verändert (Kent et al., 2014). Bis heute konnte sich kein Biomarker als eindeutiger Endpunkt für Studien durchsetzen (Muhlebach et al., 2016).

Infektion, Inflammation und Obstruktion sind in einem sich selbst antreibenden Kreislauf miteinander verbunden.

Neutrophile Granulozyten

Schon in der Fetalzeit konnten erhöhte IL-8, TNF- α und IL-1 β Konzentrationen festgestellt werden (Khan et al., 2019). Hier wird der Grundstein für eine erhöhte Konzentration an neutrophilen Granulozyten gelegt, deren Aufgabe die Bekämpfung mikrobieller Erreger ist. Neutrophile Granulozyten besitzen mehrere Mechanismen zur Bekämpfung mikrobieller Erreger. Dazu zählen die Netose, die Phagozytose und die Ausschüttung von extrazellulären Granula. Die extrazellulären Granula enthalten IL-1 β , IL-6 und TNF- α . Auch IL-8 wird aus neutrophilen Granulozyten freigesetzt, sodass die Konzentration der IL-8 auch den erhöhten Neutrophilen-Einstrom widerspiegelt (Eickmeier et al., 2010). Da IL-8 den Einstrom von Neutrophilen am stärksten fördert, könnte eine Verminderung des Immunglobulins die Inflammation verringern (Cabrini et al., 2020). IL-6 korreliert mit der CRP-Konzentration, da dieses Interleukin Hepatozyten beeinflusst (Martin et al., 2010). Die regelrechte Degranulation ist auf Grund veränderter Elektrolytkonzentrationen in den Granulozyten erschwert (Bhagirath et al., 2016). Mit Hilfe von Phagozytose und reaktiver Sauerstoffspezies (ROS) sollen Bakterien eradiziert werden. Veränderte CFTR Kanäle in den Membranen der Phagolysosomen führen aber zu Elektrolytverschiebungen, sodass das Abtöten der Bakterien nur vermindert möglich ist (Roesch et al., 2018). Die Netose (NET = Neutrophile extracellular traps) wird durch IL-8 und gebundene Lipopolysaccharide (z.B. Pathogen-assoziierte molekulare Muster (PAMPs) beispielsweise durch *P. aeruginosa*) ausgelöst. NETs bestehen aus extrazellulärer DNA und sind mit antimikrobiellen Enzymen bedeckt (Khan et al., 2019). Diese extrazelluläre DNA erhöht weiter die Viskosität des Mukus. Das wiederum fördert zusätzliche NETose.

Makrophagen

NETs bewirken aber auch den Einstrom von Makrophagen. Aufgrund gestörter Interaktion von Opsonin und Opsoninrezeptoren sind diese Zellen in der regelrechten Abtötung von Bakterien behindert (Roesch et al., 2018). Der aufgelagerte Mukus führt zur Minderversorgung der Zellen mit Sauerstoff und bei Hypoxie beginnen Makrophagen TNF- α , IL-8 und Hypoxia inducible factor 1 (HIF1) zu produzieren. Die ersten beiden fördern wiederum den Neutrophilen-Einstrom und HIF1 steigert die Angiogenese, Inflammation und Fibrose, trägt damit weiter zur Organzerstörung bei (Cantin et al., 2015). Da die Funktion der Makrophagen bedeutend von der Sauerstoffkonzentration abhängt, erklären sich die regionalen Unterschiede der Erkrankung in der Lunge. Da die Lungen-Oberlappen eher hypoxisch sind, finden sich hier mehr Makrophagen und damit die ersten strukturellen Schäden (Roesch et al., 2018). Zu beachten ist dabei auch die Unterscheidung der Makrophagen in verschiedene Klassen. M0-Makrophagen werden durch INF- γ , GM-CSF (Granulozyten-Makrophagen-Kolonie-stimulierende Faktor) und Lipopolysacchariden (LPS) zur Umwandlung in M1-Makrophagen gefördert. M1-Makrophagen unterstützen proinflammatorische Vorgänge wie reaktive Sauerstoffspezies (ROS) und die Produktion von TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-12 und IL-23. Durch Faktoren wie IL-4, IL-13 und IL-10 werden M0-Makrophagen zu M2-Makrophagen, deren Aufgabenbereich die Unterstützung der Wundheilung ist. Bei der zystischen Fibrose ist das Gleichgewicht in Richtung M1-Makrophagen verschoben (Roesch et al., 2018).

Proteasen

Proteasen, zu denen unter anderem auch die neutrophile Elastase (NE) und Cathepsin G gehören, erfüllen multiple Funktionen im Körper. Freigesetzt aus Granula der neutrophilen Granulozyten und Makrophagen spalten sie extrazelluläre Matrixproteine, Komplementproteine, Zytokine und Zell-Rezeptoren. Auch bei der Bekämpfung von Bakterien und Pilzen spielen sie eine wichtige Rolle. Außerdem wird die Sekretion aus Becherzellen und die Synthese von Zytokinen durch Epithelzellen und Phagozyten gefördert (Owen, 2006).

Neutrophile Elastase

Die neutrophile Elastase (NE) spielt eine Schlüsselrolle in der Pathogenese und Progression der zystischen Fibrose. Unterschieden wird die freie NE und die Membran-gebundene NE. Wichtig ist hier das Gleichgewicht zu Antiproteasen wie z.B. α 1-Antitrypsin, sodass eine effektive Eliminierung von z.B. Bakterien und Pilzen ermöglicht wird, ohne dass es zur Verletzung von körpereigenen Strukturen kommt. Aufgrund dieser Gleichgewichtsstörung kommt es zu einer Überreaktion der Aktivität der NE. Aufgrund der Fähigkeit Proteine zu spalten, zerstört die freie NE Zilien und führt zur Hyperplasie von Becherzellen. Außerdem fördert sie übermäßig die Produktion von Muzin (MUC5AC und MUC5B), sodass die mukoziliäre Clearance der Atemwege gestört wird und damit die Eradikation von Mikroorganismen erschwert (Gramegna et al., 2017). Die durch die NE verdauten Proteine dienen zusätzlich als Nahrungsquelle für Bakterien (Roesch et al., 2018). Durch die, mittels NE geförderte IL-8 Produktion, wird ein sich selbst beschleunigender Kreislauf der neutrophilen Inflammation in Gang gesetzt (Gramegna et al., 2017). Auch die Zerstörung von CFTR-Rezeptoren (und anderen Rezeptoren der Zelloberfläche) wird beschrieben (Bhagirath et al., 2016), wodurch die Problematik der Mutation weiter verstärkt wird.

Cathepsin B

Cathepsin B gehört zur Gruppe der Cysteinproteasen. In Untersuchungen des Respirationstrakt wurden signifikante Korrelationen von Cathepsin B mit NE, IL-6, IL-8, TNF- α und CRP gefunden. Die Cysteinproteasen können Elastin und Kollagene spalten und werden von aktivierten Makrophagen während inflammatorischer Prozesse ausgeschüttet. Die Autoaktivierung wird durch einen aziden pH gestartet (Martin et al., 2010). Im Respirationstrakt von CF-Patienten liegt ein niedrigerer pH-Wert vor, sodass die Cysteinproteasen-Aktivität verstärkt wird und Gewebeschäden entstehen (Tan et al., 2014). Cathepsin B spaltet Fibronectin und Kollagen IV und X. Erhöhte Cathepsin B Werte konnten im Zusammenhang mit CF bereits gefunden werden (Laguna et al., 2018). Cathepsin B wird dabei ubiquitär freigesetzt (Mort and Buttle, 1997), sodass es als unspezifischer Marker für den Grad der Inflammation gewonnen werden kann. Auch die enge Verknüpfung mit der Aktivität der NE spielt in der Pathologie eine entscheidende Rolle. Die Proenzyme des Cathepsins können durch die NE gespalten werden und somit aktiviert werden. Hinzu kommt, dass die NE NF- κ B in Makrophagen aktiviert werden und diese die Exozytose von Cathepsin B erhöhen (Martin et al., 2010). Die Nachweisbarkeit aus Urin erleichtert vor allem die Probengewinnung bei Patienten, die kein Sputum expektorieren.

T-Lymphozyten

Zum Beispiel durch IL-6 wird der Einstrom von Th1-Zellen gefördert (Fielding et al., 2014). Diese setzen IL-2 und IFN- γ frei und liegen in erhöhten Konzentrationen vor (Eickmeier et al., 2010), ebenso erhöht sind auch Th2-Zellen. Diese produzieren IL-13 und IL-4 (Eickmeier et al., 2010). Th17-Zellen werden wiederum durch IL-6 und IL-23 aktiviert und produzieren IL-8 und IL-17. Damit wird der Einstrom von Neutrophilen wiederum gefördert. (Cohen-Cymerknoh et al., 2013). IL-6 treibt die akute Inflammation in Richtung einer andauernden profibrotischen Reaktion (Fielding et al., 2014)

Durch die Imbalance zwischen proinflammatorischen und antiinflammatorischen Mediatoren, wie zum Beispiel NF- κ B und Resolvin D1, ist die Wirtsabwehr prolongiert und führt zu strukturellen Schäden (Roesch et al., 2018).

Tabelle 1 nach (Courtney et al., 2004) mit Ergänzungen; Übersicht über die Funktionen der unterschiedlichen Zytokine

Zytokin	Aufgaben und Eigenschaften
IL-1 β	<ul style="list-style-type: none"> - Fördert neutrophile Granulozyten - Erhöht die Adhäsion von neutrophilen Granulozyten an das Endothel - V.a. aus Makrophagen freigesetzt
IL-8	<ul style="list-style-type: none"> - Verstärkt Chemotaxis der neutrophilen Granulozyten zum Ort der Inflammation - Aktiviert Neutrophile Granulozyten - Verstärkt die Exprimierung von Adhäsionsmolekülen - Aus neutrophilen Granulozyten und Makrophagen freigesetzt
TNF- α	<ul style="list-style-type: none"> - Verstärkt die Chemotaxis der neutrophilen Granulozyten zum Ort der Inflammation - Verstärkt die Adhäsion von neutrophilen Granulozyten an das Endothel - Vermehrt die Synthese von Chemoattraktants durch neutrophile Granulozyten - Freisetzung durch neutrophile Granulozyten und Makrophagen
IL- 6	<ul style="list-style-type: none"> - Vermittelt in der akuten Phase-Reaktion - Fördert die Heranreifung von B-Lymphozyten - Aktiviert T-Lymphozyten - Fördert Fibrose - Positive Korrelation mit FEV1 (Nixon et al., 1998) - V.a. aus Makrophagen freigesetzt
IL-10	<ul style="list-style-type: none"> - Vermindert die Sekretion von TNF und anderen Zytokinen - Vermindert Antigenpräsentation - V.a. aus Epithelzellen freigesetzt

C-reaktives Protein (CRP)

Die Bestimmung der CRP-Konzentration im Blut spielt im klinischen Alltag eine große Rolle in der Routine-Diagnostik. Als Reaktion auf Infektion, Inflammation und Gewebeschäden produzieren Hepatozyten innerhalb von 6 Stunden CRP. Ohne durch Tageszeit oder äußere Umstände beeinflusst zu werden und auf Grund des schnellen Konzentrationsabfalls, sobald der inflammatorische oder infektiöse Stimulus entfernt wurde, kann eine zeitlich exakte

Bestimmung ermöglicht werden. Mit einer Plasmahalbwertszeit von 19 Stunden und der einfachen Bestimmbarkeit eignet es sich hervorragend für den klinischen Alltag. Trotzdem ist zu beachten, dass die Konzentrationen zwischen Individuen stark variieren (Shoki et al., 2013). CRP korreliert mit der Lungenfunktionsverschlechterung und mit Exazerbationen (Muhlebach et al., 2016).

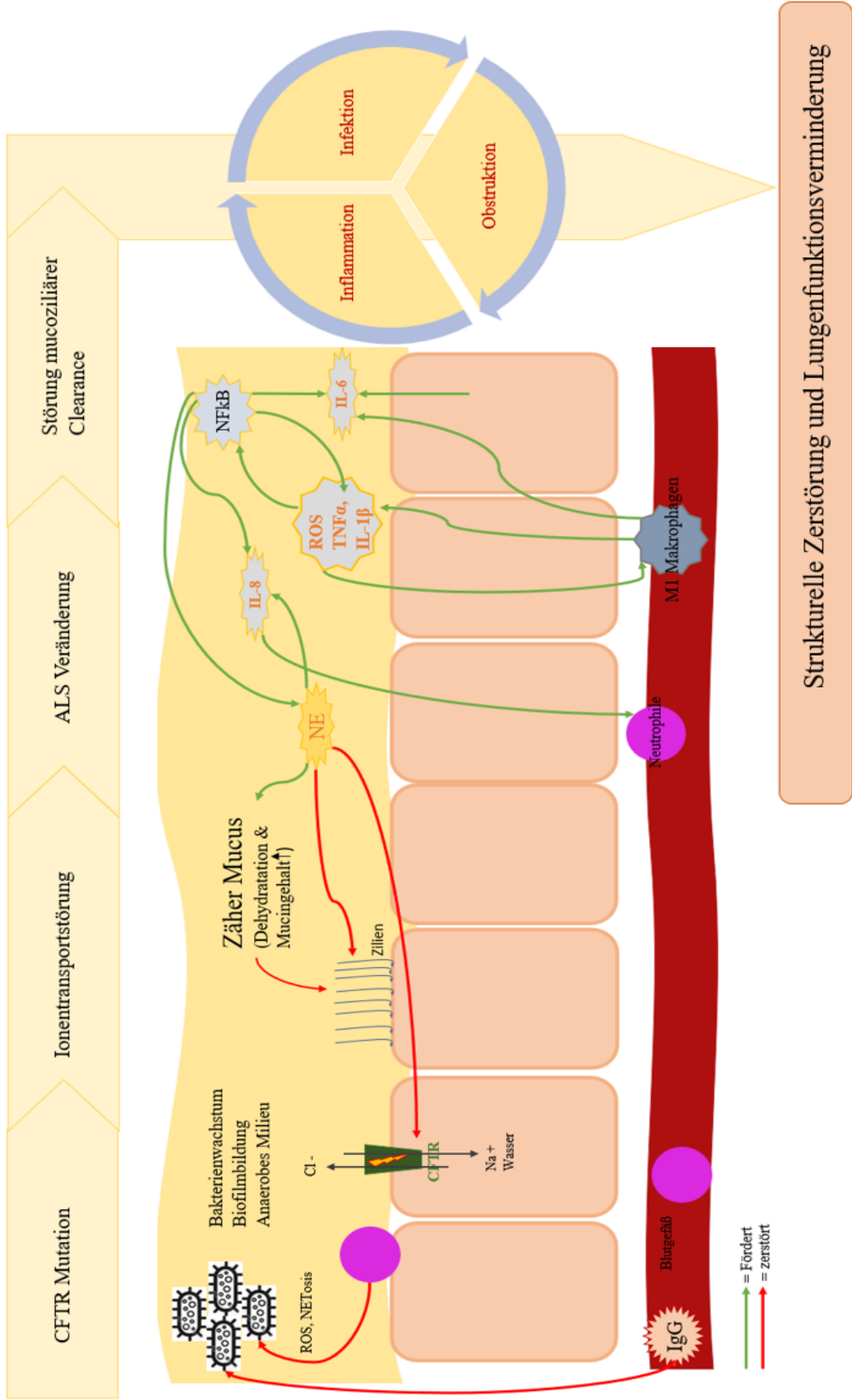


Abbildung 2 Schematische Darstellung der Funktion der gemessenen Parameter in vivo

Für die umfassende Diagnostik der Inflammation werden auch weitere Parameter im Blut verwendet. Schon in den 1980er Jahren wurde beobachtet, dass die IgG-Konzentration mit dem Alter und dem Voranschreiten der Lungenfunktionsminderung steigt (Proesmans et al., 2011). Als Bestandteil der humoralen Immunabwehr spiegelt die Konzentration von IgG die Schwere der Inflammation wider. Des Weiteren wurde die Leukozyten-Anzahl und die IL-8 Konzentration im Blut bestimmt.

2.4.1 Infektion

Bakterien

Auch wenn die Patienten im Alltag vielen verschiedenen Keimen ausgesetzt sind, finden Infektionen vorrangig nur mit bestimmten Spezies statt (Hauser et al., 2011). Die am häufigsten vertretenen Bakterienarten im Respirationstrakt von CF-Patienten sind *P. aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Haemophilus influenzae* (*H. influenzae*) und *Burkholderia spezieis* (Bhagirath et al., 2016). Die meisten Keime besiedeln physiologisch den oberen Respirationstrakt und dringen später tiefer in die Lunge ein (Bhagirath et al., 2016). Die gestörte Wirtsabwehr kann diese Keime dort nicht mehr eradizieren und es kommt zur Besiedelung mit Biofilmbildung. Mit fortschreitender Erkrankung nimmt die Diversität stark ab und wenige pathologische Keime überwiegen (Bhagirath et al., 2016).

Die Interaktion zwischen Bakterien und Wirt wird über PAMPs (Pathogen-assoziierte molekulare Muster) von Seiten der Bakterien und PRR (Pattern-Recognition Rezeptoren) seitens des Wirts gesteuert. Das Erkennen von PAMPs durch PRRs löst dann die inflammatorische Antwort aus und Zytokine wie IL-6, IL-8 und TNF- α werden ausgeschüttet.

P. aeruginosa ist ein gram negatives aerobes bis fakultativ anaerobes Bakterium mit ubiquitärem Vorkommen in der Umwelt. Es ist mit Virulenzfaktoren ausgestattet, wie der Sekretion von Toxinen zur Verteidigung gegen den Wirt und zum interbakteriellen Wettbewerb. Die Bakterienart verfügt über Biofilmbildung und kann Glykopeptide des dysfunktionalen CFTR-Kanals als Rezeptor verwenden (Hauser et al., 2011). In CF-Lungen führt *P. aeruginosa* zu einer Verminderung der Lungenfunktion (Bhagirath et al., 2016). Im Alter von 20 Jahren sind 80% der Patienten chronisch mit *P. aeruginosa* besiedelt (Bhagirath et al., 2016). Beschrieben wird auch die Interaktion von Bakterienspezies untereinander (Bhagirath et al., 2016). *S. aureus* hemmt die Bildung von IL-8, welches durch die Infektion mit *P. aeruginosa* zur vermehrten Abwehr durch den Wirt gebildet wird (Bhagirath et al., 2016). Die Abnahme der Lungenfunktion wird vor allem durch die gemeinsame Besiedelung von *S. aureus* und *P. aeruginosa* beschrieben (Agarwal et al., 2020, Blanchard and Waters, 2019). Das Zusammenspiel mehrerer Spezies verstärkt somit die Pathogenität.

S. aureus kann in bis zu 80% der CF-Patienten nachgewiesen werden (Blanchard and Waters, 2019). Die Resistenz gegen Antibiotikatherapien wird beispielsweise durch Biofilmbildung verstärkt. Dabei ist eine FEV1 Verminderung vor allem durch Methicillin-resistente *S. aureus* (MRSA) Besiedelung beschrieben (Surette, 2014).

S. maltophilia erschwert die Eradikation mittels Antibiotika durch Resistenzmechanismen wie Zellwandpumpen, extrazelluläre Abgabe von Enzymen, LPS, Biofilmbildung, β -Lactamasen und Aminoglykosid-verändernden Enzyme. Somit ist das Bakterium nur schwer therapierbar und tritt auf Grund von Selektionsvorteilen vor allem nach antibiotischen Therapien gegen andere Keime auf (Agarwal et al., 2020, Blanchard and Waters, 2019). Nachgewiesen werden konnte eine Zunahme der Exazerbationen und ein um dreifach erhöhtes Mortalitätsrisiko in Zusammenhang mit der Infektion von *S. maltophilia* (Blanchard and Waters, 2019). Die

Prävalenz der Infektion beträgt 12-30% und ist derzeit steigend (Blanchard and Waters, 2019).

Die Infektion mit *MRSA*, *P. aeruginosa* und *Burkholderia cepacia* haben einen signifikanten Einfluss auf Lungenfunktionsverlust und Mortalität. Somit sind der frühzeitige Nachweis und die Behandlung von großer Bedeutung.

Auch *H. influenzae* ist ein Erreger, der typischerweise bei Kindern schon im Vorschulalter auftritt. Auch hier wird die Möglichkeit der Biofilmbildung beschrieben (Cardines et al., 2012).

Die Besiedelung der Lunge mit Bakterien ist physiologisch und wird als Lungenmikrobiom bezeichnet. Entscheidend für eine gesunde Besiedelung ist dabei die Diversität, also das Vorkommen von vielen verschiedenen Spezies und das ausgewogene Verhältnis zwischen den Spezies. Im Folgenden werden zu dem nur Bakterien erwähnt, die bei konventionellen mikrobiologischen Analysen diagnostiziert werden. Mit spezifischen Mikrobiomanalysen können noch deutlich mehr Spezies nachgewiesen werden, deren Relevanz für den Krankheitsprozess aber noch nicht bekannt ist.

Cuthbertson et al. beschreibt den Zusammenhang zwischen verminderter Diversität, erhöhter Dominanz einzelner Spezies und der Abnahme der Lungenfunktion (Cuthbertson et al., 2020). Genauso können *H. influenzae* und *S. aureus* bereits im Kleinkindalter regelmäßig nachgewiesen werden, wohingegen *S. maltophilia* und *P. aeruginosa* typischerweise erst später auftreten.

Die Verbreitung von *P. aeruginosa* ist ubiquitär. Risikofaktoren für die Besiedelung sind aber auch das weibliche Geschlecht, der F508del homozygote Genotyp und Koinfektion mit *S. aureus* und *B. cenocepacia* (Bhagirath et al., 2016).

Im Alter von 20 Jahren sind 80% der Patienten chronisch mit *P. aeruginosa* besiedelt (Bhagirath et al., 2016). Die Möglichkeit der Veränderung von Geno- und Phänotyp der Bakterienart ermöglicht das Überleben trotz antibiotischer Eradikationsversuche und Wirtsabwehr. *P. aeruginosa* wandelt sich von einer nicht-mucoiden zu einer mucoiden Form um. Durch die Alginatbildung wird es unangreifbarer für Antibiotika und die Abwehr durch den Wirt. Gleichzeitig vermindert das Bakterium die Diversität an Bakterienarten in der Lunge. So drängt die Art zum Beispiel *S. aureus* vom aeroben Stoffwechsel in den fermentativen und vermindert dessen Überlebensfähigkeit. Auch werden antimikrobielle Stoffe frei, die in der Lage sind *S. aureus* zu lysieren (Bhagirath et al., 2016). Um diesem Mechanismus zu entgehen, sind frühe Eradikationsversuche notwendig. *P. aeruginosa* vermindert die CFTR Funktion weiter und kann den CFTR Kanal sogar als Rezeptor verwenden (Heijerman, 2005). Auch wird der Einstrom von Neutrophilen gefördert und zur Bildung von IL-8 angeregt (Khan et al., 2019).

Der Wandel der nachgewiesenen dominierenden Spezies setzt sich somit über die Zeit bei CF-Patienten fort. Das frühe Einschreiten mit Eradikationsversuchen, die Bekämpfung der überschießenden Inflammation und das möglichst langfristige Verhindern der Infektion mit *P. aeruginosa* sind entscheidende Faktoren für das Überleben der Patienten und somit nicht getrennt voneinander zu betrachten (Khan et al., 2019).

Fungi

Auch die Infektion mit verschiedenen Pilzspezies spielt eine große Rolle in der Krankheitsprogression. Häufige Arten sind *Aspergillus species* und *Candida species* (Bhagirath et al., 2016). Aufgrund der geringen Größe können Pilzsporen tief in den Respirationstrakt vordringen und sich dann vermehren – auch in diesem Fall begünstigt durch die ineffiziente Wirtsabwehr. Dabei besteht für die Patienten eine Assoziation zwischen Besiedelung und pulmonaler Exazerbationsrate (Bhagirath et al., 2016). Durch *Aspergillus fumigatus* wird eher keine invasive Infektion ausgelöst, allerdings entsteht die bronchopulmonale Aspergillose. Eine

Hypersensitivitätsreaktion, die die Atemwege weiter verengt (Agarwal et al., 2020). *Candida* besiedelt physiologisch im Oropharynx vor, sodass von hier eine Infektion ausgehen kann (Blanchard and Waters, 2019).

2.4.2 Mukoviszidose- eine Multisystem-Erkrankung

Ernährung, sportliche Aktivität und die Psyche können bis zu 50% des Krankheitsverlaufs beeinflussen (Bhagirath et al., 2016). Mangelernährung beeinträchtigt das Immunsystem und führt zu respiratorischer Muskelschwäche. Es wurde eine um 30% erhöhte Prävalenz von Angststörungen und Depressionen bei CF-Patienten gefunden (Bhagirath et al., 2016).

2.4.2.1 Leber

Da der CFTR-Kanal in vielen Zellen und unterschiedlichen Organen vorhanden ist, finden sich Pathologien im gesamten Körper. Die Erkrankung der Lunge ist zum Großteil lebenslimitierend, dennoch sind 2,5 bis 5 % der Mortalität von CF-Patienten auf Lebererkrankungen zurückzuführen (Fiorotto and Strazzabosco, 2019). Die Manifestation zeigt ein weites Spektrum von erhöhten Leberwerten bis zur biliären Zirrhose, Hepatosplenomegalie und portalen Hypertension. 10 % aller 30-jährigen CF-Patienten weisen Leber-bezogene Komplikationen auf (Fiorotto and Strazzabosco, 2019). Vor allem bei pädiatrischen Patienten finden sich häufig Veränderungen der Leberfunktion (Connett, 2019). Behandelt wird vorrangig durch die Gabe von Ursodesoxycholsäure zur Therapie der Cholestase. Die Gallenflüssigkeit ist in ihrer Zusammensetzung verändert - protektiver Mukus und Bicarbonat sind vermindert und Gallensäuren akkumulieren, da auch Cholangiozyten CFTR-Kanäle aufweisen. Das inflammatorische Milieu greift das Zytoskelett und Tight-junctions an. Cholangiozyten und Hepatozyten werden zerstört und es kommt zur fokalen Fibrose, die sich zur Zirrhose ausweiten kann (Diwakar et al., 2001). Hinzu kommen hepatotoxische Medikamente und Mangelernährung (Diwakar et al., 2001). Die meisten Studien sehen die Lungenfunktion als primäres Ziel, wobei sich auch ein Blick auf die Lebergesundheit lohnt. Schnell kann die Erkrankung der Leber fortschreiten und sogar zur Notwendigkeit einer Transplantation führen, klinische Symptome treten erst spät auf. Da keine direkte Korrelation zwischen Phänotyp und Genotyp für die Schwere der Lebererkrankung vorliegt (Woodruff et al., 2017), ist die regelmäßige Kontrolle und die Implementierung von klinischen Parametern entscheidend. Empfohlen wird eine jährliche Kontrolle der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT) und der Glutamat- Pyruvat-Transaminase (GPT), obwohl die Aussagekraft von asymptomatischen Erhöhungen nicht näher beschrieben ist (Woodruff et al., 2017). Da Ivacaftor P450/Cyp3A verstoffwechselt wird, wird die regelmäßige Kontrolle der Leberwerte empfohlen (GOT, GPT und alkalische Phosphatase (AP)) (Connett, 2019), gleichzeitig hat die Therapie mit CFTR-Modulatoren natürlich auch positive Einflüsse auf die Leber und das Gallensystem.

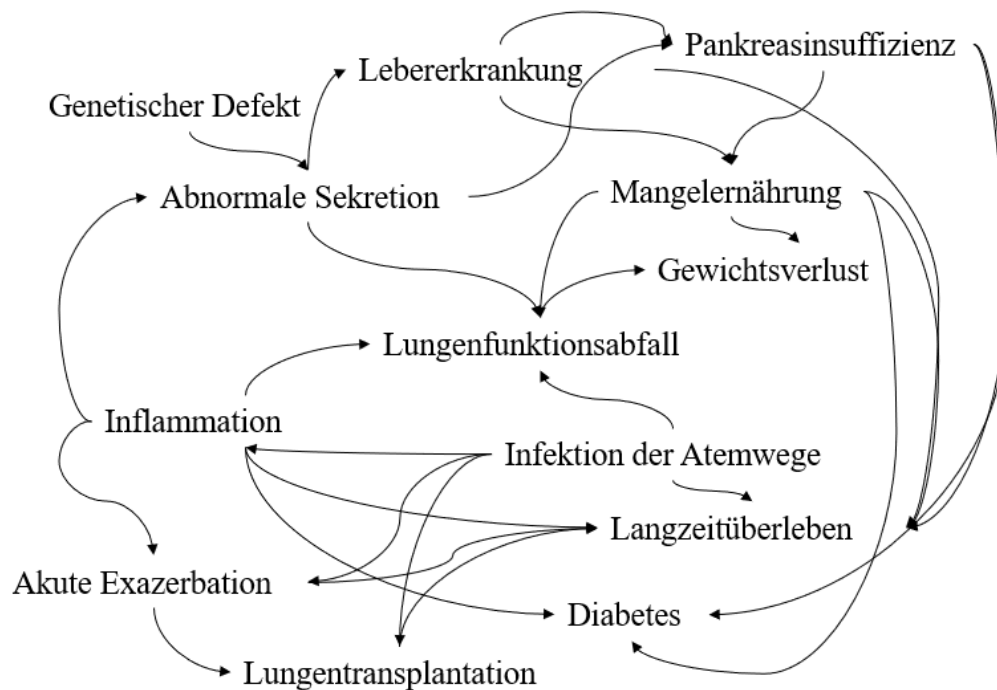


Abbildung 3 Darstellung der Zusammenhänge der Multisystemerkrankung nach Liou et al. (Liou, 2019)

2.4.2.2 Pankreas

Das Auftreten von Pankreasinsuffizienz bei Kindern wird hauptsächlich durch die Erkrankung Mukoviszidose verursacht (Rumman et al., 2014). 85-90 % der CF-Patienten leiden an Pankreasinsuffizienz und Malabsorption (Rumman et al., 2014). Die Mutation F508del birgt ein großes Risiko an exokriner Pankreasinsuffizienz zu erkranken. Die endokrinen und exokrinen Funktionen des Pankreas stehen hier in einem engen Zusammenhang und damit auch die Entstehung des Cystic fibrosis related Diabetes (CFRD). Die meisten CF-Patienten leiden an exokrinen Funktionsstörungen, die im Laufe des Lebens zu endokrinen Störungen führen (Lanng, 2001). Die endokrine Funktionsminderung wird allerdings durch mehrere Mechanismen verursacht und ist nicht nur auf die exokrinen Auswirkungen zurückzuführen. Zum einen kommt es zum Rückstau von exokrinen Verdauungsenzymen durch einen hohen Proteingehalt im Sekret und einen langsamen Sekretfluss (Wilschanski and Novak, 2013). Die Enzyme verweilen länger im Pankreasgewebe und es kommt zu Autolyse und Selbstdigestion, wodurch auch β -Zellen zerstört werden (Barrio, 2015). Da die Schwere der dadurch ausgelösten Fibrose aber nicht in jedem Fall mit der gestörten β -Zellfunktion korreliert (Barrio, 2015) und für die eingeschränkte Funktion auch über 50% der β -Zellen nachweislich zerstört sein müssen (Lanng, 2001), ist es ersichtlich, dass noch andere Mechanismen einen Einfluss haben. Durch den gestörten CFTR-Kanal wird das Priming der Insulinmoleküle gestört, und somit die Insulinausschüttung vermindert (Barrio, 2015). Vor allem postprandial treten bei den Patienten Hyperglykämien auf. Dieser Zustand wiederum fördert die Lymphozyten-Dysfunktion, sodass proinflammatorische TH17-Zellen und IL-17 vermehrt nachweisbar sind. Die proinflammatorische, pathologische Wirkungsweise von TH17 Zellen und IL-17 konnte in CF-Lungen und bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 und 2 nachgewiesen werden. Auch interzelluläre Signale mittels IL-6 scheinen eine Rolle zu spielen (Liou, 2019). Verstärkt wird dieser Prozess zudem durch einen Vitamin D-Mangel (Barrio, 2015). Des Weiteren kommt es durch den Aufstau von fehlerhaften CFTR-Kanälen im endoplasmatischen Retikulum (ER) und vermehrtem oxidativem Stress zu Apoptose der β -Zellen (Barrio, 2015). Auch eine erhöhte Insulin-Clearance von bis zu 40% wird bei CF-Patienten gefunden, wahrscheinlich ausgelöst durch eine erhöhte Anzahl an, am Abbau beteiligten Rezeptoren (Lanng, 2001). Weitere verstärkende

Prozesse sind Exazerbationen der Lunge und Glukokortikoid-Therapien. Diese führen zu vermehrten Mengen an antagonistischen Hormonen wie Glukagon, Wachstumshormonen und Katecholaminen und erhöhen die Insulinresistenz und führen zu erhöhten Plasmaglukosekonzentrationen (Lanng, 2001). Der CFRD korreliert mit Morbidität und Mortalität, da ein Einfluss auf die Lungenfunktion und den Ernährungsstatus besteht. In Studien wurde nachgewiesen, dass die Glukagon-Konzentration normal ist (Lanng, 2001). Dysfunktionale CFTR-vermittelte neuronale Effekte auf appetitstimulierende Neuropeptide und die Ausschüttung von Wachstumshormonen könnten die verminderte klinische Reaktion auf Hypoglykämie und das verminderte Körperwachstum bei CF-Patienten erklären (Barrio, 2015).

Die exokrine Funktionsstörung beginnt schon im Fetus. Bereits zu diesem Zeitpunkt kommt es zur Obstruktion der Ducti auf Grund von sehr hohen Proteinkonzentrationen im Sekret (Wilschanski and Novak, 2013). Für diese Patienten ist eine Substitution mit Pankreasenzymen (PERT pancreas enzyme replacing therapy) notwendig (Rumman et al., 2014), um Symptome wie Wachstumsprobleme, Gewichtsverlust, abdominale Blähungen, faulig riechender Stuhl und Diarrhö zu verhindern (Ratchford et al., 2018). Aufgrund der eingeschränkten Funktion des Pankreas und seines basischen Sekrets liegt bei CF-Patienten ein erniedrigter pH-Wert im Duodenum vor. Dadurch wird die Wirkung der Pankreasenzyme weiter eingeschränkt (Wilschanski and Novak, 2013). Auch eine Substitution der fettlöslichen Vitamine A, D, E und K ist notwendig.

2.4.2.3 Gastrointestinaltrakt

13-17 % aller Neugeborenen mit Mukoviszidose erleiden in den ersten Lebenstagen einen Mekonium-Ileus, sodass der frühe Krankheitsbeginn ersichtlich wird (van der Doef et al., 2011). Durch den viskösen Stuhl mit starker Adhäsion an Vili und Krypten kann es zur kompletten oder inkompletten fäkalen Obstruktion des Ileums und Cäcums kommen (Distales intestinales Obstruktions-Syndrom)(Tabori et al., 2017). Bei den Patienten äußert sich dieser Zustand als Bauchschmerzen und Stuhlmasse im unteren rechten Quadranten. Die intestinale Dysmobilität, das veränderte Mikrobiom durch häufige Antibiotika-Einnahmen und die Pankreasinsuffizienz spielen eine große Rolle für die Entstehung der intestinalen Inflammation. CF-Patienten berichten regelmäßig von Blähungen, Diarrhö und Bauchschmerzen.

Um Einblicke in die Inflammationsgenese zu erhalten, eignen sich Koloskopie und Biopsien. Da diese aber invasiv sind, ist für die regelmäßige Kontrolle das fäkale Calprotectin besser geeignet. Calprotectin wird aus neutrophilen Granulozyten bei Aktivierung oder Zelltod freigesetzt und ist in Serum, Sputum und Stuhl nachweisbar (Rumman et al., 2014). Dabei konnten erhöhte Werte auch bei Pankreas-suffizienten Patienten nachgewiesen werden, sodass der fäkale Marker grundsätzlich bei der Erkrankung eine Rolle spielt.

2.4.2.4 Weitere betroffene Organe

Der CFTR-Kanal ist aber auch in der embryonalen Hirnentwicklung, Hypothalamus, Thalamus und Amygdala involviert. Auch im anterioren Hypothalamus wurde er gefunden und kann somit die zirkadiane „Uhr“ beeinflussen. Neben Schlafstörungen werden auch Unausgeglichenheit, Depressionen und Angststörungen durch das Vorkommen des Kanals an vielen Strukturen des Gehirns ausgelöst. Des Weiteren leiden viele Patienten an chronischer Sinusitis auf Grund von zähem Sekret und erhalten medikamentöse Therapie (Liou, 2019). Auf Grund des hohen Salzgehaltes im Schweiß droht bei Hitze und Fieber das Salzverlustsyndrom.

2.4.3 CFTR-Modulatoren (z.B. Lumacaftor/Ivacaftor Orkambi®)

Die Behandlung der zystischen Fibrose war bis vor wenigen Jahren vor allem auf die Therapie der Symptome limitiert. Sie besteht z.B. aus supportiven Gaben von Probiotika, Vitaminsupplementierung, Sympathomimetika gegen die Bronchokonstriktion, Ursodesoxycholsäure gegen

Leber- und Gallenstörungen, Dornase Alpha für die enzymatische Auflösung, der viskösen DNA-Bestandteile im Sputum, hypertone Kochsalzinhalation zur Verflüssigung des ASL und Atemwegs-Physiotherapie. Rezidivierende Antibiotika-Therapien oder dauerhafte z.B. inhalative antibakterielle Therapien werden angewendet. Patienten mit exokriner Pankreasinsuffizienz supplementieren Verdauungsenzyme mittels PERT (pancreatic enzyme replacement therapy). Auch heute kommt diesen Medikamenten eine große Bedeutung zur Verlaufsmodifikation zu. Ersichtlich wird somit die große Krankheits- und Therapielast für die Patienten, die durch die spezifische Modulatoren-Therapie vermindert werden kann.

Der Einsatz von Modulatoren zur Therapie ist davon abhängig, welche Mutation vorliegt und welche Störungen des CFTR Kanals dadurch zustande kommen. Es werden 6 Klassen an Mutationen unterschieden.

Tabelle 2 Einteilung der Mutationsklassen (nach (Brodlie et al., 2015))

Mutationsklasse	Ursächlicher Defekt	Konsequenz des Defekts
I	Synthesestörung	Verminderte Expression des CFTR Kanals
II	Proteinprozessionsstörung	Faltung und Transport zur Zellmembran gestört; z.B. bei der Mutation Phe508del
III	Kanalöffnungsstörung	Öffnung vermindert
IV	Kanaldurchgängigkeit gestört	Chlorid-Transport gestört
V	Reduzierte CFTR Produktion	Geringe CFTR Konzentration
VI	Reduzierte Stabilität des CFTR Protein	Schneller Abbau, hoher CFTR Verbrauch führt zu verminderter Konzentration

Die Modulatoren können in Korrektoren und Potenziatoren.

Tabelle 3 Aufführung der verschiedenen Wirkstoffe

Ivacaftor	Potenziator
Lumacaftor	Korrektor, in Kombination mit Ivacaftor
Tezacaftor	Korrektor, in Kombination mit Ivacaftor
Elexacaftor	Korrektor, in Kombination mit Ivacaftor und Tezacaftor

Mit der Wirkstoffkombination Lumacaftor/Ivacaftor wird stattdessen die Funktionsfähigkeit des CFTR-Kanals verändert und nicht erst die dadurch entstandenen Symptome beeinflusst. Das Medikament Orkambi®, welches seit 10.01.2018 für Kinder zwischen 6 und 12 Jahren zugelassen ist, besteht aus den Wirkstoffen Lumacaftor und Ivacaftor. Ziel ist es, den posttranslationalen Prozessierungsfehler, der durch die Mutation verursacht wird, zu mildern. Lumacaftor, ein Korrektor, überführt den CFTR-Kanal in eine stabile Isoform, um den frühzeitigen Abbau zu verhindern. Ohne Korrektor verbleibt das mutierte Protein im endoplasmatischen Retikulum und wird ubiquitin-abhängig proteosomal abgebaut. Durch die direkte Bindung von Lumacaftor an die MSD-1 wird die Faltung und der Transport erleichtert und mehr CFTR-Kanäle erreichen die Zellmembran (Sinha et al., 2015). Ivacaftor, ein Potenziator, bindet an das Kanalprotein und verlängert dessen Wahrscheinlichkeit der Gly551Asp-CFTR Kanalöffnung

(Milla et al., 2017). Ziel ist die Verbesserung der Funktionsfähigkeit des mutierten CFTR-Kanals (Roesch et al., 2018).

Das Medikament soll 2-mal täglich eingenommen werden. Bei gesunden Probanden wurde ein kontinuierliches Plateau der Plasmakonzentration nach den ersten 7 Tagen der Einnahme festgestellt. Auf Grund von CYP3A4 Induktion durch Lumacaftor ist die langfristige Plasmakonzentration des CYP3A4-sensitiven Ivacaftor niedriger als am ersten Tag der Einnahme. Beide Bestandteile von Orkambi® sind zu 99% an Plasmaproteine gebunden (Talamo Guevara and McColley, 2017).

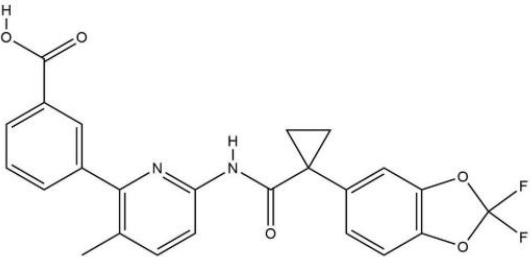
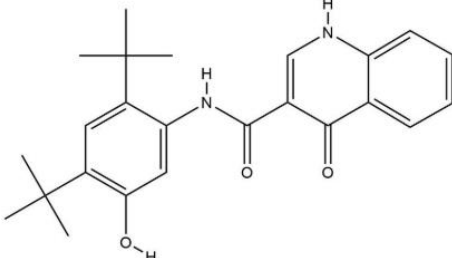
In der Metaanalyse von Talamo et.al. wurden bei Patienten älter als 12 Jahre eine Reduktion der pulmonalen Exazerbationsrate gefunden, genauso wie eine Erhöhung des BMI und der FEV1, Verbesserungen im CFQ-R respiratory subscore (Talamo Guevara and McColley, 2017) und bei der Schweißchlorid-Messung (Milla et al., 2017). Diese Verbesserungen sind auch bei Kindern unter 12 Jahren aufgetreten (Milla et al., 2017). Bei Patienten unter 12 Jahren ergaben sich allerdings keine Veränderungen der FEV1. Die LCI zeigte dort allerdings signifikante Verbesserungen. Dieser Parameter ist sensitiver für junge Patienten, da er die Erkrankung der kleinen und mittleren Bronchien besser widerspiegelt.

In einer Phase III Studie wurde bereits die Sicherheit und die Wirkung des Medikaments bei Kindern unter 12 Jahren erforscht. Dabei wurden keine anderen Nebenwirkungen gefunden, als auch bei älteren Patienten - vor allem Husten, Verstopfung der Nase, pulmonale Exazerbation und Kopfschmerzen (Milla et al., 2017). Atembeschwerden und Engegefühl in der Brust werden zu Therapiebeginn häufig beschrieben (Connett, 2019). Bei 94 % der Studienteilnehmer in der Studie von Milla et al. traten Nebenwirkungen auf, wobei diese meist als sehr schwach beschrieben wurden (Milla et al., 2017). Des Weiteren wurden Leberwerterhöhungen festgestellt (auf Grund des P450/CYP3A4 Metabolismus von Ivacaftor können toxische Abbauprodukte entstehen (Connett, 2019)) und es besteht ein erhöhtes Risiko für die Entstehung eines Katarakts (Talamo Guevara and McColley, 2017). Trotz der Nebenwirkungen spricht das Nutzen-Risiko-Verhältnis deutlich für die Anwendung zur Therapie der homozygoten F508del-Mutation. Insgesamt soll so der Verlauf der Erkrankung positiv beeinflusst und die Verschlechterung des Gesundheitszustands verlangsamt werden.

Ob dadurch auch die Inflammation dauerhaft abgemildert werden kann, ist Gegenstand zukünftiger Studien. Trotz der oben genannten Verbesserungen bleibt der Effekt auf die Verminderung der Inflammation noch unklar (Roesch et al., 2018). Zu klären ist auch, in welchem Ausmaß das Medikament Orkambi® den CFTR Kanal in vivo beeinflusst und wie viel Korrektur nötig ist, um klinische Verbesserungen zu erreichen (Barrio, 2015). Allerdings konnte eine Studie nachweisen, dass neutrophile Granulozyten unter CFTR Potentiator-Therapie weniger schädigende Enzyme freisetzen (Roesch et al., 2018).

Durch die Wirkstoffkombination Lumacaftor/Ivacaftor wird keine vollständige Herstellung der Funktion des CFTR-Kanals erreicht. Allerdings eine erhöhte Funktionstüchtigkeit, sodass der Krankheitsprogress abgeschwächt wird. Dieser Effekt zeichnet sich vor allem ab, wenn im frühen Kindesalter mit der Therapie begonnen wird.

Tabelle 4 chemische Strukturformel Lumacaftor/Ivacaftor (Cholon et al., 2016)

Lumacaftor	3-[6-([1-(2,2-difluoro-1,3-benzodioxol-5yl) cyclopropyl] carbonylamino)-3-methylpyridin-2-yl]benzoic acid. $C_{24}H_{18}F_2N_2O_5$	
Ivacaftor	N-(2,4-di-tertbutyl-5-hydroxyphenyl)-1,4-dihydro-4-oxoquinoline-3carboxamide $C_{24}H_{28}N_2O_3$	

Lumacaftor stabilisiert das fehlgefaltete Protein, wodurch eine Funktionsfähigkeit von zirka 15% des Wildtyps erreicht werden kann (Cholon et al., 2016). Die veränderten Schweißchlorid-Werte sind ein Indikator für die Funktionalität der Wirkstoffkombination.

2.4.4 BMI

Auf Grund der Beteiligung von Pankreas und Gastrointestinaltrakt an der Erkrankung Mukoviszidose, haben betroffene Kinder tendenziell einen eher zu niedrigen BMI. Durch die Pankreasinsuffizienz werden Fette oft weniger effektiv vom Körper aufgenommen, so gehen wichtige Energielieferanten für den Körper verloren (Steinkamp and Wiedemann, 2002). Da in mehreren Studien gezeigt worden ist, dass der BMI mit erniedrigter Vitalkapazität, erniedrigtem FEV1 und erhöhten IgG-Konzentrationen einhergeht (Steinkamp and Wiedemann, 2002), empfiehlt die Cystic fibrosis foundation (CFF) für Kinder einen BMI über der 50. Perzentile (Cystic Fibrosis Foundation, aufgerufen am 12.01.2022; <https://www.cff.org/Life-With-CF/Daily-Life/Fitness-and-Nutrition/Nutrition/Getting-Your-Nutrients/Nutritional-Basics/>). Die Wirkstoffkombination Lumacaftor/Ivacaftor kann die Funktionen des Gastrointestinaltrakts verbessern.

2.4.5 CFQR

Der Cystic fibrosis Questionnaire Revised ist ein Fragebogen zur gesundheitsbezogenen Lebensqualität (Health related Quality of Life (HRQoL)) für Patienten mit Mukoviszidose. Subjektive Lebensqualitätsveränderung sollen messbar gemacht werden. Die Validierung des Fragebogens wurde in mehreren Studien durchgeführt (Henry et al., 2003) (Wenninger et al., 2003). Damit wurde ein wichtiges Instrument erstellt, um die vielfältigen Symptome der zystischen Fibrose zu bewerten und auch Therapien miteinander vergleichen zu können. Auch psychische Symptome, wie Schlafstörungen werden abgefragt. Entscheidend ist das Zusammenführen von subjektiven Verbesserungen, Reliabilität und Validität. Auch die Übersetzung des anfangs Englischen Fragebogens in die deutsche Sprache wurde validiert (Wenninger et al., 2003). Außerdem konnte auch die Konvergenz zwischen Eltern-Fragebogen und Kinder-Fragebogen gezeigt

werden (Modi and Quittner, 2003). Es werden verschiedene Kategorien aufgeführt:

Tabelle 5 CFQR Kategorien für die Eltern betroffener Kinder von 6-13 Jahren

Physical	Körperliches Wohlbefinden
Emotion	Psychisches Wohlbefinden
Vitality	Energie
School	Schulschwierigkeiten
Eat	Essstörungen
Treat	Therapiebelastung
Body	Körperbild
Health	Subjektive Gesundheitseinschätzung
Weight	Gewichtsprobleme
Respiratory	Respiratorische Symptome
Digestive	Gastrointestinale Symptome

Tabelle 6 CFQR Kategorien für betroffene Kinder von 6-13 Jahren

Physical	Körperliches Wohlbefinden
Emotion	Psychisches Wohlbefinden
Eat	Essstörungen
Treat	Therapiebelastung
Social	Soziale Einschränkungen
Body	Körperbild
Respiratory	Respiratorische Symptome
Digestive	Gastrointestinale Symptome

Jede Kategorie wird mit 0 bis 100 Punkten bewertet. Je mehr Punkte, desto höher schätzen die Patienten ihre subjektive Gesundheit und Lebensqualität in diesem Bereich ein.

Insbesondere für die respiratorische Kategorie wurde ein MCID (minimal clinically important difference) von 4% für respiratorisch stabile Patienten festgelegt. Damit wird die minimale klinisch entscheidende Verbesserung, die ein Patient registriert definiert. Ab einer Veränderung um 4% zum vorherigen Untersuchungszeitpunkt kann von einer signifikanten Veränderung ausgegangen werden (Quittner et al., 2009).

In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluss von Lumacaftor/Ivacaftor auf die Reduktion der systemischen, respiratorischen und intestinalen Inflammation in den ersten zwei Jahren der Therapie untersucht. Auch weitere klinische Faktoren des Krankheitsprogress bei CF wie die Lungenfunktion und Lebensqualität wurden berücksichtigt.

3 Materialien, Methoden und Kollektiv

3.1 Kollektiv

Das Kollektiv bestand aus 7 Patienten zwischen 6 und 13 Jahren mit nachgewiesener homozygoter F508del-Mutation, die während des Untersuchungszeitraums Lumacaftor/Ivacaftor zur Standardtherapie erhielten (100mg/125mg zweimal täglich). Alle Teilnehmer wurden aus der Ambulanz für pädiatrische Pneumologie der Universitätsmedizin Mainz rekrutiert.

Tabelle 7 Probandenbeschreibung nach Alter, Größe, Gewicht und BMI

Probandenanzahl	7					
Frauenanteil in %	57,14%					
F:M	4:3					
	Zu Beginn			Zum Ende		
	Median	Q1-Q3	min - max	Median	Q1-Q3	min - max
Alter	9,92	7,00-11,33	6,08 - 12,50	10,92	8,08 - 12,50	7,08 - 13,50
Größe	131,2	121,30 - 137,90	116,20 - 149,40	137,2	127,00- 145,00	122,70 - 157,40
Gewicht	26,4	24,10 - 31,10	20,40 - 35,50	28,8	27,70 - 36,20	24,10 - 44,90
BMI	15,33	14,57 - 16,35	14,54 - 16,37	16,41	15,06 - 17,61	14,54 - 18,12
BMI-Perzentilen	21	13,5 - 33	10 - 71	40	33 – 45,5	2 - 62

Tabelle 8 Alter bei Diagnose

Patient	Alter bei Diagnose
1	2 Jahre 6 Monate
2	1 Monat
3	1 Monat
4	2 Monate
5	1 Jahr 10 Monate
6	1 Jahr 9 Monate
7	1 Jahr
Durschnitt	12,7 Monate

Tabelle 9 Medikamentenübersicht zum Zeitpunkt Visit 1(NaCl = Natriumchlorid-Inhalation, SABA= Salbutamol und Fenoterol, LABA = Salmeterol, Cortison inhalativ oder als Nasenspray, DNase= Dornase alpha, PPI= Protonenpumpeninhibitoren, DOS= Desoxycholsäure, PERT = Pankreasenzyme)

Patient	NaCl	SABA	LABA	Cortison	Ipratropiumbromid	DNase	PPI	DOS	PERT
1	X	X		X			X	X	X
2	X	X		X	X				X
3	X	X				X		X	X
4	X	X	X	X				X	X
5	X	X	X	X					X
6	X	X				X			X
7	X	X	X			X			X

Tabelle 10 Medikamentenübersicht zum Zeitpunkt Visit 5 (NaCl = Natriumchlorid-Inhalation, SABA= Salbutamol und Fenoterol, LABA = Salmeterol, Cortison inhalativ oder als Nasenspray, DNase= Dornase alpha, PPI= Protonenpumpeninhibitoren, DOS= Desoxycholsäure, PERT = Pankreasenzyme)

Patient	NaCl	SABA	LABA	Cortison	Ipratropiumbromid	DNase	PPI	DOS	PERT
1	X	X		X			X	X	X
2	X	X							X
3	X	X							X
4	X	X	X	X				X	X
5	X	X	X	X					X
6	X	X							X
7	X	X	X		X	X			X

Tabelle 11 Medikamenübersicht zum Zeitpunkt Visit 9 (NaCl = Natriumchlorid-Inhalation, SABA= Salbutamol und Fenoterol, LABA = Salmeterol, Cortison inhalativ oder als Nasenspray, DNase= Dornase alpha, PPI= Protonenpumpeninhibitoren, DOS= Desoxycholsäure, PERT = Pankreasenzyme)

Patient	NaCl	SABA	LABA	Cortison	Ipratropiumbromid	DNase	PPI	DOS	PERT
1	X	X		X			X	X	X
2	X	X	X	X	X				X
3	X	X				X			X
4	X	X	X	X				X	X
5	X	X	X	X					X
6	X	X							X

3.1.1 Ausschlusskriterien

Von der Studie ausgeschlossen waren Patienten mit Leberzirrhose, Niereninsuffizienz, FEV1 unter 40%, akuter Infektion und Exazerbation, bei antibiotischer Therapie in den letzten 2 Wochen vor Beginn der ersten studienrelevanten Untersuchung, anderen Komorbiditäten, die eine Therapie mit Lumacaftor/Ivacaftor ausschließen und fehlender Compliance.

3.1.2 Durchführung der Studie

Es handelt sich um eine longitudinale Observationsstudie (low-intervention clinical trial). Die Vorstellungen der Patienten erfolgten zu neun Zeitpunkten im Abstand von jeweils 90 Tagen. Die erste Untersuchung fand unmittelbar vor der ersten Einnahme von Lumacaftor/Ivacaftor statt. Während der Vorstellung erfolgte routinemäßig ein Anamnesegespräch und es wurden Blut, Urin, Rachenabstriche und eine Stuhlprobe gewonnen. Die Patienten und ihre Eltern füllten die CFQR-Fragebögen und Symptom-Fragebögen aus. Außerdem wurde die Lungenfunktion gemessen. Mit Hilfe von Physiotherapie und der Inhalation von Kochsalzlösung erfolgte die Sputum Expektoration. Aus den Proben wurden krankheitsspezifische Biomarker gewonnen. Die Untersuchungen fanden während der regulären Kontrolltermine der Patienten und Patientinnen statt.

Der Studienzeitraum betrug circa 2 Jahre. Ein positives Ethikvotum mit der folgenden Referenznummer liegt vor. (2018-13526 2- klinische Forschung / erstberatend))

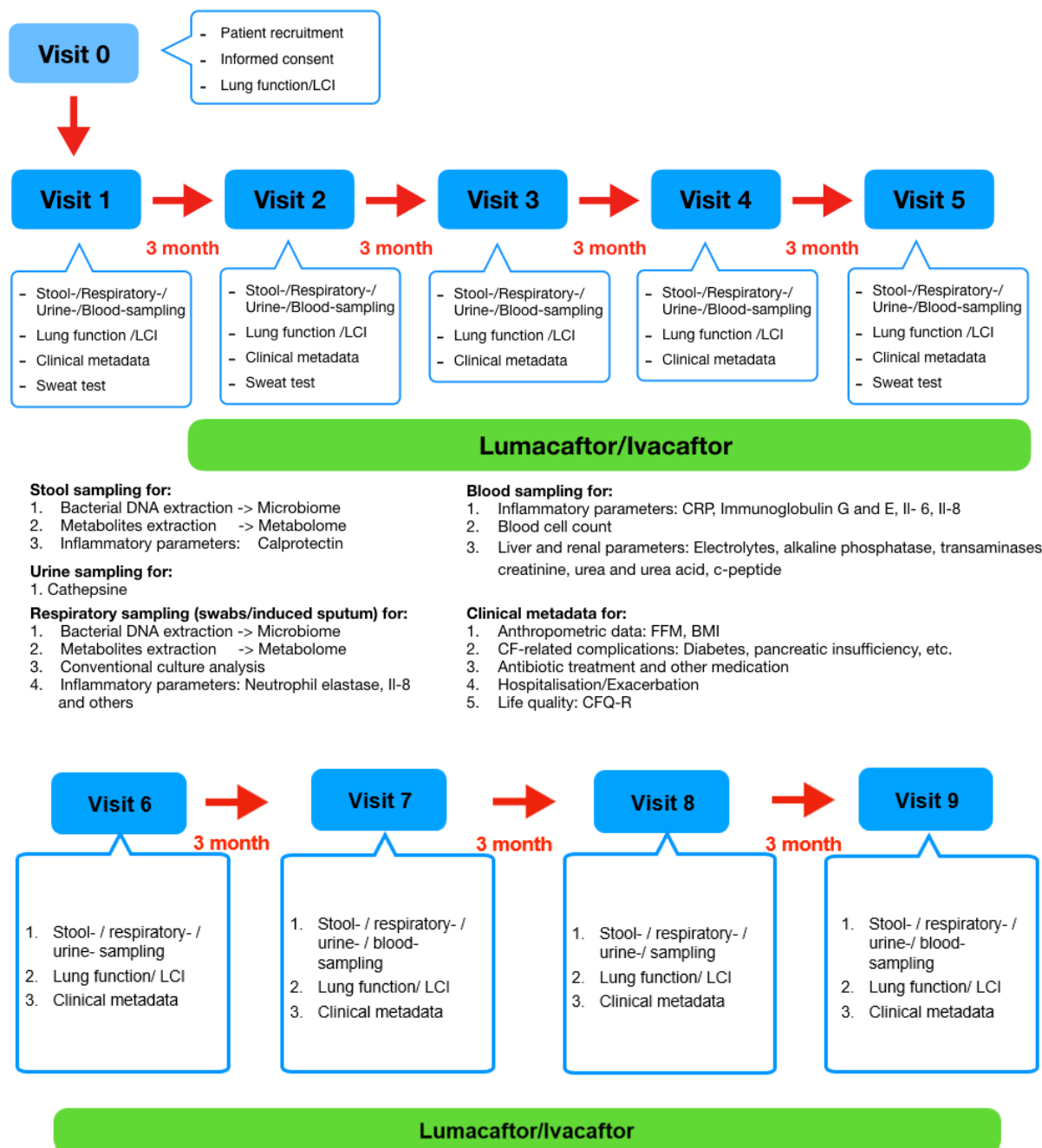


Abbildung 4 Veranschaulichung der Zeitleiste des Studienplans aus dem Studienprotokoll

Ein Patient ist nach Visit 5 aus der Studie ausgeschieden. Auf Grund von resistenter Keimbeseidlung konnte bei einem anderen Patienten keine LCI-Bestimmung durchgeföhrt werden.

3.2 Methoden

3.2.1 Fragebogen CFQR

Alle Probanden und deren Eltern füllten während der Visits den jeweiligen CFQR-Fragebogen aus, um die subjektiven gesundheitsbezogenen Lebensqualitätsveränderungen in den ersten beiden Jahren der Einnahme von Lumacaftor/Ivacaftor zu messen. Der Selbstbericht des Kindes, abgestimmt auf das jeweilige Alter, wird ergänzt mit dem durch die Eltern ausgefüllten Fragebogen. Das Ergebnis wird in Prozent von 0 bis 100 angegeben, die Höhe des Ergebnisses spiegelt die subjektiv empfundene Lebensqualität wider. Die Fragebögen für Kinder von 6-11 Jahren und von 12-13 Jahren wurden bei der Auswertung kombiniert, da sie die gleichen

Fragenkategorien enthalten (Tluczek et al., 2013).

3.2.2 Definition der Exazerbation

Als Exazerbation wurde gewertet, wenn ein Infekt beschrieben war, der mit respiratorischen Symptomen, wie z.B. Sinusitis, vermehrtem produktiven Husten, Dyspnoe oder auch Fieber einherging. Außerdem wurde eine Verschlechterung der FEV1 um mindestens 10 % beobachtet. Da Exazerbationen zum Teil nur von Haus- und Kinderärzten berichtet wurden, konnte nicht immer eine FEV1 Messung durchgeführt werden.

Bisher existiert keine einheitliche Definition für Exazerbationen (Flume et al., 2009).

3.2.3 Messung der Lungenfunktionsparameter

Die Bestimmung der FEV1 und FVC erfolgte mittels Plethysmografen (MasterScreen™ Body; Jaeger®). Dabei wurden die Standards des European Respiratory Society Technical Statement befolgt (Graham et al., 2019). LCI und FRC wurden mit Hilfe des Lungenfunktionsgerätes (EasyOne Pro®; NDD Medical Technologies) bestimmt. Es wurde der Mittelwert aus drei (mindestens aber zwei) Messungen gebildet. Außerdem durfte sich zwischen den wiederholten Messungen der FRC-Wert nicht um mehr als 10% unterscheiden. Weitere Kriterien für das Akzeptieren bzw. Ablehnen von Messergebnissen finden sich in Tabelle 7 in der Veröffentlichung von Robinson et al. (Robinson et al., 2013a).

3.2.4 Blutentnahme

Im Rahmen einer Kontrolluntersuchung wurde nach gängigen klinischen Standards Blut entnommen und dieses im Zentrallabor der Universitätsmedizin Mainz analysiert.

Für die vorliegende Arbeit war die Bestimmung von CRP, IgG, GOT, GPT, AP, IL-8 und die Leukozyten-Anzahl notwendig.

3.2.5 Gewinnung der Stuhlprobe

Die Stuhlprobenentnahme erfolgte zu Hause durch die Eltern, mit Hilfe eines vor Licht und Sauerstoff geschützten stool-sampling-kit. Die Stuhlprobe wurde vor der Prozessierung maximal 24 Stunden gekühlt aufbewahrt. Das Protokoll der Stuhlprobengewinnung an der Universitätsmedizin Mainz wurde in (Knoll et al., 2017) beschrieben. Für die vorliegende Arbeit war die Messung von Calprotectin aus dem Stuhl notwendig. Die Durchführung der Messung erfolgte nach gängigem Protokoll durch das Zentrallabor der Universitätsmedizin Mainz.

3.2.6 Probenasservierung

Blutserum, Rachenabstriche und nativer sowie zellfreier Überstand von Urin wurde bei -80°C bis zur weiteren Analyse gelagert.

3.2.7 Probenprozessierung

Die Prozessierung erfolgte nach verschiedenen Protokollen, die im Folgenden erklärt werden.

Um die Expektoration von Sputum zu fördern, inhalierten die Studienteilnehmer 5-8 ml hypertone Kochsalzlösung über einen Vernebler (z.B. Pari-Boy). Während und nach der Inhalation wurde die Expektoration physiotherapeutisch unterstützt. Dieses Vorgehen wurde an dem Protokoll der „CF Sputum Induction Trial (CF-SpIT) - Studie“ angelehnt. (Ronchetti et al., 2018). Ein genaues physiotherapeutisches Protokoll befindet sich im Anhang (Seite 126).

3.2.7.1 Sputum- Prozessierung

Um sicher zu stellen, dass die Trennung von Saliva und Sputum qualitativ hochwertig gelungen ist, wurde eine mikroskopische Zellzählung durchgeführt. Die Anzahl der Plattenepithelzellen

muss dabei unter 10% aller Zellen liegen. Die Prozessierung des Sputums erfolgte immer direkt nach der Gewinnung, mindestens aber innerhalb von zwei Stunden. Für die Messung der Parameter wurden Sputumproben zum Teil wiederholt aufgetaut.

Induziertes Sputum wurde mit 0,1% Dithiothreitol (DTT) (mal 2 pro Gewicht in Milliliter) und PBS (mal 4 pro Gewicht in Milliliter) verdünnt. Nach Durchlauf durch einen 75- μ m-Filter wurden die Proben für 10 Minuten bei 750 G zentrifugiert, um zellfreien Überstand zu erhalten. Die Durchführung der Sputumprozessierung wurde aus (Eckrich et al., 2017) entnommen, ein genaues Protokoll befindet sich im Anhang (Seite 121). Sputumproben wurden nativ prozessiert und hälftig mit Protease-Inhibitor versetzt bis zur weiteren Analyse bei -80°C gelagert.

3.2.7.2 CBA-Messung: Zytokine im Sputum

Das Cytometric Bead Array (BD™ CBA Human Inflammatory Cytokines Fix Set System) mit humanen inflammatorischen Zytokinen wurde laut Herstelleranleitung im Labor für pädiatrische Immunologie durchgeführt. Dabei wurden die Konzentration von TNF- α , IL-1- β , IL-6, IL-8, IL-10 und IL-12p70 im Sputum-Überstand mittels Fluorescence-activated-cell sorter (FACS) (BD LSR II; BD Biosciences) gemessen und ausgewertet (FCAP Array Software v3.0; BD Biosciences). Vom Hersteller angegebene Detektionslimits waren: IL-1 β 7,2pg/ml; IL-8 3,6pg/ml; IL-6 2,5pg/ml; IL-10 3,3pg/ml und TNF- α 3,7 pg/ml. Es wurde laut Hersteller keine Kreuzreaktion gefunden.

3.2.7.3 Messung der neutrophilen Elastase

Aus 1:10 verdünntem Sputum-Überstand wurde die Konzentration der neutrophilen Elastase (NE) bestimmt. Hierzu wurde der verdünnte Sputum-Überstand mit NE-Puffer (100mM TRIS, 500nM NaCl, pH7,5) versetzt und MeO-Suc-AAPV-pNA- Substrat (chromogenes Substrat) (© 2021 Merck KGaA, Darmstadt, Germany) hinzugefügt. Die Messung erfolgte bei 405 nm. Als Negativkontrolle wurde Sputum mit dem kompetitiven humane NE Inhibitor Sivelestat (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) versetzt. Die Analyse erfolgte mittel Fluoreszenz-Plate-Reader (Tecan Spark; Tecan Trading AG, Switzerland,). Das Verfahren der Analyse wurde aus Dittrich et al. entnommen. Ein genaues Protokoll befindet sich im Anhang (Seite 125).

3.2.7.4 Cathepsin B Bestimmung

Um die Cathepsin B Konzentration im zellfreien Urinüberstand zu bestimmen, wurde ein ELISA nach Anleitung des Herstellers durchgeführt (Human Cathepsin B ELISA Kit, Abcam). Die Analyse erfolgte mittels Plate Reader (TECAN Spark; Tecan Trading AG, Switzerland). Die vom Hersteller angegebene Sensitivitätsgrenze lag bei <5pg/ml und der Streubreite bei 156-10000 pg/ml. Es wurde keine Kreuzreaktion mit anderen Proteinen berichtet.

Die Bestimmung von IgM, IgG, CRP, Leukozyten-Anzahl, IL-8, GOT, GPT, AP und Calprotectin erfolgten durch die Mitarbeiter des Zentrallabors nach dem Standardprotokoll der Universitätsmedizin Mainz.

Die Bestimmung von IgG aus dem Serum erfolgte mit dem Alinity c Immunoglobulin G und M Reagent Kit in einem Immunoassay (Abbott, Abbott Park, Illinois, U.S.A.) ebenso die Messung des CRP mit dem Alinity c CRP Vario Wide Range Calibrator Kit. (Abbott, Abbott Park, Illinois, U.S.A.)

Die Messung der Leukozyten-Anzahl erfolgte mit dem ADVIA® 2120i System (Siemens Healthcare GmbH).

Die Konzentration des Calprotectin im Stuhl wurde mit einem monoklonalen Antikörper mittels Quantum Blue® fecal extended (BUHLMANN Diagnostics Corp; Amherst USA) gemessen. Aufgrund fehlender Stuhlproben, wurde eine zweite Nachmessung durchgeführt. Diese erfolgte aus bei -80°C gefrorenem Stuhl. Der Hersteller empfiehlt die Messung mit bereits gefrorenem Stuhl

nicht. Die zweite Messung wurde mit der ersten verglichen und nur Proben akzeptiert, die von der ersten Messung nicht mehr als 10% abwichen. Daraus wurde der Mittelwert gebildet. Fehlende Werte aus nicht gefrorenem Stuhl wurden um die Messungsergebnisse der gefrorenen Konzentrationsmessung ergänzt.

3.3 Statistische Methoden

3.3.1 Verwendete Software

Die folgenden statistischen Methoden wurden mit Hilfe der Software IBM SPSS Statistics Version 23 durchgeführt.

3.3.2 Auswertung der Fragebögen

Die Auswertung der CFQR Fragebögen (siehe Anhang Seiten 129-137) wurde mit Hilfe der Cystic Fibrosis Questionnaire-Revised Application durchgeführt. (Aufruf am 15.04.2021; Version 0.17.9 (Marco Gelpi, 2017) <https://cfqr.github.io/>)

3.3.3 Deskriptive Statistik

Um die Veränderungen der verschiedenen Biomarker und Fragebögen-Kategorien im Verlauf grafisch darzustellen, wurden Boxplot-Diagramme gewählt. Da es sich um eine kleine Kohorte mit zum Teil sehr individuellen Veränderungen handelt, wurden zur Veranschaulichung auch Streudiagramme gewählt. Des Weiteren wurden Median, erstes und drittes Quartil, Mittelwert und Standardabweichungen dargestellt.

Parameterwerte, die vom Zentrallabor der Universitätsmedizin Mainz als unter der Nachweisgrenze liegend angegeben wurden, wurden als von der Nachweisgrenze halbiertes Wert verwendet. (z.B. CRP <0,2 mg/l wurde als 0,1 mg/l für statistische Auswertungen verwendet).

3.3.4 ANOVA mit Messwiederholung

Zur statistischen Analyse der Inflammationsparameter und Fragebögen-Kategorien im Verlauf über die ersten 5 Visits wurde eine ANOVA mit Messwiederholung durchgeführt. Mittels Mauchly-Tests wurde die Sphärizität bestimmt. Ist diese signifikant, gilt sie als nicht gegeben. Da eine Verletzung der Voraussetzung der Sphärizität vorlag, wurde eine Greenhouse - Geisser Korrektur der Freiheitsgrade vorgenommen. Bei der Auswertung wird die Signifikanz p nach Greenhouse-Geisser angegeben.

Die Sphärizität beschreibt, dass die Differenzen aller Stufen der unabhängigen Variablen gleich sind. Dies ist im vorliegenden Fall nicht gegeben.

Der Mauchly-Test ist stark abhängig von der Stichprobengröße und der Normalverteilung der Daten. Bei der vorliegenden kleinen Kohorte ist der Test nur mit Einschränkungen in der Lage, korrekt Sphärizität zu bestimmen.

Eta-Quadrat (η^2) ist die Effektgröße, die die Auswirkung des Medikaments auf die Patienten beschreibt. Mit Hilfe von Eta-Quadrat kann die Effektstärke von Cohen (Cohens' f) bestimmt werden. Somit kann eine Aussage getroffen werden, welcher Anteil der Veränderungen auf die Wirkung des Medikaments zurückgeführt werden können.

Die Effektstärke nach Cohens' f kann dabei wie folgt eingeteilt werden.

Tabelle 12 Effektstärken Cohens' f

Schwach	$0,1 \leq f < 0,25$
Mittel	$0,25 \leq f < 0,4$
Stark	$>0,4$

Die Berechnung von der Effektstärke nach Cohen erfolgt mit Hilfe der folgenden Formel:

$$\sqrt{\frac{\tilde{n}^2}{1 - \tilde{n}^2}}$$

Da in diesem Modell die Anzahl der Messwiederholungen nicht die Anzahl der Probanden überschreiten darf, ist nur die Auswertung für das erste Jahr möglich. Ansonsten ist der Test unbestimmt. Weiterhin zulässig ist die Auswertung von Visit 5 bis Visit 9, um Veränderungen im zweiten Jahr auf Signifikanzen zu prüfen.

3.3.5 Lineares gemischtes Modell

Zur gesamten Auswertung der 9 Visits wurde ein lineares gemischtes Modell verwendet. Dieses Modell eignet sich auf Grund der geringen Individuen Anzahl und der fehlenden Werte, die zum Beispiel durch fehlende Sputumexpektoration zustande kamen. Signifikante Ergebnisse können hier die Wirkung des Medikaments erklären. Die Signifikanz p bezieht sich auf den festen kategorialen Effekt der Visits. Die Patienten gehen als zufälliger Effekt ein.

Der abhängige Parameter ist jeweils der zu untersuchende Messwert.

Der F-Wert und die Signifikanz wurden mittels Tests vom Typ III auf feste Effekte bestimmt. Mit dem F-Wert werden signifikante Auswirkungen auf die Antwortvariable bestimmt.

3.3.6 Gepaarter T-Test

Um signifikante Unterschiede zwischen vor der Medikamenteneinnahme und nach einem bzw. zwei Jahren dazustellen, wurde ein gepaarter T-Test verwendet.

Die Effektstärke des gepaarten T-Test kann mittels Cohen's d_z mit folgender Formel bestimmt werden.

$$d_z = \frac{T}{\sqrt{df + 1}}$$

Die Interpretation der Effektstärke sieht wie folgt aus:

Tabelle 13 Effektstärke Cohen's d_z

Schwacher Effekt	$ d = 0,2$
Mittlerer Effekt	$ d = 0,5$
Starker Effekt	$ d = 0,8$

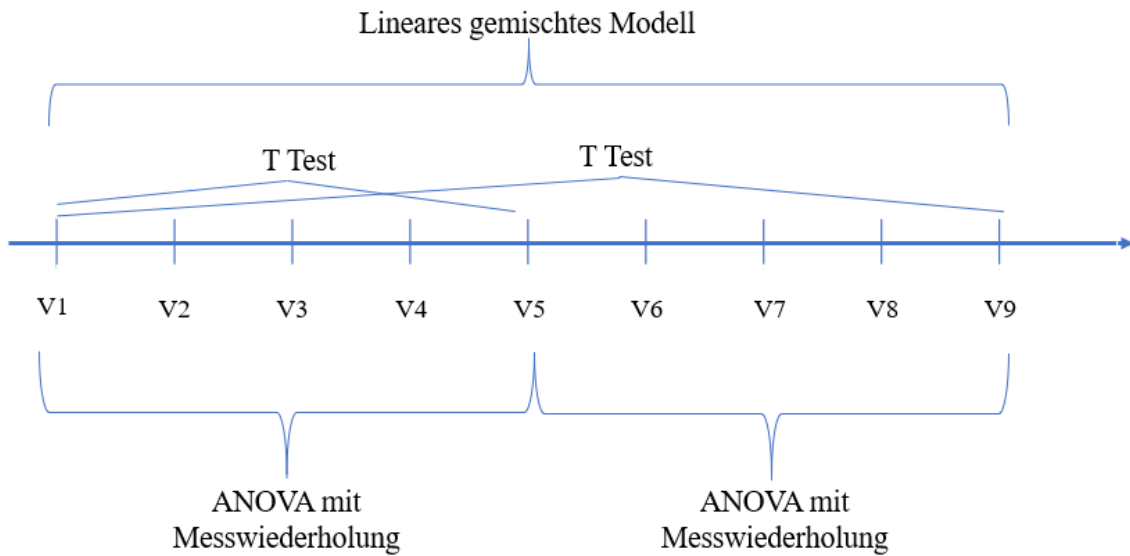


Abbildung 5 Überblick über die verwendeten statistischen Tests

3.3.7 Spearman-Korrelationen

Um Zusammenhänge zwischen verschiedenen Parametern zu untersuchen, wurde die zweiseitige, ungerichtete Spearman-Korrelation verwendet, da keine Normalverteilung der Daten vorlag.

Der Korrelationskoeffizient Spearman-Rho kann dabei Werte zwischen -1 und 1 annehmen. Dabei spricht $|1|$ für einen kompletten linearen Zusammenhang und 0 für keinen linearen Zusammenhang. Zusätzlich wird die Signifikanz p angegeben. Da kein multiples Testen durchgeführt wurde, kann dabei kein genereller Nachweis erbracht werden, sondern nur ein Hinweis auf Zusammenhang.

4 Ergebnisse

4.1 Darstellung der gewonnenen Proben

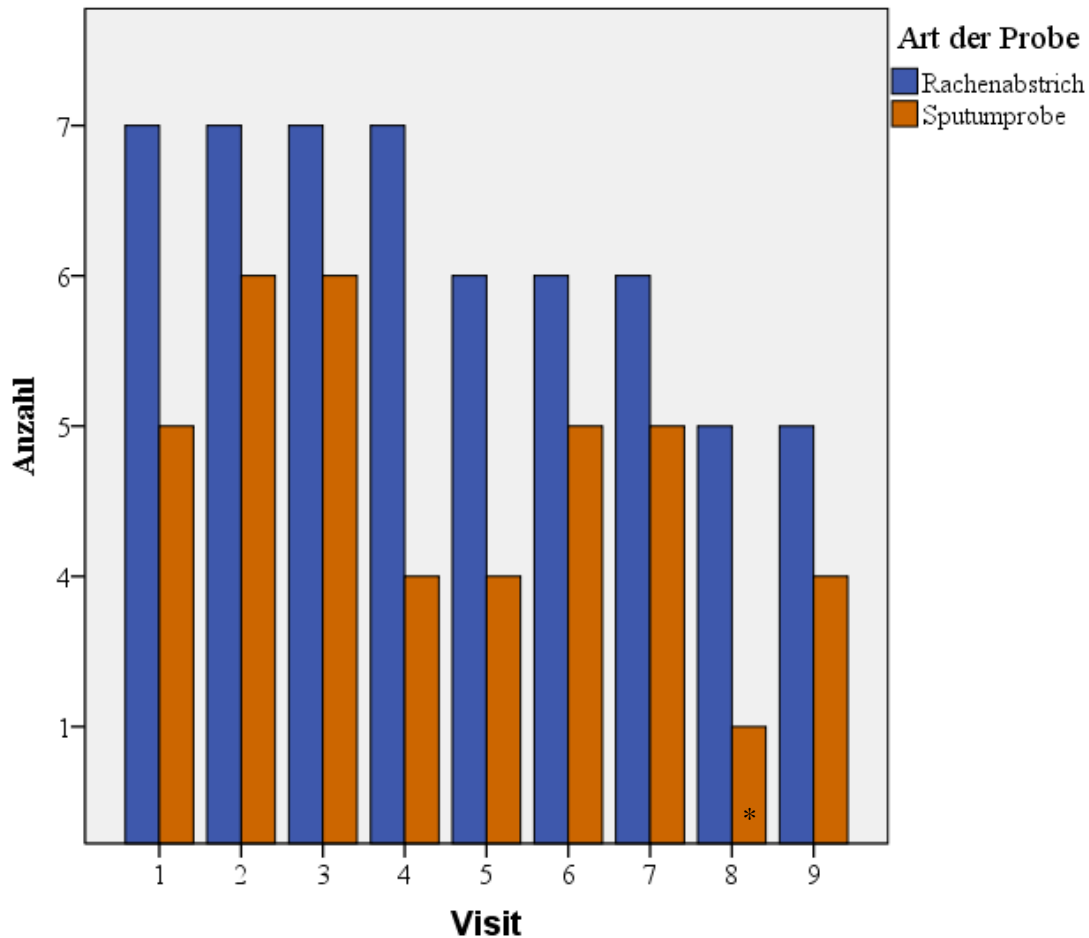


Abbildung 6 Anzahl der gewonnenen Sputumproben und Rachenabstriche über die Visits; n=7, ab Visit 6 n=6; *: bei Visit 8 erfolgte keine Physiotherapie, ein Patient expektorierte spontan

Die Abbildung 6 zeigt die Anzahl der gewonnenen Sputumproben und Rachenabstriche über die Zeit der Datenerhebung verteilt. Die Anzahl der Sputumproben nimmt zum Ende des Untersuchungszeitraums ab, da die Patienten trotz Physiotherapie keine Sputumexpektoriation mehr durchführen konnten. Ein Patient ist nach dem fünften Visit aus der Studie ausgeschieden. Bei der achten Vorstellung wurde keine Physiotherapie zur Expektoriation durchgeführt und ein Patient konnte zu diesem Zeitpunkt spontan expektorieren. In 40 von 54 Fällen war die Sputumexpektoriation möglich (74%).

Die mikrobielle Analyse der Sputumproben wurde in jedem Fall durchgeführt. Für die inflammatorische Analyse war die expektorierte Menge nicht immer ausreichend (vgl. Abbildung 7 und 8).

Einige Patienten konnten sehr regelmäßig Sputum expektorieren, sodass eine kontinuierliche Analyse von Sputum zu jedem Visit-Zeitpunkt möglich war. Somit stellen Sputumproben eine nicht-invasive, aber sehr aussagekräftige Möglichkeit der Diagnostik dar.

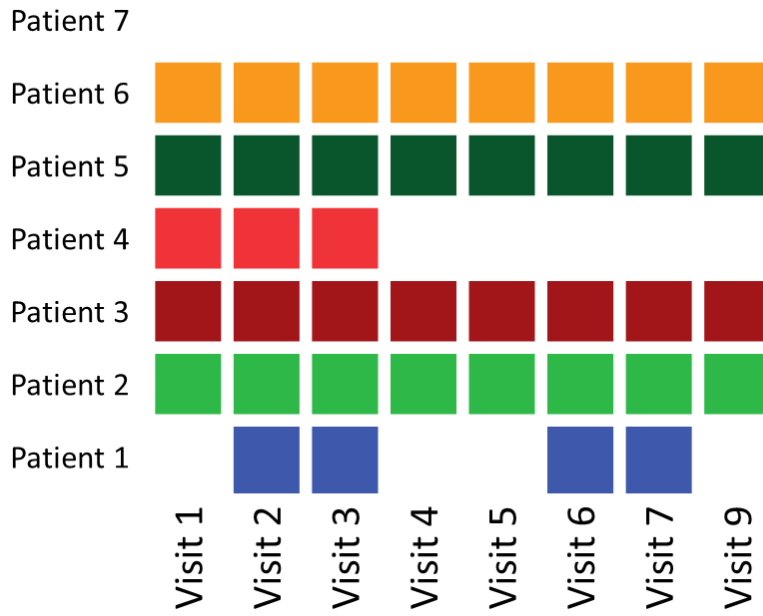


Abbildung 7 Darstellung der Sputumproben für die mikrobiologische Analyse

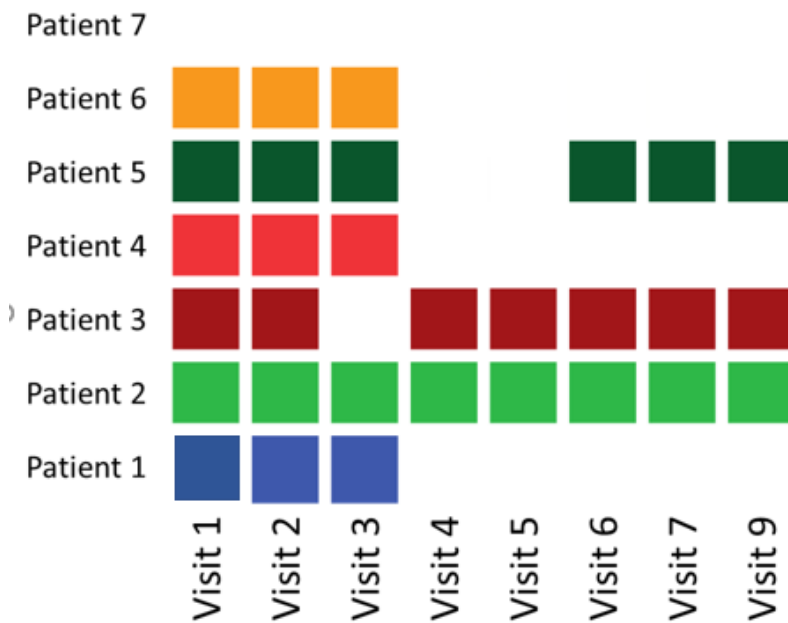






























Abbildung 8 Darstellung der Sputumproben, die genug Volumen für die inflammatorische Analyse aufweisen

4.2 Darstellung der mikrobiologisch nachgewiesenen Bakterien- und Pilzarten in Sputumproben und Rachenabstrichen







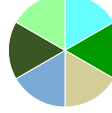
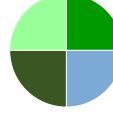








Patient 1

Visit	1	2	3	4	5	6	7	9
Sputum								
Rachenabstrich								











Patient 2

Visit	1	2	3	4	5	6	7	9
Sputum								
Rachenabstrich								

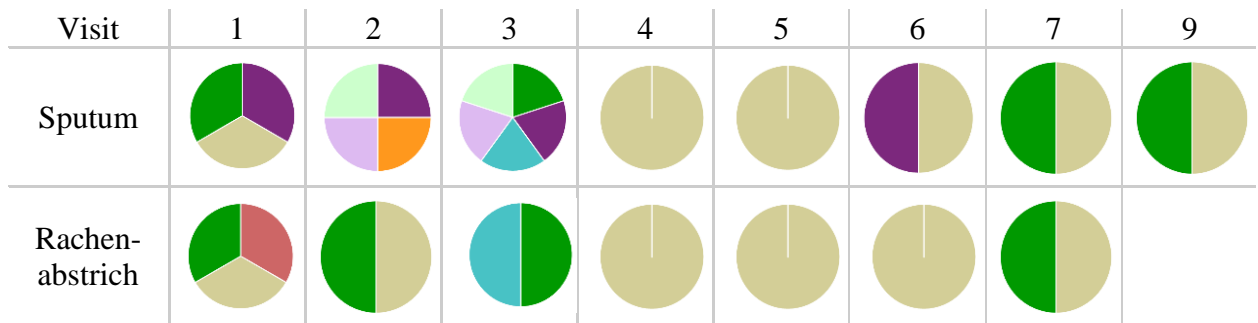
Patient 3

Visit	1	2	3	4	5	6	7	9
Sputum								
Rachenabstrich								

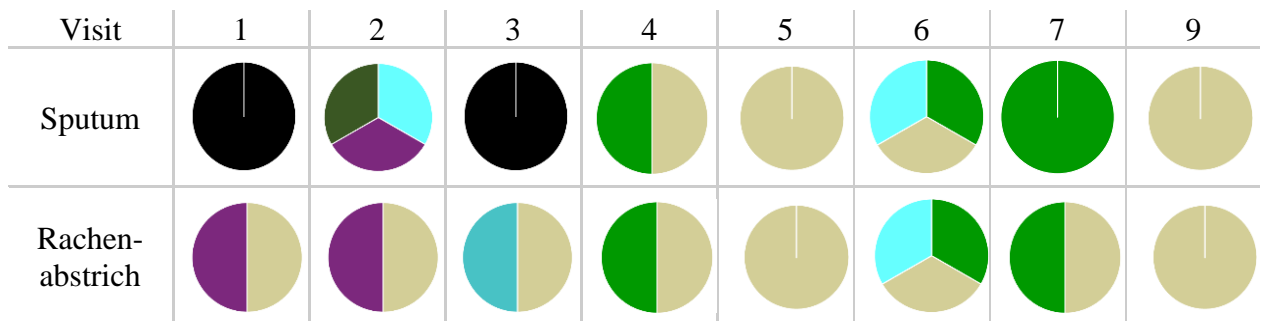
Patient 4

Visit	1	2	3	4	5	6	7	9
Sputum								
Rachenabstrich								

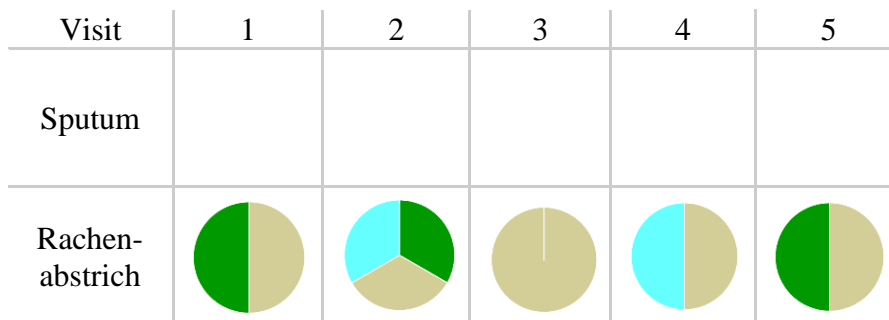
Patient 5



Patient 6



Patient 7




















Nachweise	
	<i>Lautropia mirabilis</i>
	<i>Candida</i>
	<i>Staphylococcus aureus</i>
	<i>Haemophilus influenzae</i>
	<i>Serratia marcescens</i>
	<i>Moraxella catarrhalis</i>
	<i>Streptococcus pyogenes</i>
	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
	<i>Nocardia</i>
	<i>Aspergillus fumigatus</i>
	<i>Aspergillus versicolor</i>
	Schimmelpilz
	Nonfermenter
	Penicillinum
	Kein Sputum
	Kein Rachenabstrich
	Kein Wachstum

Abbildung 9 Darstellung der gefundenen Bakterien und Pilze über den Untersuchungszeitraum und fehlende Nachweise pro Patienten und die Legende

In vier Fällen wurden anfänglich gefundene Pilz- und Bakteriennachweise zum Ende des Untersuchungszeitraums nicht noch einmal gefunden, sodass eine Veränderung der Besiedelung angenommen werden kann. In 19 von 43 Fällen (44%) unterscheiden sich die Nachweise von Rachenabstrich und Sputum.

Auch im Gesamten fällt der große Unterschied zwischen Rachenabstrich und Sputumprobe auf (Abbildung 10):

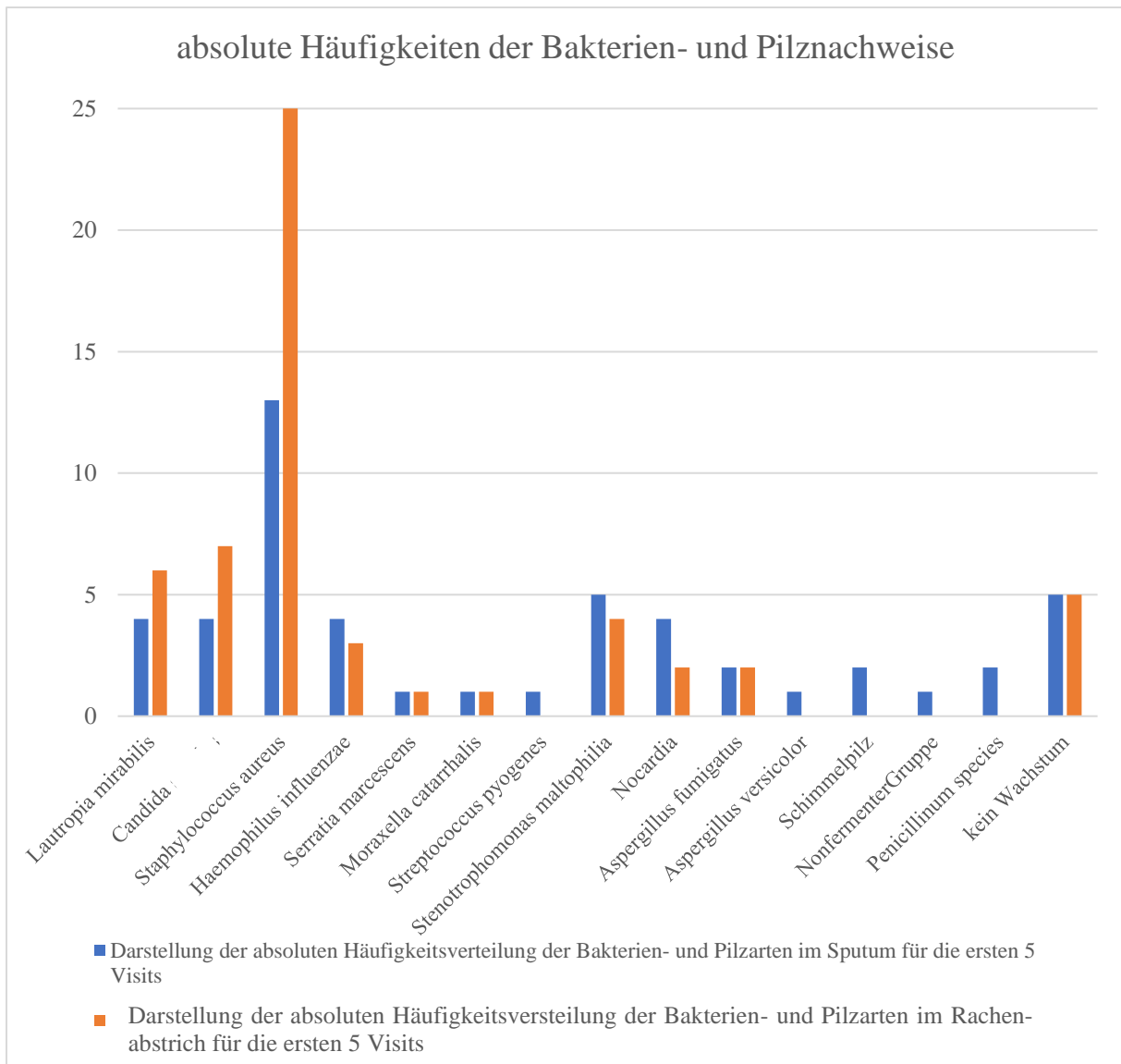


Abbildung 10 Nachweise in Sputum und Rachenabstrich

Der große Unterschied der Nachweise zeigt sich auch kumulativ beim Vergleich von Sputum und Rachenabstrich. Dabei kann im Sputum eine größere Diversität nachgewiesen werden., *Streptococcus pyogenes*, *Aspergillus versicolor*, *Schimmelpilz*, *Nonfermenter* und *Penicillium spezieis* werden durch mikrobiologische Anzucht nur im Sputum nachgewiesen.

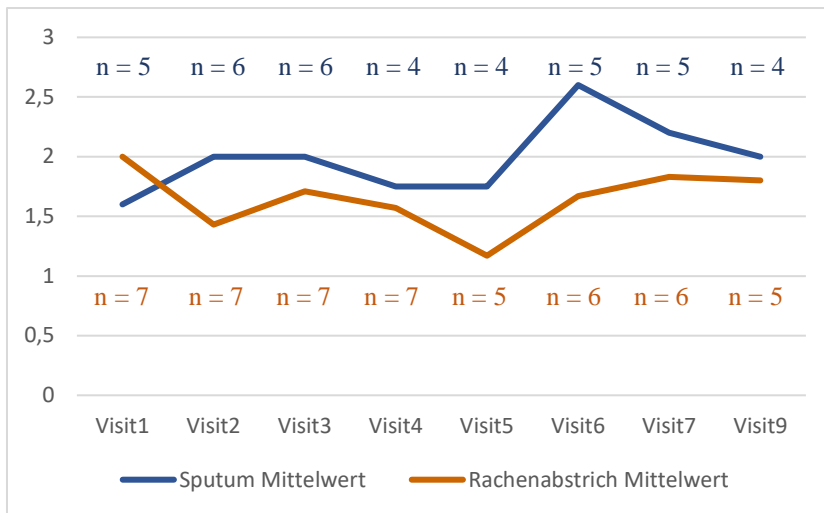


Abbildung 11 Anzahl der verschiedenen nachgewiesenen Bakterien- und Pilzarten im Mittelwert

Die Grafik zeigt die schwankende Diversität der Bakterien - und Pilznachweise im Mittelwert für alle Patienten pro Untersuchung im Verlauf über 2 Jahre. Ersichtlich wird die leichte Diversitätszunahme im Sputum.

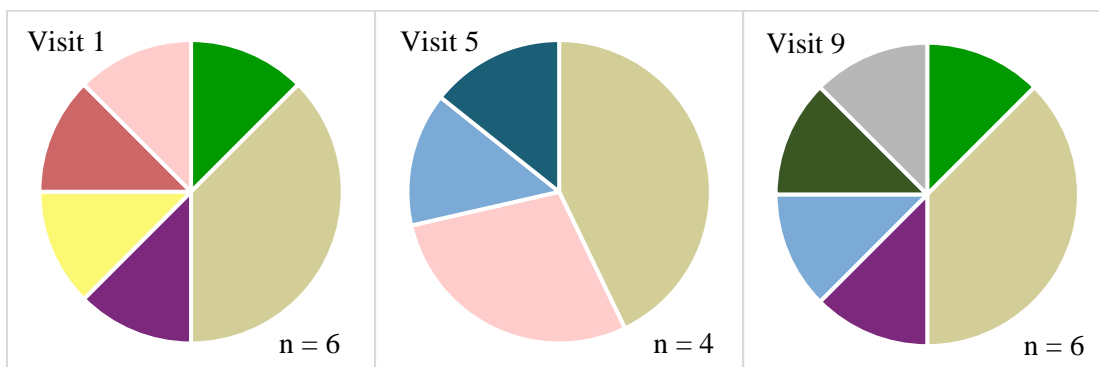


Abbildung 12 mikrobiologischer Nachweis von Bakterien- und Pilzarten im Sputum aller Patienten zum 1. Visit, 5. Visit und 9. Visit; n=Anzahl der verschiedenen Arten

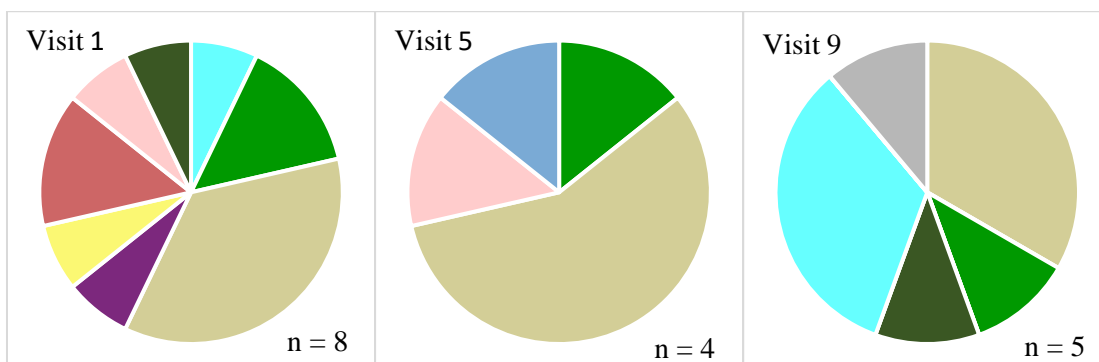


Abbildung 13 mikrobiologischer Nachweis der Bakterien- und Pilzarten im Rachenabstrich aller Patienten zum 1. Visit, 5. Visit und 9. Visit; n= Anzahl der verschiedenen Arten (Farblegende wie oben)

4.3 Exazerbationen und Antibiotikaeinnahmen

Bedeutend für die Krankheitsprogression sind Exazerbationen. Im Folgenden wird die Anzahl der Exazerbationen und die Anzahl der Antibiotikaeinnahmen dargestellt.

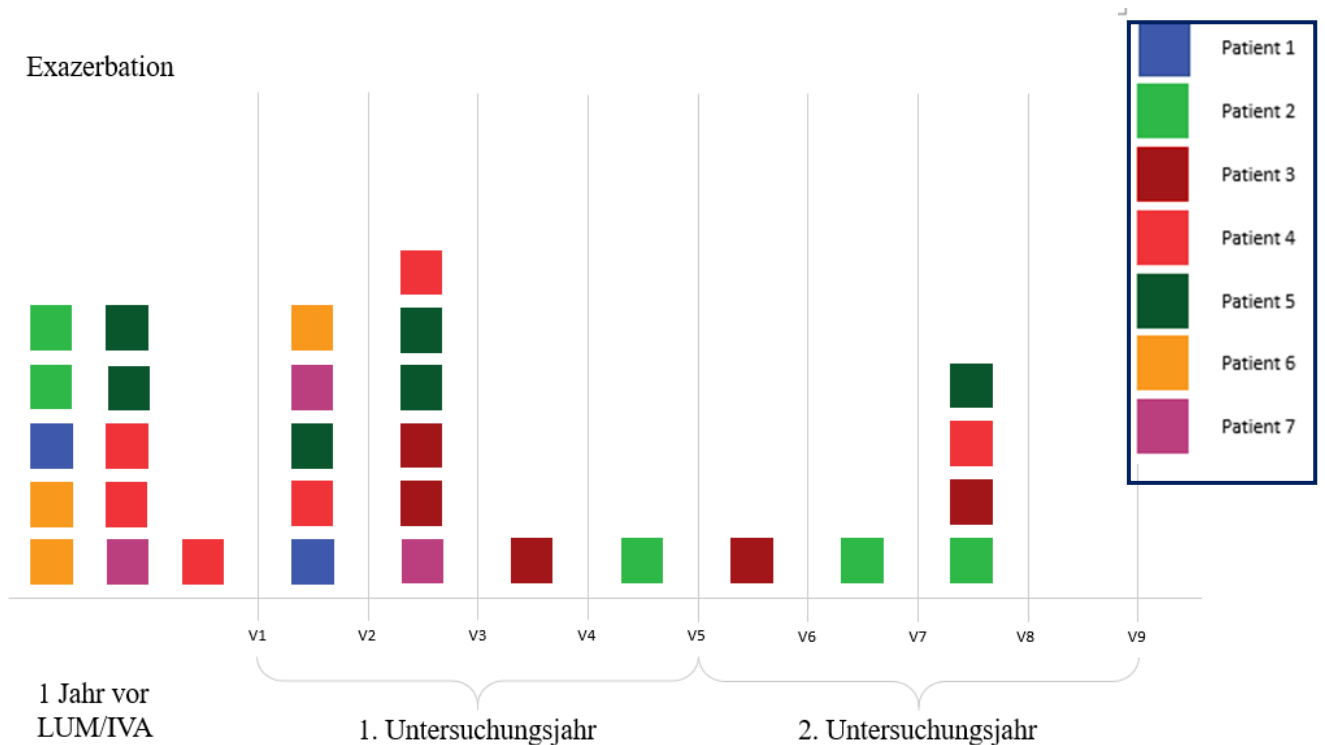


Abbildung 14 Darstellung der Anzahl der Exazerbationen; jeder Kasten steht für einen Patienten und eine Exazerbation im Zeitraum zwischen den Visits bzw. ein Jahr vor der ersten Einnahme von Lumacaftor/Ivacaftor

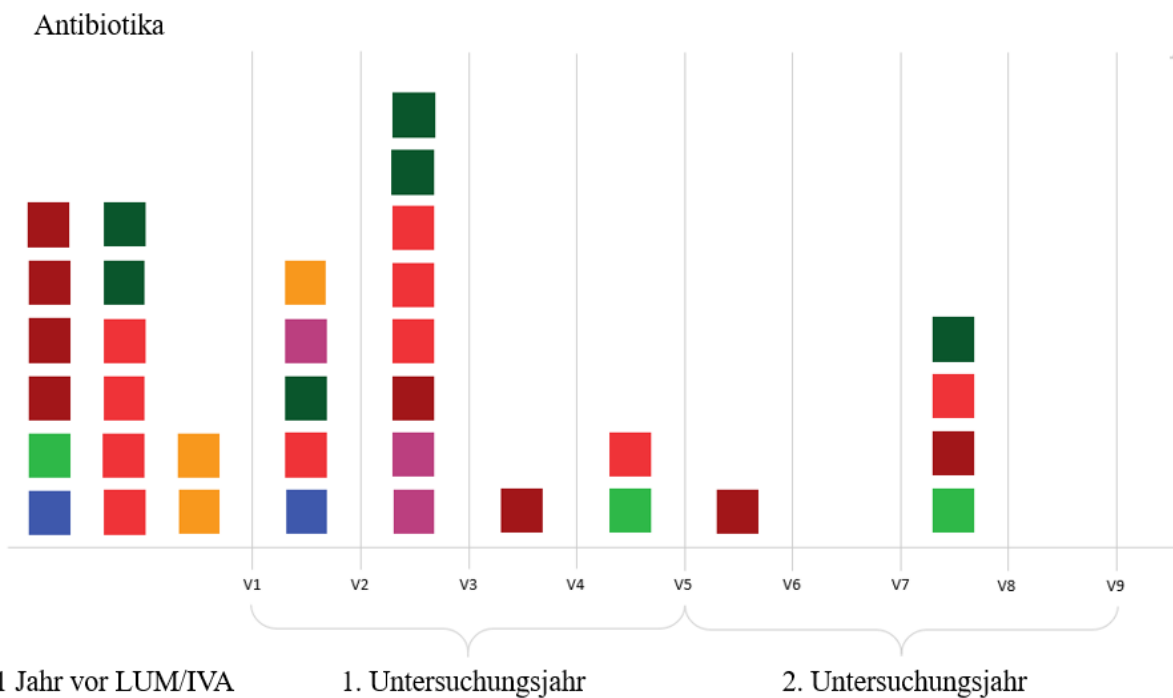


Abbildung 15 Darstellung der Antibiotikaeinnahmen; ein Kasten entspricht einer Einnahme von 2 Wochen je Antibiotikum pro Patienten im Zeitraum zwischen den Visits bzw. ein Jahr vor der ersten Einnahme von Lumacaftor/Ivacaftor

Ein Jahr vor dem Beginn der Therapie mit Lumacaftor/Ivacaftor traten insgesamt 11 Exazerbationen auf, im ersten Untersuchungsjahr 13 und im zweiten Untersuchungsjahr 6, sodass im zweiten Jahr eine starke Abnahme ersichtlich wird.

Einen ähnlichen Verlauf zeigt auch die Einnahme von Antibiotika. Ein Jahr vor Beginn der Studie wurde von den Patienten insgesamt 14-mal Antibiotika eingenommen, wobei eine Einnahme für eine 14-tägige Therapie steht. Im ersten Untersuchungsjahr waren 16 Antibiotikagaben nötig und im zweiten Jahr nur noch 5.

Die Auswertung erfolgte dabei retrospektiv. Antibiotikaeinnahmen und Exazerbationen, die nach Visit 1 und vor Visit 2 auftraten, sind auch in der Grafik in den Zeitraum zwischen den jeweiligen Visits eingeordnet.

Nicht bei jeder Exazerbation wurde von den Patienten Antibiotika eingenommen, außerdem wurden Antibiotika auch bei anderen Erkrankungen verwendet, wodurch die Unterschiede der beiden Tabellen erklärbar sind.

4.4 Systemische Entzündungsparameter

Analysiert werden im Folgenden der Verlauf von IgG, der Leukozyten-Anzahl, CRP und IL-8.

4.4.1 IgG

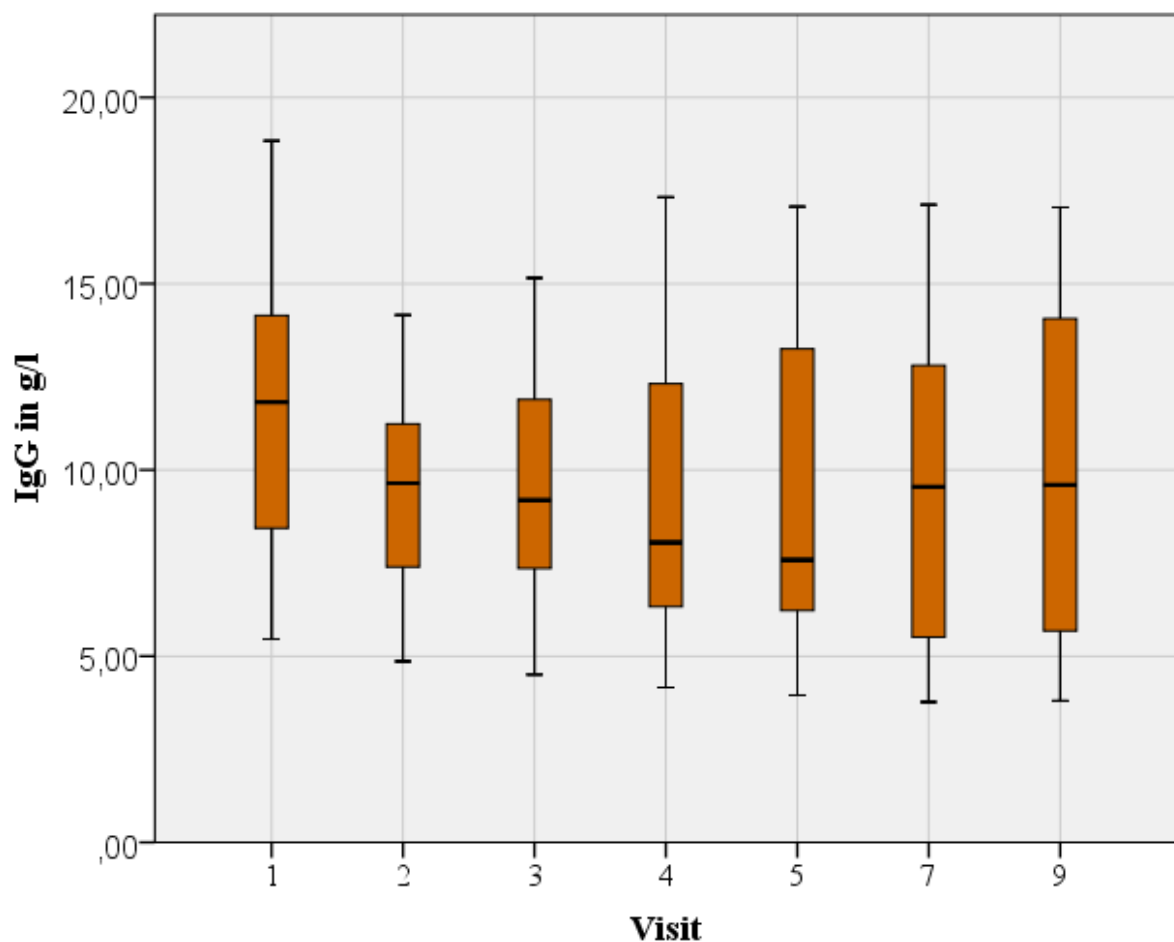


Abbildung 16 IgG (g/l) aus Blutproben über den Untersuchungszeitraum; n=7, ab Visit 7 n=6

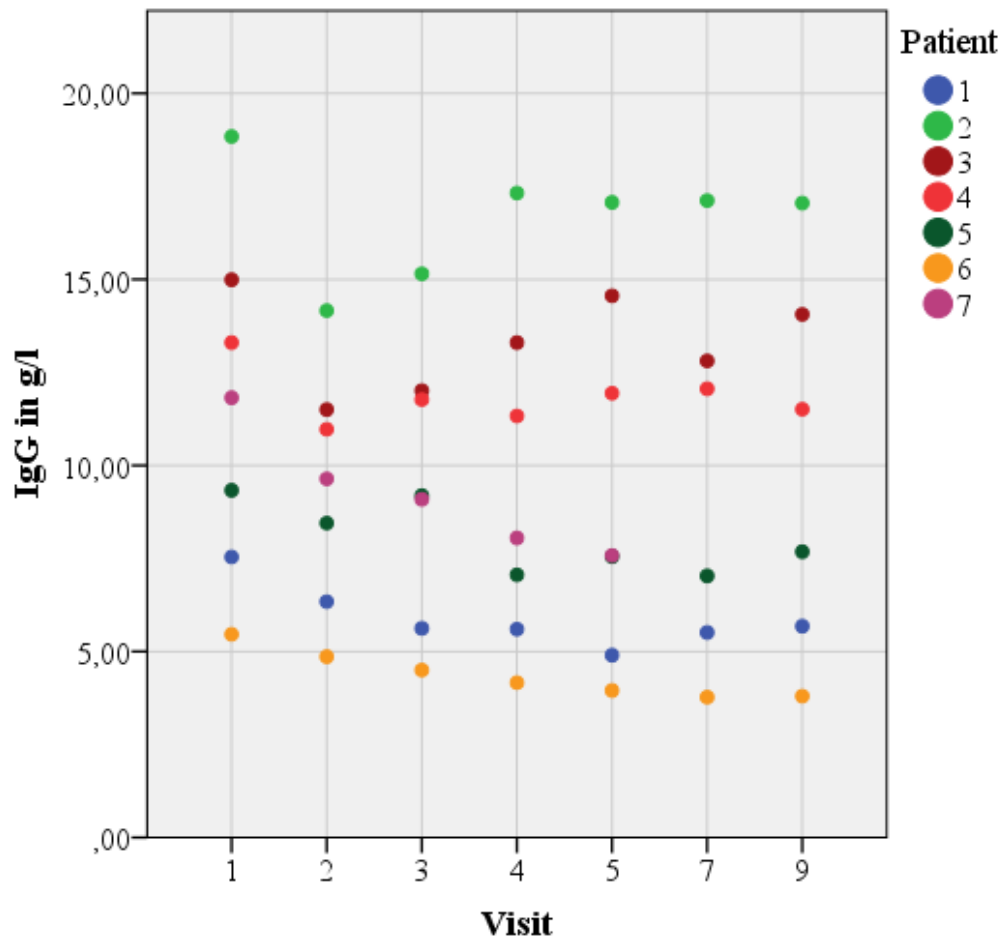


Abbildung 17 absolute IgG (g/l) Konzentrationen der einzelnen Patienten über den Untersuchungszeitraum; n=7

Tabelle 14 Deskriptive Statistik für IgG während des Untersuchungszeitraums; n= Probandenanzahl; SD= Standardabweichung

Visit	1	2	3	4	5	7	9
Anzahl n	7	7	7	7	7	6	6
Mean (SD)	11,6 (4,3)	9,4 (2,9)	9,6 (3,5)	9,6 (4,3)	9,7 (4,6)	9,7 (4,7)	9,9 (4,7)
Median	11,8	9,6	9,2	8,1	7,6	9,5	9,6
25.-75.Quartil	8,4 - 14,1	7,4 - 11,2	7,4 - 11,9	6,3 - 13,3	6,2 - 13,3	5,9 - 12,6	6,2 - 13,4

Tabelle 15 Auswertung der ANOVA mit Messwiederholung für das erste Untersuchungsjahr

Parameter	Signifikanz p nach Greenhouse-Geisser	Partielles Eta-Quadrat nach Greenhouse-Geisser	Effektstärke nach Cohen's f	Sphärizität MauchlyTest
IgG	0,023	0,511	1,02	0,099

Erstes Jahr

Es zeigt sich eine Abnahme der IgG-Konzentration von anfänglich im Median 11,8g/l auf 7,6g/l. Eine signifikante Abnahme bei der ANOVA mit Messwiederholung ergab sich bis zum 5. Visit ($p=0,023$). Die Effektstärke nach Cohen's f (1,02) gibt einen starken Effekt der Intervention an. Durch die Berechnung des partiellen Eta-Quadrat nach Greenhouse-Geisser können 51% der Veränderung auf das Medikament zurückgeführt werden.

Zweites Jahr

Im zweiten Jahr kam es zu einer Erhöhung der Werte. Dabei wurde das Ausgangsniveau aber nicht wieder erreicht.

Bei der Analyse von Visit 5 bis Visit 9 mit Hilfe der ANOVA mit Messwiederholung wurde kein signifikanter Anstieg ($p=0,499$) nachgewiesen.

Tabelle 16 Auswertung der ANOVA mit Messwiederholung für das zweite Untersuchungsjahr (V5 – V9)

Parameter	Signifikanz p nach Greenhouse-Geisser	Partielles Eta-Quadrat nach Greenhouse-Geisser	Effektstärke nach Cohen's f	Sphärizität MauchlyTest
IgG	0,499	0,117	0,36	0,394

Im gepaarten T-Test ergab sich für den Vergleich von Visit 1 und 9 eine signifikante Veränderung mit der Effektstärke nach Cohen's d_z von 4,69 ($p<0,01$). Somit weist dieses Modell einen starken Effekt über beide Untersuchungsjahre nach.

Im allgemeinen linearen Modell ergab sich im Test vom Typ III auf feste Effekte ein F-Wert von 0,199 ($p=0,98$) für den gesamten Untersuchungszeitraum.

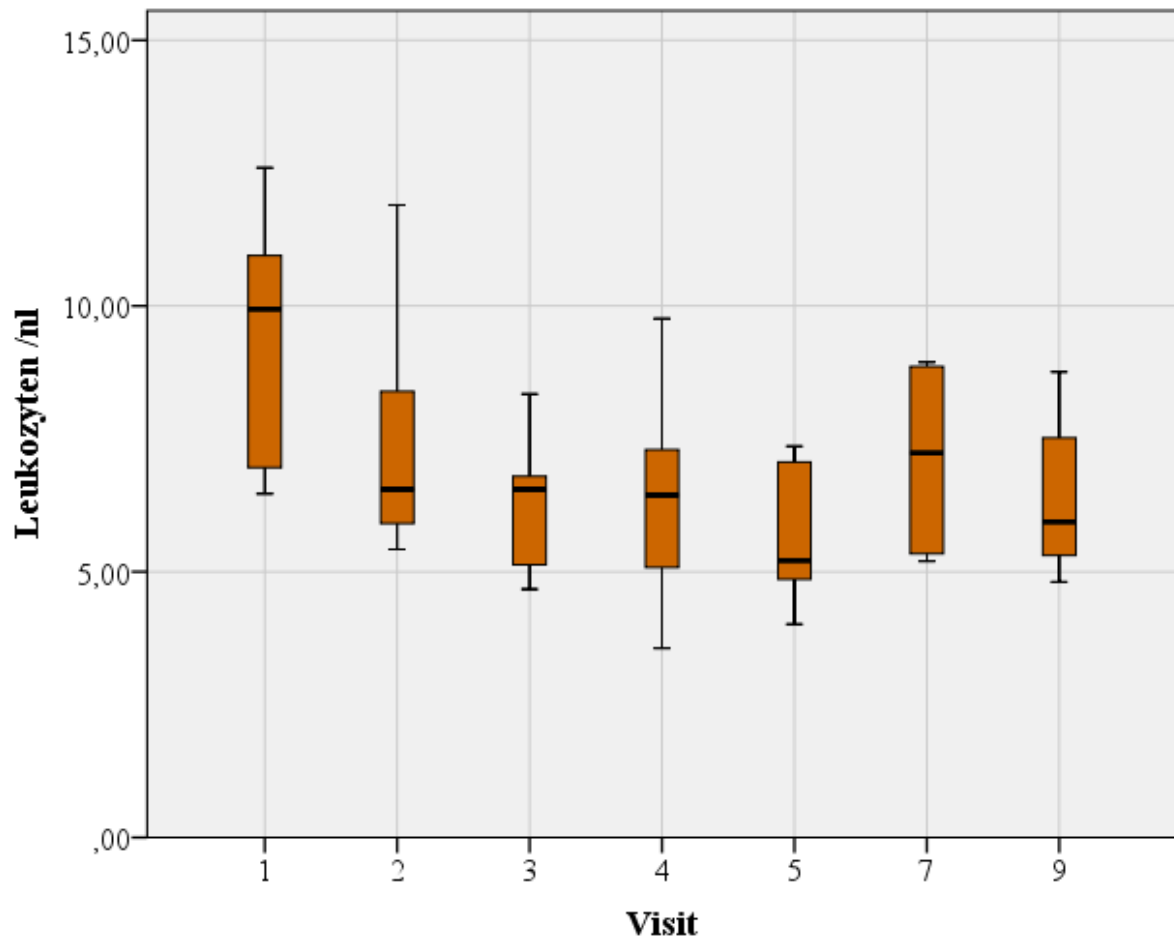


Abbildung 18 Konzentration der Leukozyten im Blut über den Untersuchungszeitraum; n=7 ab Visit 7 dann n=6; (ANOVA und allgemeines lineares Modell)

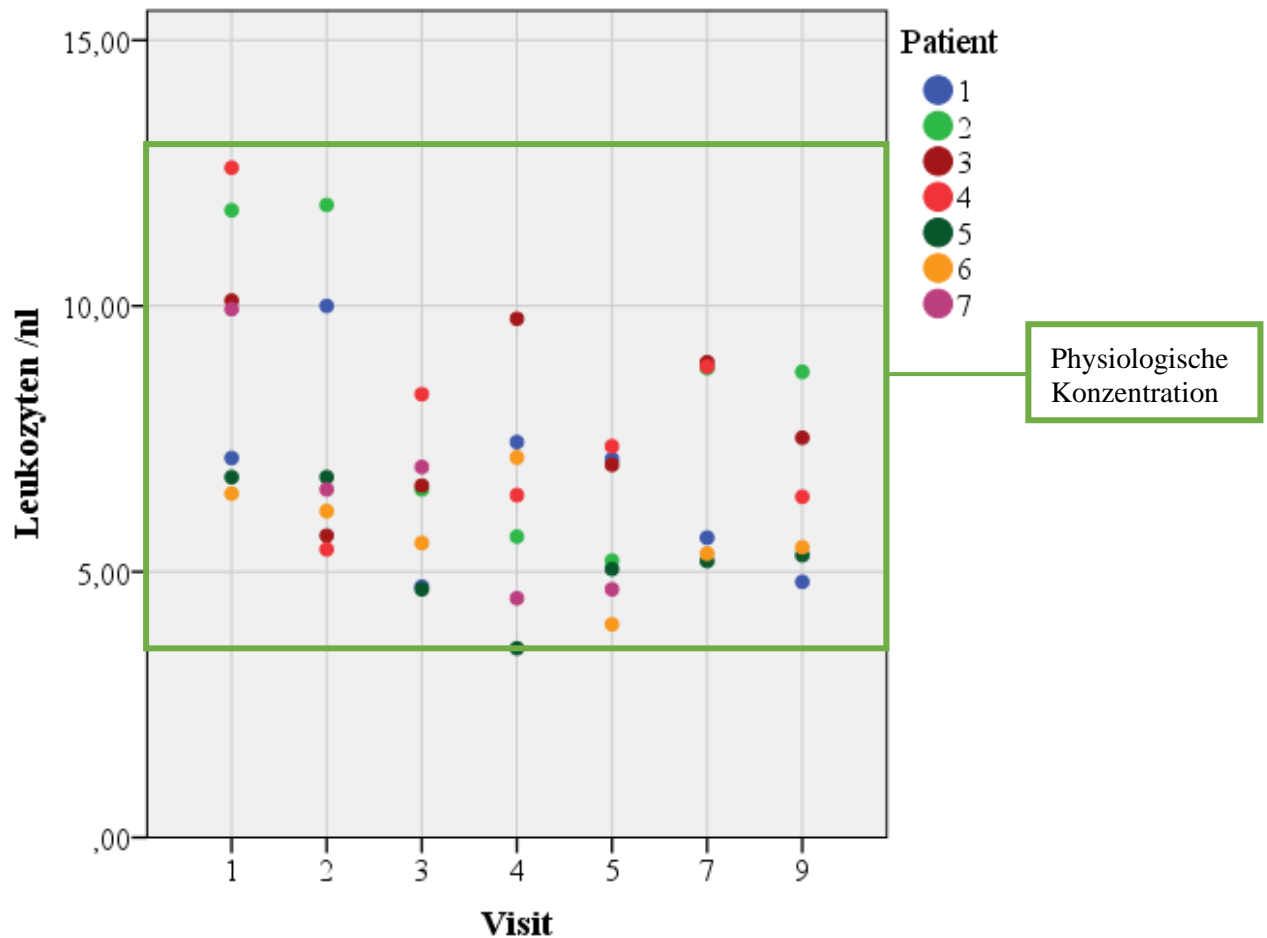


Abbildung 19 Fallende Konzentration der Leukozyten-Anzahl im Blut der einzelnen Patienten über den Untersuchungszeitraum; n=7, ab Visit 7 dann n=6

Tabelle 17 Deskriptive Statistik der Leukozyten-Anzahl

Visit	1	2	3	4	5	7	9
Anzahl n	7	7	7	7	7	6	6
Mittelwert (SD)	9,3 (2,3)	7,5 (2,3)	6,2 (1,2)	6,4 (1,9)	5,8 (1,3)	7,1 (1,8)	6,4 (1,4)
Median	9,9	6,6	6,6	6,4	5,2	7,2	5,9
25.-75. Quartil	7,0 - 11,0	6,0 - 8,4	5,1 - 6,8	5,1 - 7,3	4,9 - 7,1	5,4 - 8,8	5,3 - 7,2

Tabelle 18 Auswertung der ANOVA mit Messwiederholung für die Leukozyten-Anzahl im ersten Untersuchungsjahr

Parameter	Signifikanz p nach Greenhouse-Geisser	partielles Eta-Quadrat nach Greenhouse-Geisser	Effektstärke nach Cohen's f	Sphärizität MauchlyTest
Leukozyten	0,034	0,401	0,82	0,544

Erstes Jahr

Auch die Leukozyten-Anzahl fällt über den Untersuchungszeitraum ab. Eine signifikante Verminderung kann bis Visit 5 mittels ANOVA mit Messwiederholung nachgewiesen werden.

Bei der ANOVA mit Messwiederholung wird ein starker Effekt (Cohen's f 0,82 $p=0,034$) beschrieben und durch die Berechnung des partiellen Eta-Quadrat nach Greenhouse-Geisser können 40% der Veränderungen auf das Medikament zurückgeführt werden.

Zweites Jahr

Auch hier ist ein Anstieg zum Ende des Untersuchungszeitraums zu beobachten, der nicht über den Ausgangswert von Visit 1 steigt. Dabei lag die Leukozyten-Konzentration während des gesamten Beobachtungszeitraums im, vom Zentrallabor der Universitätsmedizin Mainz gegebenen physiologischen Bereich (4,5-13 /nl).

Tabelle 19 Auswertung der ANOVA mit Messwiederholung für die Leukozyten-Anzahl im zweiten Untersuchungsjahr

Parameter	Signifikanz p nach Greenhouse-Geisser	partielles Eta-Quadrat nach Greenhouse-Geisser	Effektstärke nach Cohen's f	Sphärizität MauchlyTest
Leukozyten	0,356	0,143	0,41	0,5

Im gepaarten T-Test ergab sich für den Vergleich von Visit 1 und 9 der Leukozyten-Anzahl eine großen Effektstärke nach Cohen's d_z von 1,51 ($p=0,014$).

Im allgemeinen linearen Modell ergab sich im Test vom Typ III auf feste Effekte ein F-Wert von 2,562 ($p=0,034$) für den gesamten Untersuchungszeitraum.

4.4.2 CRP

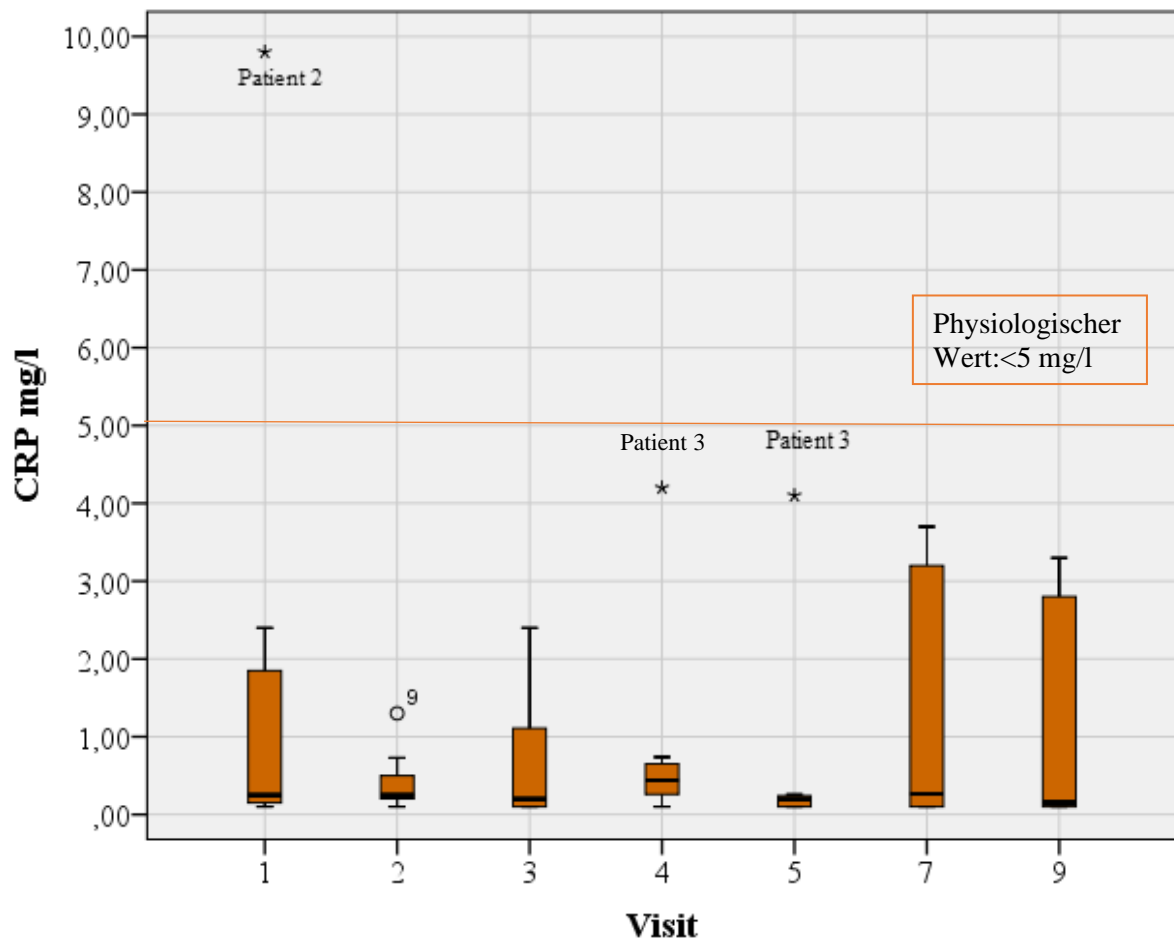


Abbildung 20 Darstellung des CRP Wertes im Blut im Verlauf; n=7 ab Visit 7 n=6

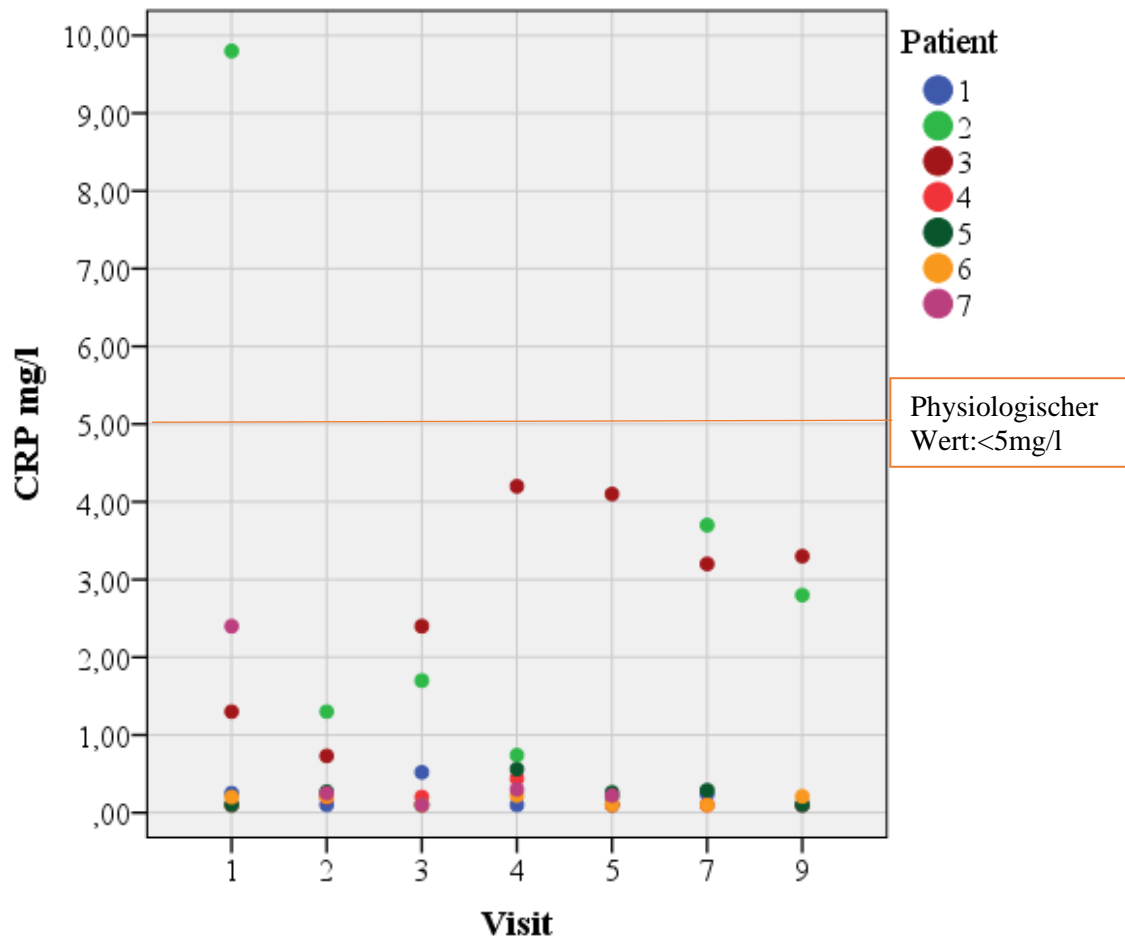


Abbildung 21 Darstellung des CRP Wertes im Blut im Verlauf; n=7 ab Visit 7 n=6

Tabelle 20 Deskriptive Statistik der CRP Konzentration über 9 Visits; n=7 ab Visit 7 n=6

Visit	1	2	3	4	5	7	9
n	7	7	7	7	7	6	6
Mittelwert (SD)	2,0 (3,3)	0,4 (0,4)	0,7 (0,9)	0,9 (1,3)	0,7 (1,4)	1,3 (1,5)	1,1 (1,4)
Median	0,25	0,25	0,20	0,44	0,20	0,27	0,16
25.-75. Quartil	0,15 - 1,85	0,21 - 0,5	0,1 - 1,11	0,26 - 0,65	0,1 - 0,24	0,14 - 2,47	0,1 - 2,15

Tabelle 21 Auswertung der ANOVA mit Messwiederholung für die CRP- Konzentration (V1- V5)

Parameter	Signifikanz p nach Greenhouse-Geisser	partielles Eta-Quadrat nach Greenhouse-Geisser	Effektstärke nach Cohen's f	Sphärizität MauchlyTest
CRP	0,38	0,14	0,40	<0,01

Erstes Jahr

Durch die ANOVA mit Messwiederholung kann nur ein mittlerer Effekt nach Cohen's f beschrieben werden ($p=0,38$). Durch die Berechnung des partiellen Eta-Quadrat können nur 14% der Veränderung auf den Einsatz von Lumacaftor/Ivacaftor zurückgeführt werden.

Zweites Jahr

Der gepaarte T-Test für CRP ergab die Effektstärke nach Cohen's d_z einen mittleren Effekt von 0,27 ($p=0,53$). Die Effektstärke nach Cohen's d_z ergibt einen mittleren Effekt von 0,27.

Im allgemeinen linearen Modell ergab sich im Test vom Typ III auf feste Effekte ein F-Wert von 0,553 ($p=0,765$) für den gesamten Untersuchungszeitraum.

Da Patient 2 erst kurz vor Visit 1 eine Exazerbation erlitt, lässt sich der stark erhöhte CRP Wert erklären. Auch bei Patient 3 sind die höheren CRP Werte auf Exazerbationen zurückführbar. CRP Werte unter 5mg/l werden als physiologisch angesehen.

4.5.1 IL-8 im Blut

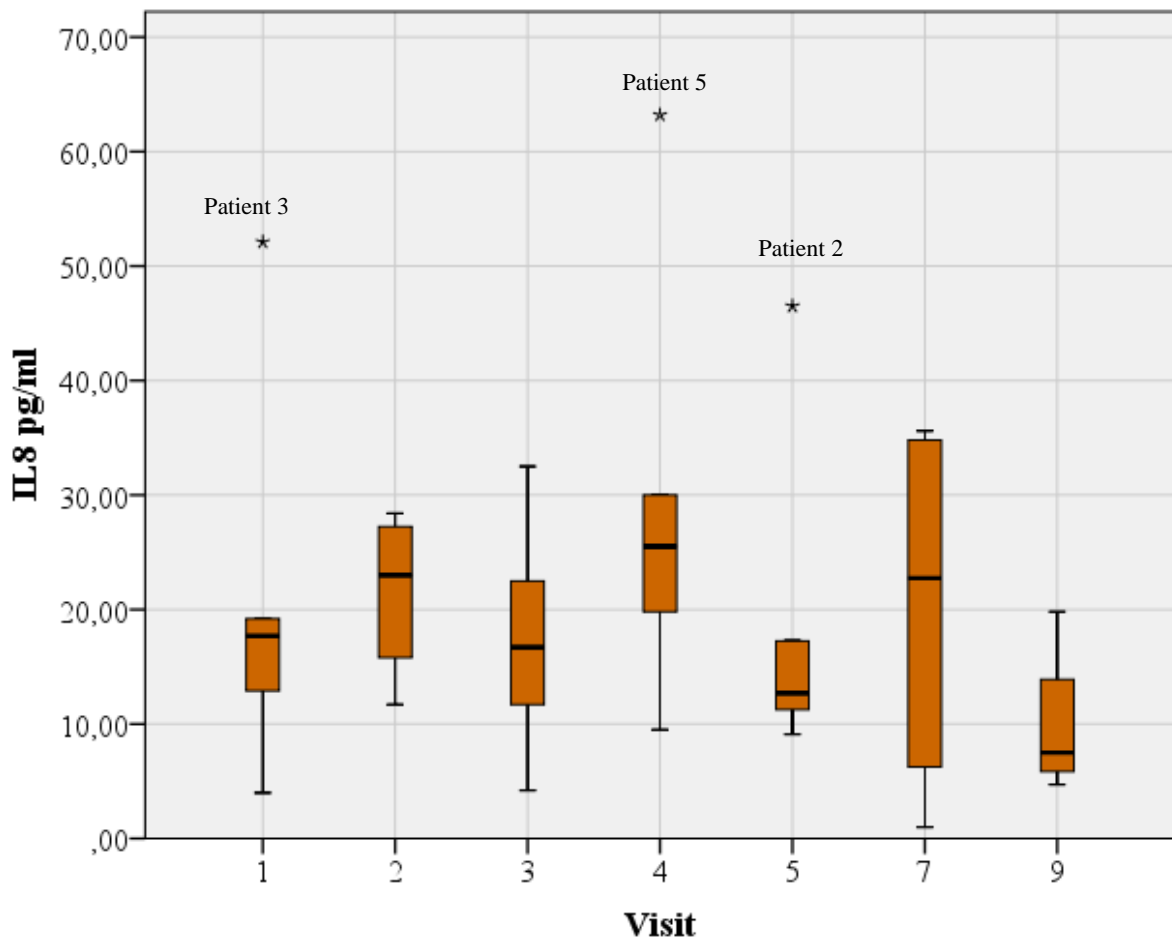


Abbildung 22 Darstellung IL-8 (pg/ml) über den Zeitraum; n=7 ab Visit 7 n=6

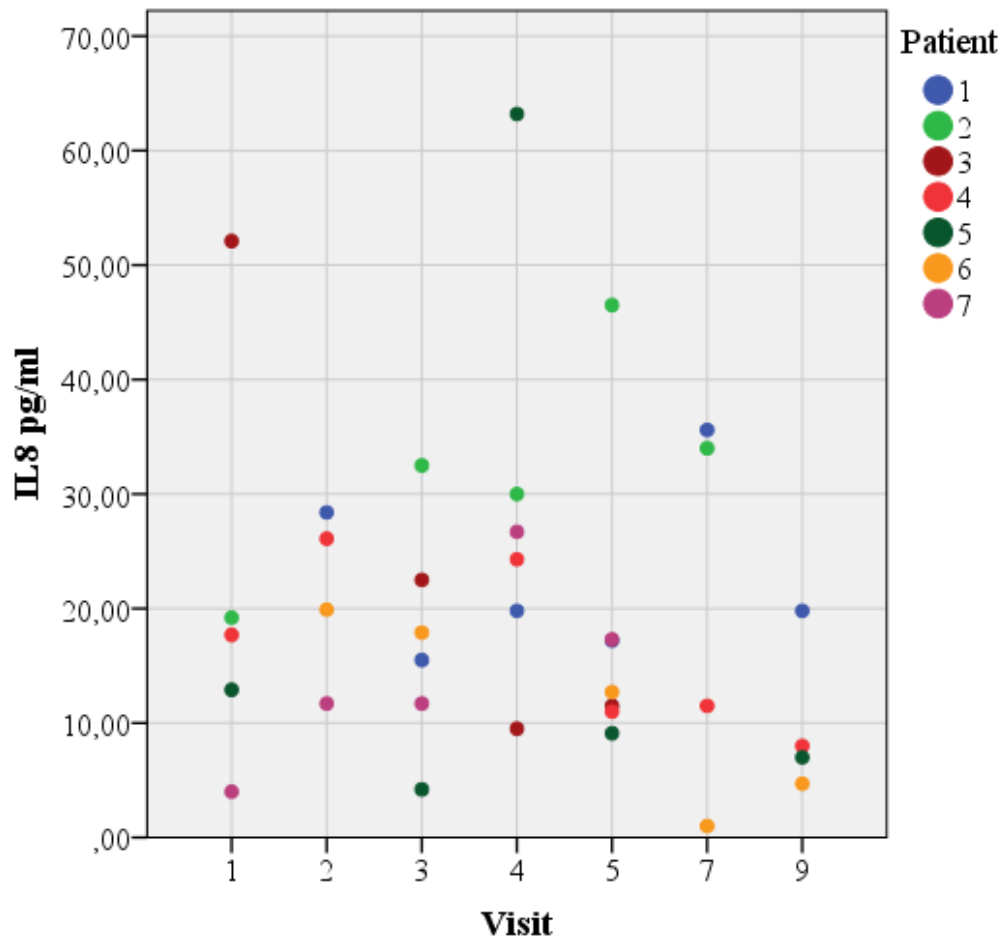


Abbildung 23 Darstellung IL8 (pg/ml) über den Zeitraum; n=7 ab Visit 7 n=6

Tabelle 22 Deskriptive Statistik der IL-8 Konzentration

Visit	1	2	3	4	5	7	9
n	7	7	7	7	7	6	6
Mittelwert (SD)	21,2 (16,3)	21,5 (6,5)	17,38 (8,8)	28,9 (16,6)	17,9 (12,0)	20,5 (14,8)	9,9(5,9)
Median	17,7	23	16,7	25,5	12,7	22,75	8
25. - 75. Quartil	12,9 - 26,7	17,9 -26,7	12,6 - 21,4	21,0 - 29,2	11,3 - 17,3	8,9 - 34,4	6,4 - 11,0

Im Untersuchungszeitraum sinkt der Median von Visit 1 (17,7 pg/ml) bis Visit 9 (8 pg/ml). Dabei kommt es zwischenzeitlich aber zu einem starken Anstieg.

Auf Grund fehlender Daten konnte keine ANOVA durchgeführt werden.

Im Vergleich von V1 und V9 ergab sich im T-Test eine große Effektstärke Cohen's d_z von 2,9 ($p= 0,152$).

Im allgemeinen linearen Modell ergab sich im Test vom Typ III auf feste Effekte ein F-Wert von 0,835 ($p=0,553$) für den gesamten Untersuchungszeitraum.

4.6 Intestinale Inflammationsparameter

4.6.1 Calprotectin

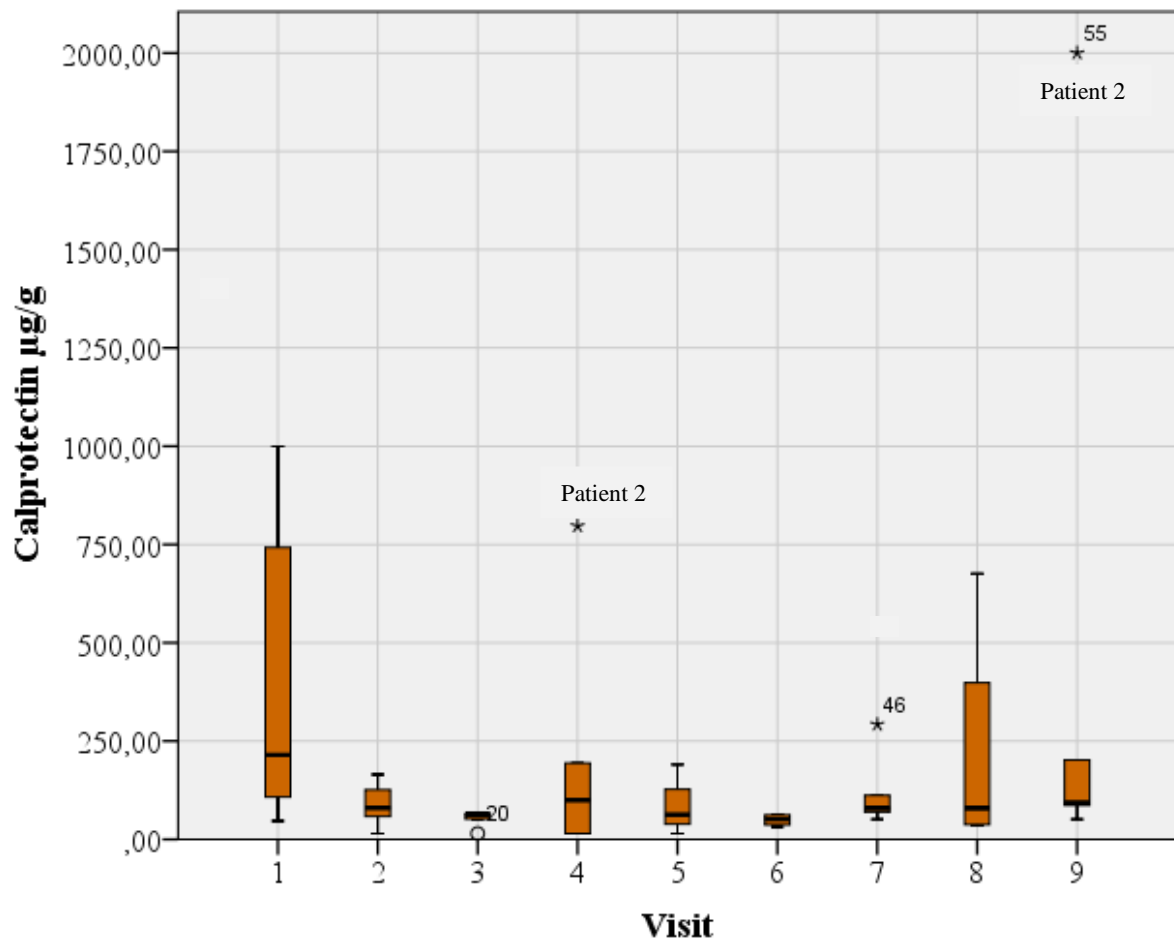


Abbildung 24 Darstellung der Calprotectin Konzentration aus Stuhlproben; Signifikanz ist mit * gekennzeichnet; da bei Visit 1 und 9 nur 3 Werte vorlagen ist die Darstellung mittels Boxplot nicht zulässig

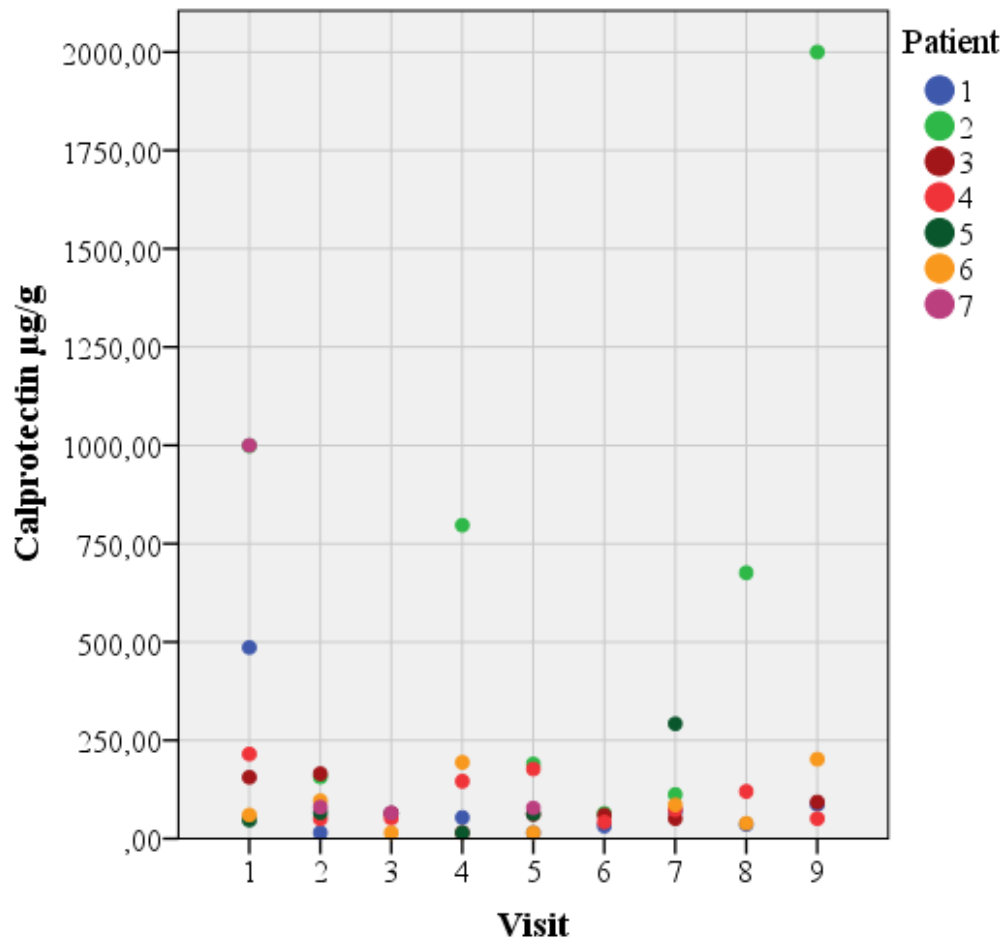


Abbildung 25 Konzentration von Calprotectin ($\mu\text{g/g}$) im Stuhl für den Untersuchungszeitraum; Signifikanz ist mit * gekennzeichnet

Tabelle 23 Probenanzahl n; Mittelwert (Mean), Standardabweichung (SD), Median und Quartil von Calprotectin ($\mu\text{g/g}$), Visit 1 bis 9; n= Anzahl der Patienten

Visit	1	2	3	4	5	6	7	8	9
n	7	7	5	6	7	4	6	4	5
Mean (SD)	423,3 (388,5)	89,93 (50,7)	52,1 (19,2)	203,4 (273,6)	85,7 (65,8)	49,5 (13,1)	113,9 (81,8)	217,8 (266,7)	486,6 (758,4)
Median	215	80	64	99,75	63	51	79,5	79,5	93
25.- 75. Quartil	108 - 742,5	58,3 - 126,5	52 - 64,5	24,6 - 182	38,5 - 127,5	39,5 - 61	70,4 - 105,5	38,3 - 259	87 - 202

Tabelle 24 Auswertung der ANOVA mit Messwiederholung für Visit 1 bis 5

Parameter	Signifikanz p nach Greenhouse-Geisser	partielles Eta-Quadrat nach Greenhouse-Geisser	Effektstärke nach Cohen's f	Sphärizität MauchlyTest
Calprotectin	0,26	0,37	0,76	0,42

Erstes Jahr

Mittels der ANOVA mit Messwiederholung konnte für das erste Jahr keine signifikante Verminderung der Calprotectin-Konzentration dargestellt werden ($p=0,26$). Der Median sinkt aber von 215 $\mu\text{g/g}$ auf 63 $\mu\text{g/g}$.

Zweites Jahr

Im zweiten Untersuchungsjahr stieg die Calprotectin-Konzentration wieder auf 93 $\mu\text{g/g}$. Die anfängliche Konzentration wurde aber nicht wieder erreicht. Es konnten keine signifikanten Veränderungen nachgewiesen werden, einzelne Patienten profitieren aber stark. Die Durchführung der ANOVA für das zweite Jahr war nicht möglich.

Die Auswertung des T-Tests von Visit 1 und 9 ergab ein Cohen's d_z von 0,19 ($p=0,69$).

Im allgemeinen linearen Modell ergab sich im Test vom Typ III auf feste Effekte ein F-Wert von 1,3 ($p=0,269$) für den gesamten Untersuchungszeitraum.

Die Analysen von intestinalen und systemischen Inflammationsparametern ergaben somit verminderte Werte im Verlauf des Untersuchungszeitraum.

4.6.2 Alkalische Phosphatase

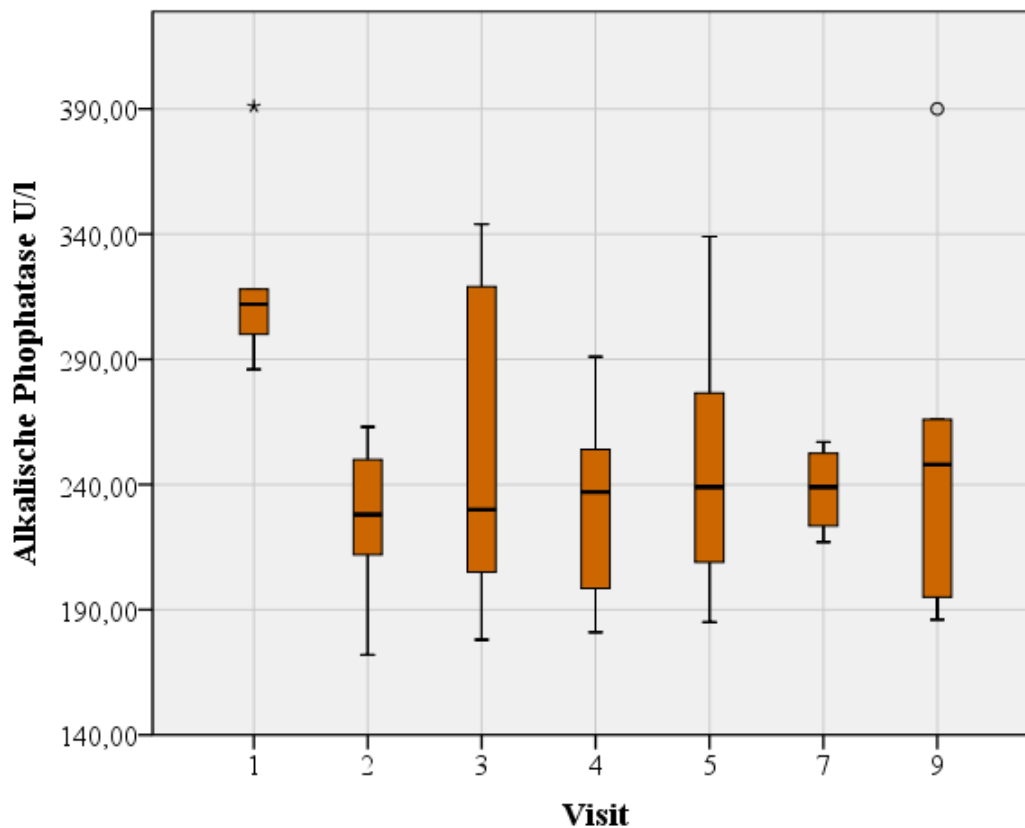


Abbildung 26 Darstellung der Konzentration der alkalischen Phosphatase (U/l) im Untersuchungszeitraum; n=7 ab Visit 6 n=6

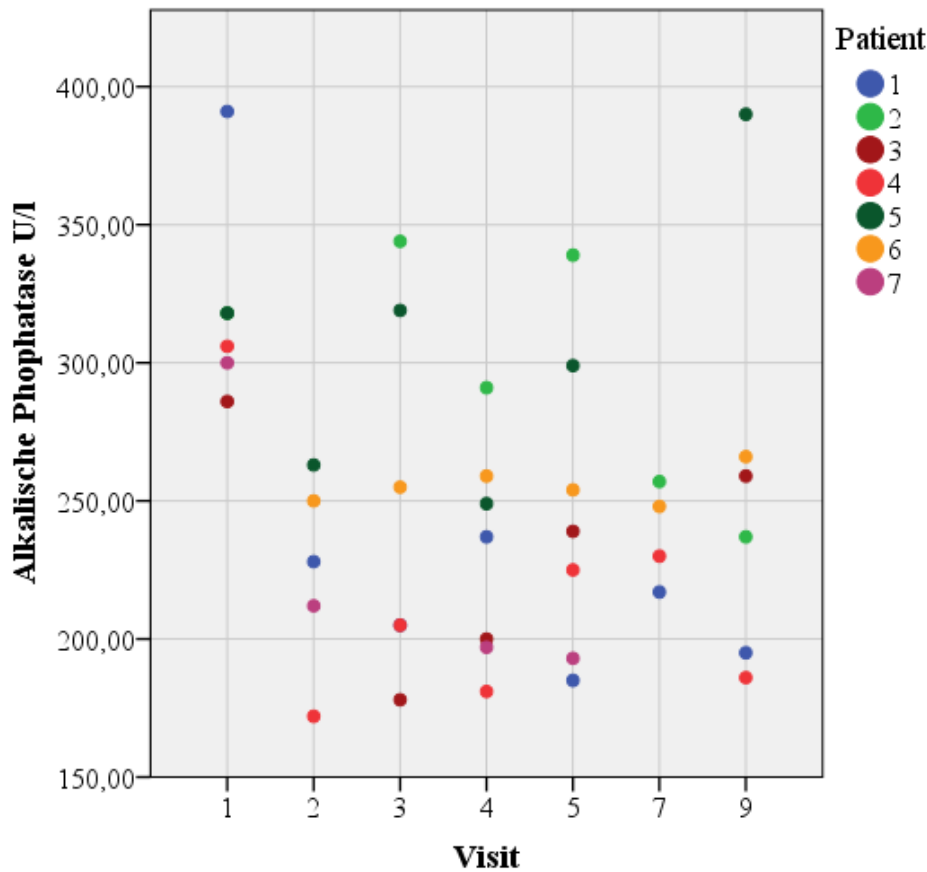


Abbildung 27 Darstellung der Konzentration der alkalischen Phosphatase (U/l) im Untersuchungszeitraum

Tabelle 25 deskriptive Statistik der alkalischen Phosphatase (U/l)

Visit	1	2	3	4	5	7	9
n	6	5	6	7	7	4	6
Mittelwert (SD)	319,8 (33,7)	225 (31,8)	251 (61,7)	230,6 (36,6)	247,7 (51,4)	238 (15,5)	255,5 (67,1)
Median	312	228	230	237	239	239	248
25. - 75. Quartil	301,5 - 318	212 - 250	205 - 303	198,5 - 254	209 - 276,5	226,8 - 250,3	205,5 - 264,3

Im Median sank die Konzentration der alkalischen Phosphatase von anfänglich 312U/l auf 248 U/l.

Tabelle 26 Auswertung der ANOVA mit Messwiederholung für Visit 1 bis 5

Parameter	Signifikanz p nach Greenhouse-Geisser	partielles Eta-Quadrat nach Greenhouse-Geisser	Effektstärke nach Cohen's f	Sphärizität MauchlyTest
AP	0,158	0,682	1,464	0,44

Die ANOVA mit Messwiederholung ergab für das erste Untersuchungsjahr eine Effektstärke nach Cohen's f von 1,464 ($p=0,158$).

Im gepaarten T-Test ergab sich für den Vergleich von Visit 1 mit Visit 9 eine mittlere Effektstärke nach Cohen's d_z von 0,7 ($p=0,07$).

Im allgemeinen linearen Modell über den gesamten Untersuchungszeitraum ergab sich im Test vom Typ III auf feste Effekte ein F-Wert von 2,214 ($p=0,066$) für den gesamten Untersuchungszeitraum.

Als normale Werte werden vom Zentrallabor der Unimedizin Mainz Werte unter 321 U/l (bzw. für jüngere Patienten 288 U/l) angegeben. Somit wiesen 2 Patienten vor Therapiebeginn erhöhte Konzentrationen der alkalischen Phosphatase auf. Nach 2 Jahren weist nur 1 Patient pathologisch erhöhte Werte auf.

4.7 Cathepsin-Bestimmung aus Urinüberstand

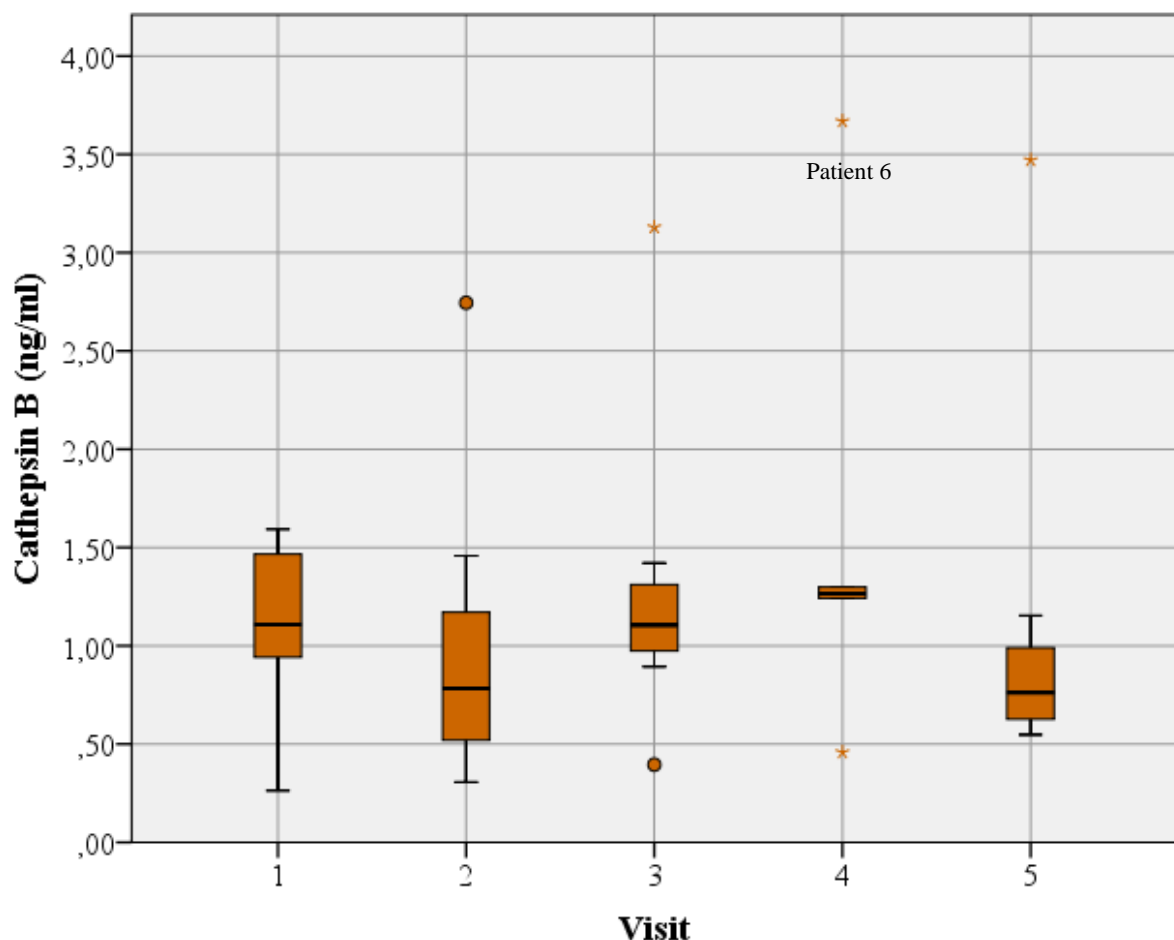


Abbildung 28 Cathepsin B Bestimmung aus Urinüberstand; n=7; Ausreißer nach oben sind durch Patient 6 entstanden; Ausreißer nach unten durch Patient 1

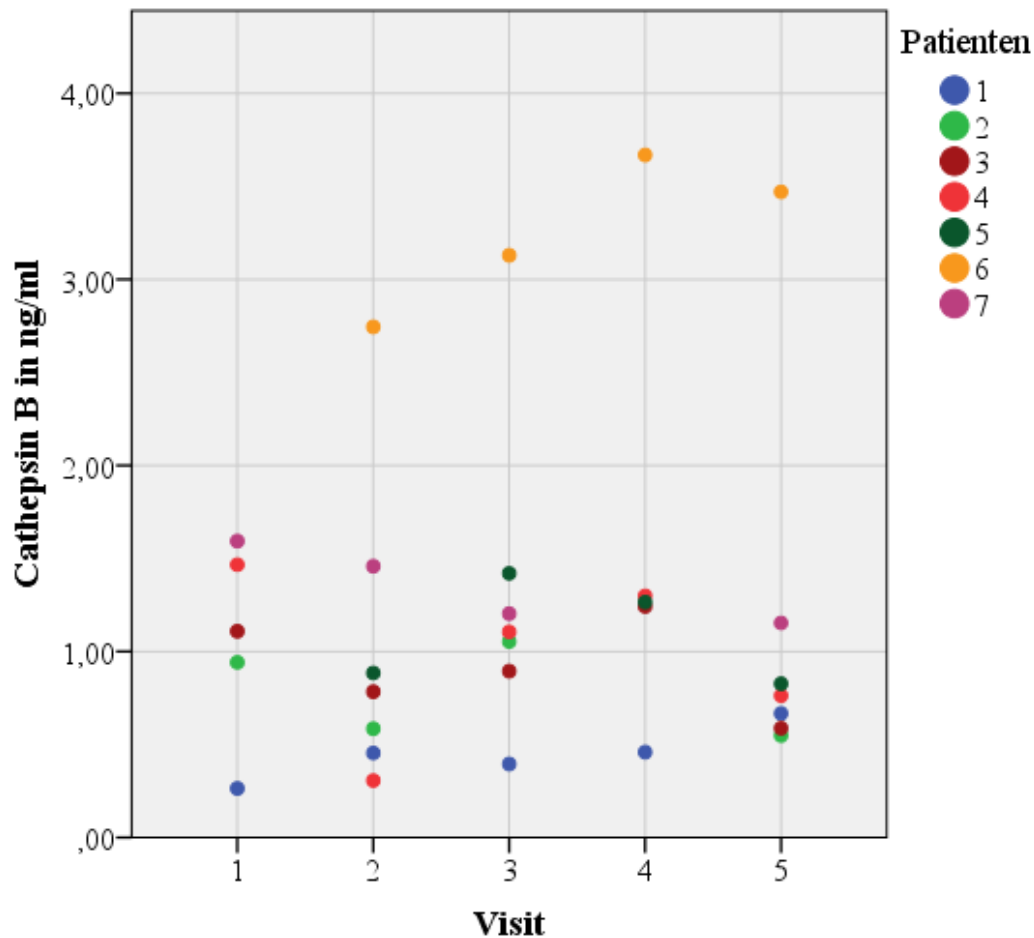


Abbildung 29 Cathepsin B Konzentration der einzelnen Patienten

Tabelle 27 Deskriptive Statistik der Cathepsin Konzentration (ng/ml) im Urin für Visit 1 bis Visit 5; n = Anzahl der Patientenproben; SD= Standardabweichung; n=Probandenanzahl

Visit	1	2	3	4	5
n	5	7	7	5	7
Mittelwert (SD)	1,07 (0,47)	1,03 (0,78)	1,31 (0,80)	1,59(1,09)	1,14 (0,97)
Median	1,10845	0,783495	1,105185	1,2654	0,76244
25. Quartil	0,941455	0,5193325	0,97377	1,24165	0,626895
75. Quartil	1,4665	1,1711275	1,311775	1,29925	0,989765

Die Cathepsin B Konzentration im Urinüberstand nimmt im Verlauf ab. Hervorstechend ist der Verlauf von Patient 6.

Tabelle 28 Auswertung der ANOVA mit Messwiederholung für Visit 1 bis 5

Parameter	Signifikanz p nach Greenhouse-Geisser	partielles Eta-Quadrat nach Greenhouse-Geisser	Effektstärke nach Cohen's f	Sphärizität MauchlyTest
Cathepsin	0,24	0,22	0,52	0,00

Die ANOVA mit Messwiederholung ergab für das erste Untersuchungsjahr eine Effektstärke nach Cohen's f von 0,52 ($p=0,24$).

Im Vergleich von Visit 1 und Visit 5 ergab sich keine signifikante Veränderung im gepaarten T-test mit Cohen's $d_z=0,58$ ($p=0,17$).

Im allgemeinen linearen Modell ergab sich im ersten Untersuchungsjahr im Test vom Typ III auf feste Effekte ein F-Wert von 0,333 ($p=0,853$) für den gesamten Untersuchungszeitraum.

4.8 Inflammationsparameter im Sputum

4.8.1 Bestimmung von TNF- α , IL-1 β , IL-6 und IL-8 mittels Cytometric Bead Array

Tabelle 29 Darstellung des Mittelwertes (Mean) und der Standardabweichung (SD) für TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 über den Untersuchungszeitraum (V1= Visit 1; V2= Visit 2; V3 = Visit 3; V4 = Visit 4; V5 = Visit 5; n=4)

Parameter	MeanV1(SD)	MeanV2(SD)	MeanV3(SD)	MeanV4(SD)	MeanV5(SD)
n	4	4	4	2	2
TNF- α (pg/ml)	0,22 (0,29)	2,69 (2,87)	5,82 (6,21)	6,39 (0)	0,27 (0,27)
IL-1 β (pg/ml)	156,25 (124,80)	160,00 (147,52)	447,51 (444,20)	106,31 (83,77)	20,78 (17,78)
IL-6 (pg/ml)	2,88 (2,96)	2,26 (1,70)	6,98 (10,54)	4,82 (4,60)	0,32 (0,174)
IL-8 (pg/ml)	2664,72 (1313,97)	2400,11 (1776,08)	5648,50 (4059,33)	4938,53 (3041,11)	512,85 (217,29)

Tabelle 30 Darstellung des Medians für TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 über den Untersuchungszeitraum (V1= Visit 1; V2= Visit 2; V3 = Visit 3; V4 = Visit 4; V5 = Visit 5; n=4)

Parameter	MedianV1	MedianV2	MedianV3	MedianV4	MedianV5
n	4	4	4	2	2
TNF- α (pg/ml)	0,09	2,01	4,29	6,39	0,27
IL-1 β (pg/ml)	155,72	130,10	304,37	106,31	20,78
IL-6 (pg/ml)	1,93	1,76	1,40	4,82	0,32
IL-8 (pg/ml)	2457,91	2221,60	6487,13	4938,53	512,85

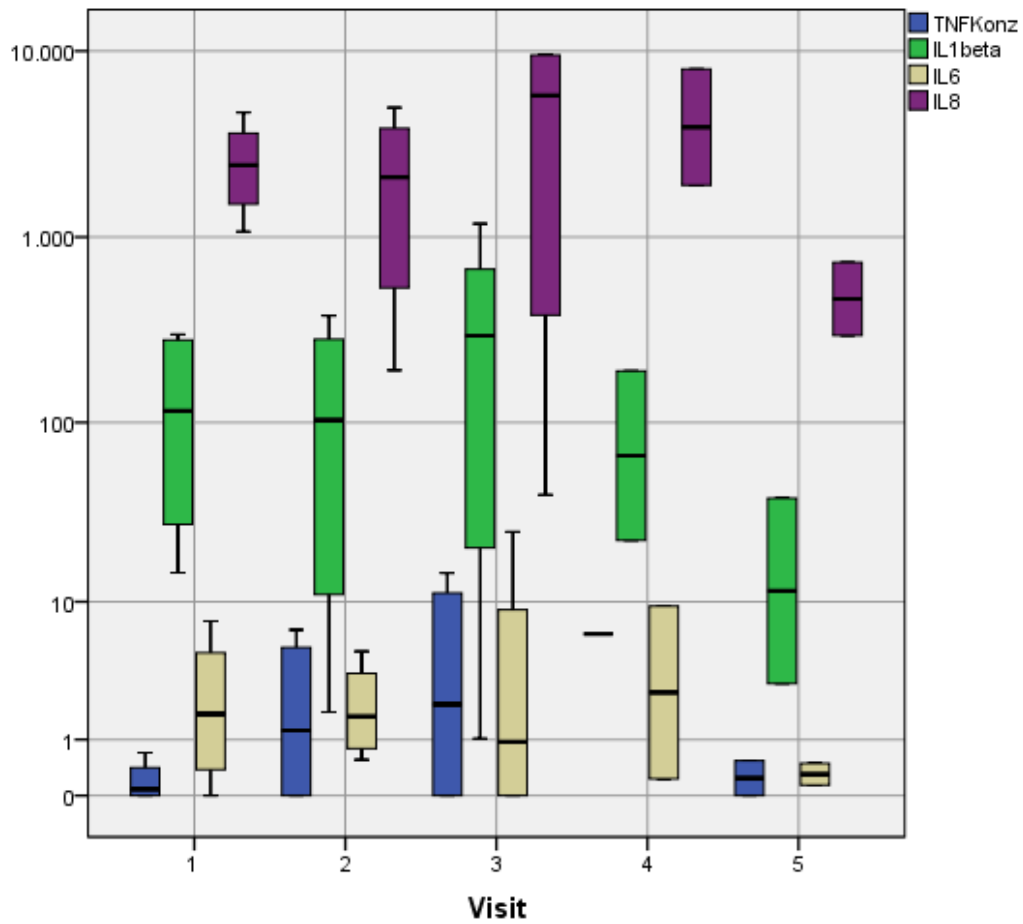


Abbildung 30 Übersicht zu Konzentrationen (pg/ml) der Inflammationsparameter (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8) aus Sputum Überstand; n=4

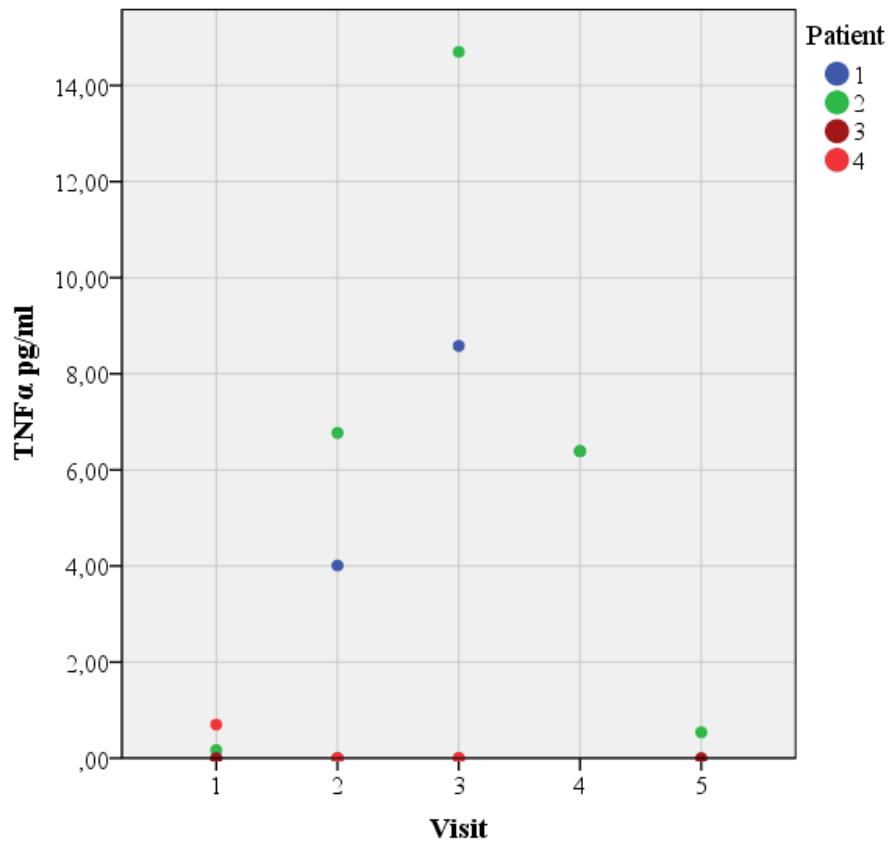


Abbildung 31 TNF Konzentration der Sputumproben für Visit 1 bis Visit 5

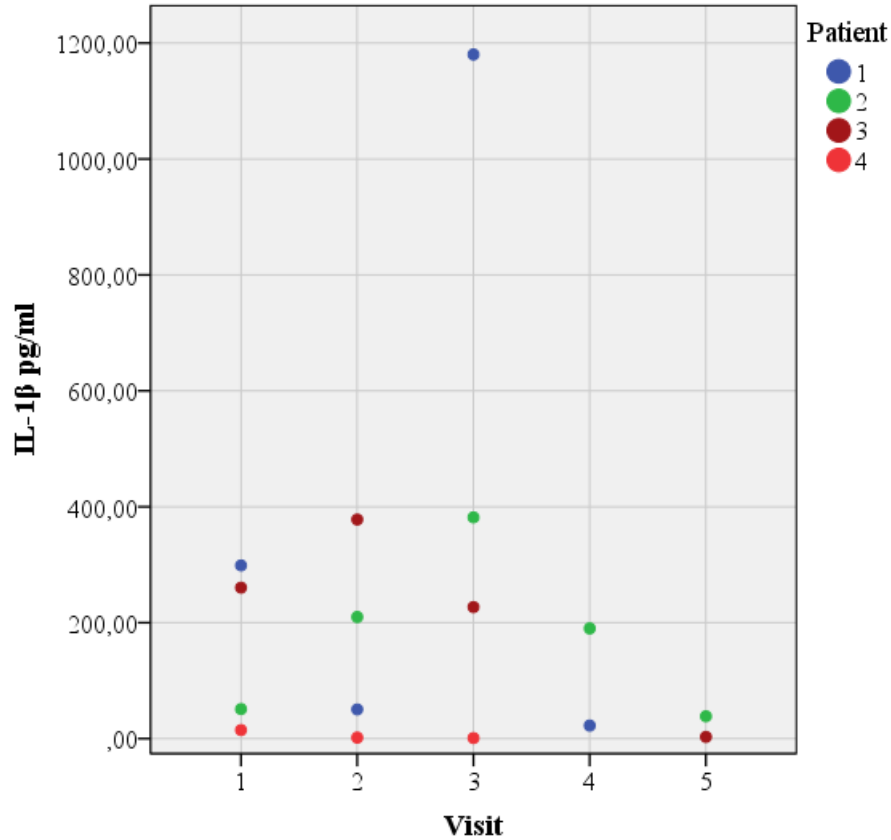


Abbildung 32 IL-1β Konzentration im Sputum Überstand für Visit 1 bis Visit 5

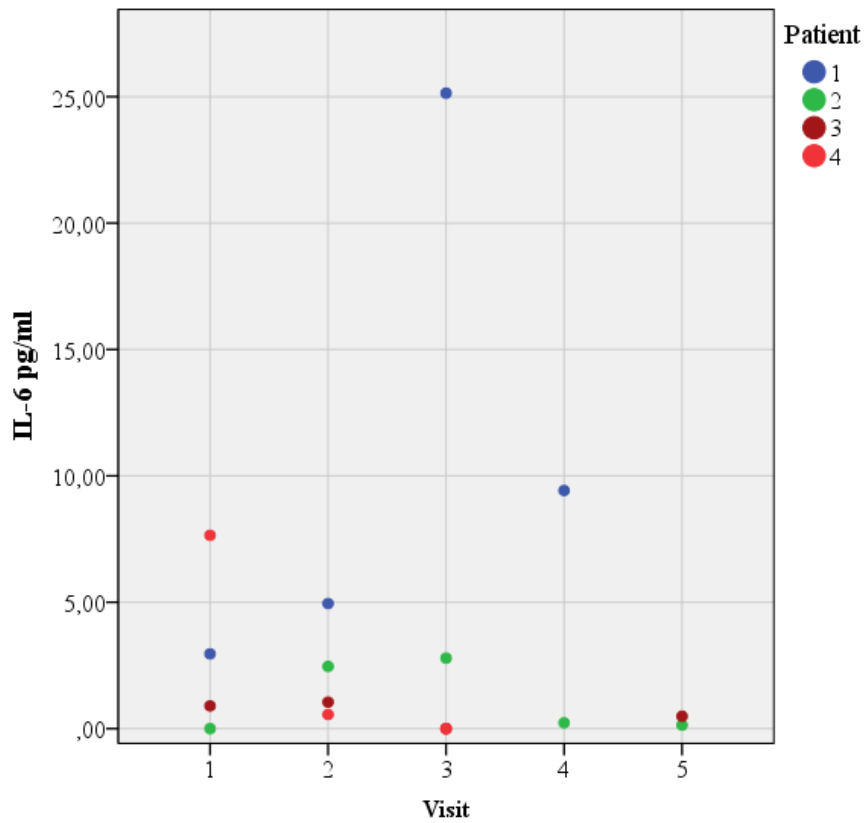


Abbildung 33 IL-6 Konzentration im Sputum Überstand für Visit 1 bis Visit 5

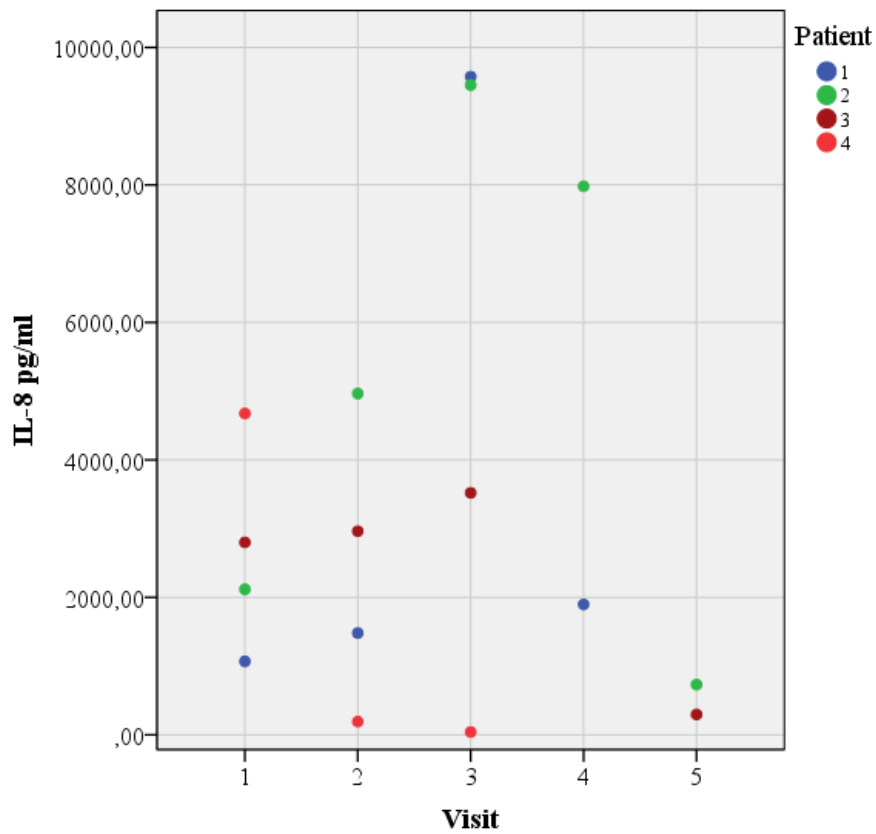


Abbildung 34 IL-8 Konzentration im Sputum Überstand für Visit 1 bis Visit 5

Für alle Parameter ergab sich eine Abnahme der Konzentration im Verlauf, außer für TNF- α . Besonders der Abfall von IL-1 β und IL-8 ist hervorzuheben.

Auf Grund der geringen Materialmenge konnte die Analyse der Inflammationsparameter aus dem Sputum Überstand nur bis zum 5. Visit durchgeführt werden.

Die Durchführung von statistischen Tests ist auf Grund der geringen Patientenzahl nicht möglich.

4.8.2 Neutrophile Elastase

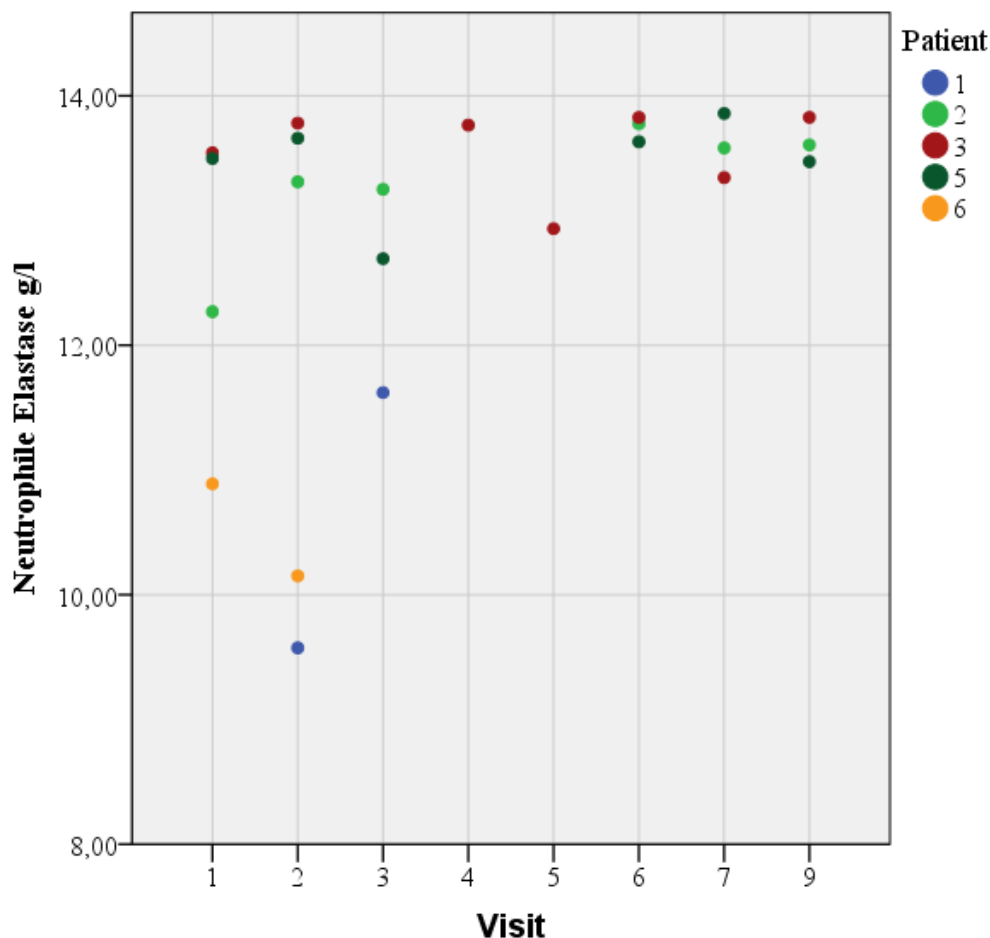


Abbildung 35 Konzentration der neutrophilen Elastase aus Sputum Überstand für Visit 1 bis 9

Die Messung der neutrophilen Elastase ergab konstante Konzentrationen im Verlauf über den Untersuchungszeitraum von 2 Jahren für die einzelnen Patienten.

Im allgemeinen linearen Modell ergab sich im Untersuchungszeitraum im Test vom Typ III auf feste Effekte ein F-Wert von 0,918 ($p=0,513$) für den gesamten Untersuchungszeitraum.

Die ANOVA mit Messwiederholung und der T-Test konnten auf Grund geringer Datenmenge nicht durchgeführt werden.

Insgesamt kann für die Analyse der respiratorischen Inflammationsparameter im Sputum keine große Veränderung im Verlauf des Untersuchungszeitraum festgestellt werden.

4.8.3 Leukozyten-Zählung im prozessierten Sputum

Wenn ausreichend Sputum vorhanden war, wurde zur Qualitätskontrolle der Abtrennung von Sputum und Saliva eine Zellzählung vorgenommen. Dabei lag die Anzahl der gezählten Plattenepithelzellen immer unter einem Wert von 10% an Zellen gesamt, sodass von einer ausreichenden Trennung von Sputum und Saliva ausgegangen werden kann.

Im Folgenden werden gefundene Leukozyten im Sputum in absoluten Werten dargestellt.

Tabelle 31 Absolute Anzahl von Leukozyten im prozessierten Sputum gerechnet auf 10^6 Zellen/ml.

Patient	Visit 1	Visit 2	Visit 3	Visit 4	Visit 5	Visit 9
1	Kein Sputum	0,002	Zu wenig Sputum	Kein Sputum	Kein Sputum	Kein Sputum
2	0,92	0,0729	Zu wenig Sputum	1,574	Zu wenig Sputum	0,227
3	4,67	1,4	0,255	0,1425	0,31	2,05
4	Zu wenig Sputum	Zu wenig Sputum	Zu wenig Sputum	Kein Sputum	Kein Sputum	Kein Sputum
5	3,02	Zu wenig Sputum	3,68	0,66	0,275	0,0885
6	Zu wenig Sputum	Zu wenig Sputum	Zu wenig Sputum	Zu wenig Sputum	Zu wenig Sputum	Zu wenig Sputum
7	Kein Sputum	Kein Sputum	Kein Sputum	Kein Sputum	Kein Sputum	Kein Sputum

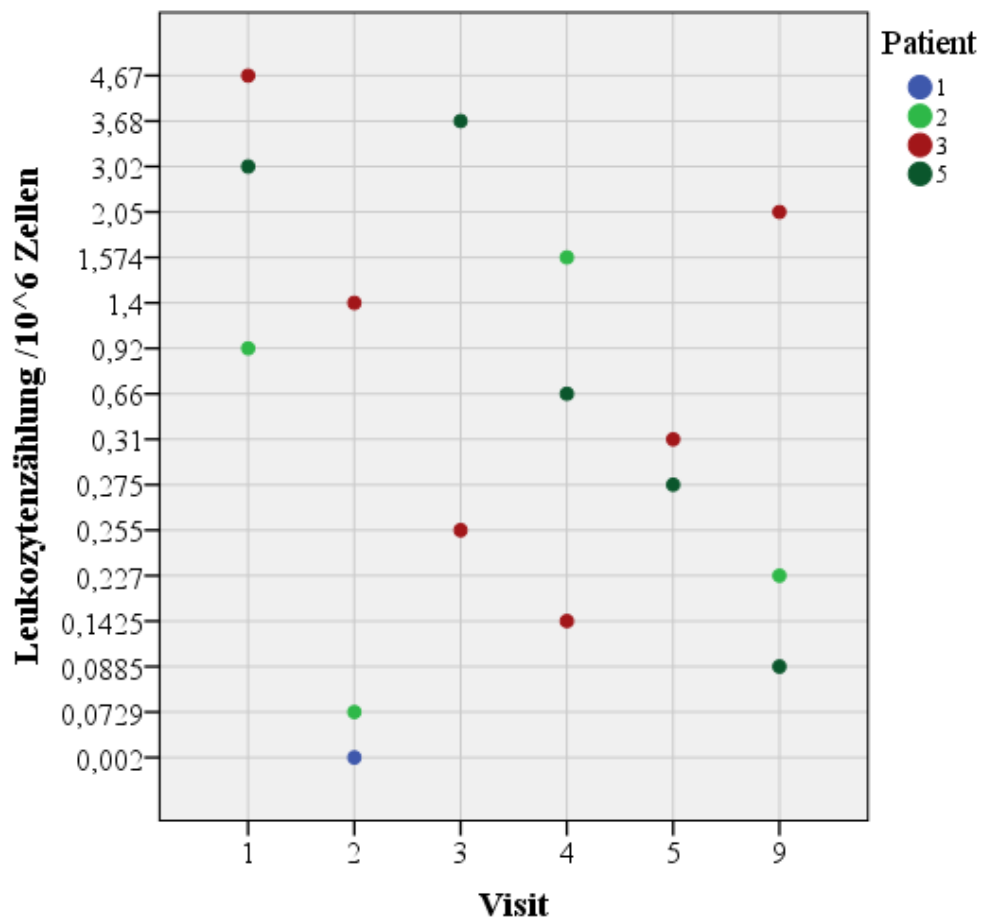


Abbildung 36 Leukozyten-Zählung auf 10⁶ Zellen

4.9 BMI-Perzentilen Berechnungen der Patienten

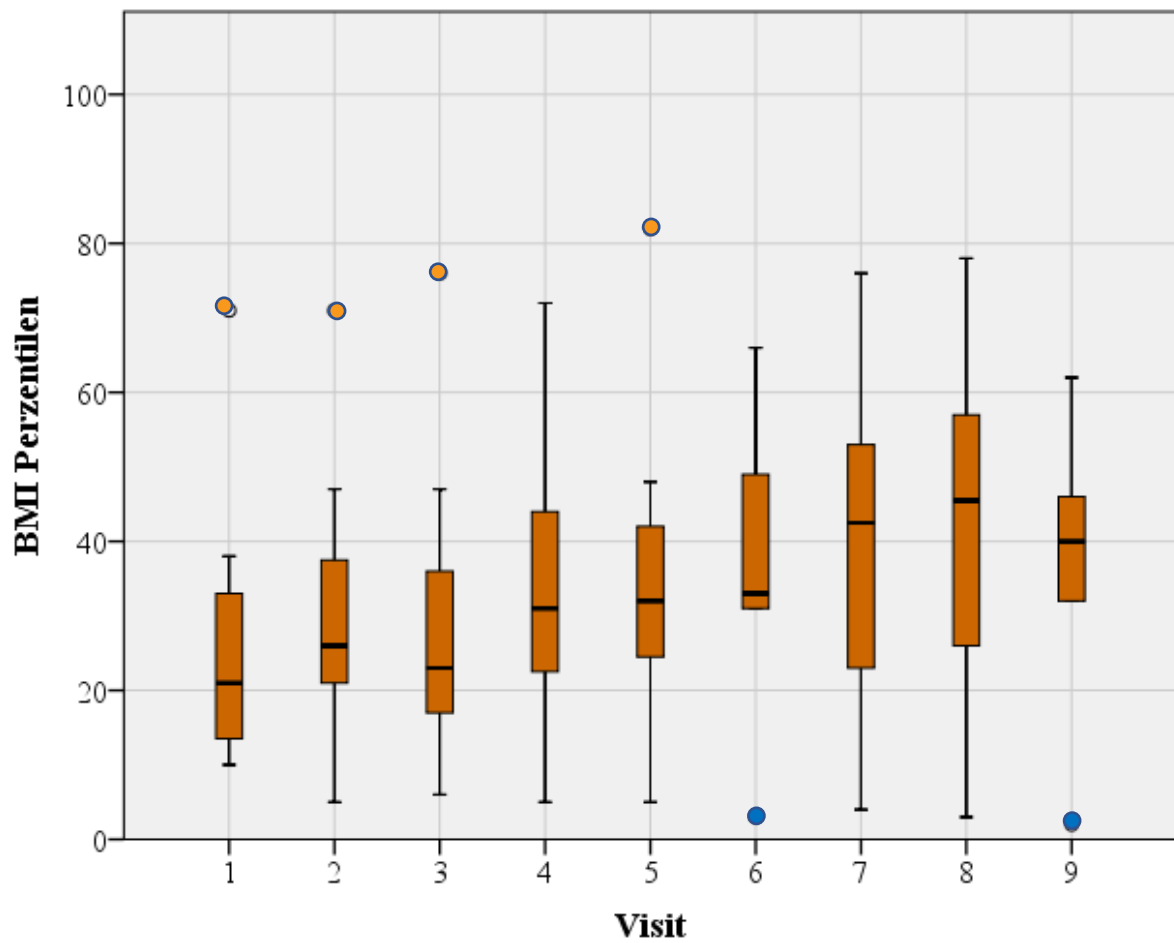


Abbildung 37 BMI Perzentilen; n=7 ab Visit 6 n=6

● = Patient 6 ● Patient 1

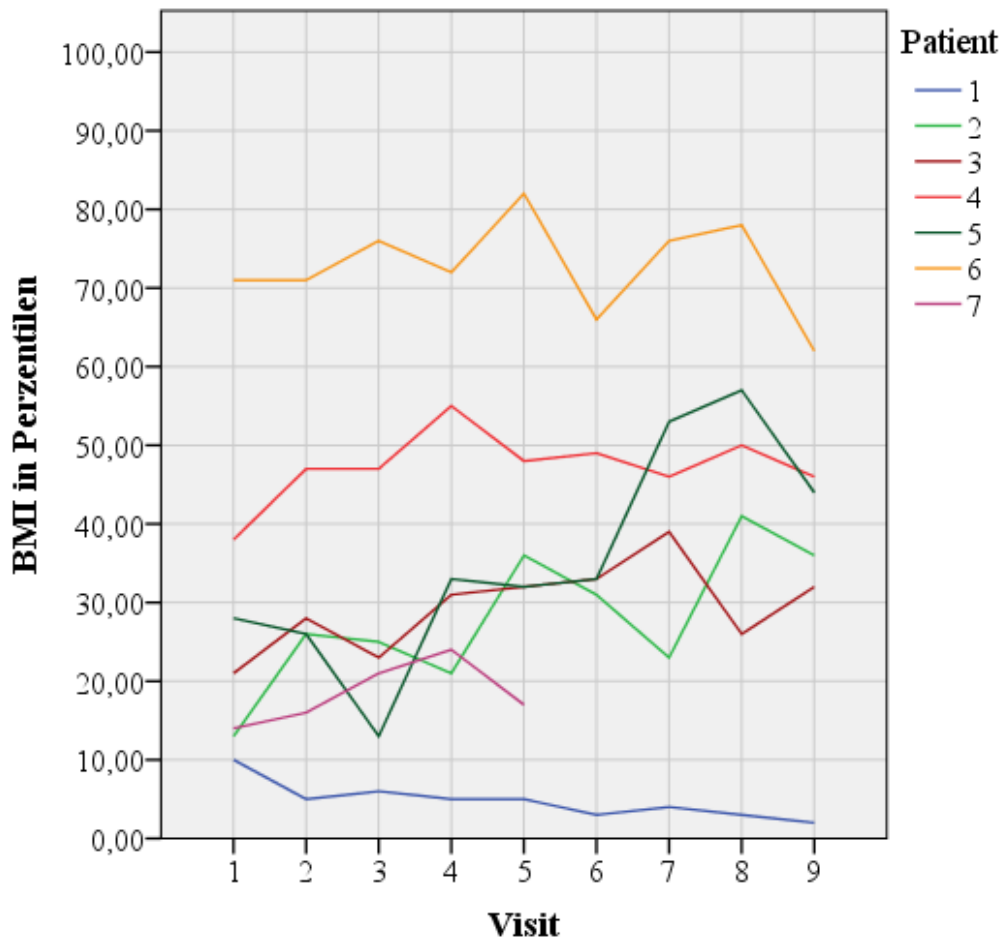


Abbildung 38 BMI Perzentilen der Patienten im Untersuchungszeitraum

Tabelle 32 deskriptive Statistik der BMI Perzentilen über den Untersuchungszeitraum; SD= Standardabweichung, n= Anzahl der Probanden

Visit	1	2	3	4	5	6	7	8	9
n	7	7	7	7	7	6	6	6	6
Mittelwert (SD)	27,9 (19,8)	31,3 (20,0)	30,1 (20,7)	34,4 (22,7)	36 (19,2)	35,8 (19,2)	40,2 (22,7)	42,5 (23,7)	37 (18,3)
Median	21	26	23	31	32	33	42,5	45,5	40
25. - 75. Quartil	13,5 - 33,0	21,0 - 37,5	17,0 - 36,0	22,5 - 44,0	24,5 - 42,0	31,5 - 45,0	27,0 - 51,3	29,8 - 55,3	33,0 - 45,5

Tabelle 33 Auswertung der ANOVA mit Messwiederholung für Visit 1 bis 5

Parameter	Signifikanz p nach Greenhouse-Geisser	partielles Eta-Quadrat nach Greenhouse-Geisser	Effektstärke nach Cohen´s f	Sphärizität Mauchly-Test
BMI-Perzentilen	0,073	0,317	0,68	0,591

Bei der Auswertung der ANOVA mit Messwiederholung ergab sich für Visit 1 bis 5 eine Effektstärke von Cohen´s f von 0,68 ($p=0,073$).

Der BMI war im T-Test signifikant höher beim 5. Visit ($p=0,049$) im Vergleich zum ersten Visit (starker Effekt nach Cohen´s d_z |0,93|). Nach 2 Jahren ergibt sich jedoch kein signifikanter

Unterschied im gepaarten T-Test mehr (Cohen´s $d_z = |0,528|$ ($p = 0,252$)). Auch wenn im Median eine Erhöhung der BMI Perzentilen von 21 auf 40 ersichtlich wird, profitieren einzelne Patienten nicht.

Im allgemeinen linearen Modell ergab sich im Untersuchungszeitraum (Visit 1 bis 9) im Test vom Typ III auf feste Effekte ein F-Wert von 0,274 ($p = 0,972$) für den gesamten Untersuchungszeitraum.

4.10 Lungenfunktionsparameter

4.10.1 FEV1 in Prozent vom Sollwert

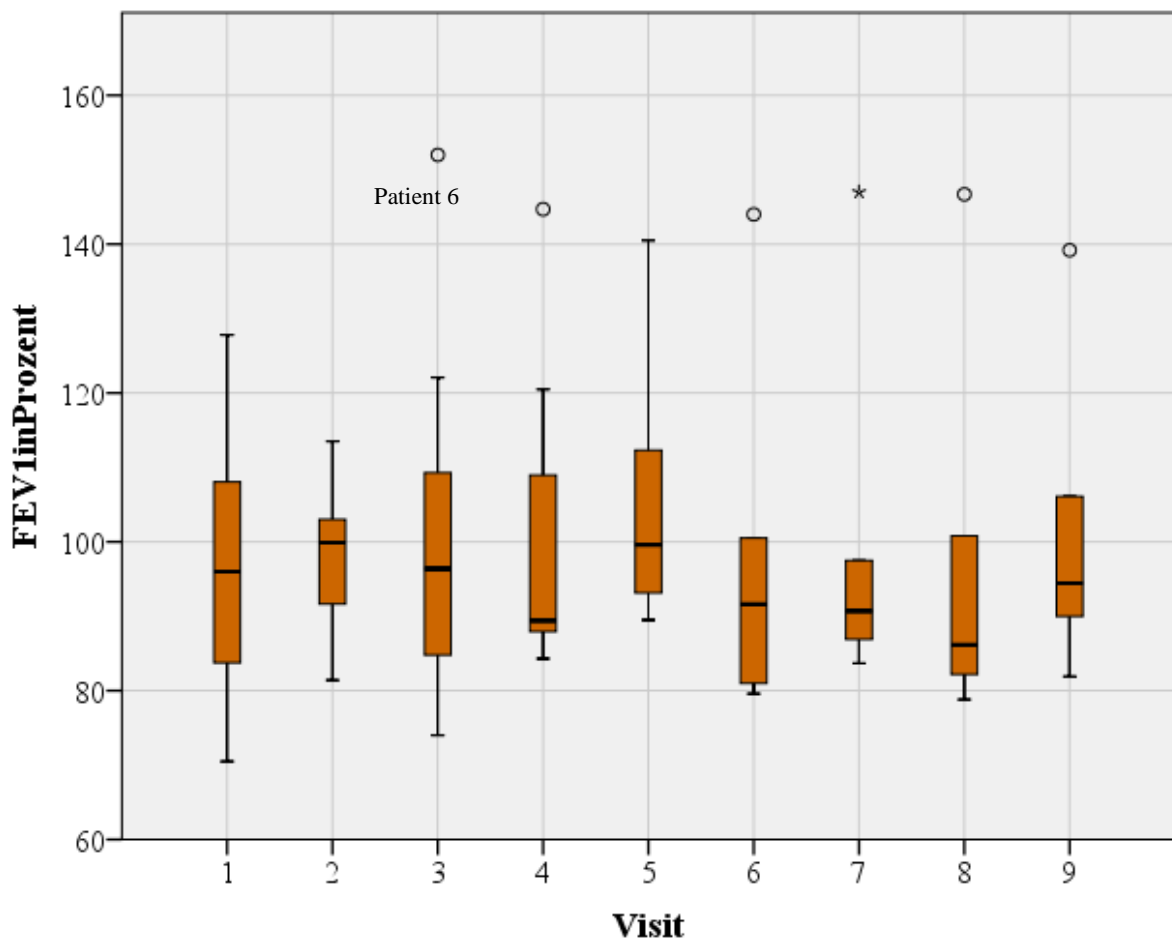


Abbildung 39 Darstellung der FEV1 Messung in Prozent vom Soll-Wert, n=7 ab Visit 6 n=6; Ausreißer kommen durch die Ergebnisse von Patient 6 zustande

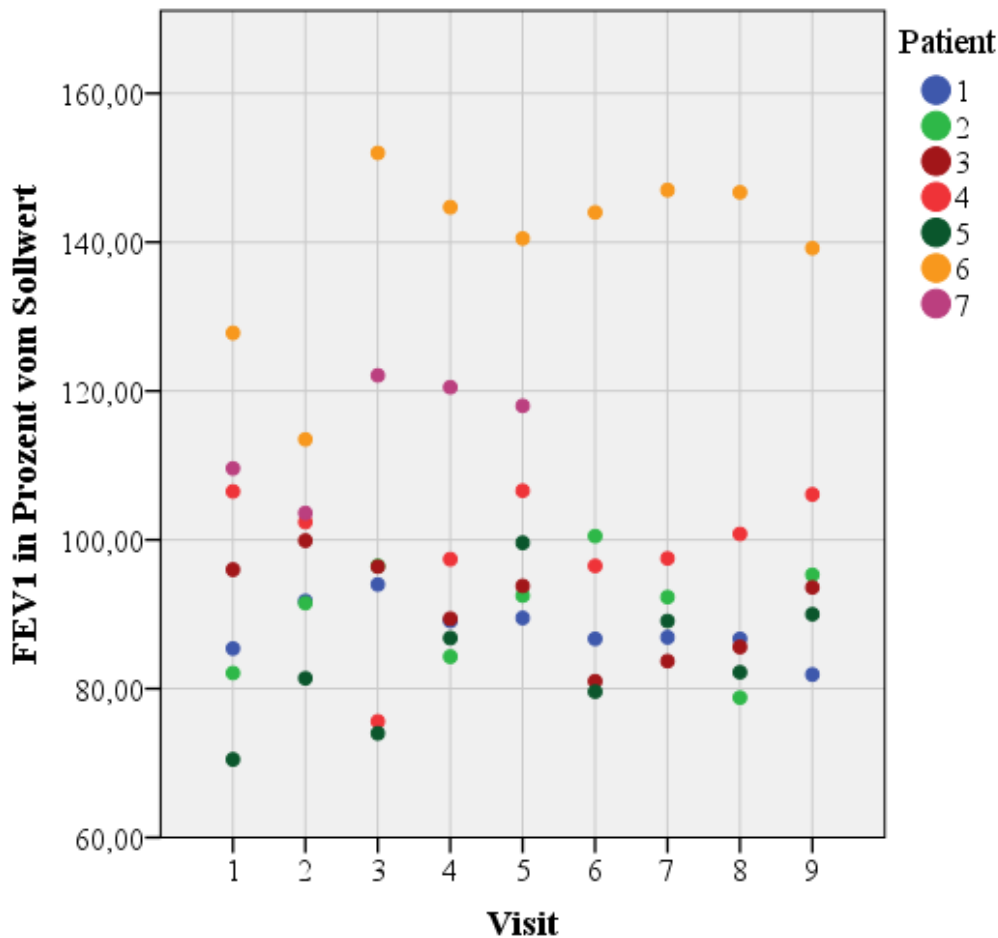


Abbildung 40 Darstellung der FEV1 Messung in Prozent vom Soll-Wert, n=7 ab Visit 6 n=6

Tabelle 34 Deskriptive Statistik des FEV1 Wertes in Prozent vom Soll-Wert

Visit	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Mean	96,84	97,73	101,51	101,74	108,5	98,05	99,42	96,8	101,02
(SD)	(17,96)	(9,64)	(25,38)	(20,89)	(16,68)	(21,91)	(21,71)	(23,35)	(18,52)
Median	96,00	99,90	96,40	89,40	103,10	91,60	90,70	86,15	94,45
25. - 75. Quantil	83,75 - 108,05	91,65 - 103	84,8 - 109,3	87,95 - 108,95	93,15 - 112,3	82,43 - 99,5	87,45 - 96,2	83,05 - 97,28	90,9 - 103,4

Tabelle 35 ANOVA mit Messwiederholung; Auswertung für das erste Jahr, Visit 1 bis 5

Parameter	Signifikanz p nach Greenhouse-Geisser	partielles Eta-Quadrat nach Greenhouse-Geisser	Effektstärke nach Cohen's f	Sphärizität Mauchly-Test
FEV1 in % vom Soll	0,412	0,137	0,398	0,083

Bei der ANOVA mit Messwiederholung ergab sich keine signifikante Veränderung (Effektstärke nach Cohen's $f=0,398$ ($p=0,41$)). Dasselbe gilt für den gepaarten T-Test im Vergleich von Visit 1 und 9 (mittlere Effektstärke nach Cohen's $d_z = |0,7|$ ($p=0,17$)).

Im allgemeinen linearen Modell ergab sich im Untersuchungszeitraum (Visit 1 bis 9) im Test vom Typ III auf feste Effekte ein F-Wert von 0,125 ($p=0,998$) für den gesamten Untersuchungszeitraum.

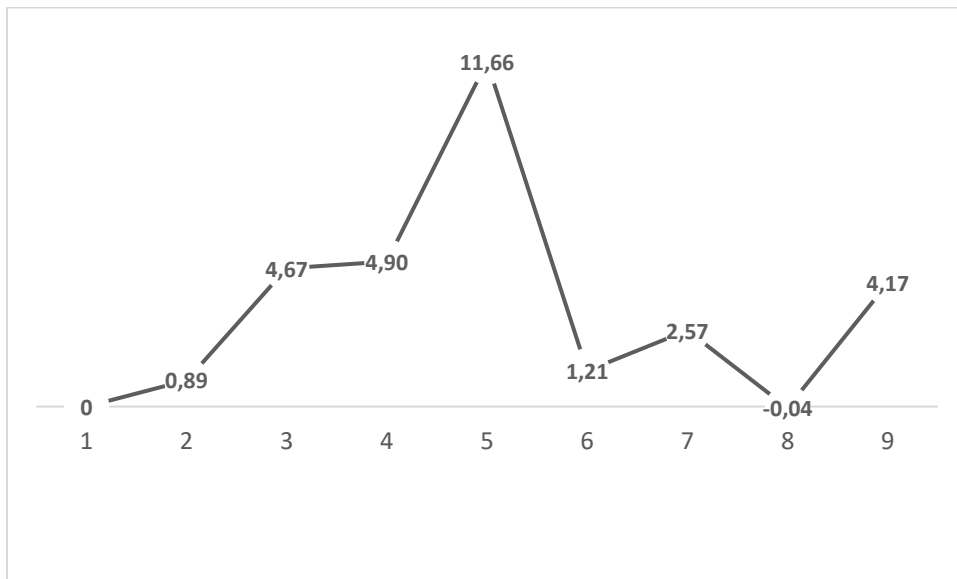


Abbildung 41 Absolute Veränderung vom Ausgangswert über den Untersuchungszeitraum

Auch der FEV1 Wert wurde in Prozent vom Sollwert berechnet, um das physiologische Wachstum der Kinder mit einzubeziehen. Im Vergleich zum Beginn des Untersuchungszeitraums ergibt sich eine leichte Verbesserung des FEV1 Wertes vom Soll von im Mittel 96,84% auf 101,2%. Der Median hingegen vermindert sich von 96% auf 94,45%. Somit fällt auf, dass nur einzelne Patienten profitieren. Durchgehend besonders gute FEV1 Messungen weisen zwei der drei jüngeren Patienten auf (Patient 6 und 7).

4.10.2 FVC -Messung

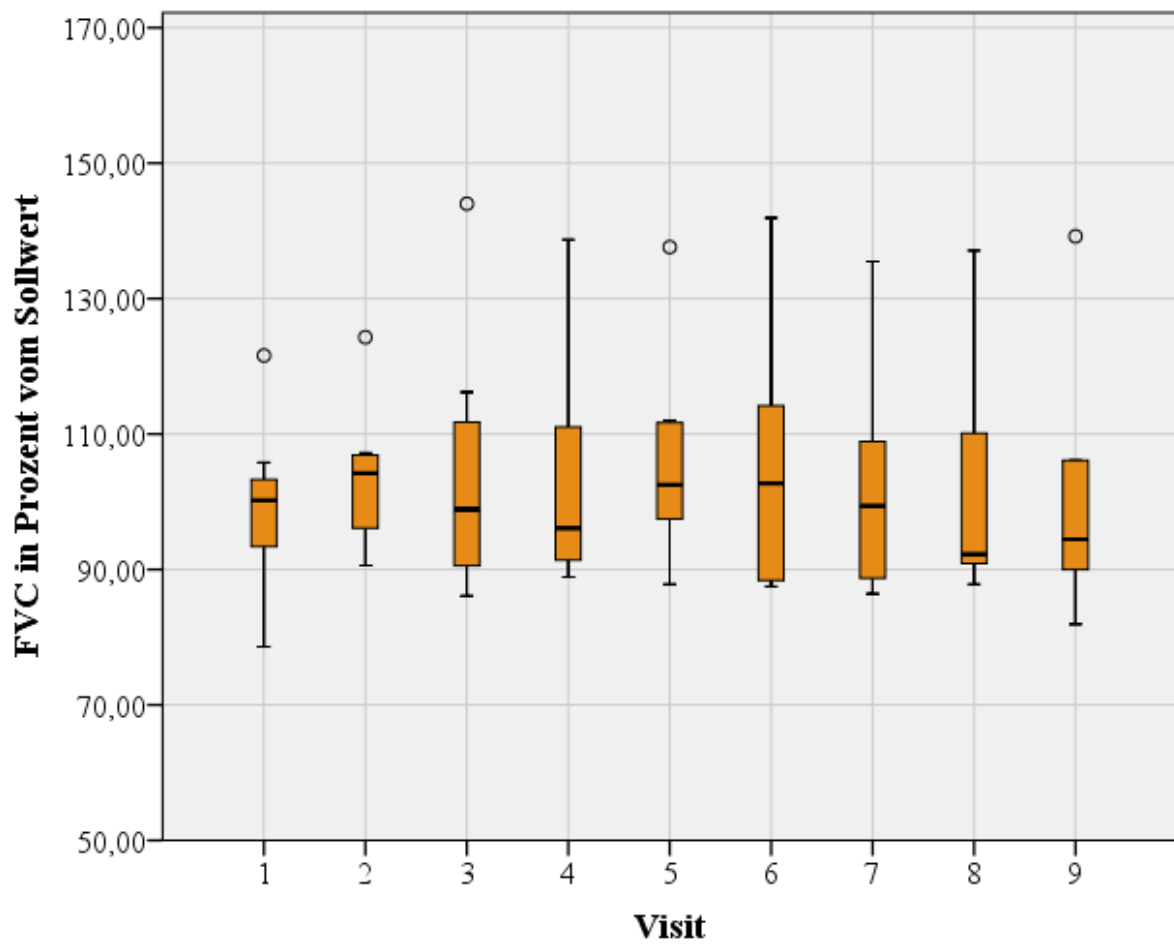


Abbildung 42 FVC in Prozent vom Soll für den Untersuchungszeitraum; n=7 ab Visit 6 n= 6; Ausreißer nach oben kommen durch Patient 6 zustande

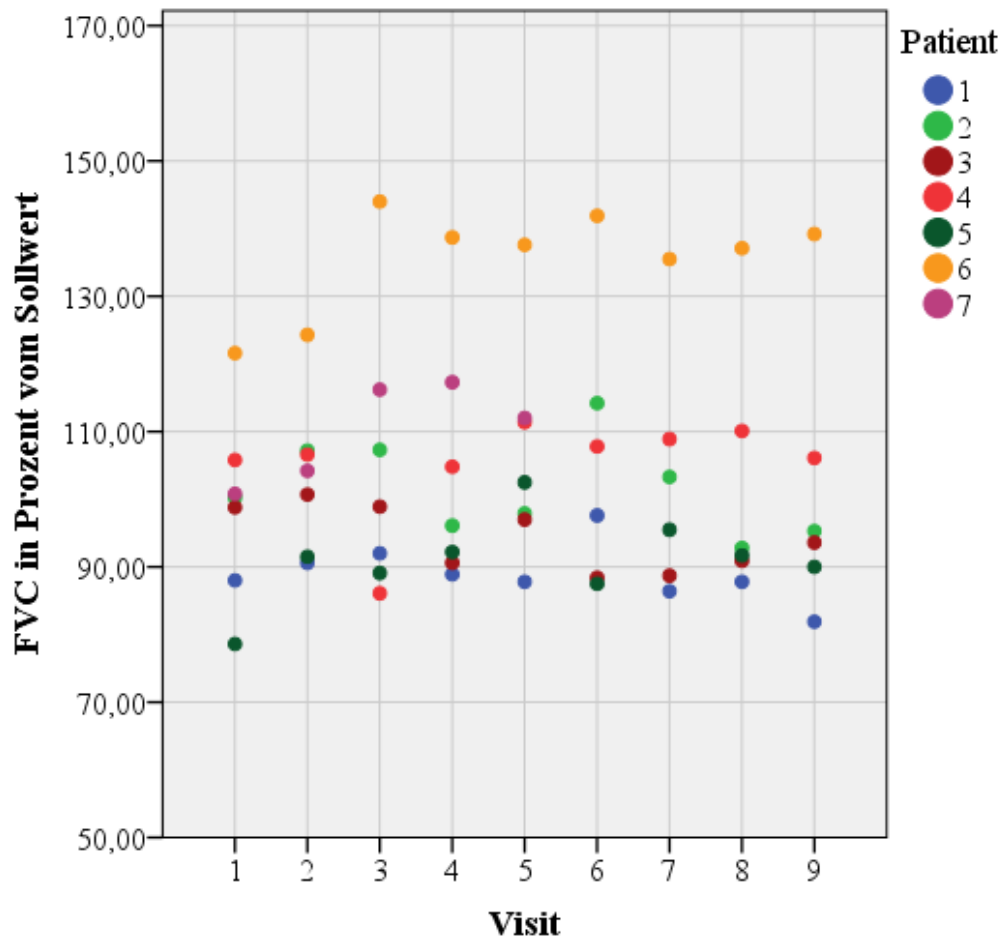


Abbildung 43 FVC in Prozent vom Soll für den Untersuchungszeitraum; n=7 ab Visit 6 n= 6

Tabelle 36 Deskriptive Statistik für FVC in Prozent vom Sollwert, n= Anzahl der Probanden; SD= Standardabweichung

Visit	1	2	3	4	5	6	7	8	9
n	7	7	7	7	7	6	6	6	6
Mittelwert (SD)	99,1 (12,5)	103,6 (10,5)	104,8 (16,9)	104,1 (16,9)	106,6 (14,9)	106,2 (18,6)	103,5 (16,5)	101,7 (17,4)	101,0 (18,5)
Median	100,2	104,2	98,9	96,1	102,5	102,7	99,4	92,25	94,45
25.- 75. Quartil	93,4 - 103,3	96,1 - 106,9	90,6 - 111,8	91,4 - 111,1	97,5 - 111,7	90,7 - 112,6	90,4 - 107,5	91,1 - 105,8	90,9 - 103,4

Tabelle 37 ANOVA mit Messwiederholung für Visit 1 bis Visit 5

Parameter	Signifikanz p nach Greenhouse-Geisser	partielles Eta-Quadrat nach Greenhouse-Geisser	Effektstärke nach Cohen's f	Sphärizität Mauchly-Test
FVC in % vom Soll	0,39	0,15	0,42	0,16

Bei der ANOVA mit Messwiederholung für die ersten 5 Visits ergibt sich keine signifikante Verbesserung ($p=0,39$). Das gleiche gilt auch für den gepaarten T-Test im Vergleich von Visit 1 und Visit 9 (schwache Effektstärke nach Cohen's d_z von $|0,2|$; $p=0,616$).

Im allgemeinen linearen Modell ergab sich im Untersuchungszeitraum (Visit 1 bis 9) im Test vom Typ III auf feste Effekte ein F-Wert von 0,128 ($p=0,998$) für den gesamten Untersuchungszeitraum.

Aus der Divergenz von dem sich verschlechternden Median (Visit 1: 100,2; Visit 9: 94,45) und dem sich verbessernden Mittelwert (Visit 1: 99,1; Visit 9: 101) wird ersichtlich, dass einzelne Patienten profitierten, aber nicht bei allen Patienten Verbesserungen eintraten.

4.10.3 LCI-Messung

Die Erhebung der LCI-Werte konnte nur sehr unvollständig durchgeführt werden, da die Compliance der Patienten oft nicht ausreichend war. Die folgende Grafik zeigt, die vorhandenen Patientendaten bei diesen Messungen. Ein Patient musste auf Grund von multiresistenter Keimbeseidlung von allen LCI-Messungen ausgeschlossen werden. Die Messungen wurden in Triplikaten durchgeführt und der gemittelte Messwert nur akzeptiert, wenn die einzelnen Versuche sich nicht mehr als 10% von einander unterscheiden.

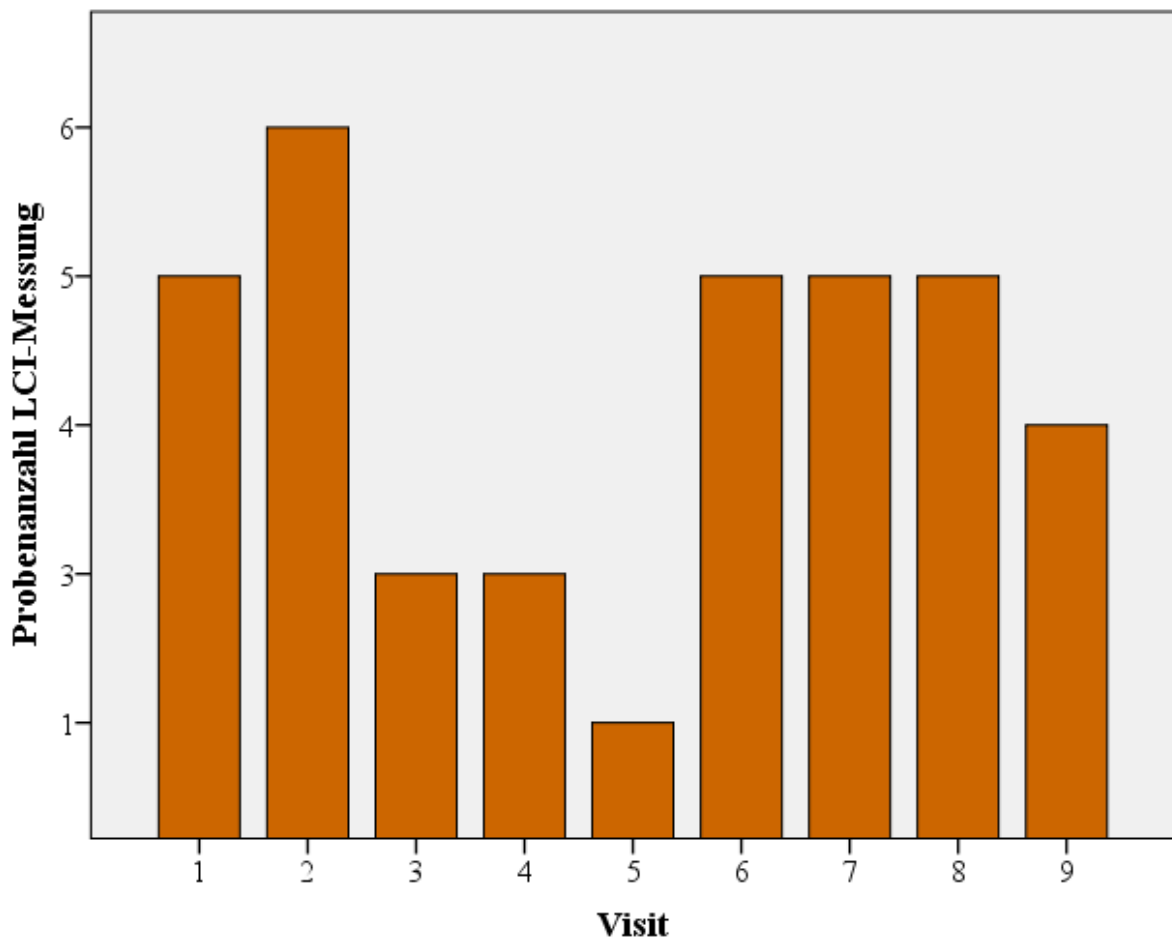


Abbildung 44 Darstellung der vorhandenen LCI-Messungsergebnisse; n=6 ab Visit 6 n= 5

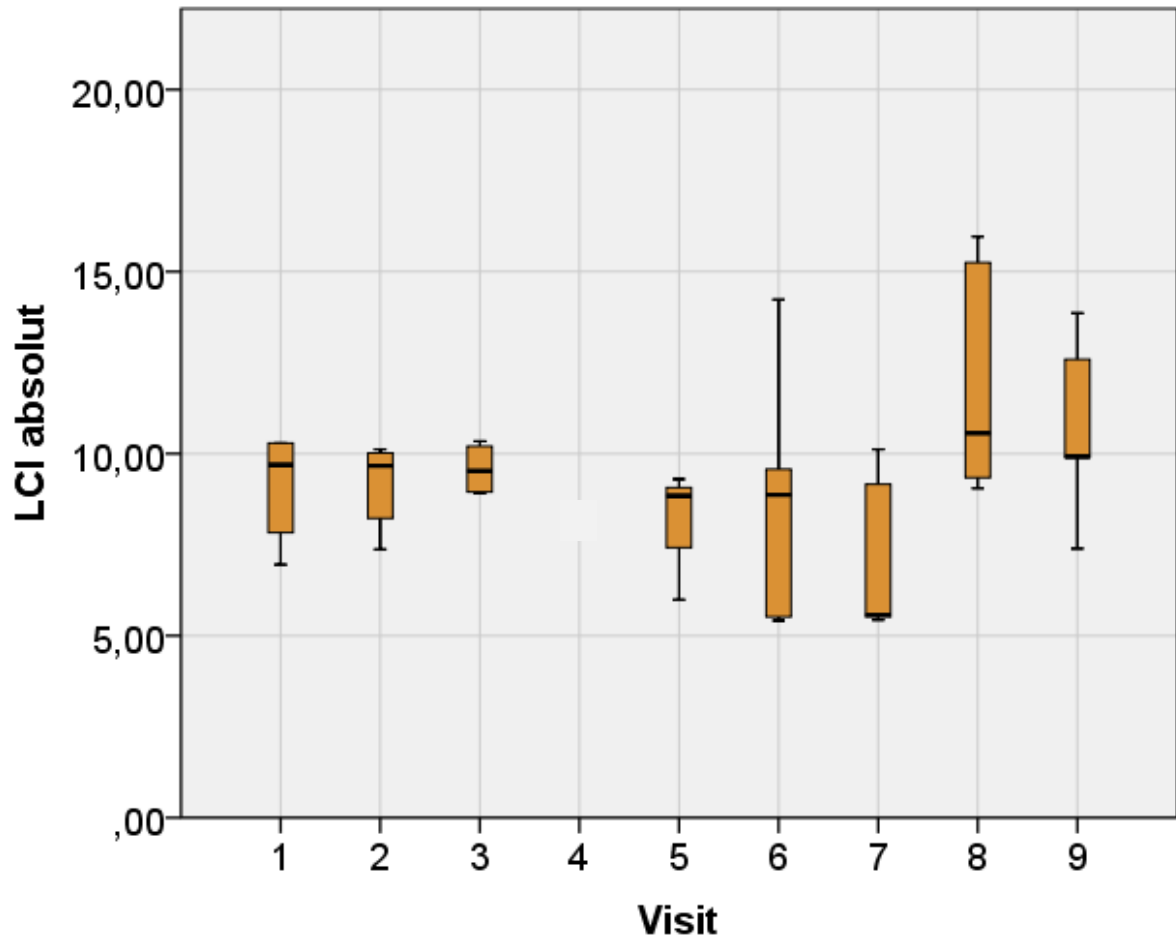


Abbildung 45 Darstellung der LCI Messung in absoluten Werten, ohne Visit 4, da hier zu wenig Daten für die Darstellung im Boxplot vorlagen; n= 7 ab Visit 6 n=6

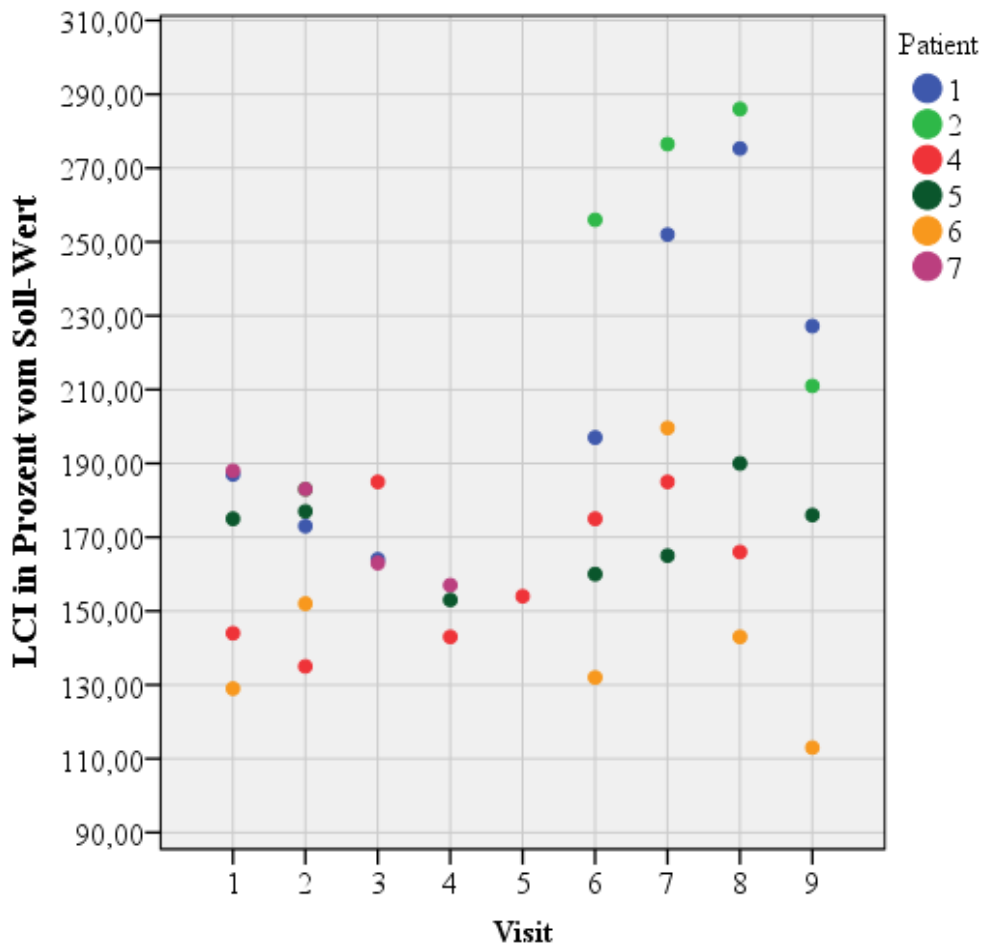


Abbildung 46 Darstellung der LCI-Messung in Prozent vom Sollwert

Tabelle 38 Mittelwert und Median der LCI Messung in Prozent vom Soll; n=6; ab Visit 6 n=5

Visit	1	2	3	4	6	7	8	9
Mittelwert (SD)	164,6 (23,87)	167,17 (17,78)	170,67 (10,14)	151 (5,89)	184 (41,75)	215,62 (41,92)	212,06 (41,92)	181,8 (43,82)
Median	175	175	164	153	175	199,6	190	193,5
25. - 75. Quartil	144 - 187	157,25 - 181,5	163,5 - 174,5	148 - 155	160 - 197	185 - 252	166 - 275,3	160,25 - 215,1

Die ANOVA mit Messwiederholung konnte auf Grund fehlender Daten nicht durchgeführt werden.

Der LCI Wert erhöhte sich im Median von 175 auf 193,5. Es ergab sich aber keine signifikante Verbesserung im gepaarten T-Test (mittlerer Effekt nach Cohen's $d_z = |0,29|$; $p=0,664$ für Visit 1 und 9);

Im allgemeinen linearen Modell ergab sich im Untersuchungszeitraum (Visit 1 bis 9) im Test vom Typ III auf feste Effekte ein F-Wert von 1,07 ($p=0,408$) für den gesamten Untersuchungszeitraum.

Ein Zusammenhang von LCI und FEV1 in % vom Soll konnte mittels Spearman-Korrelation nachgewiesen werden. (Spearman-Rho Koeffizient: $-0,415$; $p=0,032$)

4.11 Symptome und Nebenwirkungen

4.11.1 Symptom-Fragebogen

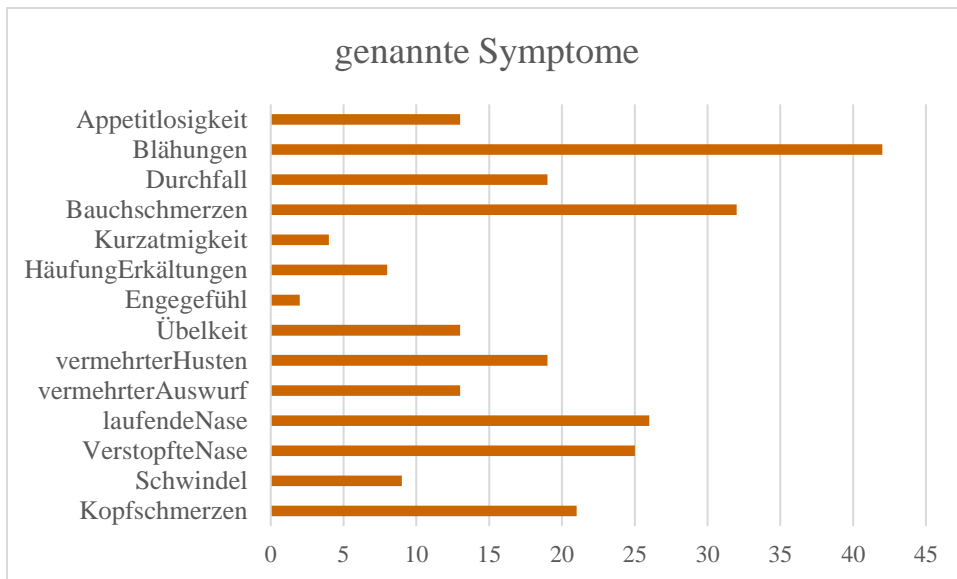


Abbildung 47 genannte Symptome zusammengefasst über alle Visits, dargestellt wird die absolute Häufigkeit, wie sie von Patienten im Fragebogen beantwortet worden ist; n=7 ab Visit 6 n=6

Da im Fragebogen nach Symptomen der letzten 3 Monate gefragt wird, sollten die Ergebnisse zum Visit 1 als Grundlage gesehen werden, um die Veränderungen auf das Medikament zurückzuführen. Die Fragebögen wurden von den Eltern der Patienten ausgefüllt.

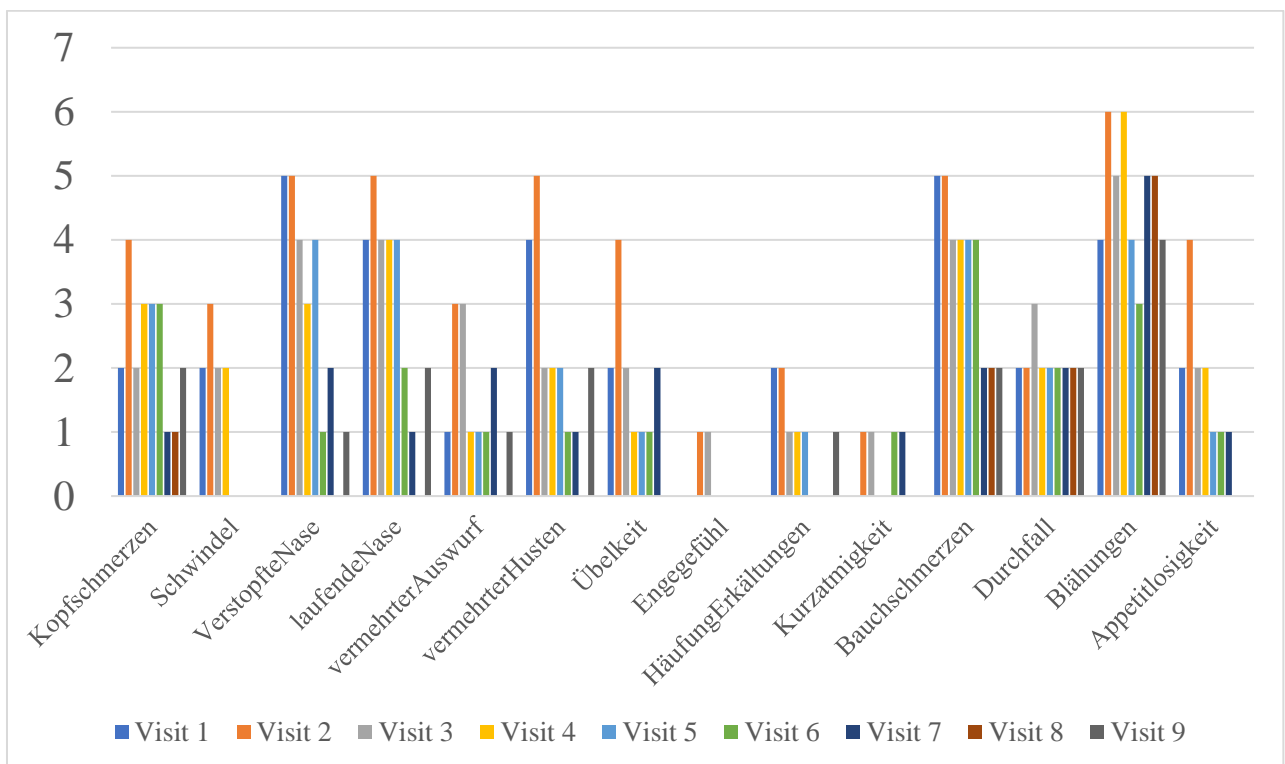


Abbildung 48 Absolute Anzahl der genannten Symptome über alle Visits; n=7 ab Visit 6 n = 6

Aus Abbildung 48 wird dabei ersichtlich, dass Symptome wie Kopfschmerzen, laufende Nase oder Blähungen während des ersten halben Jahres der Therapie mit Lumacaftor/Ivacaftor zu nehmen, danach aber stark rückläufig sind und unter das berichtete Ausgangsniveau vor Therapie fallen. Somit bewirkt die Therapie, dass CF-typische begleitende Symptome vermindert werden.

4.11.2 Leberwertveränderung als Nebenwirkung

Da in einigen Studien (z.B. (Milla et al., 2017)) Leberwerterhöhungen bei der Einnahme von Lumacaftor/Ivacaftor gefunden wurden, erfolgten in den zwei Untersuchungsjahren regelmäßige Kontrollen.

Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT; AST)

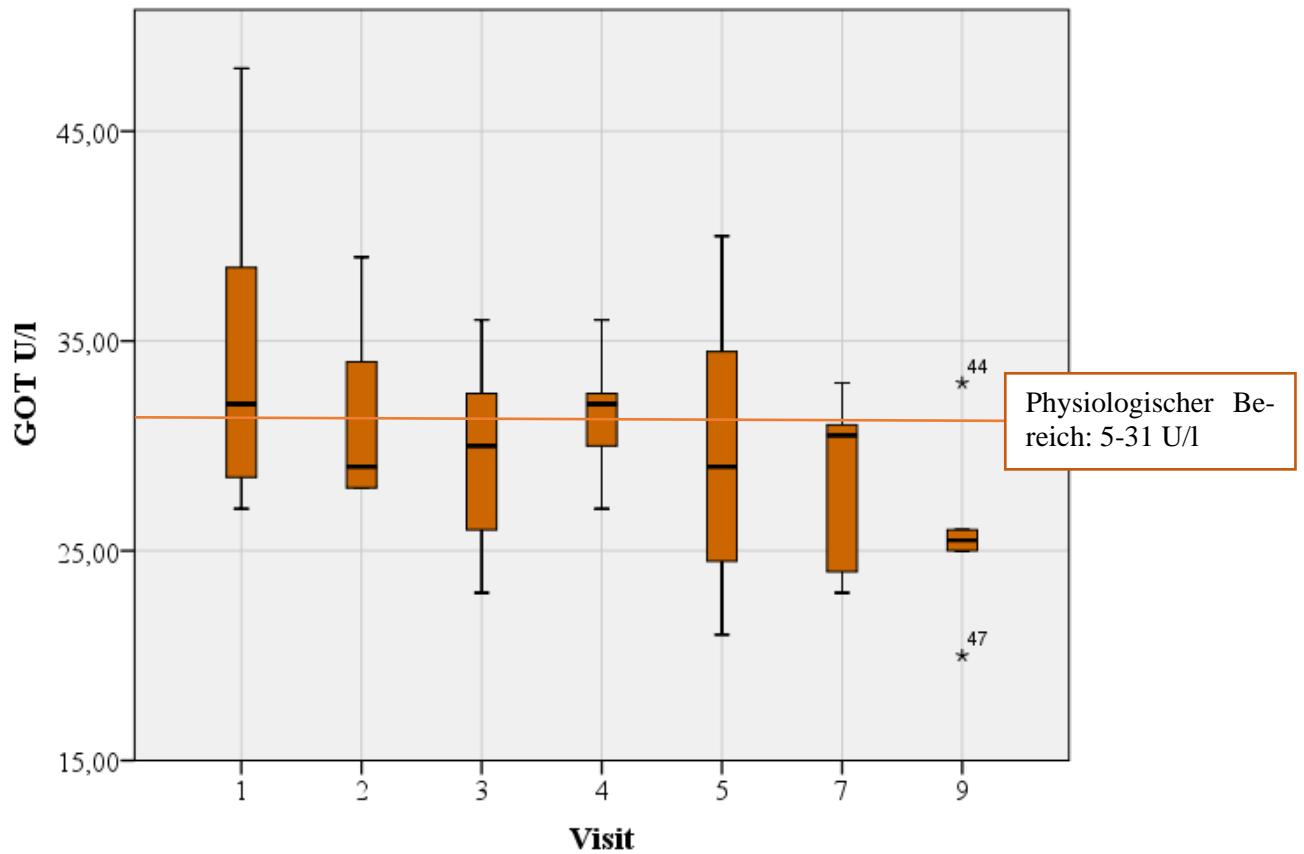


Abbildung 49 Darstellung der GOT Konzentration über den Untersuchungszeitraum; n= 7 ab Visit 6 n=6

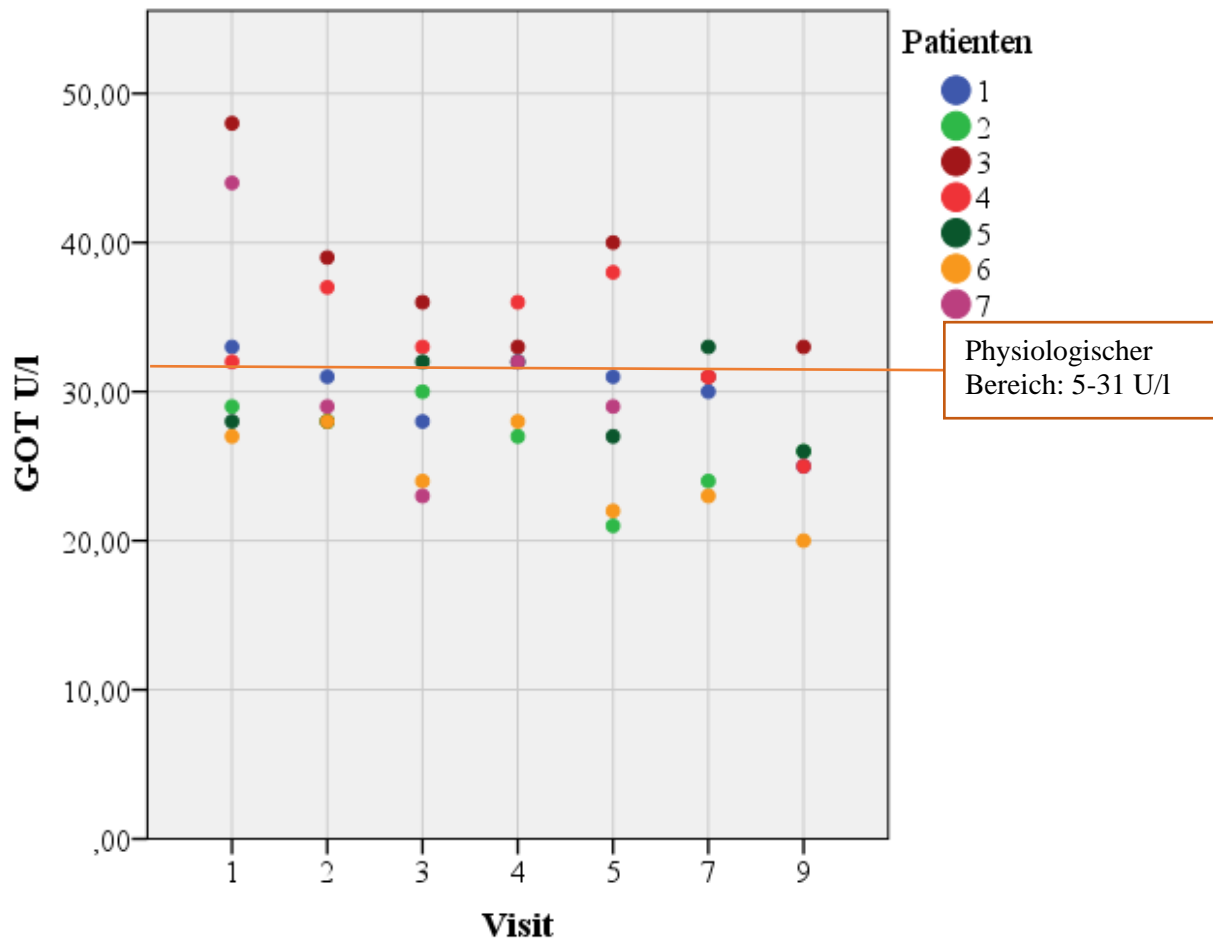


Abbildung 50 Darstellung der GOT Konzentration über den Untersuchungszeitraum

Tabelle 39 Veränderung der GOT (U/l) im Mittel und Median

Visit	1	2	3	4	5	7	9
n	7	7	7	7	7	6	6
Mittelwert	34,4 (7,7)	31,4 (4,3)	29,4 (4,4)	31,4 (2,8)	29,7 (6,8)	28,7 (3,8)	25,8 (3,8)
Median	32	29	30	32	29	30,5	25,5
25. - 75.Quartil	28,5 - 38,5	28,0 - 34,0	26,0 - 32,5	30,0 - 32,5	24,5 - 34,5	25,5 - 31,0	25,0 - 26,0

Tabelle 40 ANOVA mit Messwiederholung für Visit 1 bis Visit 5

Parameter	Signifikanz p nach Greenhouse-Geisser	partielles Eta-Quadrat nach Greenhouse-Geisser	Effektstärke nach Cohen's f	Sphärizität Mauchly-Test
GOT	0,048	0,401	0,82	0,16

Bei der Berechnung der ANOVA mit Messwiederholung ergab sich ein signifikanter starker Effekt nach Cohen's f von 0,82 ($p=0,048$). 40,1% der Veränderung sind auf die Wirkung des Medikaments zurückzuführen.

Im Median nahm die GOT von 32 U/l auf 25,5 U/l ab.

Im T-Test konnte eine signifikante Abnahme und ein starker Effekt nachgewiesen werden (starker Effekt nach Cohen's $d_z = 1,52$; $p=0,014$).

Im allgemeinen linearen Modell ergab sich im Untersuchungszeitraum (Visit 1 bis 9) im Test vom Typ III auf feste Effekte ein F-Wert von 1,53 ($p=0,194$) für den gesamten Untersuchungszeitraum.

Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT; ALT)

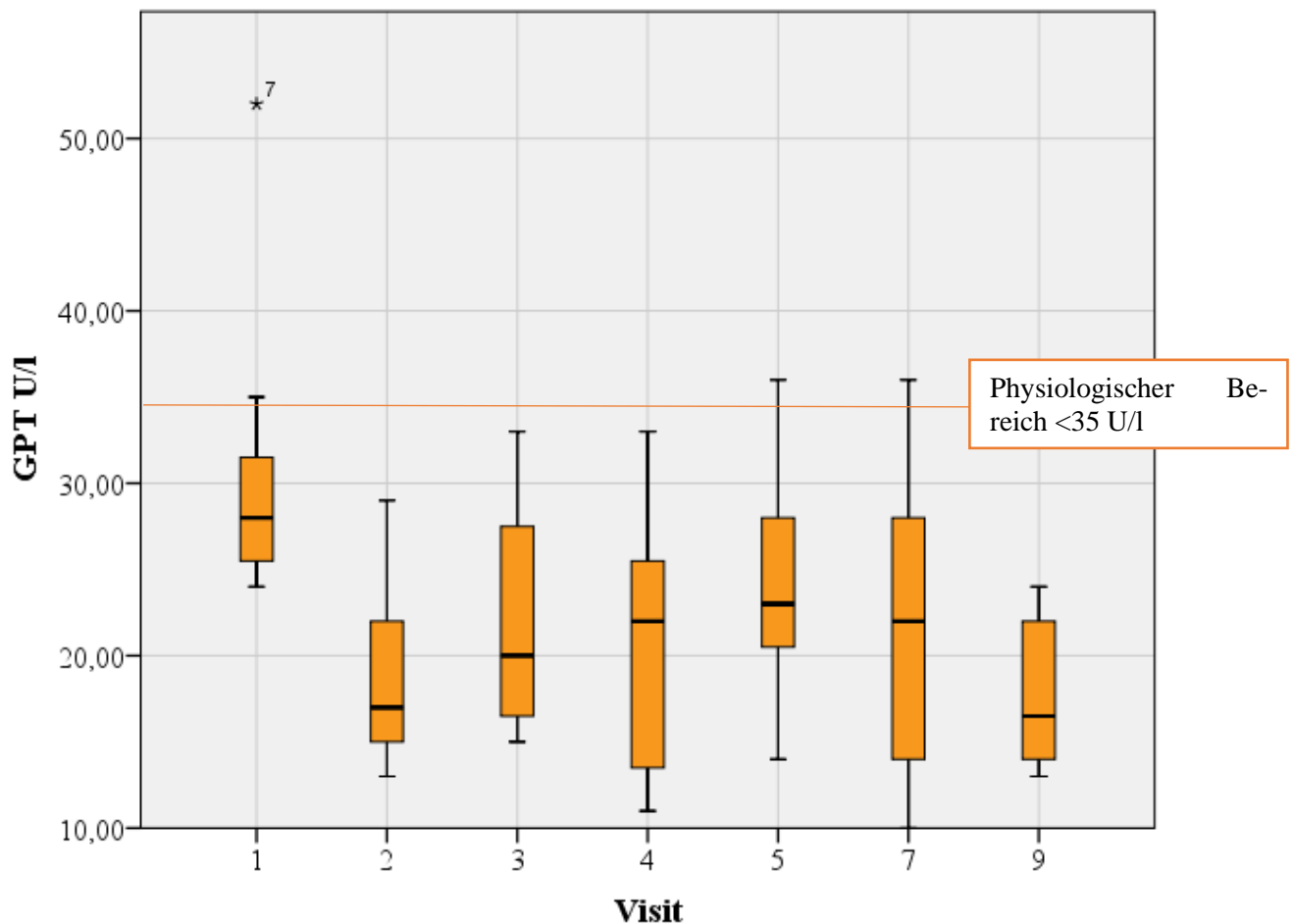


Abbildung 51 Konzentration der GPT über den Untersuchungszeitraum; n= 7 ab Visit 6 n=6

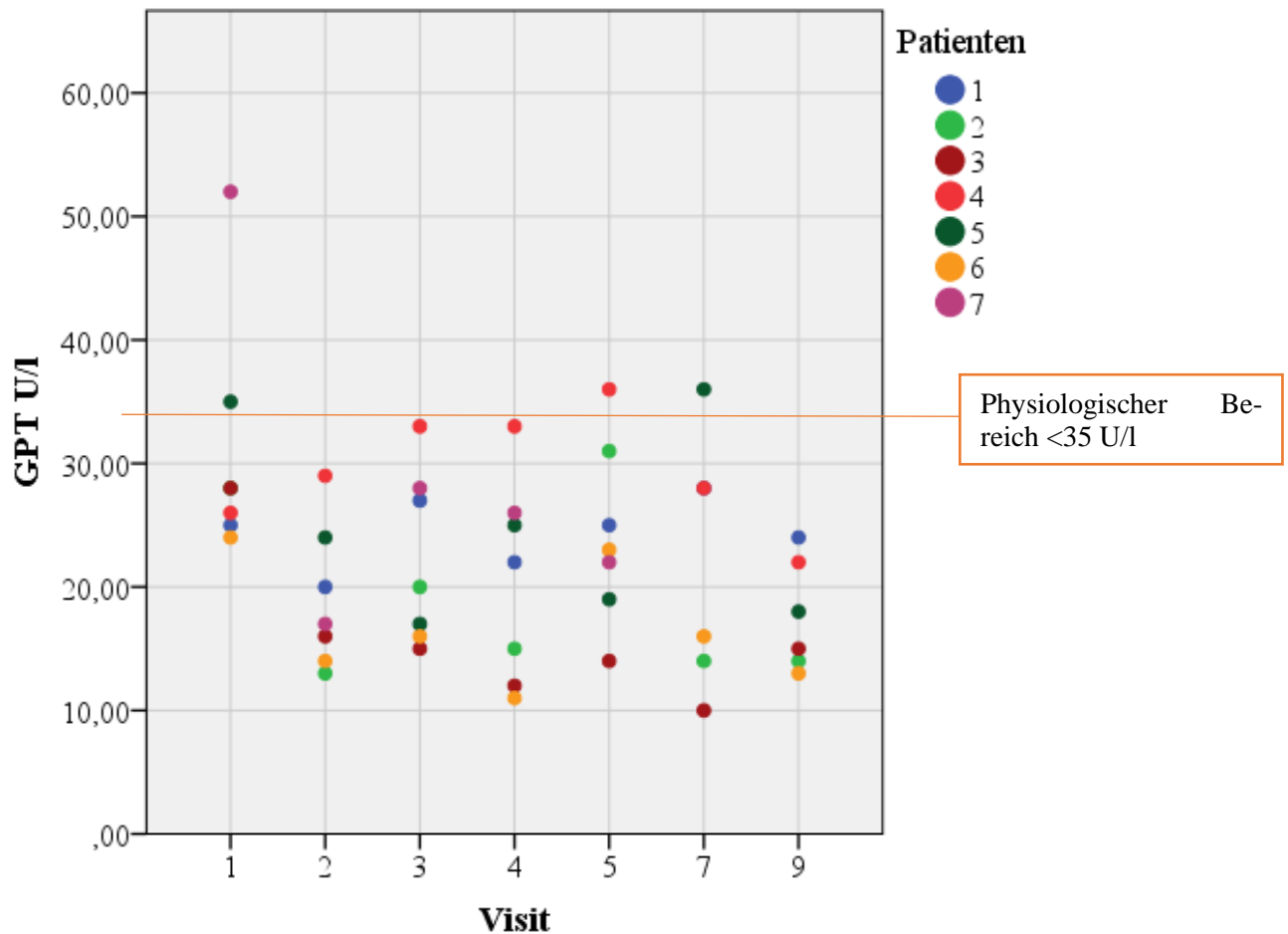


Abbildung 52 Darstellung der GPT Konzentration über den Untersuchungszeitraum

Tabelle 41 Mittelwert (SD= Standardabweichung) und Median mit Quartile, n=7, ab Visit 7 n=6

Visit	1	2	3	4	5	7	9
n	7	7	7	7	7	6	6
Mittelwert	31,14 (9,14)	19 (5,35)	22,29 (6,5)	20,57 (7,58)	24,29 (6,8)	22 (9,24)	17,67 (4,11)
Median	28	17	20	22	23	22	16,5
25.-75. Quartil	25,50- 31,50	15,00- 22,00	16,50- 27,50	13,50- 25,50	20,50- 28,00	14,50- 28,00	14,25- 21,00

Im Median nahm die Konzentration der GPT 28U/l (Visit 1) auf 16,5 U/l (Visit 9) ab.

Tabelle 42 Auswertung der ANOVA mit Messwiederholung für Visit 1 bis 5 für die GPT Konzentration; n=7

Parameter	Signifikanz p nach Greenhouse-Geisser	partielles Eta-Quadrat nach Greenhouse-Geisser	Effektstärke nach Cohen's f	Sphärizität Mauchly-Test
GPT	0,048	0,401	0,82	0,345

Im ersten Untersuchungsjahr (Visit 1 bis Visit 5) ergab sich für die Konzentration der GPT (U/l) eine signifikante Abnahme bei der Analyse mittels ANOVA mit Messwiederholung

($p=0,048$) mit großer Effektstärke nach Cohen's $f=0,82$. Auch hier können durch die Berechnung von Eta-Quadrat 40,1% der Veränderung auf das Medikament zurückgeführt werden.

Die Auswertung des T-Test von Visit 1 und 9 ergab ein Cohen's $d_z=1,614$ ($p=0,011$).

Im allgemeinen linearen Modell ergab sich im Untersuchungszeitraum (Visit 1 bis 9) im Test vom Typ III auf feste Effekte ein F-Wert von 2,202 ($p=0,63$) für den gesamten Untersuchungszeitraum.

4.12 Iontophorese

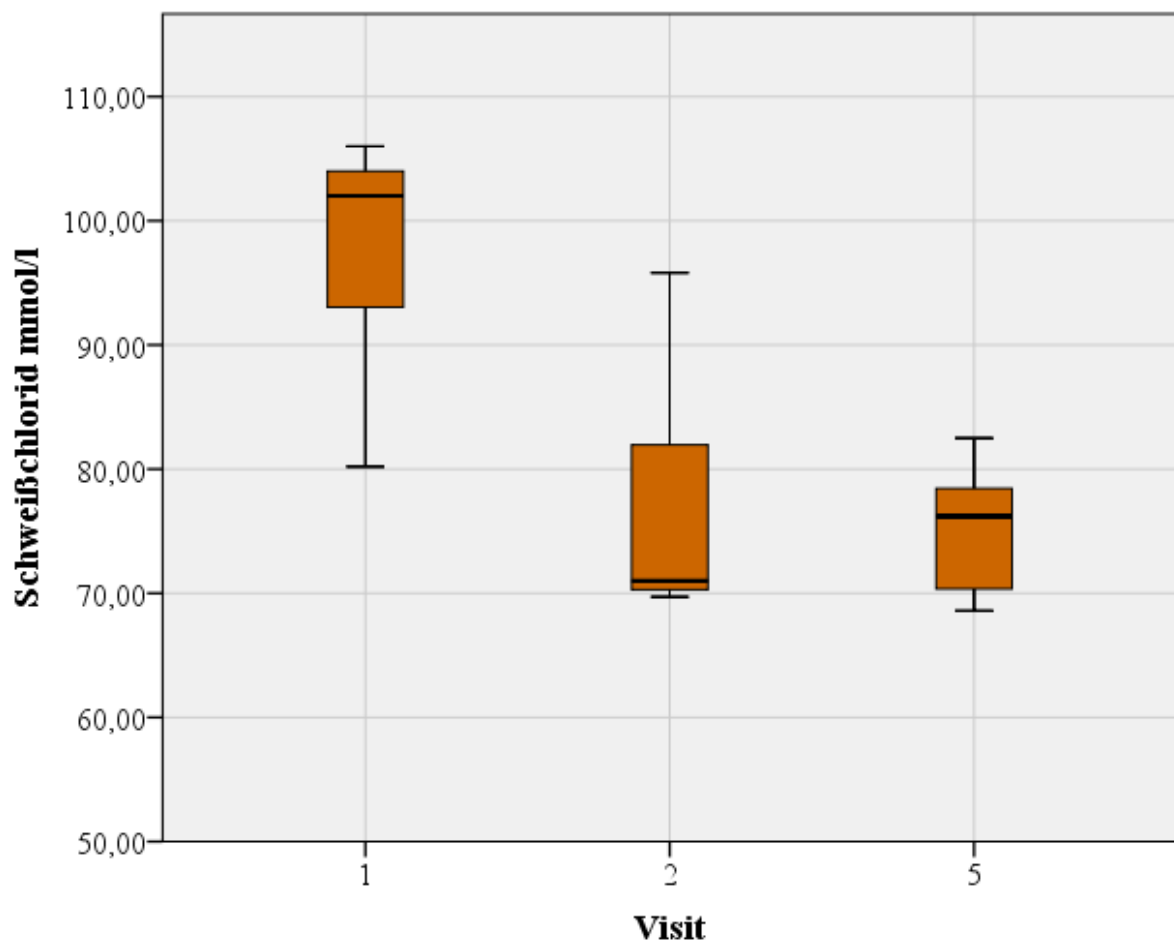


Abbildung 53 Darstellung der signifikanten Abnahme der Schweißchlorid-Konzentration im ersten Untersuchungsjahr, $n=7$;

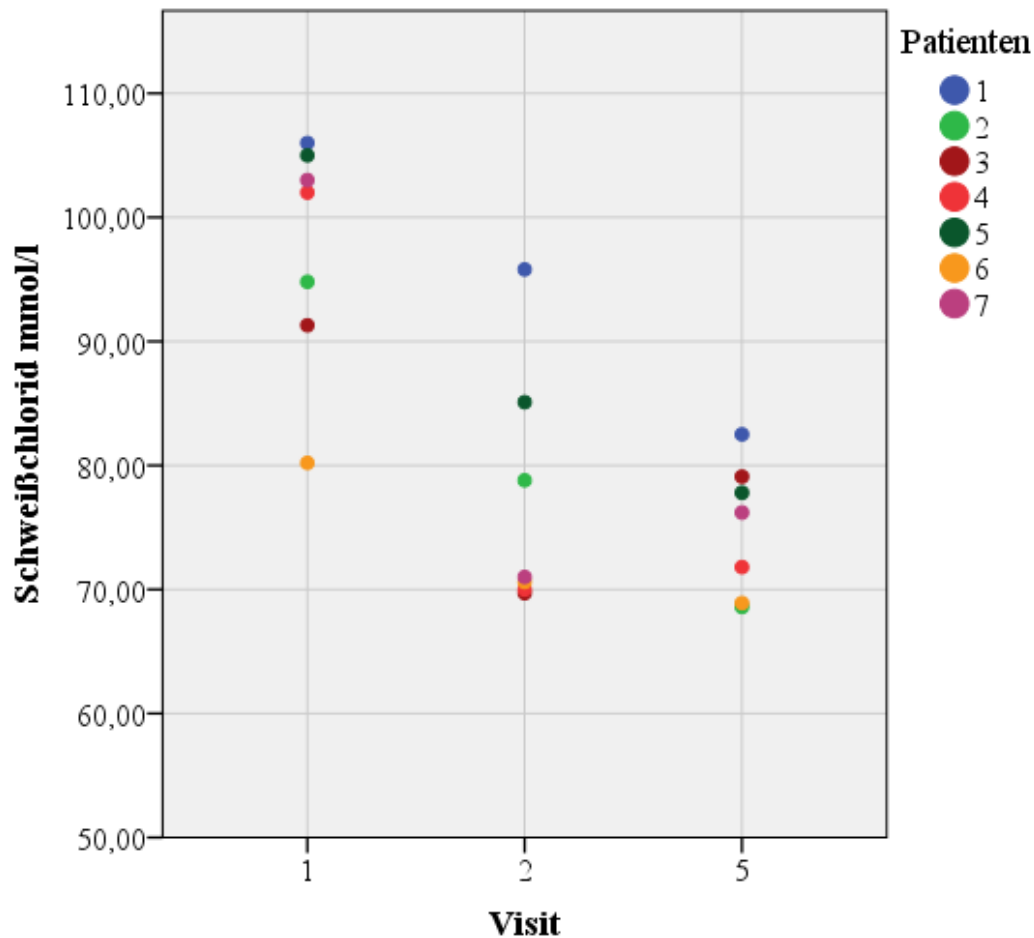


Abbildung 54 Darstellung der einzelnen Messwerte der Schweißchlorid-Messung im ersten Untersuchungs-jahr

Tabelle 43 Mittelwert und Median der Schweißchlorid-Messung

	V1	V2	V5
Mittelwert	97,4714286	77,2857143	74,9857143
Median	102	71	76,2
25. - 75.Quartil	93,05 - 104	70,3 - 81,95	70,35 - 78,45

Tabelle 44 Auswertung der ANOVA mit Messwiederholung; n=7

Parameter	Signifikanz p nach Greenhouse-Geisser	partielles Eta-Quadrat nach Greenhouse-Geisser	Effektstärke nach Cohen's f	Sphärizität MauchlyTest
Schweißchlorid (mmol/l)	0,001	0,834	2,24	0,879

Bei der Iontophorese ergab sich eine signifikante Abnahme der gemessenen Schweißchlorid Konzentration von im Median 102 mmol/l auf 76,2 mmol/l beim 5. Untersuchungszeitpunkt. Die Analyse ergab ein Cohens'f von 2,24, was für einen starken Effekt des Medikaments

spricht. Dadurch wird die Modulation der Funktionsfähigkeit des CFTR-Modulators Lumacaftor/Ivacaftor gezeigt.

Die Schweißchlorid-Konzentration wurde nur im ersten Studienjahr erfasst.

4.13 Cystic fibrosis Questionnaire Revised

4.13.1 CFQR - Mittelwerte

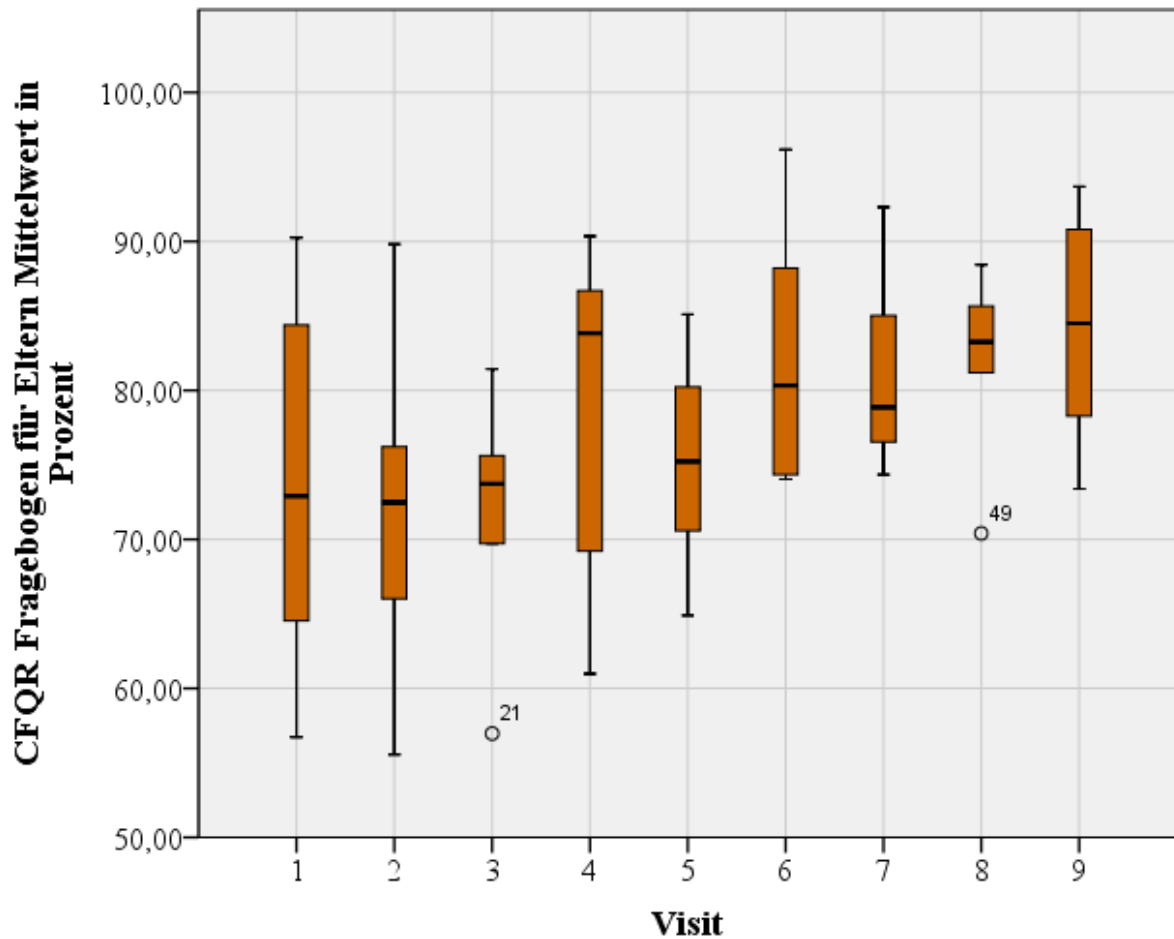


Abbildung 55 Mittelwerte aller Kategorien der einzelnen Eltern-Fragebogen dargestellt in Boxplots

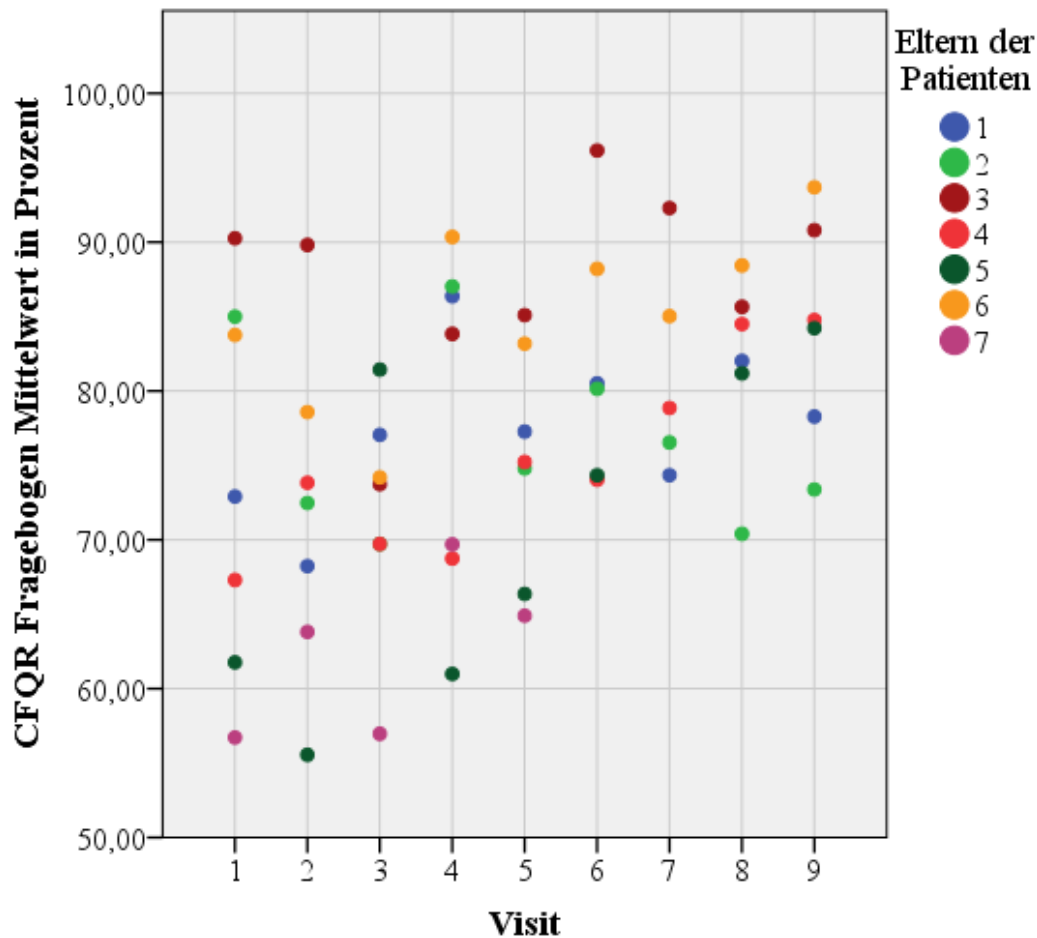


Abbildung 56 Mittelwerte aller Kategorien der einzelnen Eltern-Fragebogen

Tabelle 45 Deskriptive Statistik der Mittelwerte aller Kategorien des Eltern-Fragebogens; n=7 ab Visit 6 n=6

Visit	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9
n	7	7	7	7	7	6	6	6	6
Mittelwert	73,96	71,76	71,83	78,14	75,26	82,24	81,41	82,03	84,19
Median	72,91	72,48	73,74	83,84	75,23	80,33	78,86	83,26	84,50
Standardabweichung	11,80 2673	10,11 0359	7,1570 1674	10,569 4234	7,0747 0913	7,8142 1809	6,5072 7826	5,7175 2855	6,9038 8877

Im Median verbesserte sich Mittelwert über alle Kategorien des Elternfragebogens von 72,91% auf 84,50%. Es wurden also weniger Beschwerden mittels Fragebogen angegeben und die Erkrankung der Kinder als weniger belastend beschrieben

Tabelle 46 ANOVA mit Messwiederholung für Mittelwerte des Elternfragebogens

Parameter	Signifikanz p nach Greenhouse-Geisser	partielles Eta-Quadrat nach Greenhouse-Geisser	Effektstärke nach Cohen´s f	Sphärizität MauchlyTest
Mittelwert CFQR Eltern	0,38	0,15	0,42	0,05

Die Auswertung der ANOVA mit Messwiederholung ergab eine Effektstärke Cohen's $f = 0,42$ ($p = 0,38$).

Im gepaarten T-Test ergab sich für den Vergleich von Visit 1 mit Visit 9 ein mittlerer Effekt von Cohen's $d_z = |-0,6|$ ($p = 0,2$).

Im allgemeinen linearen Modell ergab sich im Untersuchungszeitraum (Visit 1 bis 9) im Test vom Typ III auf feste Effekte ein F-Wert von 1,71 ($p = 0,12$) für den gesamten Untersuchungszeitraum.

4.13.2 CFQR – Behandlungsaufwand

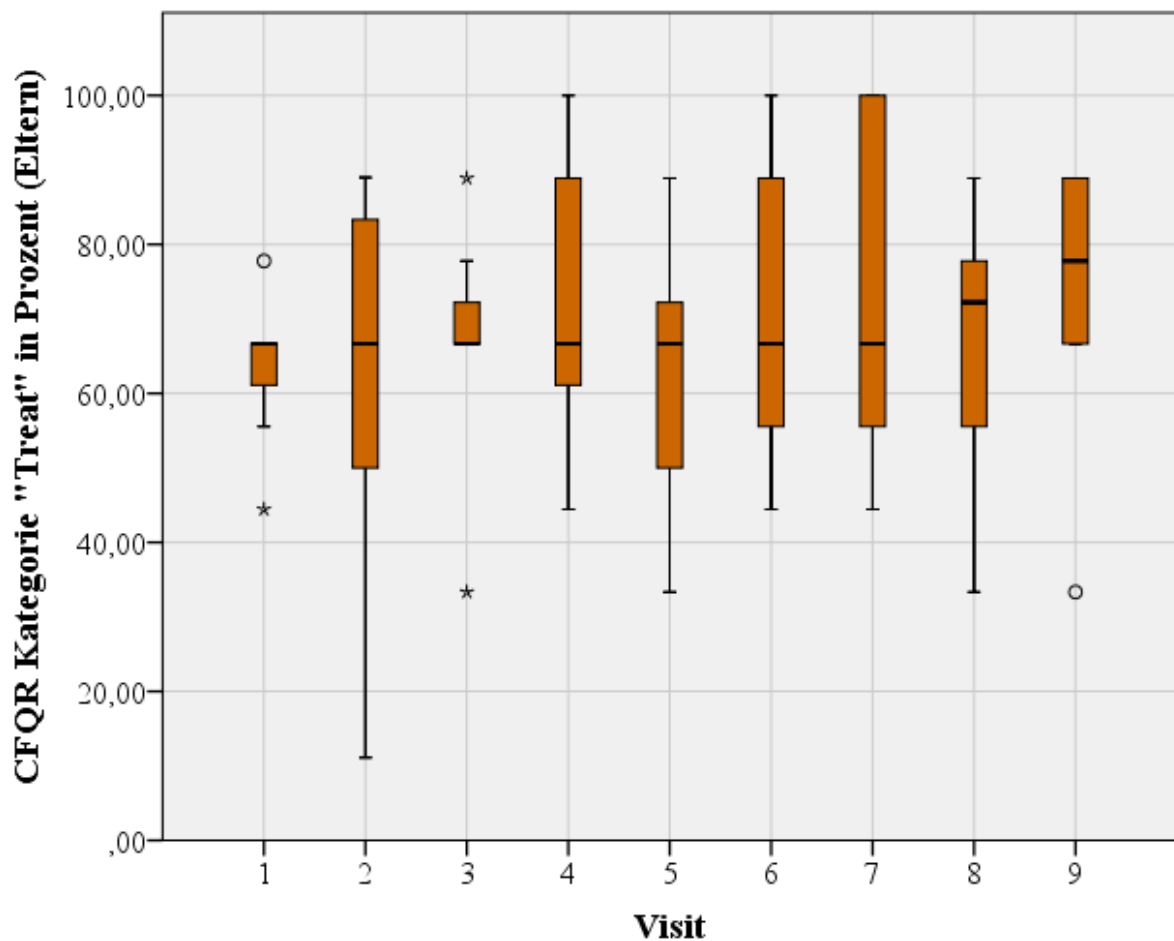


Abbildung 57 In der Kategorie "Treat" wurde die Aufwändigkeit der Behandlung widerspiegelt. Höhere Werte stehen dabei für weniger Aufwand. $n = 7$, ab Visit 6 $n = 6$

Tabelle 47 Deskriptive Statistik der Kategorie „Treat“; $n = 7$ ab Visit 6 $n = 6$

Visit	1	2	3	4	5	6	7	8	9
n	7	7	7	7	7	6	6	6	6
Mittelwert	50,27	49,16	52,96	58,01	49,48	70,37	73,3	66,67	72,22
Median	66,67	66,67	66,67	66,67	66,67	66,67	66,7	72,225	77,78
25. -75. Quartil	55,56 - 66,67	44,44 - 88,89	66,67 - 77,78	55,56 - 88,89	44,44 - 77,78	52,78 - 91,67	50 - 100	50,0 - 80,55	58,34 - 88,89

Der Median der Kategorie „Treat“ erhöhte sich von 66,67% auf 77,78% beim 9. Visit. Die Eltern empfinden demnach die Therapie ihrer Kinder als weniger aufwändig.

Tabelle 48 ANOVA mit Messwiederholung für die Kategorie „Treat“ des Elternfragebogens für Visit 1 - 5

Parameter	Signifikanz p nach Greenhouse-Geisser	partielles Eta-Quadrat nach Greenhouse-Geisser	Effektstärke nach Cohen´s f	Sphärizität MauchlyTest
Mittelwert CFQR Eltern	0,57	0,098	0,33	0,57

Für die Auswertung mittels ANOVA mit Messwiederholung ergab sich eine mittlere Effektstärke nach Cohen´s f = 0,33 ($p=0,57$).

Im T-Test für Visit 1 und 9 ergab sich ein Cohen´s $d_z = |-39|$ ($p=0,38$).

Im allgemeinen linearen Modell ergab sich im Untersuchungszeitraum (Visit 1 bis 9) im Test vom Typ III auf feste Effekte ein F-Wert von 0,335 ($p=0,95$) für den gesamten Untersuchungszeitraum.

Somit konnte keine signifikante Veränderung nachgewiesen werden.

4.13.3 CFQR- Respiratorische Symptome

In der Kategorie „Respiratory“ werden Probleme bei der Atmung abgefragt. Zum Beispiel ob die Patienten nachts durch Hustenzwang wach werden oder bei Belastung Luftnot verspüren.

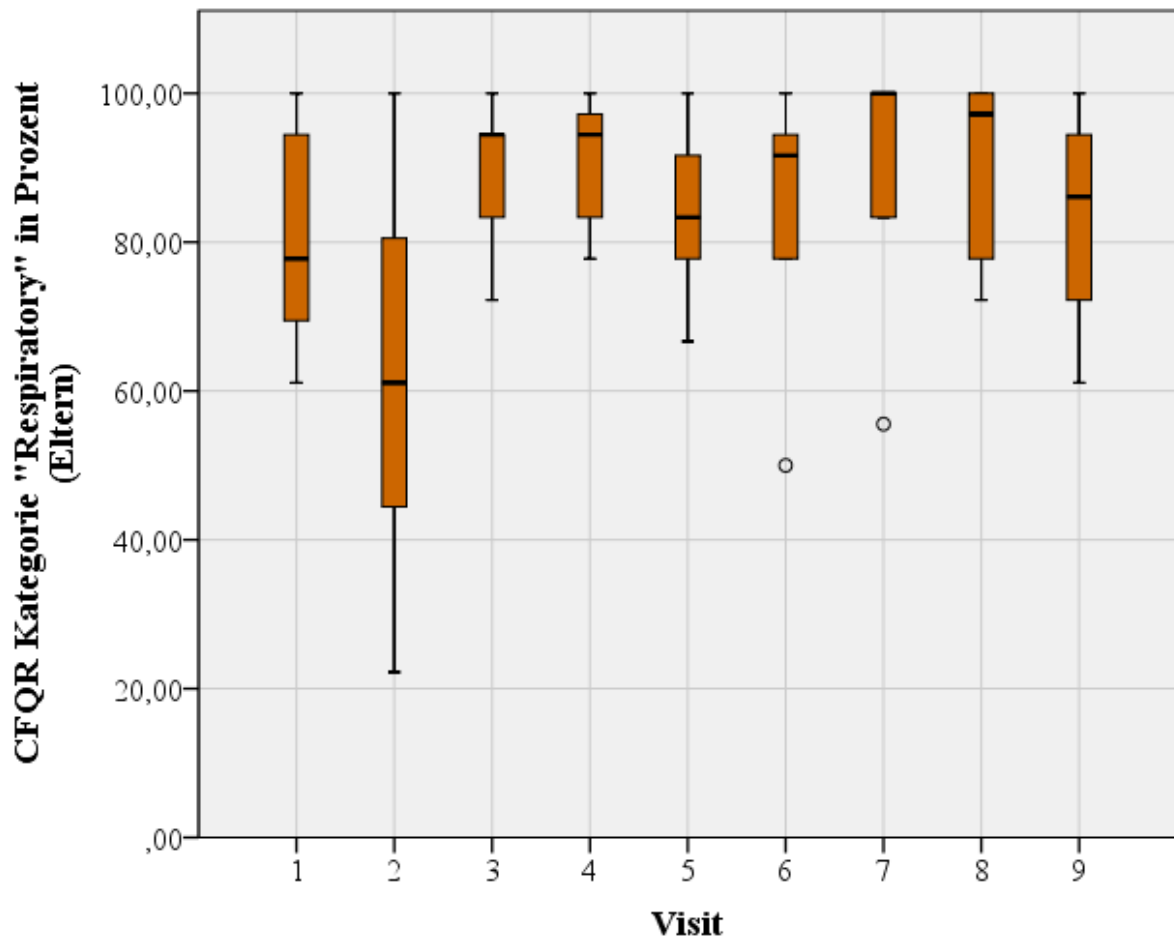


Abbildung 58 Auswertung der Kategorien "Respiratory" des Elternfragebogens. Es wurden das Auftreten von respiratorischen Symptomen abgefragt. n=7, ab Visit 6 n= 6

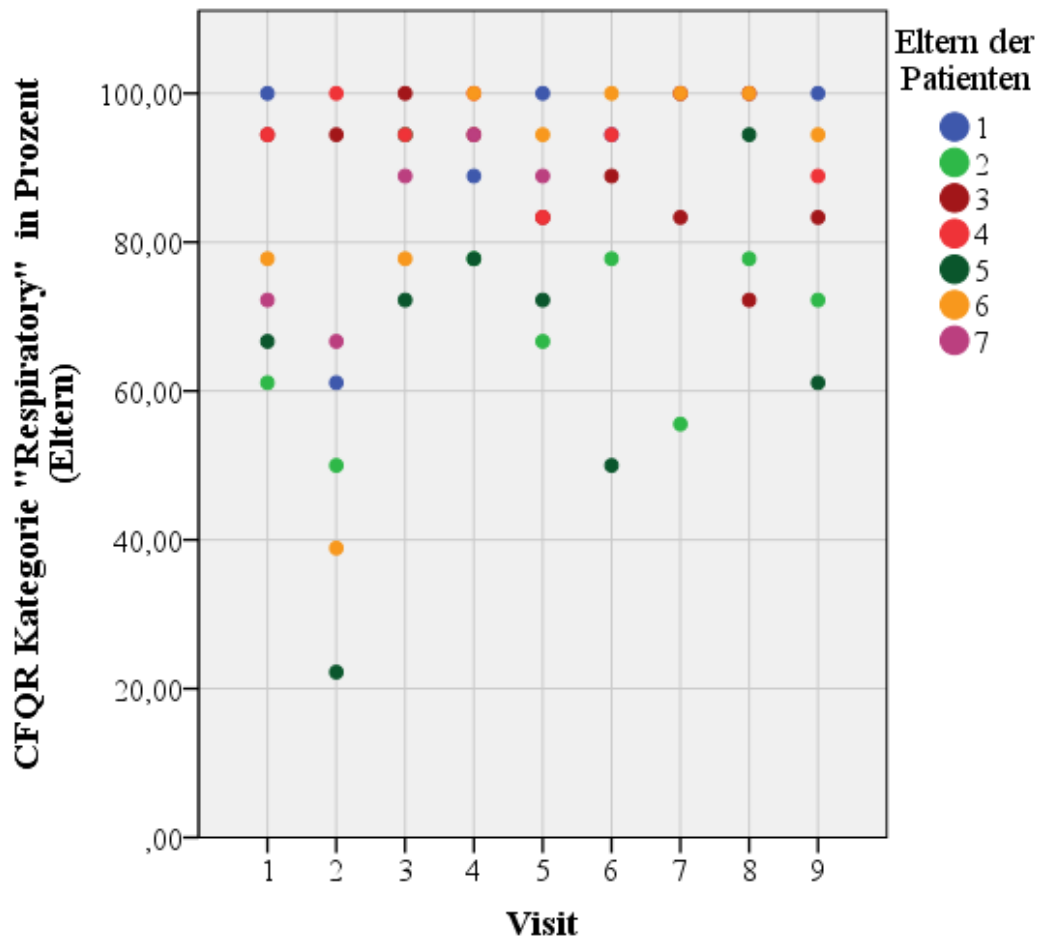


Abbildung 59 Auswertung der Kategorien "Respiratory" des Elternfragebogens. Es wurden das Auftreten von respiratorischen Symptomen abgefragt. n=7, ab Visit 6 n= 6

Tabelle 49 Deskriptive Statistik der Kategorie „Respiratory des Elternfragebogens“; n=7 ab Visit 6 n=6

Visit	1	2	3	4	5	6	7	8	9
n	7	7	7	7	7	6	6	6	6
Mittelwert	63,85	49,15	70,25	71,59	66,76	84,26	87,78	90,74	83,33
SD	14,2	26,13	9,39	8,76	10,88	16,79	17,35	11,42	13,23
Median	77,78	61,11	94,44	94,44	83,33	91,665	100	97,22	86,11
25.- 75. Quartil	66,67 - 94,44	38,89 - 94,44	77,78 - 94,44	77,78 - 100	72,22 - 94,44	70,84 - 95,83	69,45 - 100	76,39 - 100	69,44 - 95,83

Im Median verbesserte sich die Auswertung der respiratorischen Symptome, die von den Eltern bei der Beantwortung des CFQR angegeben wurden von 77,78% auf 86,11%. Eine Verbesserung der Kategorie „Respiratory“ um 4% wird als signifikant angesehen (Quittner et al., 2009).

Patient	Visit 1	Visit 2	Visit 5	Visit 9
1	100	61,11	100	100
2	61,11	50	66,67	72,22
3	94,44	94,44	83,33	83,33
4	94,44	100	83,33	88,89
5	66,67	22,22	72,22	61,11
6	77,78	38,89	94,44	94,44
7	72,22	66,67	88,89	

Abbildung 60 Die Abbildung zeigt die signifikanten Veränderungen nach 90 Tagen (Visit 2), einem Jahr (Visit 5) und zwei Jahren (Visit 9). Grün markierte Flächen zeigen signifikante Verbesserungen im Vergleich zu Visit 1 (vor Medikamenteneinnahme) für die einzelnen Patienten. Rote Flächen zeigen signifikante Verschlechterungen. Verwendet wurde der Elternfragebogen.

Durch Abbildung 60 wird ersichtlich, dass in 71,4% der Fälle zuerst eine respiratorische Verschlechterung durch die Eltern berichtet wurde. 42,8% der Patienten profitieren dauerhaft von einer respiratorischen Verbesserung und genauso viele Patienten berichten eine Verschlechterung.

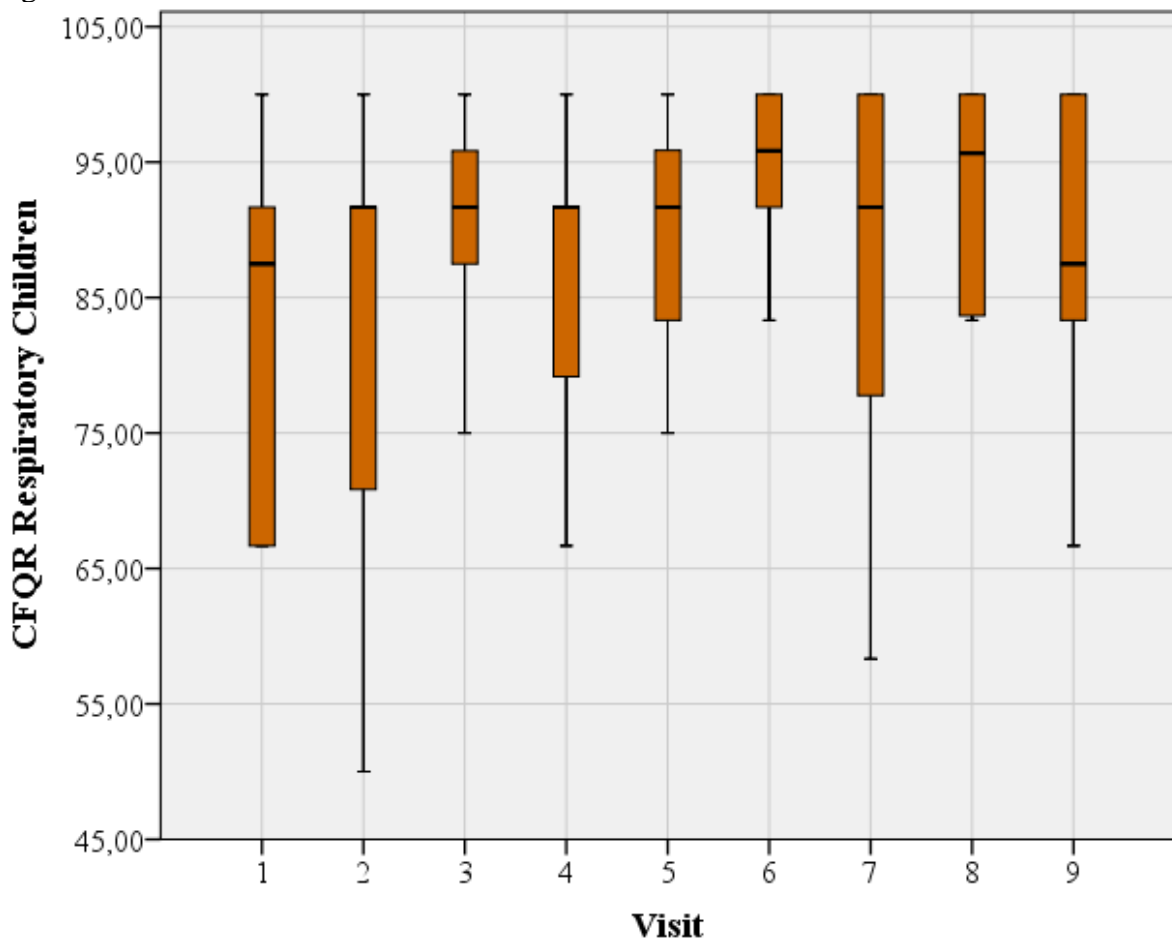


Abbildung 61 Auswertung der Kategorien "Respiratory" des Kinderfragebogens. Es wurden das Auftreten von respiratorischen Symptomen abgefragt. n=7, ab Visit 6 n= 6

Bei den Kinder-Fragebögen bleibt die Beantwortung der Kategorie „Respiratory“ hingegen konstant (Median 87,5%).

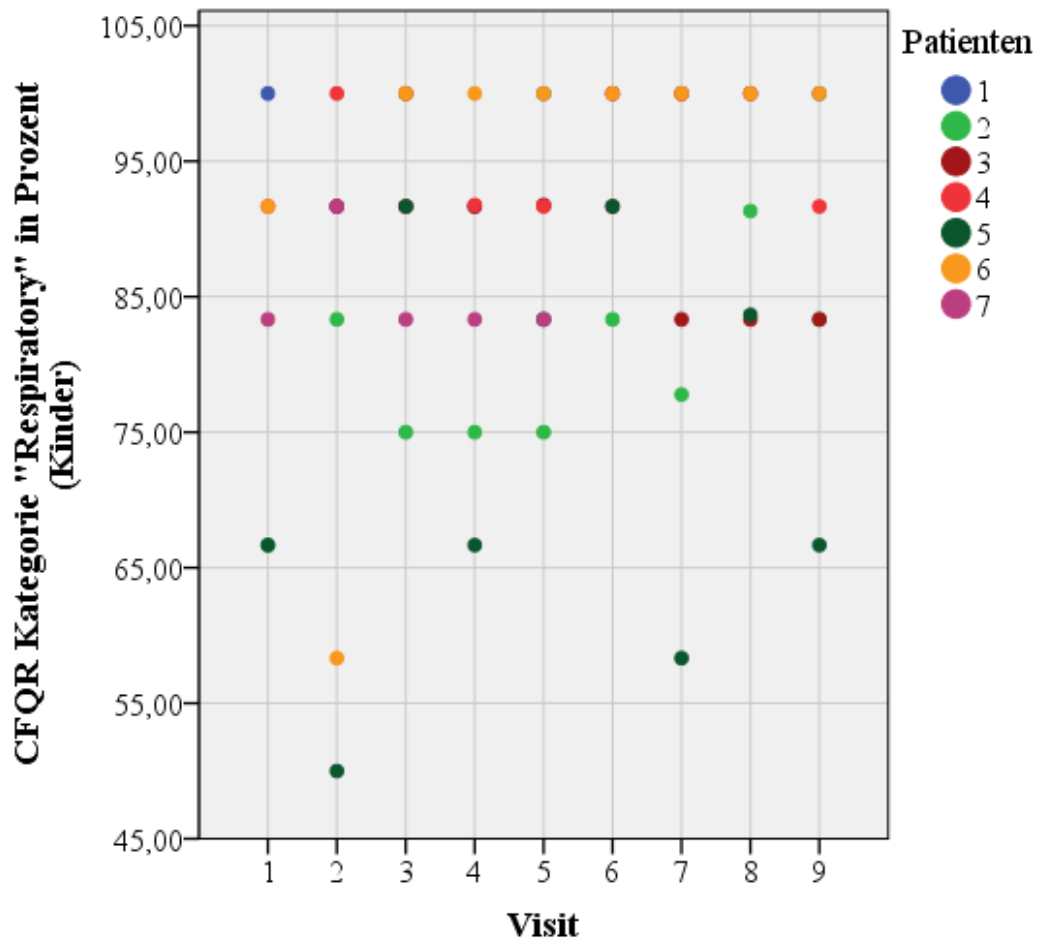


Abbildung 62 Auswertung der Kategorien "Respiratory" des Kinderfragebogens. Es wurden das Auftreten von respiratorischen Symptomen abgefragt. n=7, ab Visit 6 n= 6

Tabelle 50 deskriptive Statistik der Kategorie "Respiratory" des Kinderfragebogens

Visit	1	2	3	4	5	6	7	8	9
n	7	7	7	7	7	6	6	6	6
Mittelwert (SD)	83,33 (12,73)	80,95 (16,52)	90,48 (7,72)	85,73 (9,97)	89,30 (8,03)	94,45 (5,75)	86,60 (14,27)	93,05 (6,87)	87,5 (10,68)
Median	87,50	87,50	91,67	88,70	90,48	94,45	86,57	93,05	87,50
25. - 75. Quartil	70,84 - 91,67	70,83 - 50,00	87,5 - 75,00	79,17 - 66,67	83,33 - 75,00	91,67 - 83,33	79,17 - 58,33	85,60 - 83,33	83,33 - 66,67

Tabelle 51 ANOVA mit Messwiederholung für die Kategorie "Respiratory" des Kinderfragebogens

Parameter	Signifikanz p nach Greenhouse-Geisser	partielles Eta-Quadrat nach Greenhouse-Geisser	Effektstärke nach Cohen's f	Sphärizität MauchlyTest
„Respiratory“ CFQR Kinder	0,412	0,15	0,42	0,05

Das Ergebnis des gepaarten T-Test zeigt eine starke Effektstärke nach Cohen's $d_z = |-2,23|$ ($p = 0,208$).

Somit zeigt die Auswertung der Kategorie „Respiratory“ keine signifikante Verbesserung im Median.

Patient	Visit 1	Visit 2	Visit 5	Visit 9
1	100	91,67	100	100
2	66,67	83,33	75	83,33
3		91,67	91,76	83,33
4	91,67	100	91,67	91,67
5	66,67	50	83,33	66,67
6	91,67	58,33	100	100
7	83,33	91,67	83,33	

Abbildung 63 Die Abbildung zeigt die signifikanten Veränderungen nach 90 Tagen (Visit 2), einem Jahr (Visit 5) und zwei Jahren (Visit 9). Grün markierte Flächen zeigen signifikante Verbesserungen im Vergleich zu Visit 1 (vor Medikamenteneinnahme) für die einzelnen Patienten. Rote Flächen zeigen signifikante Verschlechterungen. Verwendet wurde der Kinderfragebogen.

In 42,9% der Fälle kommt es zuerst zu einer respiratorischen Verschlechterung. 28,6% der Patienten beschreiben eine dauerhafte Verbesserung der respiratorischen Symptome. 14,3% geben eine langfristige Verschlechterung an. Auch hier wird eine Verbesserung um 4% als signifikant angesehen (Quittner et al., 2009).

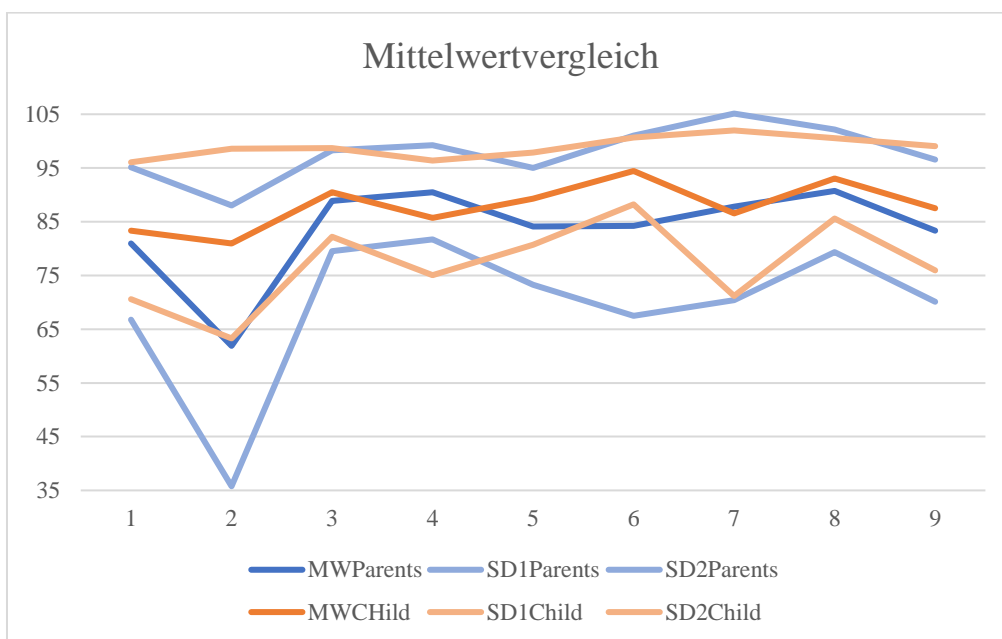


Abbildung 64 Vergleich der Mittelwerte der Kategorie "Respiratory" bei der Beantwortung der Eltern- und Kinderfragebögen

Auch wenn die Beantwortung der Fragebögen durch Kinder und Eltern durchaus Unterschiede aufzeigte, konnte mittels Spearman-Korrelation eine signifikante Korrelation nachgewiesen werden. (Spearman-Rho= 0,506; $p < 0,001$).

4.13.4 CFQR- Intestinale Kategorien

Um auf die intestinalen Veränderungen noch einmal spezifisch einzugehen, werden im Folgenden die Kategorien „Eat“, „Body“ und „Digestive“ noch einmal beleuchtet.

Kategorie EAT des Eltern-Fragebogens

In der Kategorie „Eat“ werden Appetit und Schwierigkeiten der Nahrungsaufnahme abgefragt.

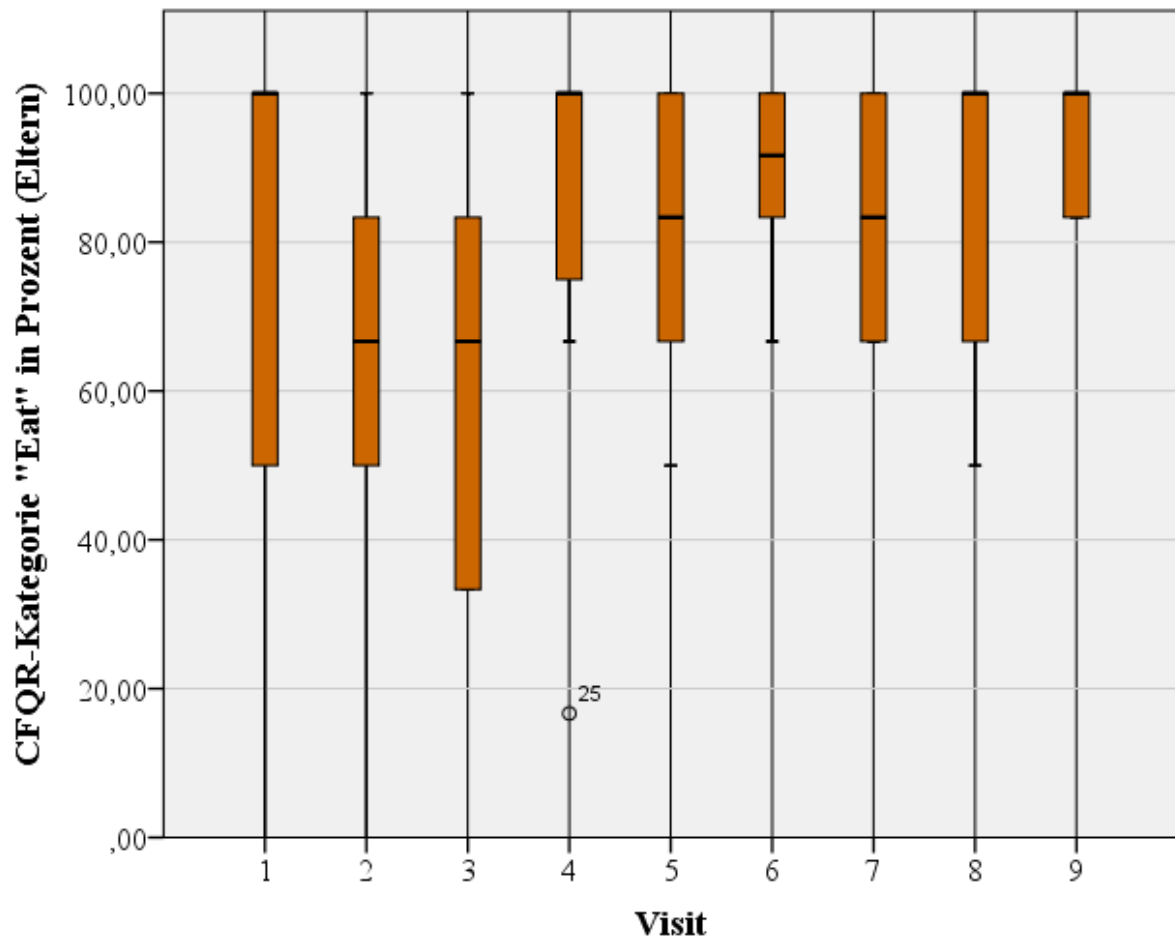


Abbildung 65 Auswertung der Kategorien "Eat" des Elternfragebogens. Es wurden Essverhalten und Appetit abgefragt. n=7, ab Visit 6 n= 6

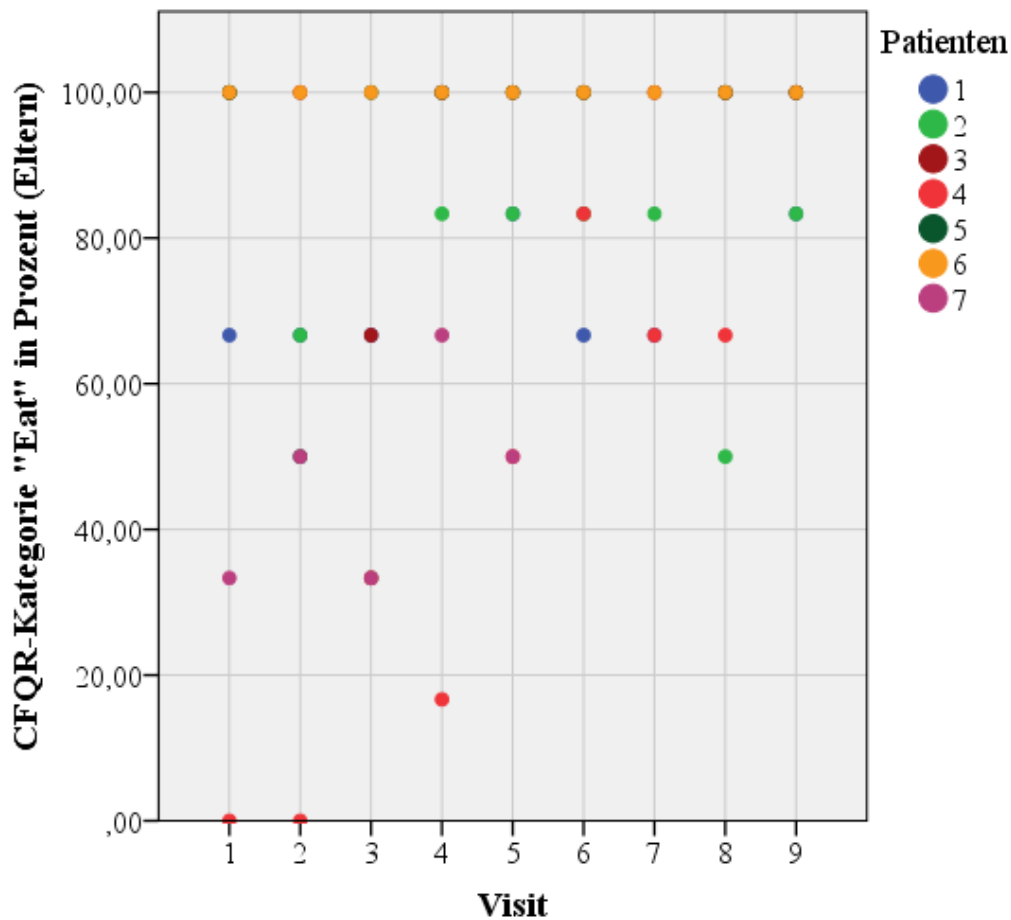


Abbildung 66 Auswertung der Kategorien "Eat" des Elternfragebogens. n=7, ab Visit 6 n= 6

Tabelle 52 Auswertung der Kategorie "Eat" des Eltern-Fragebogens

Visit	1	2	3	4	5	6	7	8	9
n	7	7	7	7	7	6	5	6	6
Mittelwert	71,43 (40,50)	61,91 (34,31)	61,90 (30,00)	80,95 (31,07)	80,95 (22,42)	88,89 (13,61)	83,33 (16,67)	86,11 (22,15)	94,44 (8,61)
Median	100,00	66,67	66,67	100,00	83,33	91,67	83,33	100,00	100,00
25. - 75. Quartil	50,00 - 100,00	50,00 - 100,00	83,34 - 100,00	75,00 - 100,00	66,67 - 100,00	83,33 - 100,00	66,67 - 100,00	75,00 - 100,00	87,50 - 100,00

Der Mittelwert verbesserte sich von 71,43% auf 94,44%. Der Median lag schon zu Beginn bei 100%.

Tabelle 53 ANOVA mit Messwiederholung für die Kategorie "EAT" des Elternfragebogens für Visit 1 - 5

Parameter	Signifikanz p nach Greenhouse-Geisser	partielles Eta-Quadrat nach Greenhouse-Geisser	Effektstärke nach Cohen's f	Sphärizität MauchlyTest
„Eat“ CFQR Eltern	0,12	0,28	0,624	0,77

Die Auswertung der ANOVA mit Messwiederholung für die Kategorie „Eat“ des Elternfragebogens ergab ein Cohen's f von 0,624 ($p=0,122$).

Im linearen Modell ergab sich für die Kategorie „Eat“ ein F-Wert von 1,178 ($p=0,33$).

Im T-test ergab sich ein mittlerer Effekt nach Cohen's $d_z = |-0,395|$ ($p=0,377$).

Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass die Patienten weniger Schwierigkeiten haben, ausreichend zu essen und mehr Appetit.

Kategorie „BODY“ des Eltern-Fragebogens

In der Kategorie „Body“ wird das subjektive Körpergefühl abgefragt. Zum Beispiel ob die Patienten sich selbst als zu klein oder zu dünn empfinden.

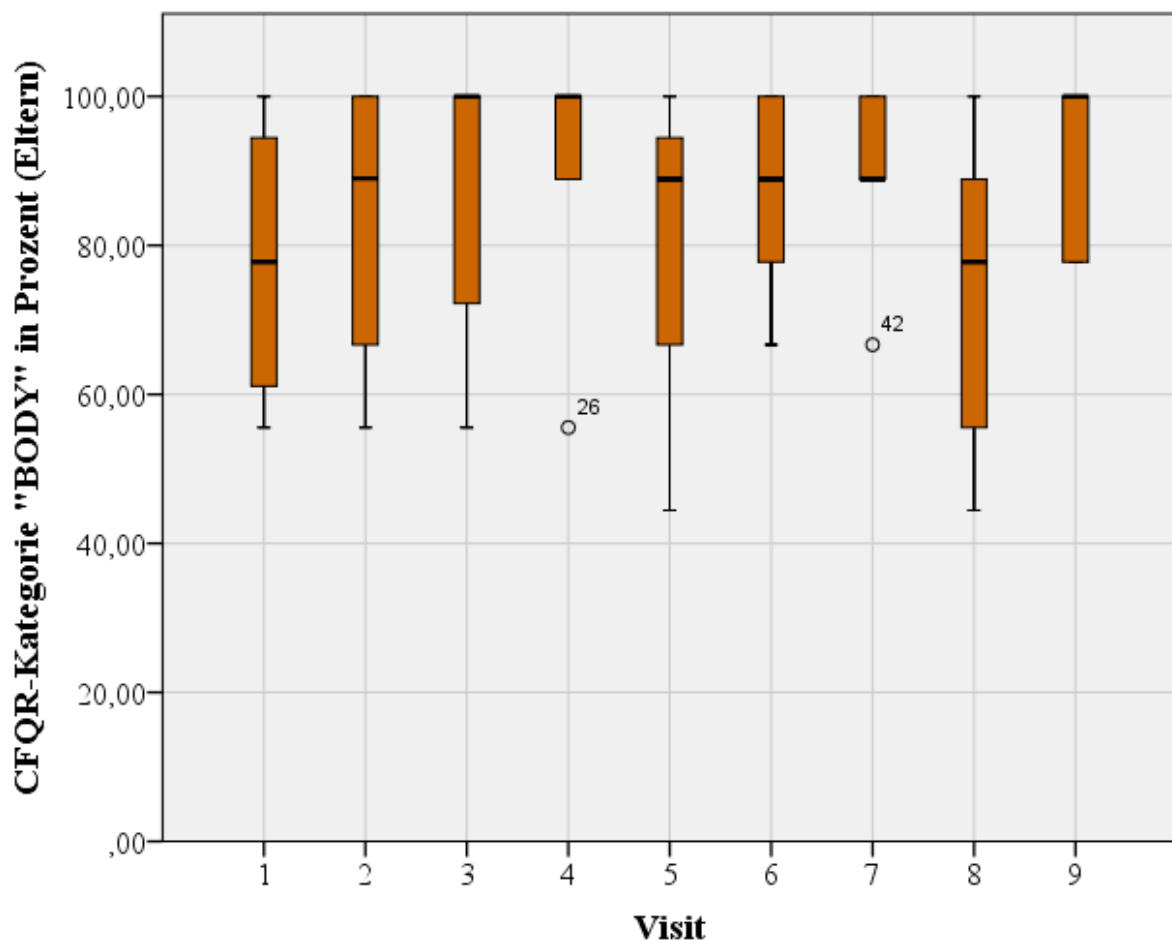


Abbildung 67 Auswertung der Kategorien "Body" des Elternfragebogens. n=7, ab Visit 6 n= 6

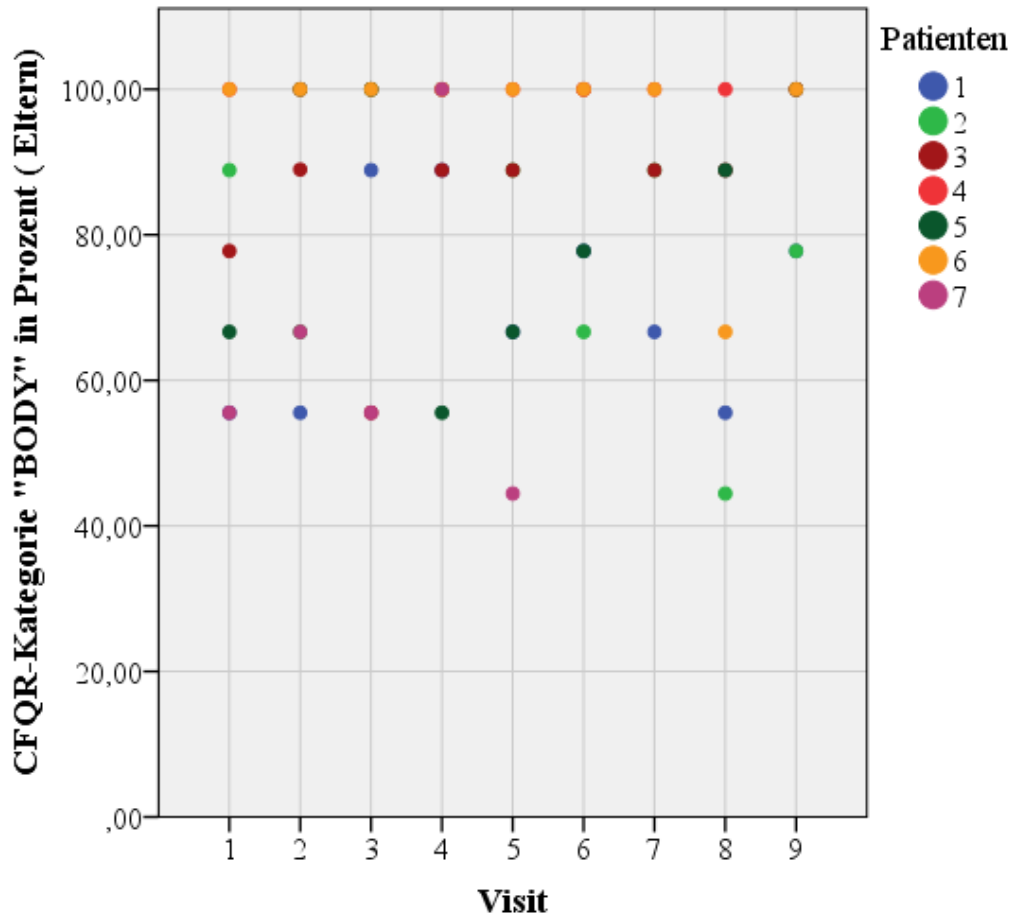


Abbildung 68 Auswertung der Kategorien "Body" des Elternfragebogens

Tabelle 54 deskriptive Statistik der Kategorie "Body" des Elternfragebogens

Visit	1	2	3	4	5	6	7	8	9
n	7	7	7	7	7	6	5	6	6
Mittelwert (SD)	77,78 (17,82)	82,55 (17,68)	85,72 (19,44)	90,50 (15,06)	79,37 (19,18)	87,04 (13,48)	88,89 (12,17)	74,08 (19,95)	92,59 (10,47)
Median	77,78	88,98	100,00	100,00	88,89	88,89	88,89	77,78	100,00
25.-75. Quartil	61,12 - 94,45	66,67 - 100,00	72,23 - 100,00	88,89 - 100,00	66,67 - 94,45	77,78 - 100,00	88,89 - 100,00	58,34 - 88,89	83,34 - 100,00

Tabelle 55 Auswertung der ANOVA der Kategorie "Body" des Elternfragebogens

Parameter	Signifikanz p nach Greenhouse-Geisser	partielles Eta-Quadrat nach Greenhouse-Geisser	Effektstärke nach Cohen's f	Sphärizität MauchlyTest
„Body“ CFQR Eltern	0,508	0,116	0,36	0,68

Auch in der Kategorie "Body" zeigte sich eine Verbesserung im Median von 77,78% auf 100%. Diese konnte aber weder im linearen Modell ($F= 1,13(p=0,651)$) noch im T-Test (Effektstärke nach Cohen's $d_z= |-0,645|$ ($p=0,18$)) statistisch signifikant nachgewiesen werden. Die Auswertung der ANOVA mit Messwiederholung für das erste Jahr ergab eine mittlere Effektstärke nach Cohen's f von 0,36 ($p=0,508$).

Eine positive signifikante Korrelation zwischen BMI und der Kategorie „BODY“ konnte mittels Spearman-Korrelation nachgewiesen werden. (Spearman-Rho= 0,566; $p<0,001$)

Kategorie „DIGESTIVE“ des Eltern-Fragebogens

Die Kategorie "Digestive" behandelt Verdauungsprobleme. Die Auswertung des Elternfragebogens ergab dabei:

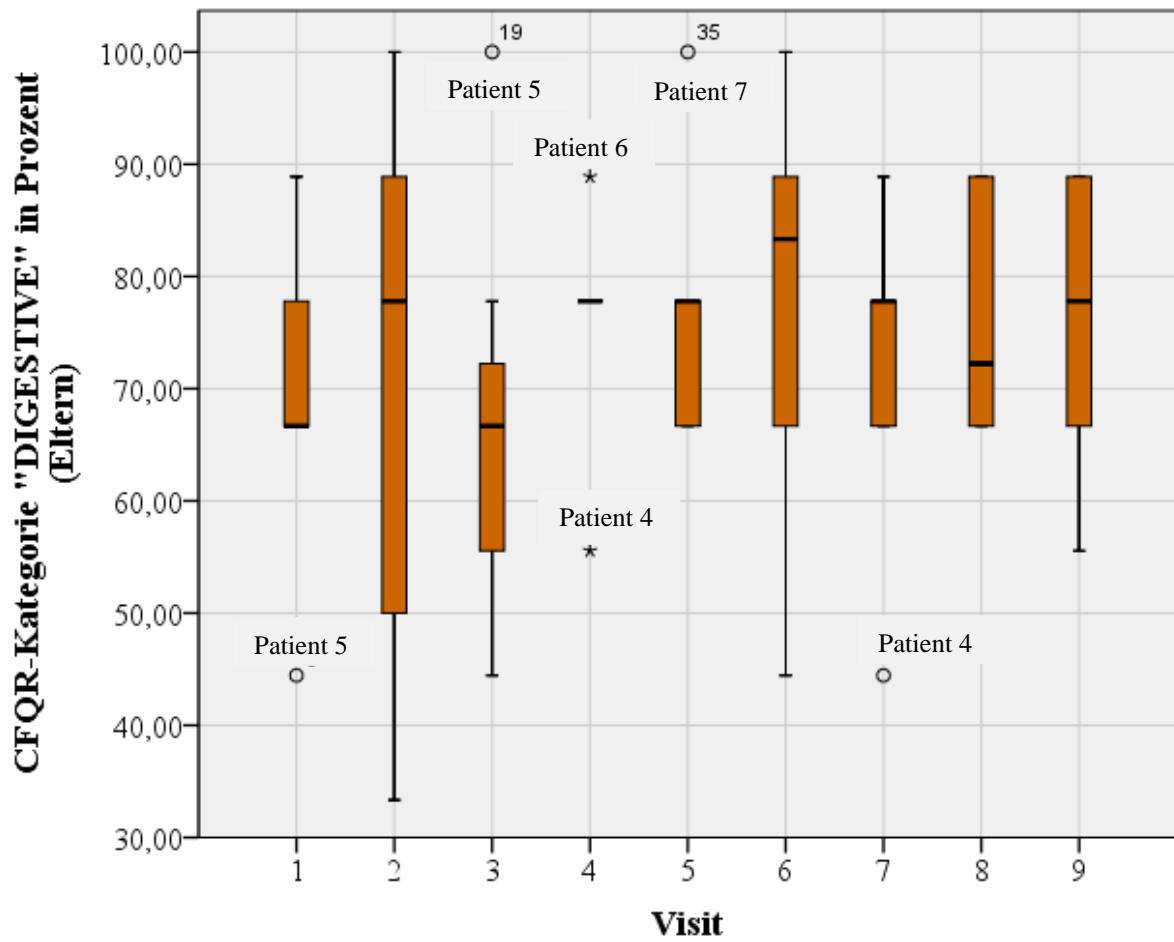


Abbildung 69 Auswertung der Kategorien "Digestive" des Elternfragebogens

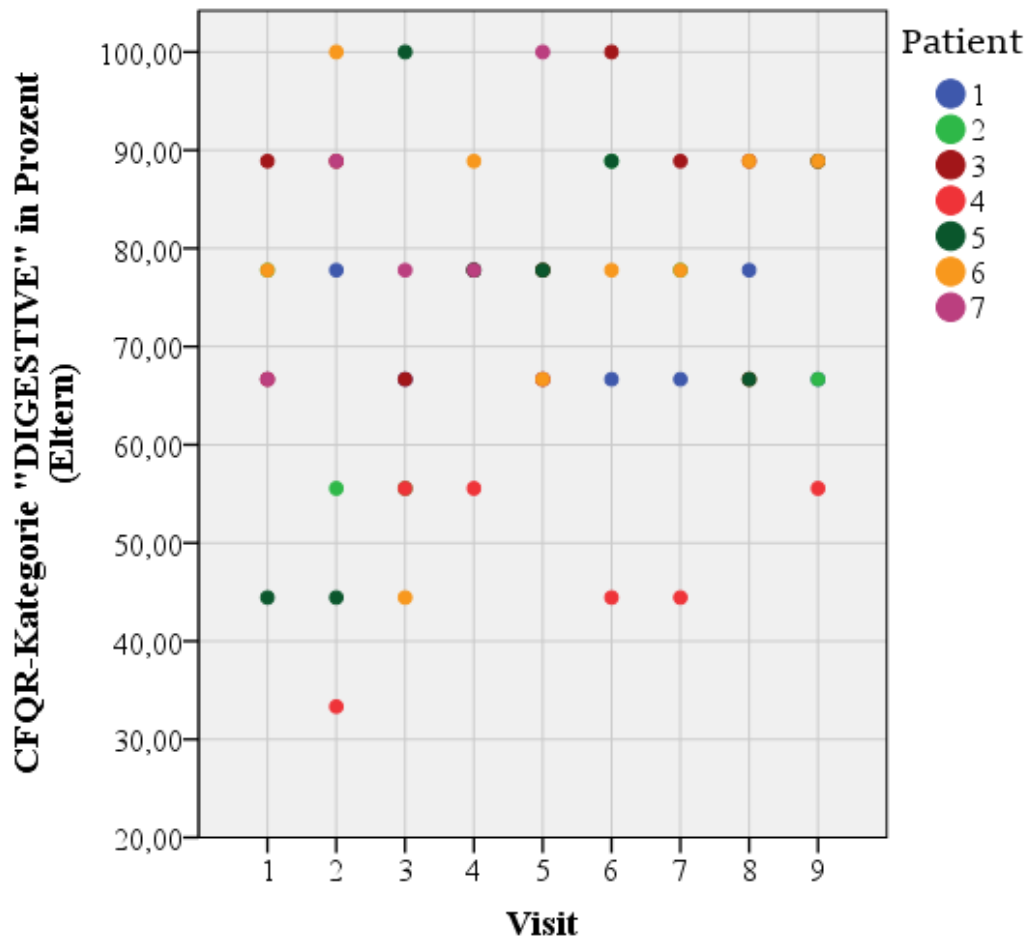


Abbildung 70 Auswertung der Kategorien "Digestive" des Elternfragebogens

Tabelle 56 Auswertung der ANOVA der Kategorie "Digestive" des Elternfragebogens

Visit	1	2	3	4	5	6	7	8	9
n	7	7	7	7	7	6	6	6	6
Mittelwert (SD)	69,84 (12,9)	69,84 (23,54)	66,67 (16,8)	76,19 (9,25)	76,19 (11)	77,78 (18,15)	71,11 (15,07)	75,93 (9,97)	75,93 (13,48)
Median	66,67	77,78	66,67	77,78	77,78	83,335	77,78	72,225	77,78
25. - 75. Quartil	66,67-77,78	50-88,89	55,56-72,225	77,78-77,78	66,78-77,78	69,45-88,89	66,67-77,78	66,67-86,11	66,67-88,89

Das lineare Modell ergab $p=0,93$ und der T-Test $p=0,54$.

Tabelle 57 Auswertung der ANOVA der Kategorie "Digestive" des Elternfragebogens

Parameter	Signifikanz p nach Greenhouse-Geisser	partielles Eta-Quadrat nach Greenhouse-Geisser	Effektstärke nach Cohen's f	Sphärizität MauchlyTest
„DIGESTIVE“ CFQR Eltern	0,613	0,077	0,289	0,332

Auch in dieser Kategorie konnten Verbesserungen im Median von 66,67% (Visit 1) auf 77,78% (Visit 9) erzielt werden, so dass weniger Beschwerden wie zum Beispiel Bauchschmerzen auftraten.

Die ANOVA mit Messwiederholung ergab eine Effektstärke nach Cohen's $f = 0,289$ ($p = 0,613$). Im T-Test für Visit 1 und 9 ergab sich die mittlere Effektstärke Cohen's $d_z = |-0,27|$ ($p = 0,542$). Die Auswertung des linearen Modells für Test vom Typ III auf feste Effekte ein F-Wert von 0,378 ($p = 0,927$).

Die Auswertung der Kategorien, welche intestinale Symptome abfragen, zeigten somit eine Verminderung der gastrointestinalen Probleme, die mit der Erkrankung zystischer Fibrose zusammenhängen. Diese waren jedoch nicht statistisch signifikant. Besonders der Einfluss auf den damit gewonnen Gewinn an Lebensqualität ist zu erwähnen. Auch wenn die respiratorischen Symptome meist mehr Beachtung finden, ist es entscheidend auch unter dem Zwerchfell weiter zu denken. Mit Hilfe des umfassenden CFQR Fragebogens ist dieser Weitblick möglich.

Die Kategorien „EAT“, „BODY“ und „DIGESTIVE“ korrelieren positiv mit dem Mittelwert des Eltern-Fragebogens.

Tabelle 58 Korrelation CFQR Mittelwert mit einzelnen Kategorien des Elternfragebogens

Parameter	Spearman-Rho Korrelation	Signifikanz p
CFQR Mittelwert und EAT	0,668	<0,001
CFQR Mittelwert und BODY	0,419	0,004
CFQR Mittelwert und DIGESTIVE	0,43	0,003

Die Spearman-Korrelation der Calprotectin-Konzentration im Stuhl und der Kategorie „DIGESTIVE“ ergab einen Spearman-Rho Korrelationskoeffizienten von 0,13 ($p = 0,37$) und somit keinen signifikanten Zusammenhang.

4.14 Korrelationen

Um Zusammenhänge zwischen den unterschiedlichen Parametern aufzuzeigen, wurden explorativ Spearman Korrelationen angewendet. Signifikante Werte sprechen dabei aber nicht für den generellen Nachweis, sondern nur für einen Hinweis, da kein multiples Testen durchgeführt wurde.

Tabelle 59 Korrelation der Lungenfunktion und der Inflammation der Lunge in Blut bzw. Sputum

Parameter	Spearman-Rho Korrelation	Signifikanz p
LCI und IgG	0,215	0,281
LCI und NE	0,536	0,089
FEV1 und IgG	-0,308	0,035
FEV1 und NE	-0,188	0,427
FEV1 und IL-1 β	0,023	0,899
FEV1 und IL-8	-0,299	0,076

Tabelle 60 Korrelation der Inflammation in Sputum, Stuhl und Blut

Parameter	Spearman-Rho Korrelation	Signifikanz p
NE und IgG	0,308	0,186
NE und IL-8	0,007	0,983
NE und GOT	0,242	0,304
Calprotectin und IgG	0,343	0,024
Calprotectin und NE	0,325	0,203
Calprotectin und CRP	0,103	0,473
BMI und IL-1 β	0,019	0,918
BMI und IL-8	-0,218	0,201
IL-1 β und Schweißchlorid	-0,419	0,015

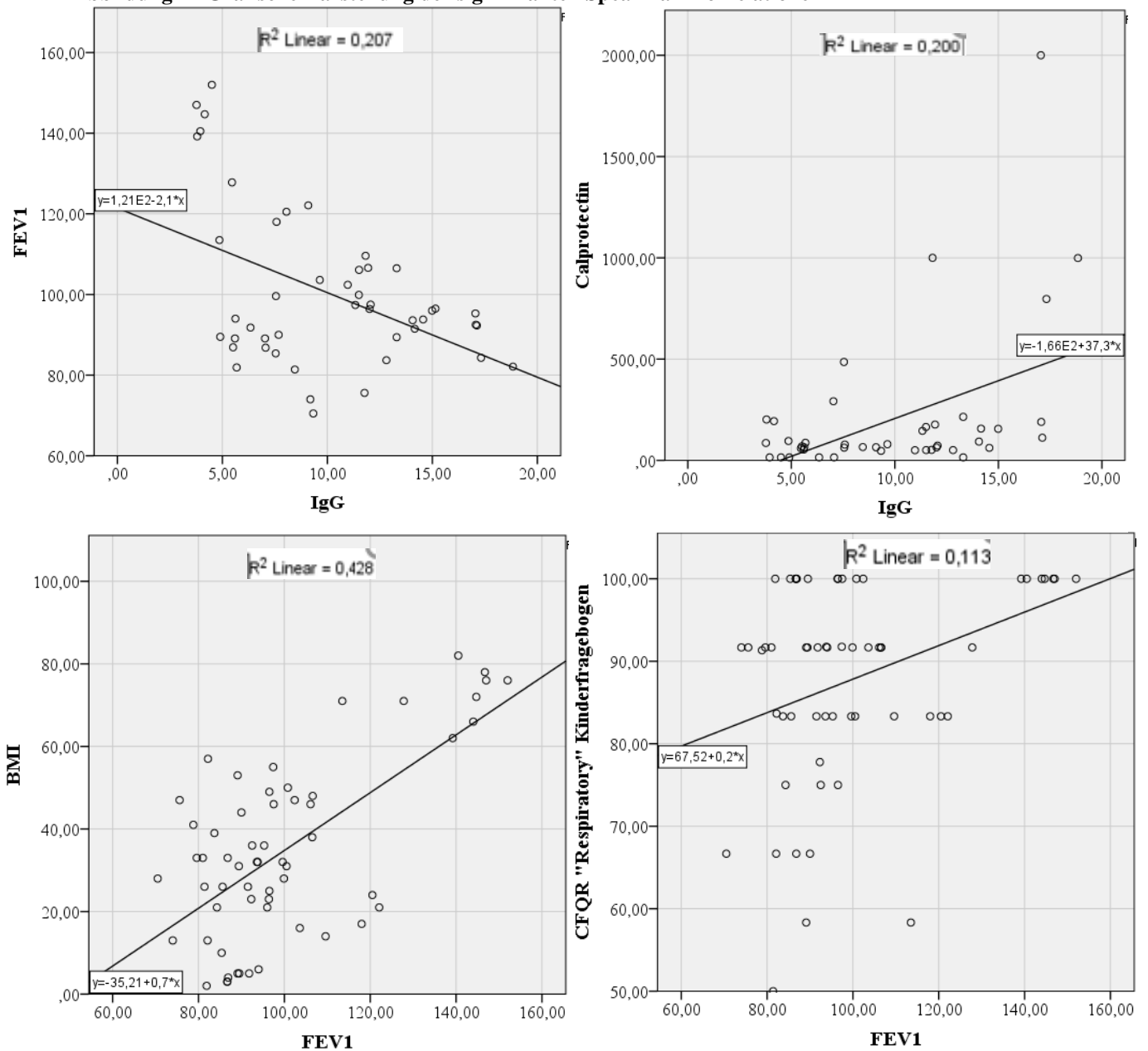
Tabelle 61 Korrelation der Lungenfunktion und der Fragebogen-Beantwortung

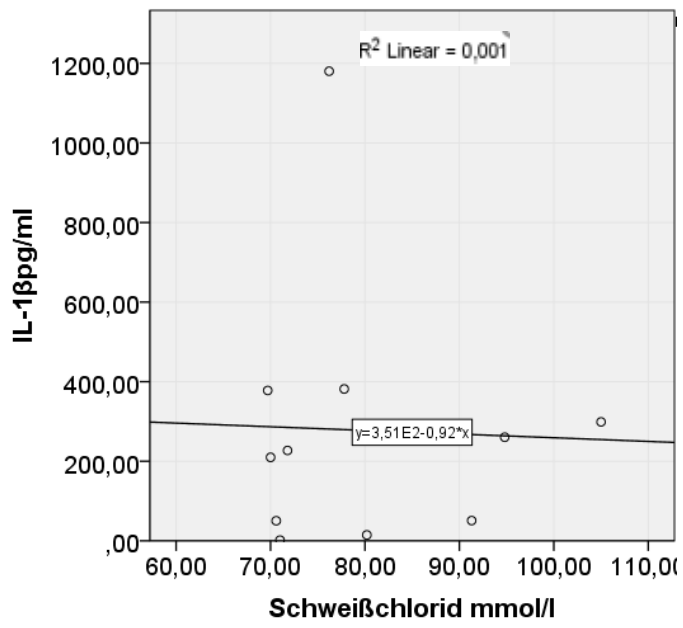
Parameter	Spearman-Rho Korrelation	Signifikanz p
LCI und „Respiratory“ CFQR Eltern	-0,063	0,761
LCI und „Respiratory“ CFQR Kinder	0,064	0,75
FEV1 und „Respiratory“ CFQR Eltern	0,228	0,085
FEV1 und „Respiratory“ CFQR Kinder	0,292	0,026
FEV1 und BMI	0,468	<0,001

Tabelle 62 Korrelation der Fragebögen mit Inflammationsparametern

Parameter	Spearman-Rho Korrelation	Signifikanz p
NE und CFQR Mittelwert Eltern	0,2	0,412
IgG und CFQR Mittelwert Eltern	0,005	0,973

Abbildung 71 Grafische Darstellung der signifikanten Spearman Korrelationen





5 Ergebnisdiskussion

Das umfangreiche Verständnis der Erkrankung der zystischen Fibrose ist von enormer Bedeutung, um zielgerichtete Therapien anbieten zu können und die Krankheitsprozesse besser zu verstehen. Entscheidend für den Fortschritt der Erforschung der zystischen Fibrose ist die Implementierung von aussagekräftigen und routinemäßig bestimmbar Parametern. Nur so können die Therapiemöglichkeiten ausgeschöpft werden und die Krankheitsmodulation durch CFTR-Modulatoren vorangebracht werden - ein Gewinn von Lebenszeit und Lebensqualität für die Betroffenen.

5.1 Sputumexpektoration und mikrobielle Analysen

Erfolg der Sputumexpektoration

Im vorliegenden Patientenkollektiv war die Sputumexpektoration in 74% der Fälle erfolgreich möglich (siehe Abbildung 6). Dadurch wird betont, dass auch bei Kindern die Implementierung der diagnostischen Analyse von Sputum sinnvoll ist und für Routinekontrollen zuverlässig darauf zurückgegriffen werden kann. Die Expektoration von induziertem Sputum war, vor allem bei den älteren Patienten, regelmäßig möglich. Durch versehentliches Verschlucken gingen einige Sputumproben für die Auswertung verloren. Die regelmäßige Physiotherapie und das Erlernen der gezielten Expektoration können hier bestehende Lücken füllen. Die Aussagekraft von Sputum in der mikrobiellen Diagnostik und Therapie wurde in der Studie „CF-SpIT“ (Ronchetti et al., 2018) ausführlich untersucht. In der „CF-SpIT“ Studie wurde kein Zusammenhang zwischen der erfolgreichen Sputuminduktion und dem Alter der Kinder gefunden. In 82% der Fälle konnten in der „CF-SpIT Studie“ Kinder über 6 Jahren induziertes Sputum erfolgreich expektorieren. Im Vergleich dazu konnten somit in der vorliegenden Arbeit ähnliche Expektorationsraten im hier untersuchten Kollektiv erreicht werden. Die Patienten waren in der „CF-SpIT“-Studie im Durchschnitt 1,7 Jahre älter, sodass eine um 8% bessere Expektorationsrate dadurch erklärt werden könnte.

Vorteile der Sputumexpektoration gegenüber dem Rachenabstrich

In 44% der Fälle wurden in der vorliegenden Studie Bakterien im induzierten Sputum gefunden, welche nicht im Rachenabstrich nachweisbar waren (vergleiche Abbildung 8). Für die mikrobiologische Analyse reichen schon kleinste Mengen an Sputum. Eine Implementierung der mikrobiologischen Analyse von Sputum in den klinischen Alltag ist zu empfehlen. Baghirath et al. betont die große Aussagekraft und Validität von induziertem Sputum bezüglich dem Mikrobiom, der Krankheitsprogression und dem Inflammationszustand (Bhagirath et al., 2016). Die Reproduzierbarkeit und fehlende Invasivität bringt entscheidende Vorteile gegenüber der BAL (Eickmeier et al., 2010). Außerdem bringt induziertes Sputum auch mehr Informationen über die mikrobiologische Besiedelung als die 2-Lappen BAL. Ronchetti et al. empfiehlt das Verwenden von induziertem Sputum in allen Bereichen der Diagnostik. Vor allem bei Kindern spielt induziertes Sputum eine entscheidende Rolle, da es die kleinen Atemwege sehr gut repräsentiert (Ronchetti et al., 2018). Im Anfangsstadium der zystischen Fibrose sind vor allem genau diese Abschnitte des Respirationstrakt betroffen.

Tabelle 63 Vergleich mit der "CFSpIT"-Studie von Ronchetti et al mit OrkambiKIDS

	Ronchetti et al.	Orkambi-KIDS
Alter	11,1	9,4
FEV1-Median	89%	96%
erfolgreiche Expektoration	82%	74%
Keime im Sputum die nicht im Rachen gefunden worden	69%	44%

Die „CF-SpIT“ Studie konnte zeigen, dass die Analyse von induziertem Sputum ein valider Ersatz für die BAL ist. Die Induktion der Sputumexpektoration wurde dabei ähnlich durchgeführt, wie in der vorliegenden OrkambiKIDS-Studie. Die Patienten waren in der Studie im Schnitt 8,2 Jahre alt und wiesen eine FEV1predicted von 89% auf (Ronchetti et al., 2018).

Die Möglichkeit der Expektoration und die unterschiedlichen Besiedelungsnachweise aus Sputumproben und Rachenabstrichen sind auch in der Veröffentlichung im Rahmen der 22. deutschen Mukoviszidose-Tagung ersichtlich (siehe Anhang, Seite 140-141).

Mikrobiologische Untersuchung des Sputums

Im vorliegenden Patientenkollektiv konnten Veränderungen der mikrobiologischen Nachweise im Rachenabstrich und Sputum im Verlauf der Studienzeit festgestellt werden. In 4 Sputumproben fanden sich zum Ende des Untersuchungszeitraums andere Spezies als am Anfang (57%). Die Elimination von *S. maltophilia* (n=2) und *H. influenzae* (n=3) gelang über den Studienzeitraum. In einigen Fällen traten im Verlauf aber auch neue Keimnachweise auf (*Candida spezie* n=2; *Penicillinum spezie* n=1; *A. fumigatus* n=1) (vergleiche Abbildung 13).

Die am häufigsten nachgewiesenen Bakterienarten in der Studienpopulation waren *S. aureus*, *H. influenzae*, *Candida* und *Lautropia*. Kein Patient war im Studienzeitraum mit *P. aeruginosa* infiziert. Ein Patient wies *MRSA* Besiedelung auf, die auch durch Eradikationsversuche vor Studienbeginn nicht zu beseitigen war.

In der Studie von Kopp et al. wird eine ähnliche Veränderung bei 7 von 20 Patienten beschrieben, wobei bei 9 von 20 Patienten neue Pathogene im Studienverlauf auftraten. Es wird eine Abnahme der Bakteriendichte und eine Zunahme der Bakteriendiversität nach der Einnahme von Lumacaftor/Ivacaftor über einen Zeitraum von 6 Monaten beschrieben. In dieser Studie waren die Patienten im Schnitt 22,7 Jahre alt und es wurden 26 Patienten eingeschlossen, von denen sechs Patienten auf Grund von Nebenwirkungen die Therapie mit Lumacaftor/Ivacaftor abbrechen mussten (Kopp et al., 2018).

Typische Keimnachweise im ersten Lebensjahrzehnt bei deutschen Mukoviszidose Patienten sind *S. aureus* und *H. influenzae* (Coutinho et al., 2008). Im zweiten und dritten Lebensjahrzent kommen dann noch *P. aeruginosa* und *S. maltophilia* hinzu (Coutinho et al., 2008).

Die Relevanz der Keime für die Krankheitsprogression fasst die folgende Tabelle 64 noch einmal zusammen.

Tabelle 64 Auflistung der häufigsten nachgewiesenen Keime dieser Studie

<i>H. influenzae</i>	<ul style="list-style-type: none"> - vor allem bei sehr jungen Patienten (ab dem 1. Lebensjahr) - kann Exazerbationen auslösen (Hauser et al., 2011)
<i>S. aureus</i>	<ul style="list-style-type: none"> - schon im ersten Lebensjahr mittels Rachenabstrich nachweisbar (Hauser et al., 2011)

	<ul style="list-style-type: none"> - meist der erste Keim der bei Kleinkindern nachgewiesen werden kann (Blanchard and Waters, 2019)
<i>Burkholderia cepacia-Komplex</i>	<ul style="list-style-type: none"> - erhöht die Mortalität (Hauser et al., 2011) - anpassungsfähig und fähig zur Biofilmbildung - vorwiegend aus dem Erdreich
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	<ul style="list-style-type: none"> - sehr resistent auch gegen Breitbandantibiotika → Selektionsvorteil - Besiedelung in jedem Alter - erhöht das Exazerbationsrisiko (Hauser et al., 2011) - selten aber immer mehr zunehmend nachgewiesen
<i>Lautropia mirabilis</i>	<ul style="list-style-type: none"> - oral und pulmonal nachweisbar - 1996 erste Berichte von entdeckter Besiedelung bei CF (Ben Dekhil et al., 1997)
<i>Serratia marcescens</i>	<ul style="list-style-type: none"> - ubiquitär - fakultativ opportunistischer Krankheitserreger - Enterobakterium - multiple Antibiotika-Resistenzen (Ferreira et al., 2020)
<i>Nocardia</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Heterogene Besiedelung verschiedener Arten (Rodriguez-Nava et al., 2015) - bisher keine großen Auswirkungen auf die Lungenfunktion nachgewiesen (Dagan et al., 2015) - antibiotische Behandlung konnte nachweislich noch keine Verbesserungen bringen - es besteht wahrscheinlich nur eine Kolonisation, keine Infektion (Dagan et al., 2015) - betrifft ca. 14 % der Patienten (Dagan et al., 2015) - ubiquitäres Vorkommen (Bittar et al., 2010) - für immunsupprimierte Patienten besteht Gefahr (Wundinfektion, Pneumonie, Hirnabszesse), sodass vor geplanter Lungentransplantation eine Eradikation stattfinden muss (Bittar et al., 2010)
<i>Moraxella catarrhalis</i>	<ul style="list-style-type: none"> - bei 49,5 % der Patienten nachgewiesen mittels BAL (Escibano Montaner et al., 2018) - Kommensale des oberen Respirationstrakt
<i>Aspergillus spezieis</i>	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Fumigatus</i> und <i>versicolor</i> - 78 % der Patienten besiedelt (Blanchard and Waters, 2019) - ubiquitäres Vorkommen - kann zur allergischen bronchopulmonalen Aspergillose führen, nur dann ist eine Behandlung nötig
<i>Candida</i>	<ul style="list-style-type: none"> - 80 % der Patienten sind besiedelt - physiologisches Vorkommen im Oropharynx (Haiko et al., 2019)

Trotzdem muss betont werden, dass auch der untere Respirationstrakt sehr heterogen besiedelt ist, und Bakterien sich nicht homogen verteilen. Die Heterogenität konnte post mortem nachgewiesen werden (Surette, 2014). Somit können Mengenverhältnisse der verschiedenen Bakterienarten zueinander und deren Verteilung in der Lunge durch die mikrobiologische Diagnostik

mit Sputum nicht dargestellt werden.

Verbesserungen der mikrobiologischen Diagnostik können in der Zukunft durch Mikrobiomanalysen erreicht werden und durch diese Erkenntnisse eine noch spezifischere Therapie ermöglichen (Cuthbertson et al., 2020).

Veränderungen der Diversität im Studienzeitraum

Im Untersuchungszeitraum war im ersten Jahr eine Diversitätszunahme der bakteriellen Besiedelung zu beobachten (Visit 1 Mittelwert der Anzahl der verschiedenen Bakterienspezies = 1,6; Visit 9 Mittelwert der Anzahl der verschiedenen Bakterienspezies = 2; siehe Abbildung 11). Das Maximum der Diversität findet sich hier nach dem ersten Untersuchungsjahr zum Zeitpunkt des Visit 6. Auf Grund der kleinen Kohorte war der beobachtete Effekt gering. Dauerhafte Infektionen bleiben auch unter der Modulatoren-Therapie bestehen (z.B.: *S. aureus* bei Patienten 2, 5 und 7). Das Bestehenbleiben dauerhafter Infektionen wurde auch durch Singh et al. nachgewiesen (Singh et al., 2019). Die mikrobielle Diversität nahm im ersten Untersuchungsjahr zu, sank jedoch im zweiten Jahr wieder ab. Hisert et al. konnte zeigen, dass die Besiedelungsdichte mit *P. aeruginosa* dazu genau gegenläufig verläuft: Nach einer Abnahme im ersten Therapiejahr stieg diese bei chronisch infizierten Patienten wieder an (Hisert et al., 2017). Dies könnte auf Interaktionen zwischen verschiedenen Bakterienspezies hinweisen. In die Studie von Hisert et al. wurden 12 Patienten mit G551D-CFTR Mutation mit neuer Therapie durch Ivacaftor eingeschlossen, von denen 8 eine chronische *P. aeruginosa* Infektion aufwiesen und im Durchschnitt 29,5 Jahre alt waren. Eine Eradikation von *P. aeruginosa* gelang in der genannten Studie bei keinem Patienten. Verbesserungen der Schweißchlorid-Konzentrations-Messung und der FEV1 konnten schon innerhalb der ersten Therapiewoche durch Hisert et al. festgestellt werden (Hisert et al., 2017).

In der vorliegenden Studie beobachteten wir eine verminderte Expektorationsrate zum Ende des Studienzeitraumes. Daher könnte eine Verzerrung der mikrobiologischen und inflammatorischen Ergebnisse vorliegen. Die verminderte Expektoration kann auf die Stabilisierung des Gesundheitszustands und des verbesserten Lungenmilieus durch Lumacaftor/Ivacaftor zurückgeführt werden.

5.2 Exazerbation und Antibiotikaeinnahme

Abnahme der Exazerbationsrate

Die Exazerbationen nahmen ab dem 4. Visit, aber vor allem im zweiten Untersuchungsjahr stark ab (ersichtlich in Abbildung 14). Dies ist auch mit der verminderten Sputumexpektoration in Einklang zu bringen. Alle Patienten der Studie profitierten von einer geringeren Anzahl an Exazerbationen im Untersuchungszeitraum, ganz besonders Patienten mit zuvor vielen Exazerbationen. Zu beachten ist allerdings auch, dass die Visits 7,8 und 9 während der Covid19-Pandemie stattfanden, sodass das Auftreten von weniger Infekten auch durch die Hygieneregeln der Pandemie gefördert worden sind. Am Anfang der Einnahme von Lumacaftor/Ivacaftor nahmen die Exazerbationsraten erst noch zu. Eine anfängliche Zunahme der Exazerbationsrate wird auch durch Tesell et al. beschrieben (Tesell et al., 2019). In der Studie von Tesell et al. wurde die Exazerbationsrate 6 Monate vor und nach der Einführung der Therapie mit Lumacaftor/Ivacaftor bei 21 Patienten mit einem Altersdurchschnitt von 20,1 Jahren untersucht. Eine Exazerbationsabnahme von 39% nach 24 Wochen unter Lumacaftor/Ivacaftor Therapie beschreibt Wainwright et al. (344 Patienten im Alter von 12 Jahren und älter; durchschnittliche FEV1%: 61%) (Wainwright et al., 2015).

Nicht alle Exazerbationen im Studienzeitraum wurden in der Klinik festgestellt, bei Infekten suchten die Patienten auch oft Haus- oder Kinderarzt auf. Anhand von Telefonaten wurden dann die entsprechenden Parameter für die Definition der Exazerbation übermittelt.

Da Exazerbationen nicht einheitlich durch spezifische Kriterien weltweit klassifiziert sind, ist der Vergleich der Expektorationsrate als Studienziel ungeeignet und kann nur Klinik intern als Verlaufparameter verwendet werden. Die Verbesserung der Therapie von Exazerbationen ist entscheidend, da sie mit reduzierter Lebensqualität, irreversiblen Lungenfunktionsverlust in 25% der Fälle und erhöhter Mortalität einhergehen (Shoki et al., 2013). In der vorliegenden Studie konnte jedoch keine dauerhafte FEV1-Verschlechterung nach Exazerbationen festgestellt werden, sodass sich die Patienten unter der Therapie gut erholten.

Langfristige Abnahme der Antibiotikaeinnahmen

Ebenso konnte eine Abnahme der Antibiotikaeinnahmen vergleichbar mit der Exazerbationsrate beobachtet werden (ersichtlich in Abbildung 15). Während im Jahr vor Studienbeginn insgesamt 14 Antibiotikatherapien durchgeführt wurden, stieg die Anzahl im ersten Studienjahr auf 16 und sank im zweiten Studienjahr auf 5 ab. Dabei wurden hier nicht nur Antibiotikaeinnahmen auf Grund von Exazerbationen aufgeführt, sondern zum Beispiel auch auf Grund einer Otitis media. Auch lehnten Patienten und deren Eltern die Therapie mit Antibiotika bei Exazerbation zum Teil ab. Hierdurch kann die Abweichung von Antibiotikaeinnahme und Exazerbationsrate erklärt werden. Auch in anderen Studien wird der verminderte Verbrauch von Antibiotika beschrieben (Diab-Cáceres et al., 2018). Diab-Cáceres beschreibt für 20 Patienten über 6 Jahren mit F508Del-Mutation eine Verminderung der benötigten intravenösen Antibiosen von 14,9 Tagen vor der Therapie mit Ivacaftor/Lumacaftor auf 5,9 Tage ($p=0,001$) pro Jahr. Die Patienten dieser Studie wiesen eine deutlich stärkere Krankheitsausprägung auf, was an der angegebenen FEV1 in Prozent vom Soll von im Durchschnitt 32,4% ersichtlich ist.

5.3 Entzündungsparameter im Sputum

Die Analyse von Entzündungsparametern im induzierten Sputum stellt einen wichtigen Ansatzpunkt in der Vorhersagbarkeit des Krankheitsverlaufs dar. Das frühzeitige Erkennen von besonders gefährdeten Patienten soll weitere gewebeschädigende Exazerbationen verhindern.

Veränderungen der neutrophilen Elastase

In der vorliegenden Arbeit wurden im Studienzeitraum keine wesentlichen Veränderungen der NE-Konzentration nachgewiesen. Auffallend war nur der Zusammenhang zwischen der Möglichkeit der Expektion von Sputum, den konstant höheren NE Konzentrationswerten und den geringeren prozentualen FEV1 in Prozent vom Soll-Wert, so dass sich Patienten mit einer höheren Krankheitslast durch diese gemeinsamen Parameter hervorheben. In der Ergebnisauswertung der vorliegenden Arbeit finden sich diese Parameter bei den Patienten 2, 3 und 5 (vergleiche Abbildung 35). Einzelne größere Unterschiede in den Verläufen der Patienten sind wohl eher auf Messungenauigkeiten zurückzuführen.

Ein signifikanter Zusammenhang zwischen erhöhter NE-Konzentration und der jährlichen FEV1 Verschlechterung bei Kindern konnte durch Sagel et al. festgestellt werden (Sagel et al., 2012). Mit der Studie von Sagel et al. sollte die Vorhersagbarkeit von zukünftig schweren Krankheitsverläufen bei Kindern erforscht werden. 35 Kinder im Alter von 6 -15 Jahre wurden eingeschlossen und induziertes Sputum über 3 Jahre auf Inflammationsparameter untersucht. Somit empfiehlt sich das Verwenden der NE-Konzentration im Sputum als Vorhersagewert für den Krankheitsverlauf. Inflammation der Lunge und Lungenfunktionsminderung bedingen sich gegenseitig (Sagel et al., 2012).

Da die neutrophile Elastase die mukoziliäre Clearance beeinträchtigt und Lungengewebe zerstört, spielt sie eine große Rolle in der CF-Forschung. Korrelationen zwischen der Konzentration der NE und dem Auftreten von Dyspnoe, der Verminderung der Lebensqualität, der FEV1 ebenso wie der Rate der Exazerbationen wurden nachgewiesen (Brusselle and Van Braeckel,

2017). In Tierversuchen konnte der Zusammenhang mit Becherzellhyperplasie und vermehrter Muzinproduktion bereits nachgewiesen werden (Gehrig et al., 2014). Auch die Korrelation mit Bronchiektasien bei Untersuchungen von BAL von CF-Kindern besteht (Gramegna et al., 2017). Als Treiber der Inflammation und der Schädigung des Lungengewebes spielt das Enzym daher eine entscheidende Rolle für die prädiktive Diagnostik (Vorhersage von Verschlechterung und Exazerbationsrate) sowie für zukünftige Therapieansätze (Gehrig et al., 2014).

Untersucht wurde in dieser Studie die Konzentration der freien NE, diese wird in signifikanten Zusammenhang mit der FEV1 gebracht. Die membrangebundene NE wird dagegen in der Literatur als Marker für Hyperinfiltration der Lunge durch neutrophile Granulozyten verwendet und hier nicht weiter untersucht (Roesch et al., 2018).

Untersuchung der Konzentrationen von TNF- α , IL-8, IL-6 und IL-1 β

Inflammationsparameter wie TNF- α , IL-8 und IL-1 β werden als prädiktive Werte für Lungenfunktionsverschlechterung angesehen (Eckrich et al., 2017).

In der vorliegenden Arbeit wurden die Konzentrationen im Studienzeitraum von TNF- α , IL-6, IL-8, und IL-1 β aus Sputumproben mittels CBA bestimmt. Dabei konnte auf Grund abnehmender Sputum-Mengen nur das erste Jahr analysiert werden. Auffallend war hier der Verlauf der Konzentrationsänderung. Die Konzentrationen stiegen für alle Parameter im Median bis Visit 3 oder 4 an, um dann zum Ende des ersten Untersuchungsjahres (Visit 5) unter das Ausgangsniveau abzufallen (außer TNF- α) (vergleiche Abbildung 30). Somit findet die, auf das Medikament (möglicherweise) zurückführbare Änderung der Inflammationsparameter im Sputum mit einer deutlichen Verzögerung statt, im Vergleich zu den Parametern in Blut und Stuhlproben. Ein Vergleich mit anderen Studien ist in diesem Fall nicht möglich, da die Konzentrationsbestimmung dieser Inflammationsparameter im Verlauf bisher kaum durchgeführt wurde. Colombo et al. konnte eine Verminderung der Konzentration von TNF- α und IL-8 im Sputum nach parenteraler Antibiose nachweisen (Colombo et al., 2005). Des Weiteren wird eine gute Reproduzierbarkeit der Sputuminduktion und Konzentrationsbestimmung beschrieben (Smountas et al., 2004). Sagel et al. bestimmte die Konzentrationen der NE und weiterer Inflammationsparameter bei Kindern über vier Jahre hinweg, um die Vorhersagbarkeit von Krankheitsverläufen zu erforschen. Dabei korrelierten die erhöhte Konzentration der NE mit der schnelleren Abnahme der FEV1% und die TNF- α Konzentrationen stiegen mit zunehmenden Alter der Kinder an (Sagel et al., 2012). Die Korrelation von NE und FEV1% konnte in der vorliegenden OrkambiKIDS Studie nicht signifikant nachgewiesen werden. Der Zusammenhang zwischen zunehmendem Alter und Erhöhung der TNF- α Konzentration konnte nicht überprüft werden, da jüngere Kinder oft kein Sputum zur Inflammationsparameter-Bestimmung produzieren konnten.

In der vorliegenden Arbeit war vor allem der Abfall der IL-1 β Konzentration von im Mittel 156,25pg/ml auf 20,78pg/ml und der Abfall der IL-8 Konzentration (Mittelwert V1 2664,72pg/ml Mittelwert V5 512,85pg/ml) beachtlich.

Eine Implikation der Analyse der inflammatorischen Parameter aus Sputum ist für den klinischen Alltag empfehlenswert. Die fehlende Nachweisbarkeit von signifikanten Veränderungen der inflammatorischen Zytokine kann durch die geringe Anzahl der Studienteilnehmer, das junge Patientenalter oder eine fehlende Wirkung der Therapie mit Lumacaftor/Ivacaftor zustande gekommen sein.

Die Analyse von Sputum hat den großen Vorteil, dass aus einer kleinen Probenmenge mehrere verschiedene Parameter nicht invasiv bestimmt werden können. Dadurch können pathognomonische Muster aufgedeckt werden und das Verständnis für die molekularen Zusammenhänge der Erkrankung vorangebracht werden (Eickmeier et al., 2010).

Des Weiteren wurden Inflammationsparameter bisher nur in Studien erhoben, sodass noch keine pathologischen Grenzwerte definiert wurden, es besteht nur der Vergleich zu gesunden Patienten. Es kann damit aber nicht definiert werden, ab wann Konzentrationen auch schädlich sind. Genauso fehlen Erfahrungswerte zur minimalen klinisch entscheidenden Veränderung, also welche Konzentrationsveränderungen klinisch überhaupt von Bedeutung sind (Sagel et al., 2012). Auch die Übertragbarkeit der Werte auf erwachsene Patienten und Patienten mit stärkerer Betroffenheit kann nicht garantiert werden.

Tabelle 65 Vergleich mit Eickmeier; Vergleich mit älteren Patienten und *P. aeruginosa* infizierten Patienten (Eickmeier et al., 2010)

	Eickmeier et al.	Orkambi-KIDS V1	Orkambi-KIDS V3	Orkambi-KIDS V5
n=Sputumproben	19	4	4	2
Alter	27 (10-40)	10	10,6	11
FEV1%	67%	94%	105%	106%
<i>P. aeruginosa</i>	18	0	0	0
IL-1 β (pg/ml)	3279	156,3	447,5	20,8
IL-6 (pg/ml)	147	2,9	7	0,3
IL-8 (pg/ml)	49683	2664,8	5648,5	512,9
TNF- α (pg/ml)	179	0,2	5,8	0,3

Dieser Vergleich zeigt eindrucksvoll die Auswirkung von Alter und *P. aeruginosa* Infektion auf den Verlauf der Inflammation bei Patienten mit zystischer Fibrose. Infizierte Patienten weisen deutlich höhere Zytokin-Konzentrationen auf.

In der Studie von Eickmeier et al. wurden 19 Patienten im Durchschnitt von 27 Jahren und einer FEV1 in Prozent vom Soll von 67% untersucht. Davon waren 18 Patienten mit *P. aeruginosa* infiziert. Die Konzentrationsmessung aus Sputum wurde bei Eickmeier et al. vergleichbar durchgeführt.

Tabelle 66 Vergleich mit Eickmeier et al.; Vergleich mit gesunden Personen (Eickmeier et al., 2010)

	Eickmeier et al. Healthy controls	Orkambi-KIDS V1	Orkambi-KIDS V3	Orkambi-KIDS V5
Anzahl	21	4	4	2
Alter	27 (20-42)	10	10,6	11
FEV1%	106%	94%	105%	106%
IL-1 β (pg/ml)	62,4	156,3	447,5	20,8
IL-6 (pg/ml)	25,5	2,9	7	0,3

IL-8 (pg/ml)	739	2664,8	5648,5	512,9
TNF- α (pg/ml)	0	0,2	5,8	0,3

Die jungen Patienten der Studie trugen noch eine geringe Krankheitslast, trotzdem kann man schon in diesem Alter klare Abgrenzungen zu gesunden Probanden treffen, da die Inflammationsparameter starke Abweichungen gegenüber Gesunden zeigen. Auch in der Studie von Osika et al. wurden sehr niedrige IL-6 Konzentrationen in Sputumproben bei Kindern mit zystischer Fibrose gefunden. Die niedrigen Konzentrationen könnten durch verminderte Produktion oder durch vermehrten Abbau entstehen (Osika et al., 1999). Niedrige IL-6 Konzentrationen bei Kindern mit zystischer Fibrose sind schon in mehreren Studien aufgefallen, ohne dass eine Erklärung dafür gefunden werden konnte (Osika et al., 1999, Nixon et al., 1998). Besonders der Vergleich der Konzentration von IL-1 β und IL-8 von gesunden Probanden bei Eickmeier et al. (Eickmeier et al., 2010) und den Patienten der vorliegenden Studie nach dem ersten Studienjahr führt die deutliche Abnahme der Konzentration noch einmal vor.

Für die Inflammationsanalyse von Sputum Überstand war oft nicht genug Sputum-Menge vorhanden, sodass hier weniger Daten vorliegen als bei der mikrobiologischen Auswertung.

5.4 Lungenfunktionsparameter

FEV1 in Prozent vom Soll im Studienverlauf

Die FEV1 Werte (im Folgenden immer in Prozent vom Soll) wurden durch die Therapie mit Lumacaftor/Ivacaftor im Median in der vorliegenden Studie nicht verbessert. Aber auch hier zeigte sich das individuelle Ansprechen der Patienten stark. Einzelne Patienten profitieren. Nach 2 Jahren wiesen 4 Patienten (57,1%) bessere FEV1-Messungsergebnisse auf. Nach 1 Jahr waren es sogar noch 5 (71,4%). Die FEV1 Verbesserungen spiegeln sich bei den profitierenden Patienten auch in der Auswertung der respiratorischen Kategorie des CFQR-Fragebogens für Kinder anhand der signifikanten Spearman-Korrelation wider (Spearman-Rho=0,292; $p=0,026$). Die Progression der Lungenfunktionsverschlechterung kann also durch die Therapie aufgehalten werden.

Connett et al. beschreibt auch, wie in der vorliegenden Studie, dass einzelne Patienten von einer FEV1% Verbesserung profitieren (Connett, 2019).

Wainwright et al. beschreibt eine FEV1% Verbesserung schon ab dem 15. Studientag um 6,7% bei erwachsenen Patienten ($p<0,001$) (Wainwright et al., 2015).

Schwierigkeiten bei der Durchführung der LCI-Messung und Veränderungen im Studienverlauf

In der vorliegenden Studie konnten nicht zu allen Untersuchungszeitpunkten LCI-Messergebnisse gewonnen werden. Die Messwiederholungen der einzelnen Durchgänge dürfen sich nicht mehr als 10% unterscheiden (Robinson et al., 2013a). Diese Anforderung zu erfüllen, gestaltete sich in mehreren Fällen schwierig, sodass einige Messergebnisse nicht in die Auswertung mit eingehen konnten. Insgesamt gelang in 37 von 54 Fällen (68,5%) die korrekte Durchführung. Die LCI-Messung stellt v.a. für junge Patienten mit geringerer Krankheitslast eine sehr viel genauere Messmethode dar, als die Bestimmung der FEV1 und ist daher für die klinische Praxis auf jeden Fall zu empfehlen. Auch hier führt Schulung und Übung von Patienten und Personal zu einer verlässlichen nicht- invasiven Diagnostik. Im ersten Studienjahr erfüllten 60% der Messungen die Kriterien für eine korrekte Auswertung, im zweiten Studienjahr schon 79%. Die fehlende Signifikanz kann auch durch fehlende Messwerte zustande kommen.

Unter der Therapie mit Lumacaftor/Ivacaftor traten bei 4 Patienten (66,67%) im ersten

Studienjahr verbesserte LCI-Werte auf und 3 Patienten (50%) zeigten auch im zweiten Studienjahr noch bessere LCI-Ergebnisse, als vor Beginn der Therapie (ersichtlich aus Abbildung 45). LCI-Ergebnis-Verbesserungen konnten in diesem Fall aber nicht mit Verbesserungen in der respiratorischen Kategorie des CFQR-Fragebogens in Verbindung gebracht werden. Milla et al. konnte signifikante Verbesserungen der LCI -Messung, jedoch nicht der FEV1% nach zwei, vier und 24 Wochen der Therapie mit Lumacaftor/Ivacaftor bei Kindern zwischen 6 und 11 Jahren fest stellen (Milla et al., 2017)

5.5 Entzündungsparameter im Blut

IgG, Leukozyten-Anzahl und CRP nahmen im Verlauf des Untersuchungszeitraumes der vorliegenden Studie, vor allem aber im ersten Jahr ab. Danach blieben die Konzentrationen konstant niedrig und geringer als zum Zeitpunkt des ersten Visits. Somit kann hier eine systemische Stabilisierung angenommen werden. Leukozyten-Anzahl und CRP lagen dabei ohnehin immer im physiologischen Bereich.

Die Konzentration des IgG nahm von Visit 1 bis Visit 5 ab. Im zweiten Jahr erfolgte ein Anstieg bis Visit 9 (vergleiche Abbildung 17). Der Ausgangswert wurde nicht wieder erreicht, so dass der Krankheitsprogress vermutlich stark eingeschränkt wird. Der Anstieg im zweiten Jahr, soll im Folgenden diskutiert werden.

Ein ähnlicher Verlauf findet sich in der vorliegenden Studie auch bei der Messung der Leukozyten-Konzentration (vergleiche Abbildung 19).

Abnahme der CRP-Konzentration

Im Studienzeitraum nahm die Konzentration des CRP-Wertes von Visit 1 bis Visit 9 ab (siehe Abbildung 20). Lediglich zum Zeitpunkt des ersten Visits lag bei einem Patienten ein pathologisch erhöhter Wert auf Grund einer vorangegangenen Exazerbation vor. Die Konzentration des CRP-Wertes konnte in der Literatur bisher noch nicht als prädiktiv für die Dauer der Therapie angesehen werden, aber Aussagen über die Länge des Zeitraums bis zur nächsten Therapie waren möglich (Shoki et al., 2013). So beschreibt Sharma et al. die hohe Spezifität für den Zusammenhang von CRP Konzentrationen über 75mg/l und dem nicht Ansprechen auf die Therapie von Exazerbationen (Sharma et al., 2017).

In der Literatur wird oft die geringe Sensitivität der Inflammationsparameter im Blut für pathologische Prozesse kritisiert, die auf die Lunge begrenzt sind (Matouk et al., 2016). In der vorliegenden Arbeit konnte auf Grund der geringen Veränderungen der Lungenparameter diese Aussage nicht entkräftet werden.

5.6 CFTR Modulation unter dem Zwerchfell

Die meisten jungen Patienten weisen noch eine gute Lungenfunktion auf. Eine größere Bedeutung für die Lebensqualität und den Alltag in diesem Alter haben oft die Symptome außerhalb des Respirationstraktes. Neugeborene entwickeln oft in den ersten Lebensstunden schon einen Meconiumileus. Typische Beschwerden von betroffenen Kindern im Alter von sechs bis 12 Jahren sind Reflux, faulig riechender Stuhl oder Diarrhö genauso wie Mangelernährung und vermindertes Körperwachstum (VanDevanter et al., 2016). Umso wichtiger ist es, auch unterhalb des Zwerchfells Diagnostik zu betreiben und wichtige klinische Parameter zu implementieren und routinemäßig zu erheben. Auch hier besteht die Möglichkeit, verschiedene Biomarker zu analysieren um pathognomonische Muster aufzudecken, genauso wie die weitreichenden Auswirkungen der Therapie mit Lumacaftor/Ivacaftor aufzudecken.

5.6.1 Veränderung der Calprotectin-Konzentration

Die Konzentration von Calprotectin im Stuhl sank in der vorliegenden Arbeit sofort nach der Einstellung auf Lumacaftor/ Ivacaftor. Eine starke Abnahme ist schon bei Visit 2 zu verzeichnen und die Werte bleiben konstant niedrig im Untersuchungszeitraum (siehe Abbildung 24). Die gemessene Calprotectin-Konzentration sank von Visit 1 bis Visit 5 und stieg im zweiten Untersuchungsjahr an. Somit konnte auch hier der Anstieg von Inflammationsmarkern im zweiten Jahr gefunden werden.

In der Studie von Ellemunter et al. konnte eine um das sechsfache erhöhte Konzentration von Calprotectin im Stuhl im Vergleich zum Serum nachgewiesen werden. Bei pankreasinsuffizienten Patienten (Altersdurchschnitt 18,9; 79% F508del homozygot) wurde im Median eine Konzentration von 68 µg/g nachgewiesen. Eine zweifach erhöhte CRP-Konzentration ging dabei mit einer um 11% erhöhten Calprotectin Konzentration einher (Ellemunter et al., 2017), sodass eine Assoziation zwischen intestinaler und systemischer Inflammation besteht.

In der OrkambiKIDS Studie lag die durchschnittliche Konzentration ab der Einnahme von Lumacaftor/Ivacaftor im Mittel bei 89,9 µg/g. Eine Korrelation von Calprotectin und CRP konnte nicht signifikant nachgewiesen werden und somit der Zusammenhang zwischen intestinaler und systemischer Inflammation nicht weiter bestärkt werden. Da Patienten Sputum auch verschlucken, kann eine Stimulation der Mukosa durch verschluckte Bakterien und Sputumbestandteile angenommen werden. Weniger Sputumproduktion durch die Einnahme des Medikaments kann zu geringeren Calprotectin-Konzentrationen führen. Dagegen spricht aber, dass die Calprotectinkonzentration im Stuhl im Vergleich zu anderen Messquellen, wie Blut und Sputum 30 mal höher ist und somit das verschluckte Sputum wenig zur Calprotectinkonzentration beiträgt (Rumman et al., 2014). Kein signifikanter Zusammenhang konnte für Calprotectin und die Kategorie „Digestive“ im CFQR-Fragebogen gefunden werden.

5.6.2 Cathepsin B

Die Bestimmung von Cathepsin im Urin zeigte in der vorliegenden Arbeit erst nach einem Jahr eine leichte Verminderung im Median (siehe Abbildung 28). Nicht zu erklären ist der Wert von Patient 6. Laguna et al. konnte bei Kindern mit CF (Altersdurchschnitt 3,5 Jahre) eine Cathepsin B Konzentration im Urin von 0,83 ng/ml nachweisen (Laguna et al., 2018). Die Kinder der OrkambiKIDS Studie zeigten im Durchschnitt Werte von 1,23 ng/ml. Bei gesunden Probanden (mit einem Alter von durchschnittlich 2,4 Monaten; FEV1%: 96% über 2 Jahre) konnte Laguna et al. eine Konzentration von 0,59 ng/ml nachweisen, sodass eindeutig erhöhte Werte bei Patienten mit CF vorliegen. Cathepsin B wird im Respirationstrakt als Inflammationsparameter verwendet, sodass die Bestimmung aus Urin mittels ELISA eine einfache Methode darstellt, die chronische Lungenerkrankung zu überwachen, vor allem bei Patienten, bei denen keine Expektorat von Sputum möglich ist. Stark erhöhte Cathepsin B-Werte finden sich vor allem bei Patienten mit fortgeschrittener Lungenerkrankung.

Da die Durchführung der Studie zuerst auf ein Jahr ausgelegt war, wurde die Bestimmung von Cathepsin B im Urin nur im ersten Jahr durchgeführt. Im zweiten Jahr werden keine wesentlichen Veränderungen erwartet.

5.6.3 Lumacaftor/Ivacaftor und die Leber

Da Erkrankungen der Leber das Überleben der Patienten beeinträchtigen, ist es von großer Bedeutung auch auf die Wirkung der Modulator-Therapie in diesem Bereich einen Blick zu werfen. Die alkalische Phosphatase, sowie GPT und GOT können durch verschiedene Auslöser erhöht sein. Hepatotoxische Medikamente, biliäre Zirrhose und Gallensäureaufstau müssen hier betrachtet werden. Die alkalische Phosphatase wird aber auch durch Haut, Knochen und Niere gebildet und ist somit nicht Leber-spezifisch.

Verlauf der alkalischen Phosphatase

In der vorliegenden Arbeit kam es zu einer starken Verminderung der alkalischen Phosphatase (siehe Abbildung 26). Auch hier konnte wieder ein leichter Anstieg im zweiten Jahr festgestellt werden. Vor Studienbeginn wiesen zwei Patienten pathologisch erhöhte Werte auf, am Ende nur noch einer. Eine Stabilisierung war hier langfristig möglich. Die AP kann dabei aber nicht als Leberspezifisch angesehen werden, da auch in Niere und Knochen relevante Mengen gebildet werden. Bei Kindern unter 4 Jahren wurden keine erhöhten Werte der alkalischen Phosphatase festgestellt, jedoch bei Studienteilnehmern über 16 Jahren in fast 50% der Fälle (Boat et al., 1974). Der Zeitpunkt des Beginns der Lebererkrankung und damit auch der notwendige Therapiebeginn muss noch präziser bestimmt werden.

Verlauf von GOT und GPT

Die in der vorliegenden Studie signifikante Verminderung der Konzentrationen der GOT und der GPT sprechen in jedem Fall für eine verbesserte Leber-Gesundheit (ersichtlich in den Abbildungen 49-52). Bei beiden Parametern blieb die Abnahme konstant. Es wurde keine Zunahme im zweiten Jahr gefunden, sodass die positive Wirkung von Lumacaftor/Ivacaftor auf die Lebergesundheit auch längerfristig nachgewiesen wurde.

Woodruff et al. konnte erhöhte AST-Werte als stärksten Prädiktor für darauffolgende symptomatische Lebererkrankung festlegen (Woodruff et al., 2017). In der Studie von Woodruff et al. wurden Patienten mit 2 mutierten Genen für CFTR-Kanäle untersucht. Dabei wurden erhöhte Leberwerte schon bei Kindern unter zwei Jahren festgestellt. 93% aller 21-jährigen wiesen mindestens einen erhöhten Leberwert auf, wobei die Erhöhung meist mild war (Woodruff et al., 2017). Unter der Therapie mit Lumacaftor/Ivacaftor wurde schon signifikant weniger Steatosis hepatis nachgewiesen (Kutney et al., 2019). Woodruff et al. beschreibt erhöhte GPT Werte vor allem bei weiblichen Patienten, wobei eine frühzeitige Leberzirrhose eher bei männlichen CF-Patienten eintritt (Woodruff et al., 2017). Diese Aussagen konnten in der vorliegenden Studienpopulation nicht bestätigt werden. Durch die festgestellten Veränderungen der Leberwerte durch die Modulatoren-Therapie kann hier in einen weiteren Prozess der CF-Pathogenese eingegriffen werden. Zukünftige Studien sollten diese Auswirkungen beachten.

5.6.4 Gastrointestinale Symptome

Nach dem Beginn der Modulatoren-Therapie wurden in vergleichbaren Studien Veränderungen der Gallensäuren, der Phospholipide, des Aminosäurestoffwechsels und des Fettstoffwechsels gefunden (Kopp et al., 2018) Diese weitreichenden Veränderungen zeigten sich auch in den Domänen „Body“ und „Digestive“ des CFQR-Fragebogens in der vorliegenden Arbeit. Der Appetit wurde verbessert. Außerdem beschrieben die Patienten im Symptome-Fragebogen weniger unter Blähungen, Durchfall, Bauchschmerz und Übelkeit zu leiden. Dieser Gewinn an Lebensqualität lässt sich nur schwer an Biomarkern messen, ist aber entscheidend für die Patienten.

5.7 BMI

Eine Verbesserung des Perzentilen-bezogenen BMIs einzelner Patienten ließ sich bei der Auswertung der Daten der durchgeführten Studie auch in Übereinstimmung mit verbesserten Werten der Kategorien „Eat“ und „Body“ des CFQR-Fragebogens finden. Beispielsweise bei Patient 6 und Patient 2. Noch genauer wäre die Bestimmung der „lean Body Mass“, da in dieser Messung der Anteil an Muskulatur und Fettgewebe besser unterschieden werden kann. Insgesamt verbesserte sich der Perzentilen-bezogene BMI im Median während des Studienzeitraums von 21 auf 40 (siehe Abbildung 37). Die signifikante Verbesserung wird auch in der Literatur beschrieben (Milla et al., 2017).

Die Bestimmung des BMI bzw. den Perzentilen hat eine große Aussagekraft über den Gesundheitszustand der Patienten. Weniger herausfordernde Exazerbationen und eine bessere

Verdauung tragen zur gesunden Entwicklung der Kinder bei. Durch den Einsatz von Lumacaftor/Ivacaftor wird auch der Geruchssinn verbessert (Liou, 2019), wodurch der Appetit beeinflusst wird. Auch wenn die Mechanismen des verbesserten Ernährungszustands durch Lumacaftor/Ivacaftor nicht vollständig erklärt sind, wird eine verbesserte Kalorienaufnahme beschrieben. Dies kann z.B. auch durch einen normalisierten intestinalen pH-Wert ausgelöst werden (Wainwright et al., 2015).

5.8 Nebenwirkungen und CFQR

Für die Modulatoren-Therapie wurden keine Sicherheitsbedenken gefunden (Milla et al., 2017). Im Symptome-Fragebogen der OrkambiKIDS-Studie nahmen Kopfschmerz, Schwindel, laufende Nase, Auswurf, Husten, Übelkeit und Appetitlosigkeit bis zum zweiten Visit erst zu, bevor diese Symptome unter das Ausgangsniveau fallen. Somit sind nach der Eingewöhnung keine weiteren Nebenwirkungen mehr aufgetreten und die CF-assoziierten Symptome wurden durch die Therapie, wie in Abbildung 47 ersichtlich, vermindert, da die Ergebnisse des ersten Visits als Ausgangswert vor Medikamenteneinnahme angesehen werden können.

Tabelle 67 Vergleich der Studie mit (Milla et al., 2017); Ausgangswerte vor Studienbeginn

	Milla et al.	OrkambiKIDS
n	54	7
Alter	9,1	9,4
Schweißchlorid mmol/l	105,9	97,5
BMI	16,89	16,19
FEV1	91,4	96,8

Aus der Tabelle 67 kann die Vergleichbarkeit des Patientenkollektivs der Studie von Milla et al. mit der vorliegenden Studie entnommen werden. Das Studienkollektiv weist große Ähnlichkeiten auf.

Tabelle 68 Vergleich der Parameter BMI, CFQR "Respiratory" und Schweißchlorid im Verlauf

		Baseline/ Visit 1	16 Wochen / Visit 2	24 Wochen / Visit 3
Milla et al	FEV1	91,4	92,8 (p=0,3651)	93,9 (p=0,067)
OrkambiKIDS	FEV1	96,8	97,7	101,5
Milla et al	Schweißchlorid mmol/l	105,9		81,1 (p=0,001)
OrkambiKIDS	Schweißchlorid mmol/l	97,5	77,3	75
Milla et al.	BMI	16,89	17,29 (p=0,001)	17,49 (p=0,001)
OrkambiKIDS	BMI	16,19	15,72	15,85
Milla et al.	CFQR „Respiratory“	78,3	85,6 (p=0,001)	83,7 (p=0,008)
OrkambiKIDS	CFQR „Respiratory“	83,3	80,95	90,48

Um die Parameter CFQR Respiratory, FEV1, Schweißchlorid und BMI mit der Studie von Milla et al. zu vergleichen, wurden die Untersuchungszeitpunkte Visit 1 und der Zeitpunkt „Baseline“ bei Milla et al. gleichgesetzt. Visit 2 fand in der vorliegenden OrkambiKIDS Studie

nach 90 Tagen statt und somit zu einem vergleichbaren Zeitpunkt wie bei Milla et al. nach 16 Wochen. Aus Tabelle 68 wird ersichtlich, dass ähnliche Verbesserungen erreicht werden konnten.

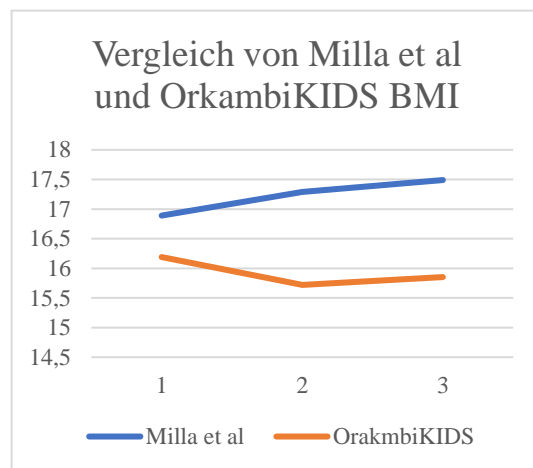
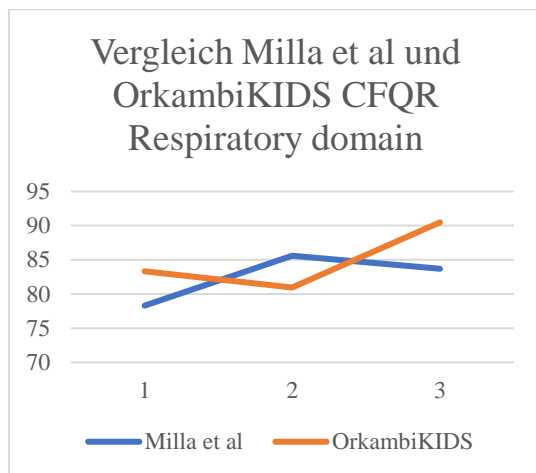


Abbildung 73 Vergleich der Domäne „Respiratory“ Abbildung 72 Vergleich des BMI

Die OrkambiKIDS Studie konnte mehr respiratorische Verbesserungen mittels CFQR-Fragebogen nachweisen als die Untersuchung von Milla et al., die Verbesserung im BMI war geringer.

5.9 Die Veränderung der Parameter im zweiten Studienjahr

Im zweiten Studienjahr nehmen die Werte von IgG, Leukozyten-Konzentration, Calprotectin und CRP wieder zu. Zwar wird mit Sicherheit eine Stabilisierung des Gesundheitszustands ausgelöst und das Fortschreiten effektiv eingedämmt, dennoch scheint die Therapie mit Lumacaftor/Ivacaftor nach zirka einem Jahr an Effektivität zu verlieren. Hierzu gibt es noch keine ausreichende Datenlage.

5.10 Limitierungen der Ergebnisinterpretation

5.10.1 Compliance

Einen großen Einfluss auf den Verlauf der Erkrankung und den Gesundheitszustand hat die Compliance der Patienten. Die regelmäßige Einnahme von Lumacaftor/Ivacaftor zweimal täglich und die regelmäßige Physiotherapie betrifft das gesamte Umfeld der Patienten. Die Förderung mit Sportangeboten und das Einhalten aller Medikamentenpläne ist auf Grund des jungen Alters stark von dem sozialen Umfeld der Patienten abhängig. Auch die Erhebung der Daten war stark von der Compliance abhängig. Vor allem bei der Expektoration von Sputum während der Physiotherapie und bei der Messung der Lungenfunktionsparameter spielt das Verhalten der Kinder eine große Rolle.

5.10.2 Heterogenität der Studienteilnehmer

Der Verlauf der Erkrankung unterscheidet sich bei Patienten sehr stark und auch schon in jungem Alter weisen die Patienten sehr verschiedene Krankheitsausprägungen auf, sodass die Vergleichbarkeit der einzelnen Teilnehmer der Studie dadurch eingeschränkt wird, bzw. der Vorteil der Behandlung unterschiedlich stark ersichtlich wird. Auch die Altersunterschiede spielen hier eine große Rolle. Grundsätzlich haben alle Patienten von der Einnahme von Lumacaftor/Ivacaftor profitiert, nur das Ausmaß unterscheidet sich.

5.10.3 Ein Visit - nur eine Momentaufnahme?

Signifikante Veränderungen traten oft innerhalb des ersten Jahres ein. Zum Beispiel bei der Auswertung des BMIs, des Symptome-Fragebogens und der Konzentration der alkalischen Phosphatase. Im zweiten Studienjahr stiegen zum Beispiel die Konzentration von IgG, Calprotectin und der alkalischen Phosphatase wieder an. Somit zeigt sich, dass keine Heilung und keine Umkehr der Erkrankung möglich sind, jedoch ein Fortschreiten verlangsamt werden kann. Da keine Vergleichskohorte vorlag, können nur schwer Aussagen getroffen werden, wie die Werte sich ohne Modulator-Therapie entwickelt hätten. Das in Frage stellen der richtigen Studienperiode beschäftigt viele Wissenschaftler (Roesch et al., 2018). Die Wirkung des Medikaments kann zum Beispiel auch überschätzt werden, wenn ein Patient kurz vor der Einstellung eine Exazerbation erlitt und mit besonders schlechten Werten in den Studienzeitraum gestartet ist. Der Beginn des Studienzeitraums lag zu dem im Winter, einer Zeit, in der Viren und Erkältungswellen vermehrt kursieren. Die Untersuchungen in der Studie waren gleichzeitig auch Routine-Untersuchungen, sodass Reaktionen und Veränderungen der Therapie durch die Behandelnden nicht ausgeschlossen werden können.

5.10.4 Probenprozessierung

Die Bestimmung der verschiedenen Inflammationsparameter erfolgte aus gefrorenen Proben. Diese wurden bei -80°C gelagert. Die Prozessierung wie auch das Auftauen, führten sicherlich zur Zerstörung von Zytokinen, bzw. konnten in der Zwischenzeit Proteasen Enzyme spalten und dem Nachweis somit entziehen. Um diesem Problem zu begegnen, wurden den Sputumproben Protease-Inhibitoren zugegeben. In welchem Ausmaß dies der Fall war, konnte nicht bestimmt werden.

5.10.5 Calprotectin-Bestimmung

Die Konzentration von Calprotectin wurde aus frischem Stuhl bestimmt. Auf Grund der Symptome des Gastrointestinaltrakts war es aber oft nicht möglich, Stuhlproben zu erhalten. Diese wurden oft erst mit zeitlichem Verzug von bis zu einer Woche von den Eltern nachgereicht. Um fehlende Konzentrationen zu bestimmen und einen besseren Überblick über die Kohorte zu erhalten, wurde am Ende noch einmal eine Messung aus bei -80°C gefrorenen Stuhlproben angefertigt. Der Hersteller des Messungsverfahrens empfiehlt jedoch nicht, gefrorenen Stuhl zu verwenden. Mit den Ergebnissen aus der Messung von gefrorenem Stuhl wurden fehlende Daten ergänzt, wenn Messungen aus frischen und gefrorenen Stuhlproben vorlagen, wurde der Mittelwert gebildet so lange sich die Messungen nicht um mehr als 10% unterschieden. Sicherlich kann davon ausgegangen werden, dass beim Gefrieren und Auftauen Enzyme zerstört wurden. Zwei gefrorene Stuhlproben wurden im Abstand von 2 Wochen gemessen und somit einmal mehr gefroren und aufgetaut, dadurch verringerte sich die gemessene Calprotectin-Konzentration einmal um $100\mu\text{g/g}$ und einmal um $37\mu\text{g/g}$.

5.10.6 Fragebögen: Die Beeinflussung der Kinder durch die Eltern

Auf Grund des jungen Alters sind die Patienten beim Ausfüllen des Fragebogens sicherlich stark von der Einstellung der Eltern zu der Erkrankungsschwere beeinflusst. Manche Eltern empfinden die Krankheit als wenig belastend, beantworten die Fragebögen mit sehr guten Ergebnissen. Diese Einstellung überträgt sich auch auf die Kinder. Als wenig belastend können Eltern die Erkrankung aber auch empfinden, welche weniger Zeit in die Therapie ihrer Kinder investieren, sodass das Gesundheitsempfinden sehr subjektiv zu werten ist. Mehrmals tauchen im CFQR-Fragebogen auch Fragen auf, ob das Kind im Schulsport und im Vergleich mit anderen Kindern genauso schnell laufen kann. Diese Frage ist im Zeitraum der Covid-19 Pandemie in der weder in Schulen noch im Verein gemeinsam Sport betrieben wurde natürlich schwer zu beantworten.

5.10.7 Die Kohorte- zu kleine Fallzahl, zu heterogen

Besonders auffallend ist, dass die Patienten sehr unterschiedlich auf die Therapie mit Lumacaftor/Ivacaftor ansprechen. Die Voraussage, welche Patienten am meisten profitieren werden, ist schwierig. Die Behandlung und Studiendurchführung der zystischen Fibrose ist aufwändig, auf Grund der vielen noch ungeklärten Mechanismen ist es von Vorteil möglichst viele Parameter zu erheben, um pathognomonische Muster aufzudecken. Gleichzeitig ist es nicht möglich, sehr große Kohorten zu akquirieren, da die Erkrankung selten ist und wiederum in unterschiedliche genetische Mutationen unterteilt werden muss. Auch der Vergleich von verschiedenen Altersgruppen und *P. aeruginosa*-Infizierten mit Nicht-Infizierten ist nur bedingt möglich. Die Verläufe sind sehr individuell und durch medikamentöse wie auch physiotherapeutische Intervention stark beeinflussbar. Auch in der vorliegenden Studie zeigten sich große Unterschiede zwischen den einzelnen Patienten.

Die Studienergebnisse können auch dadurch beeinflusst werden, dass nur Patienten auf die Therapie mit Lumacaftor/Ivacaftor eingestellt wurden, denen genug Compliance zugerechnet wird, die regelmäßigen Untersuchungen wahrzunehmen, da die Bestimmung von Leberwerten und Augeninnendruck vorgeschrieben ist. Insgesamt wurden bei einer kleinen Kohorte zu vielen verschiedenen Zeitpunkten viele unterschiedliche Parameter untersucht. Dadurch entsteht ein sehr genaues Bild über einzelne Patienten, wohingegen signifikante Veränderungen auf die ganze Kohorte betrachtet nur selten entstehen.

5.10.8 Probleme bei der Erhebung von Antibiotikagebrauch und Exazerbation

Einige Eltern stehen der häufigen Verschreibung von Antibiotikatherapien kritisch gegenüber und es konnte nicht sichergestellt werden, ob verschriebene Antibiotika auch wirklich eingenommen worden sind und ob alle Exazerbationen von den Eltern soweit erkannt wurden, dass auch ärztliche Hilfe in Anspruch genommen worden wurde. Auch die vermehrten Kontrolluntersuchungen können zu einer erhöhten dokumentierten Exazerbationsrate führen.

5.10.9 Zystische Fibrose und die Covid-19 Pandemie

Durch verstärkte Hygienemaßnahmen, wie das Tragen einer medizinischen Maske und die Abstandsregeln kann die verminderte Exazerbationsrate im zweiten Studienjahr sicherlich mit ausgelöst worden sein. Die geringere Exposition gegenüber typischen Erkältungsviren stabilisierte sicherlich den Gesundheitszustand der Patienten und löste weniger Exazerbationen aus. Genauso vermieden Patienten wegen milderer Beschwerden in die Klinik zu kommen, sodass weniger Daten zu Exazerbationen vorliegen könnten.

5.11 Was kam zuerst: Inflammation oder Infektion?

In der vorliegenden Arbeit wurden zahlreiche Inflammationsparameter bestimmt, umso die Modulierbarkeit der Pathogenese und die vielfältigen Auswirkungen der Inflammation auf den Körper zu untersuchen. Aber welche Vorgänge sind hier besonders entscheidend - Inflammation oder Infektion? Es ist schwierig, die stetige Spirale der Verschlechterung des Gesundheitszustands zu durchbrechen, wenn Auslöser unerkannt bleiben. Die exzessive Inflammation könnte durch die Stimulation zur Zytokinbildung durch Bakterien ausgelöst werden, genauso aber auch durch konstitutive abnormale Fehlregulation der Zytokinbildung durch Zellen, oder beides. Die Inflammation der Atemwege wird als Antwort auf die Infektion mit Keimen gesehen, dennoch tritt die Inflammation schon sehr früh im Leben der Patienten auf und eine Infektion ist zu diesem Zeitpunkt oft noch gar nicht nachweisbar. Chronische Infektionen können nachgewiesen werden, bevor überhaupt eine Erkrankung der Lunge festgestellt werden kann. Die Persistenz von Inflammation, Infektion und der darauf folgenden Lungengewebezerstörung kann kaum durchbrochen werden und die unbekanntenen Auslöser und Verstärker nicht effektiv therapiert werden (Courtney et al., 2004). Die Therapie der Infektion und Unterdrückung der

Inflammation müssen sorgfältig geplant werden, um Resistenzen und eine insgesamt verschlechterte Abwehrlage nicht zu fördern. Nicht außer Acht gelassen werden darf außerdem, dass bei Probenentnahmen nie alle Bakterien nachweisbar sind, dass die Lunge sehr heterogen besiedelt ist und es nicht möglich ist, diese Heterogenität korrekt darzustellen. Genauso auch, dass Enzyme schnell durch Proteasen zersetzt werden und sich dem Nachweis entziehen. Der größte Teil des Gewebeschadens entsteht durch die aktivierten neutrophilen Granulozyten, auch hier fehlt noch viel Wissen, warum und durch welche Faktoren die Gegenregulation gestört ist (Courtney et al., 2004).

5.12 Exkurs - Entwicklung der Modulatoren-Therapie

2012 erfolgte die Zulassung von Ivacaftor für Patienten über 6 Jahren mit mindestens einem G55D Allel. Mittlerweile wird es für mehr als 30 verschiedene Mutationen eingesetzt (Boyd et al., 2021). Als Potenziator verlängert es die Öffnungszeit des CFTR-Kanals. Verbesserungen der FEV1 vom Soll und der Schweißchlorid-Konzentration konnten schnell nachgewiesen werden. Aber auch das Risiko der Hospitalisierung, Tod, Lungentransplantation, Entwicklung eines durch CF ausgelösten Diabetes und die Infektion mit *S. aureus* und *P. aeruginosa* wurde vermindert. Diese Entdeckung und Einführung in die Therapie ist ein Meilenstein in der Therapie der zystischen Fibrose und beförderte die Entwicklung weiterer Modulatoren (Boyd et al., 2021).

Die Fehlfaltung des mutierten Kanals führt aber zu einem vorzeitigen Abbau, sodass das Protein oft nicht zur Zellmembran gelangt. Dieses Problem wird durch die Einführung von Lumacaftor therapiert. Als Korrektor verbessert das Medikament die Stabilität des Proteins. Lumacaftor alleine zeigte in Studien keine Verbesserung der Lungenfunktion oder Schweißchlorid-Konzentration. In Kombination mit Ivacaftor konnten weitreichende Verbesserungen gefunden werden. Mit der Einführung von Tezacaftor wurde Lumacaftor ersetzt durch ein Medikament mit gleicher Wirkstärke, aber weniger Nebenwirkungen und weniger Interaktionspotenzial mit anderen Arzneimitteln (Boyd et al., 2021). Mit der Einführung von Kaftrio® steht nun auch eine dreifache Kombination zur Verfügung. Diese besteht aus Ivacaftor und den beiden Korrektoren Tezacaftor und Elexacaftor (Boyd et al., 2021), dadurch kann die Funktionsfähigkeit des CFTR-Kanals noch einmal stark verbessert werden. Nach Beendigung der OrkambiKIDS Studie, wurden alle Studienteilnehmer, die älter als 12 Jahre sind auf die Therapie mit Kaftrio® eingestellt, um die bestmögliche Therapie zu gewährleisten. Für die Studienteilnehmer unter 12 Jahren besteht die Möglichkeit der Therapie mit Kaftrio® ab Januar 2022. Zu beachten ist bei der Entwicklung neuer Therapie, dass der frühzeitige Therapiebeginn große Vorteile birgt, aber Kinder immer erst zeitlich versetzt von neuen Medikamenten profitieren, da die Zulassung für diese Altersklassen immer erst zu späteren Zeitpunkten erfolgt.

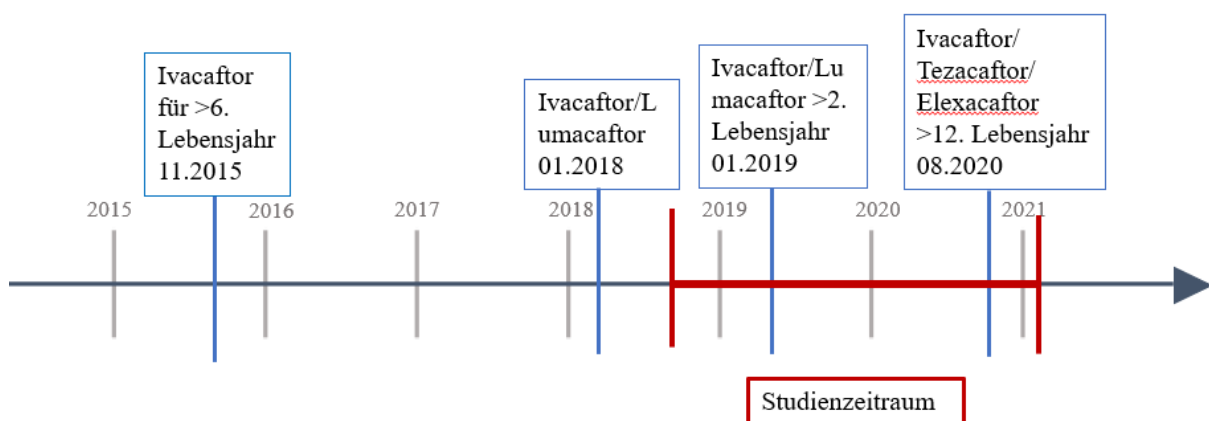


Abbildung 74 Zeitverlauf der Medikamenteneinführung in Deutschland nach (Boyd et al., 2021) und <https://arznei-news.de/lumacaftorivacaftor/>

5.12.1 Schlussfolgerung und Implikationen für die Praxis

Die vorliegende Studie hat gezeigt, dass die regelmäßige Sputumexpektoration auch für Kinder ab 6 Jahren gut möglich ist und dadurch wichtige Erkenntnisse über die bakterielle Besiedelung ermöglicht werden. Die Analyse der Inflammationsparameter im Sputum ist aktuell für den klinischen Alltag zu aufwändig. Auch die Untersuchung des Mikrobioms wird hier in Zukunft sicherlich große Wissenslücken füllen. Somit wird der Weg eröffnet in eine spezifische und personalisierte Therapie. Als Ziel kann hier sicher eine Langzeitstabilisierung des Gesundheitszustands und somit eine große Lebenszeit- und Lebensqualitätsgewinn für die betroffenen Patienten erreicht werden. In der Studie von Rubin et al. wurde für Patienten, die ab dem 6 Lebensjahr die Therapie mit Lumacaftor/Ivacaftor begannen eine höhere Lebenserwartung von 7,8 Jahren errechnet und der Zeitpunkt für eine Lungentransplantation um 12 Jahre verzögert (Rubin et al., 2019).

Es bleiben viele wissenschaftliche Lücken bestehen, die Stück für Stück geschlossen werden müssen. Empfehlenswert ist sicherlich das Erheben von mehreren und verschiedenen Parametern im klinischen Alltag, um einerseits Langzeitdaten für zukünftige Patientengenerationen zu sammeln und andererseits Therapien zielgerichteter und früher einführen zu können. Auch die Weiterentwicklung der Modulatoren-Therapie ist entscheidend. Der Ansatz erscheint vielversprechend, auch wenn eine vollständige Korrektur mit Lumacaftor/Ivacaftor bei weitem nicht möglich ist. Zukünftige Generationen wie Ivacaftor/Tezacaftor /Elexacaftor werden immer größere Korrekturmöglichkeiten zulassen.

6 Zusammenfassung

Ziel: Die vorliegende Arbeit hatte zum Ziel, die Veränderungen der pulmonalen, intestinalen und systemischen Inflammationsparameter, der bakteriellen Besiedelung und die Veränderungen der Lebensqualität von Patienten über 2 Jahre nach Beginn der Therapie mit dem CFTR-Modulator Lumacaftor/Ivacaftor aufzuzeigen.

Methoden: 7 Patienten im Alter von 6-12 Jahren wurden in die prospektive longitudinale Studie der CFTR-Modulatoren-Therapie (Lumacaftor/Ivacaftor) eingeschlossen. Während der ersten beiden Jahre der Medikamenteneinnahme wurden alle 3 Monate Stuhl-, Urin-, Blut-, Sputum-Proben und Rachenabstriche gewonnen und Fragebögen zur Lebensqualität und Symptomen beantwortet. Das prozessierte Sputum wurde mittels Cytometric-Bead-Arrays auf verschiedene Inflammationsparameter (TNF- α , IL-1 β , IL-6 und IL-8) und mittels ELISA die Konzentration der neutrophilen Elastase untersucht. In Urinproben wurde durch ein ELISA die Konzentration des Cathepsin bestimmt. Inflammationsparameter aus Blutproben (IgG, Leukozyten, CRP) und Stuhlproben (Calprotectin) wurden durch das Zentrallabor der Universitätsmedizin Mainz erhoben. Der Einfluss der Therapie auf die Lebergesundheit wurde mittels Bestimmung der GOT, GPT und AP im Plasma untersucht. Eine mikrobiologische Untersuchung von Sputumproben und Rachenabstrichen wurde durchgeführt. Des Weiteren wurde die Lungenfunktion der Probanden mit Hilfe von FEV1, LCI und FRC im Verlauf überprüft.

Ergebnis: Während des Untersuchungszeitraums kam es zur signifikanten Abnahme von IgG (Visit 1 Median 11,8 g/l auf Visit 9 Median 9,6g/l; $p < 0,01$) und der Leukozyten-Anzahl im Blut (Visit 1 Median 9,9/nl auf Visit 9 Median 0,2/nl; $p = 0,014$). Für beide Parameter lässt sich ein starker Effekt nach Cohens f bestimmen. Außerdem kommt es zur signifikanten Abnahme der GOT (Visit 1 Median: 32U/l auf Visit 9 Median: 25,5U/l; $p = 0,014$) und GPT (Visit 1 Median: 28 U/l auf Visit 9 Median: 16,5 U/l; $p = 0,011$). Im Stuhl konnte eine Abnahme von Calprotectin nachgewiesen werden (Visit 1 Median 215 μ g/g auf Visit 9 Median 93 μ g/g). Auch die Cathepsin B Konzentration im Urin verminderte sich (Visit 1 Median 1,1 ng/ml auf Visit 5 Median 0,8 ng/ml). Besonders entscheidend war die Analyse der Sputumproben. 74% der Patienten konnten induziertes Sputum expektorieren. Dabei unterschieden sich in 44% die bakterielle Besiedelung der Proben im Vergleich mit dem Rachenabstrich. Bei Messungen der neutrophilen Elastase, TNF- α , IL-1 β , IL-6 und IL-8 ergaben sich kaum Veränderungen. Es kann gezeigt werden, dass das Medikament Lumacaftor/Ivacaftor zwar systemisch stark Entzündungsparameter verringert und sich positiv auf die Lebergesundheit auswirkt, die Inflammation der Lunge anhand der gemessenen Parameter aber nur wenig verändert wird.

Fazit: Auch wenn die Wirkstoffkombination aus Lumacaftor und Ivacaftor keine vollständige Korrektur des mutierten CFTR-Proteins ermöglicht, so ist trotzdem eine starke Auswirkung auf die Verzögerung der Krankheitsprogression nachweisbar. Es wurden keine ausgeprägten Nebenwirkungen festgestellt. Die Begleitsymptome der Erkrankung wurden vermindert. Eine Stabilisierung des Gesundheitszustands junger CF-Patienten kann durch das Medikament erreicht werden. Die Etablierung von Physiotherapie zur Produktion von induziertem Sputum ist zu empfehlen, da womöglich genauere mikrobiologische Aussagen gewonnen werden können.

VI. Literaturverzeichnis

- AGARWAL, R., SEHGAL, I. S., DHOORIA, S., MUTHU, V., PRASAD, K. T., BAL, A., AGGARWAL, A. N. & CHAKRABARTI, A. 2020. Allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Indian J Med Res*, 151, 529-549.
- BARRIO, R. 2015. Management of endocrine disease: Cystic fibrosis-related diabetes: novel pathogenic insights opening new therapeutic avenues. *Eur J Endocrinol*, 172, R131-41.
- BEN DEKHIL, S. M., PEEL, M. M., LENNOX, V. A., STACKEBRANDT, E. & SLY, L. I. 1997. Isolation of *Lautropia mirabilis* from sputa of a cystic fibrosis patient. *J Clin Microbiol*, 35, 1024-6.
- BHAGIRATH, A. Y., LI, Y., SOMAYAJULA, D., DADASHI, M., BADR, S. & DUAN, K. 2016. Cystic fibrosis lung environment and *Pseudomonas aeruginosa* infection. *BMC Pulm Med*, 16, 174.
- BITTAR, F., STREMLER, N., AUDIÉ, J. P., DUBUS, J. C., SARLES, J., RAOULT, D. & ROLAIN, J. M. 2010. *Nocardia farcinica* lung infection in a patient with cystic fibrosis: a case report. *J Med Case Rep*, 4, 84.
- BLANCHARD, A. C. & WATERS, V. J. 2019. Microbiology of Cystic Fibrosis Airway Disease. *Semin Respir Crit Care Med*, 40, 727-736.
- BOAT, T. F., DOERSHUK, C. F., STERN, R. C. & MATTHEWS, L. W. 1974. Serum alkaline phosphatase in cystic fibrosis. Interpretation of elevated values based on electrophoretic isoenzyme analyses. *Clin Pediatr (Phila)*, 13, 505-12.
- BOCK, A. 2007. Einflüsse auf die Sputum-Deoxyribonucleinsäure bei Mukoviszidose (Zystische Fibrose).
- BOYD, C., AUTH, R. D., BLUNDIN, M. & BANERJEE, D. 2021. Updates on the Management of Cystic Fibrosis: Development of Modulators and Advancement of Antibiotic Therapies. *R I Med J (2013)*, 104, 20-25.
- BRODLIE, M., HAQ, I. J., ROBERTS, K. & ELBORN, J. S. 2015. Targeted therapies to improve CFTR function in cystic fibrosis. *Genome Med*, 7, 101.
- BRUSSELLE, G. G. & VAN BRAECKEL, E. 2017. Sputum Neutrophil Elastase as a Biomarker for Disease Activity in Bronchiectasis. *Am J Respir Crit Care Med*, 195, 1289-1291.
- CABRINI, G., RIMESSI, A., BORGATTI, M., LAMPRONI, I., FINOTTI, A., PINTON, P. & GAMBARI, R. 2020. Role of Cystic Fibrosis Bronchial Epithelium in Neutrophil Chemotaxis. *Front Immunol*, 11, 1438.
- CANTIN, A. M., HARTL, D., KONSTAN, M. W. & CHMIEL, J. F. 2015. Inflammation in cystic fibrosis lung disease: Pathogenesis and therapy. *J Cyst Fibros*, 14, 419-30.
- CARDINES, R., GIUFRE, M., POMPILIO, A., FISCARELLI, E., RICCIOTTI, G., DI BONAVENTURA, G. & CERQUETTI, M. 2012. *Haemophilus influenzae* in children with cystic fibrosis: antimicrobial susceptibility, molecular epidemiology, distribution of adhesins and biofilm formation. *Int J Med Microbiol*, 302, 45-52.
- CHOLON, D. M., ESTHER, C. R., JR. & GENTZSCH, M. 2016. Efficacy of lumacaftor-ivacaftor for the treatment of cystic fibrosis patients homozygous for the F508del-CFTR mutation. *Expert Rev Precis Med Drug Dev*, 1, 235-243.
- COHEN-CYMBERKNOH, M., KEREM, E., FERKOL, T. & ELIZUR, A. 2013. Airway inflammation in cystic fibrosis: molecular mechanisms and clinical implications. *Thorax*, 68, 1157-62.
- COLOMBO, C., COSTANTINI, D., ROCCHI, A., CARIANI, L., GARLASCHI, M. L., TIRELLI, S., CALORI, G., COPRENI, E. & CONESE, M. 2005. Cytokine levels in sputum of cystic fibrosis patients before and after antibiotic therapy. *Pediatr Pulmonol*, 40, 15-21.
- CONNETT, G. J. 2019. Lumacaftor-ivacaftor in the treatment of cystic fibrosis: design, development and place in therapy. *Drug Des Devel Ther*, 13, 2405-2412.
- COURTNEY, J. M., ENNIS, M. & ELBORN, J. S. 2004. Cytokines and inflammatory mediators in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros*, 3, 223-31.
- COUTINHO, H. D., FALCÃO-SILVA, V. S. & GONÇALVES, G. F. 2008. Pulmonary bacterial pathogens in cystic fibrosis patients and antibiotic therapy: a tool for the health workers. *Int Arch Med*, 1, 24.

- CUTHBERTSON, L., WALKER, A. W., OLIVER, A. E., ROGERS, G. B., RIVETT, D. W., HAMPTON, T. H., ASHARE, A., ELBORN, J. S., DE SOYZA, A., CARROLL, M. P., HOFFMAN, L. R., LANYON, C., MOSKOWITZ, S. M., O'TOOLE, G. A., PARKHILL, J., PLANET, P. J., TENEBACK, C. C., TUNNEY, M. M., ZUCKERMAN, J. B., BRUCE, K. D. & VAN DER GAST, C. J. 2020. Lung function and microbiota diversity in cystic fibrosis. *Microbiome*, 8, 45.
- CUTTING, G. R. 2015. Cystic fibrosis genetics: from molecular understanding to clinical application. *Nat Rev Genet*, 16, 45-56.
- DAGAN, A., KELLER, N., VILOZNI, D., RAMON-SARAF, R., BAR, B. E., SAROUK, I., ASHKENAZI, M., LAVIE, M. & EFRATI, O. 2015. Nocardia Colonization: A Risk Factor for Lung Deterioration in Cystic Fibrosis Patients? *Med Sci Monit*, 21, 1889-94.
- DIAB-CÁCERES, L., GIRÓN-MORENO, R. M., PASTOR-SANZ, M. T., QUINTANA-GALLEGO, E., DELGADO-PECELLÍN, I., BLANCO-APARICIO, M., MAIZ, L., GARCÍA-CLEMENTE, M. M., LUNA-PAREDES, C., MONDÉJAR-LÓPEZ, P., RUIZ-DE-VALBUENA, M., FERNÁNDEZ, O., BARRIO, M., GONZÁLEZ, M., LÓPEZ-NEYRA, A., COLS, I. R. M., PALOU-ROTGER, A. & GÓMEZ-DE-TERREROS-CARO, F. J. 2018. Compassionate Use of Lumacaftor/Ivacaftor in Cystic Fibrosis: Spanish Experience. *Arch Bronconeumol (Engl Ed)*, 54, 614-618.
- DIWAKAR, V., PEARSON, L. & BEATH, S. 2001. Liver disease in children with cystic fibrosis. *Paediatr Respir Rev*, 2, 340-9.
- ECKRICH, J., ZISSLER, U. M., SERVE, F., LEUTZ, P., SMACZNY, C., SCHMITT-GROHÉ, S., FUSSBROICH, D., SCHUBERT, R., ZIELEN, S. & EICKMEIER, O. 2017. Airway inflammation in mild cystic fibrosis. *J Cyst Fibros*, 16, 107-115.
- EICKMEIER, O., HUEBNER, M., HERRMANN, E., ZISSLER, U., ROSEWICH, M., BAER, P. C., BUHL, R., SCHMITT-GROHÉ, S., ZIELEN, S. & SCHUBERT, R. 2010. Sputum biomarker profiles in cystic fibrosis (CF) and chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and association between pulmonary function. *Cytokine*, 50, 152-7.
- ELLEMUNTER, H., ENGELHARDT, A., SCHULLER, K. & STEINKAMP, G. 2017. Fecal Calprotectin in Cystic Fibrosis and Its Relation to Disease Parameters: A Longitudinal Analysis for 12 Years. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 65, 438-442.
- ESCRIBANO MONTANER, A., GARCÍA DE LOMAS, J., VILLA ASENSI, J. R., ASENSIO DE LA CRUZ, O., DE LA SERNA BLÁZQUEZ, O., SANTIAGO BURRUCHAGA, M., MONDÉJAR LÓPEZ, P., TORRENT VERNETTA, A., FENG, Y., VAN DYKE, M. K., REYES, J., GARCIA-CORBEIRA, P. & TALARICO, C. A. 2018. Bacteria from bronchoalveolar lavage fluid from children with suspected chronic lower respiratory tract infection: results from a multi-center, cross-sectional study in Spain. *Eur J Pediatr*, 177, 181-192.
- FERREIRA, R. L., REZENDE, G. S., DAMAS, M. S. F., OLIVEIRA-SILVA, M., PITONDO-SILVA, A., BRITO, M. C. A., LEONARDECZ, E., DE GÓES, F. R., CAMPANINI, E. B., MALAVAZI, I., DA CUNHA, A. F. & PRANCHEVICIUS, M. D. S. 2020. Characterization of KPC-Producing *Serratia marcescens* in an Intensive Care Unit of a Brazilian Tertiary Hospital. *Front Microbiol*, 11, 956.
- FIELDING, C. A., JONES, G. W., MCLOUGHLIN, R. M., MCLEOD, L., HAMMOND, V. J., UCEDA, J., WILLIAMS, A. S., LAMBIE, M., FOSTER, T. L., LIAO, C. T., RICE, C. M., GREENHILL, C. J., COLMONT, C. S., HAMS, E., COLES, B., KIFT-MORGAN, A., NEWTON, Z., CRAIG, K. J., WILLIAMS, J. D., WILLIAMS, G. T., DAVIES, S. J., HUMPHREYS, I. R., O'DONNELL, V. B., TAYLOR, P. R., JENKINS, B. J., TOPLEY, N. & JONES, S. A. 2014. Interleukin-6 signaling drives fibrosis in unresolved inflammation. *Immunity*, 40, 40-50.
- FIOROTTO, R. & STRAZZABOSCO, M. 2019. Pathophysiology of Cystic Fibrosis Liver Disease: A Channelopathy Leading to Alterations in Innate Immunity and in Microbiota. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 8, 197-207.
- FLUME, P. A., MOGAYZEL, P. J., JR., ROBINSON, K. A., GOSS, C. H., ROSENBLATT, R. L., KUHN, R. J. & MARSHALL, B. C. 2009. Cystic fibrosis pulmonary guidelines: treatment of pulmonary exacerbations. *Am J Respir Crit Care Med*, 180, 802-8.
- GEHRIG, S., DUERR, J., WEITNAUER, M., WAGNER, C. J., GRAEBER, S. Y., SCHATTERNY, J., HIRTZ, S., BELAAOUAJ, A., DALPKE, A. H., SCHULTZ, C. & MALL, M. A. 2014. Lack of neutrophil elastase

- reduces inflammation, mucus hypersecretion, and emphysema, but not mucus obstruction, in mice with cystic fibrosis-like lung disease. *Am J Respir Crit Care Med*, 189, 1082-92.
- GRAHAM, B. L., STEENBRUGGEN, I., MILLER, M. R., BARJAKTAREVIC, I. Z., COOPER, B. G., HALL, G. L., HALLSTRAND, T. S., KAMINSKY, D. A., MCCARTHY, K., MCCORMACK, M. C., OROPEZ, C. E., ROSENFELD, M., STANOJEVIC, S., SWANNEY, M. P. & THOMPSON, B. R. 2019. Standardization of Spirometry 2019 Update. An Official American Thoracic Society and European Respiratory Society Technical Statement. *Am J Respir Crit Care Med*, 200, e70-e88.
- GRAMEGNA, A., AMATI, F., TERRANOVA, L., SOTGIU, G., TARSIA, P., MIGLIETTA, D., CALDERAZZO, M. A., ALIBERTI, S. & BLASI, F. 2017. Neutrophil elastase in bronchiectasis. *Respir Res*, 18.
- GRIESENBACH, U. & ALTON, E. W. 2015. Recent advances in understanding and managing cystic fibrosis transmembrane conductance regulator dysfunction. *F1000Prime Rep*, 7, 64.
- HAIKO, J., SAEEDI, B., BAGGER, G., KARPATI, F. & OZENCI, V. 2019. Coexistence of Candida species and bacteria in patients with cystic fibrosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*.
- HAUSER, A. R., JAIN, M., BAR-MEIR, M. & MCCOLLEY, S. A. 2011. Clinical significance of microbial infection and adaptation in cystic fibrosis. *Clin Microbiol Rev*, 24, 29-70.
- HAYES, D., JR., TOBIAS, J. D., MANSOUR, H. M., KIRKBY, S., MCCOY, K. S., DANIELS, C. J. & WHITSON, B. A. 2014. Pulmonary hypertension in cystic fibrosis with advanced lung disease. *Am J Respir Crit Care Med*, 190, 898-905.
- HEIJERMAN, H. 2005. Infection and inflammation in cystic fibrosis: a short review. *J Cyst Fibros*, 4 Suppl 2, 3-5.
- 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. *Qual Life Res*, 12, 63-76.
- HISERT, K. B., HELTSHE, S. L., POPE, C., JORTH, P., WU, X., EDWARDS, R. M., RADEY, M., ACCURSO, F. J., WOLTER, D. J., COOKE, G., ADAM, R. J., CARTER, S., GROGAN, B., LAUNSPACH, J. L., DONNELLY, S. C., GALLAGHER, C. G., BRUCE, J. E., STOLTZ, D. A., WELSH, M. J., HOFFMAN, L. R., MCKONE, E. F. & SINGH, P. K. 2017. Restoring Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator Function Reduces Airway Bacteria and Inflammation in People with Cystic Fibrosis and Chronic Lung Infections. *Am J Respir Crit Care Med*, 195, 1617-1628.
- HORSLEY, A. 2009. Lung clearance index in the assessment of airways disease. *Respir Med*, 103, 793-9.
- KENT, L., REIX, P., INNES, J. A., ZIELEN, S., LE BOURGEOIS, M., BRAGGION, C., LEVER, S., ARETS, H. G., BROWNLIE, K., BRADLEY, J. M., BAYFIELD, K., O'NEILL, K., SAVI, D., BILTON, D., LINDBLAD, A., DAVIES, J. C., SERMET, I. & DE BOECK, K. 2014. Lung clearance index: evidence for use in clinical trials in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros*, 13, 123-38.
- KHAN, M. A., ALI, Z. S., SWEEZEY, N., GRASEMANN, H. & PALANIYAR, N. 2019. Progression of Cystic Fibrosis Lung Disease from Childhood to Adulthood: Neutrophils, Neutrophil Extracellular Trap (NET) Formation, and NET Degradation. *Genes (Basel)*, 10.
- KNOLL, R. L., FORSLUND, K., KULTIMA, J. R., MEYER, C. U., KULLMER, U., SUNAGAWA, S., BORK, P. & GEHRING, S. 2017. Gut microbiota differs between children with Inflammatory Bowel Disease and healthy siblings in taxonomic and functional composition: a metagenomic analysis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 312, G327-g339.
- KOPP, B. T., MCCULLOCH, S., SHRESTHA, C. L., ZHANG, S., SARZYNSKI, L., WOODLEY, F. W. & HAYES, D., JR. 2018. Metabolomic responses to lumacaftor/ivacaftor in cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol*, 53, 583-591.
- KUTNEY, K., DONNOLA, S. B., FLASK, C. A., GUBITOSI-KLUG, R., O'RIORDAN, M., MCBENNETT, K., SFERRA, T. J. & KAMINSKI, B. 2019. Lumacaftor/ivacaftor therapy is associated with reduced hepatic steatosis in cystic fibrosis patients. *World J Hepatol*, 11, 761-772.
- LAGUNA, T. A., WILLIAMS, C. B., NUNEZ, M. G., WELCHLIN-BRADFORD, C., MOEN, C. E., REILLY, C. S. & WENDT, C. H. 2018. Biomarkers of inflammation in infants with cystic fibrosis. *Respir Res*, 19, 6.
- LANNING, S. 2001. Glucose intolerance in cystic fibrosis patients. *Paediatr Respir Rev*, 2, 253-9.

- LIU, T. G. 2019. The Clinical Biology of Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator Protein: Its Role and Function in Extrapulmonary Disease. *Chest*, 155, 605-616.
- MARCO GELPI, M. J. A., DEVELOPER; AND ANDREAS RONIT, MD (DEPARTMENT OF INFECTIOUS DISEASES, UNIVERSITY HOSPITAL OF COPENHAGEN. 2017. *Cystic Fibrosis Questionnaire-Revised Application*, [Online]. Available: <https://cfqr.github.io/> [Accessed].
- MARTIN, S. L., MOFFITT, K. L., MCDOWELL, A., GREENAN, C., BRIGHT-THOMAS, R. J., JONES, A. M., WEBB, A. K. & ELBORN, J. S. 2010. Association of airway cathepsin B and S with inflammation in cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol*, 45, 860-8.
- MATOUK, E., NGUYEN, D., BENEDETTI, A., BERNIER, J., GRUBER, J., LANDRY, J., ROUSSEAU, S., AHLGREN, H. G., LANDS, L. C., WOJEWODKA, G. & RADZIOCH, D. 2016. C-Reactive Protein in Stable Cystic Fibrosis: An Additional Indicator of Clinical Disease Activity and Risk of Future Pulmonary Exacerbations. *J Pulm Respir Med*, 6, 1000375.
- MILLA, C. E., RATJEN, F., MARIGOWDA, G., LIU, F., WALTZ, D. & ROSENFELD, M. 2017. Lumacaftor/Ivacaftor in Patients Aged 6-11 Years with Cystic Fibrosis and Homozygous for F508del-CFTR. *Am J Respir Crit Care Med*, 195, 912-920.
- MODI, A. C. & QUITTNER, A. L. 2003. Validation of a disease-specific measure of health-related quality of life for children with cystic fibrosis. *J Pediatr Psychol*, 28, 535-45.
- MOLINSKI, S. V., AHMADI, S., IP, W., OUYANG, H., VILLELLA, A., MILLER, J. P., LEE, P., KULLEPERUMA, K., DU, K., DI PAOLA, M., ECKFORD, P. D., LASELVA, O., HUAN, L. J., WELLHAUSER, L., LI, E., RAY, P. N., POMÈS, R., MORAES, T. J., GONSKA, T., RATJEN, F. & BEAR, C. E. 2017. Orkambi® and amplifier co-therapy improves function from a rare CFTR mutation in gene-edited cells and patient tissue. *EMBO Mol Med*, 9, 1224-43.
- MORT, J. S. & BUTTLE, D. J. 1997. Cathepsin B. *Int J Biochem Cell Biol*, 29, 715-20.
- MUHLEBACH, M. S., CLANCY, J. P., HELTSHE, S. L., ZIADY, A., KELLEY, T., ACCURSO, F., PILEWSKI, J., MAYER-HAMBLETT, N., JOSELOFF, E. & SAGEL, S. D. 2016. Biomarkers for cystic fibrosis drug development. *J Cyst Fibros*, 15, 714-723.
- NAEHRIG, S., CHAO, C. M. & NAEHRLICH, L. 2017. Cystic Fibrosis. *Dtsch Arztebl Int*, 114, 564-574.
- NÄHRLICH & 28.04.2021, U. H. W. M. I. E. N. N. D. N.-Z.-Z.-L.-B.-M. P. A. A. 2018. Deutsches Mukoviszidose-Register, Berichtsband 2018. *Berichtsband 2018*.
- NIXON, L. S., YUNG, B., BELL, S. C., ELBORN, J. S. & SHALE, D. J. 1998. Circulating immunoreactive interleukin-6 in cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*, 157, 1764-9.
- OSIKA, E., CAVAILLON, J. M., CHADELAT, K., BOULE, M., FITTING, C., TOURNIER, G. & CLEMENT, A. 1999. Distinct sputum cytokine profiles in cystic fibrosis and other chronic inflammatory airway disease. *Eur Respir J*, 14, 339-46.
- OWEN, C. A. 2006. SERINE PROTEINASES *Encyclopedia of Respiratory Medicine*, 2006.
- POPLAWSKA K., S. S. 2018. Zystische Fibrose. *medizinische Monatsschrift für Pharmazeuten*, 41. Jahrgang
- PROESMANS, M., ELS, C., VERMEULEN, F. & DE BOECK, K. 2011. Change in IgG and evolution of lung function in children with cystic fibrosis. *J Cyst Fibros*, 10, 128-31.
- QUITTNER, A. L., MODI, A. C., WAINWRIGHT, C., OTTO, K., KIRIHARA, J. & MONTGOMERY, A. B. 2009. Determination of the minimal clinically important difference scores for the Cystic Fibrosis Questionnaire-Revised respiratory symptom scale in two populations of patients with cystic fibrosis and chronic Pseudomonas aeruginosa airway infection. *Chest*, 135, 1610-1618.
- RATCHFORD, T. L., TECKMAN, J. H. & PATEL, D. R. 2018. Gastrointestinal pathophysiology and nutrition in cystic fibrosis. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*, 12, 853-862.
- RATJEN, F., BELL, S. C., ROWE, S. M., GOSS, C. H., QUITTNER, A. L. & BUSH, A. 2015. Cystic fibrosis. *Nat Rev Dis Primers*, 1, 15010.
- RATJEN, F. A. 2009. Cystic fibrosis: pathogenesis and future treatment strategies. *Respir Care*, 54, 595-605.
- REEVES, E. P., MOLLOY, K., POHL, K. & MCELVANEY, N. G. 2012. Hypertonic saline in treatment of pulmonary disease in cystic fibrosis. *ScientificWorldJournal*, 2012, 465230.

- RIORDAN, J. R., ROMMENS, J. M., KEREM, B., ALON, N., ROZMAHEL, R., GRZELCZAK, Z., ZIELENSKI, J., LOK, S., PLAUSIC, N., CHOU, J. L. & ET AL. 1989. Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. *Science*, 245, 1066-73.
- ROBINSON, P. D., LATZIN, P., VERBANCK, S., HALL, G. L., HORSLEY, A., GAPP, M., THAMRIN, C., ARETS, H. G., AURORA, P., FUCHS, S. I., KING, G. G., LUM, S., MACLEOD, K., PAIVA, M., PILLOW, J. J., RANGANATHAN, S., RATJEN, F., SINGER, F., SONNAPPA, S., STOCKS, J., SUBBARAO, P., THOMPSON, B. R. & GUSTAFSSON, P. M. 2013a. Consensus statement for inert gas washout measurement using multiple- and single- breath tests. *Eur Respir J*, 41, 507-22.
- ROBINSON, P. D., STOCKS, J., AURORA, P. & LUM, S. 2013b. Abbreviated multi-breath washout for calculation of lung clearance index. *Pediatr Pulmonol*, 48, 336-43.
- RODRIGUEZ-NAVA, V., DURUPT, S., CHYDERIOTIS, S., FREYDIÈRE, A. M., KARSENTY, J., DE MONTCLOS, M., REIX, P., DURIEU, I., NOVE-JOSSERAND, R., CHIRON, R., BREMONT, F., TÊTU, L., MURRIS, M., TERRU, D., GODREUIL, S., BERGERON, E., FRENEY, J., BOIRON, P., VANDENESCH, F., MARCHANDIN, H., SEGONDS, C. & DOLÉANS-JORDHEIM, A. 2015. A French multicentric study and review of pulmonary *Nocardia* spp. in cystic fibrosis patients. *Med Microbiol Immunol*, 204, 493-504.
- ROESCH, E. A., NICHOLS, D. P. & CHMIEL, J. F. 2018. Inflammation in cystic fibrosis: An update. *Pediatr Pulmonol*, 53, S30-s50.
- RONCHETTI, K., TAME, J. D., PAISEY, C., THIA, L. P., DOULL, I., HOWE, R., MAHENTHIRALINGAM, E. & FORTON, J. T. 2018. The CF-Sputum Induction Trial (CF-SpIT) to assess lower airway bacterial sampling in young children with cystic fibrosis: a prospective internally controlled interventional trial. *Lancet Respir Med*, 6, 461-471.
- RUBIN, J. L., O'CALLAGHAN, L., PELLIGRA, C., KONSTAN, M. W., WARD, A., ISHAK, J. K., CHANDLER, C. & LIOU, T. G. 2019. Modeling long-term health outcomes of patients with cystic fibrosis homozygous for F508del-CFTR treated with lumacaftor/ivacaftor. *Ther Adv Respir Dis*, 13, 1753466618820186.
- RUMMAN, N., SULTAN, M., EL-CHAMMAS, K., GOH, V., SALZMAN, N., QUINTERO, D. & WERLIN, S. 2014. Calprotectin in cystic fibrosis. *BMC Pediatr*, 14, 133.
- SAGEL, S. D., WAGNER, B. D., ANTHONY, M. M., EMMETT, P. & ZEMANICK, E. T. 2012. Sputum biomarkers of inflammation and lung function decline in children with cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*, 186, 857-65.
- SCHNEIDER, E. K., REYES-ORTEGA, F., LI, J. & VELKOV, T. 2017. Can Cystic Fibrosis Patients Finally Catch a Breath With Lumacaftor/Ivacaftor? *Clin Pharmacol Ther*, 101, 130-141.
- SHARMA, A., KIRKPATRICK, G., CHEN, V., SKOLNIK, K., HOLLANDER, Z., WILCOX, P. & QUON, B. S. 2017. Clinical utility of C-reactive protein to predict treatment response during cystic fibrosis pulmonary exacerbations. *PLoS One*, 12, e0171229.
- SHEI, R. J., PEABODY, J. E., KAZA, N. & ROWE, S. M. 2018. The epithelial sodium channel (ENaC) as a therapeutic target for cystic fibrosis. *Curr Opin Pharmacol*, 43, 152-165.
- SHOKI, A. H., MAYER-HAMBLETT, N., WILCOX, P. G., SIN, D. D. & QUON, B. S. 2013. Systematic review of blood biomarkers in cystic fibrosis pulmonary exacerbations. *Chest*, 144, 1659-1670.
- SINGH, S. B., MCLEARN-MONTZ, A. J., MILAVETZ, F., GATES, L. K., FOX, C., MURRY, L. T., SABUS, A., PORTERFIELD, H. S. & FISCHER, A. J. 2019. Pathogen acquisition in patients with cystic fibrosis receiving ivacaftor or lumacaftor/ivacaftor. *Pediatr Pulmonol*, 54, 1200-1208.
- SINHA, C., ZHANG, W., MOON, C. S., ACTIS, M., YARLAGADDA, S., ARORA, K., WOODROOFE, K., CLANCY, J. P., LIN, S., ZIADY, A. G., FRIZZELL, R., FUJII, N. & NAREN, A. P. 2015. Capturing the Direct Binding of CFTR Correctors to CFTR by Using Click Chemistry. *Chembiochem*, 16, 2017-22.
- SLY, P. D., BRENNAN, S., GANGELL, C., DE KLERK, N., MURRAY, C., MOTT, L., STICK, S. M., ROBINSON, P. J., ROBERTSON, C. F. & RANGANATHAN, S. C. 2009. Lung disease at diagnosis in infants with cystic fibrosis detected by newborn screening. *Am J Respir Crit Care Med*, 180, 146-52.
- SMOUNTAS, A. A., LANDS, L. C., MOHAMMED, S. R. & GREY, V. 2004. Induced sputum in cystic fibrosis: within-week reproducibility of inflammatory markers. *Clin Biochem*, 37, 1031-6.

- STEINKAMP, G. & WIEDEMANN, B. 2002. Relationship between nutritional status and lung function in cystic fibrosis: cross sectional and longitudinal analyses from the German CF quality assurance (CFQA) project. *Thorax*, 57, 596-601.
- SURETTE, M. G. 2014. The cystic fibrosis lung microbiome. *Ann Am Thorac Soc*, 11 Suppl 1, S61-5.
- SZCZESNIAK, R., HELTSHE, S. L., STANOJEVIC, S. & MAYER-HAMBLETT, N. 2017. Use of FEV(1) in cystic fibrosis epidemiologic studies and clinical trials: A statistical perspective for the clinical researcher. *J Cyst Fibros*, 16, 318-326.
- TABORI, H., ARNOLD, C., JAUDSZUS, A., MENTZEL, H. J., RENZ, D. M., REINSCH, S., LORENZ, M., MICHL, R., GERBER, A., LEHMANN, T. & MAINZ, J. G. 2017. Abdominal symptoms in cystic fibrosis and their relation to genotype, history, clinical and laboratory findings. *PLoS One*, 12, e0174463.
- TALAMO GUEVARA, M. & MCCOLLEY, S. A. 2017. The safety of lumacaftor and ivacaftor for the treatment of cystic fibrosis. *Expert Opin Drug Saf*, 16, 1305-1311.
- TAN, C. D., HOBBS, C., SAMENI, M., SLOANE, B. F., STUTTS, M. J. & TARRAN, R. 2014. Cathepsin B contributes to Na⁺ hyperabsorption in cystic fibrosis airway epithelial cultures. *J Physiol*, 592, 5251-68.
- TESELL, M. A., ALPER, C. J., BACON, R., GREENWOOD, B. C., LENZ, K., JEFFREY, P. L. & STEVENS, K. 2019. Effect of Lumacaftor/Ivacaftor on Pulmonary Exacerbation Rates in Members with Cystic Fibrosis in a Medicaid Population. *J Manag Care Spec Pharm*, 25, 1021-1025.
- TLUCZEK, A., BECKER, T., GRIEVE, A., LAXOVA, A., ROCK, M. J., GERSHAN, W. M., GREEN, C. G. & FARRELL, P. M. 2013. Health-related quality of life in children and adolescents with cystic fibrosis: convergent validity with parent-reports and objective measures of pulmonary health. *J Dev Behav Pediatr*, 34, 252-61.
- VAN DER DOEF, H. P., KOKKE, F. T., VAN DER ENT, C. K. & HOUWEN, R. H. 2011. Intestinal obstruction syndromes in cystic fibrosis: meconium ileus, distal intestinal obstruction syndrome, and constipation. *Curr Gastroenterol Rep*, 13, 265-70.
- VANDEVANTER, D. R., KAHLE, J. S., O'SULLIVAN, A. K., SIKIRICA, S. & HODGKINS, P. S. 2016. Cystic fibrosis in young children: A review of disease manifestation, progression, and response to early treatment. *J Cyst Fibros*, 15, 147-57.
- VANDEVANTER, D. R. & PASTA, D. J. 2013. Evidence of diminished FEV1 and FVC in 6-year-olds followed in the European Cystic Fibrosis Patient Registry, 2007-2009. *J Cyst Fibros*, 12, 786-9.
- WAINWRIGHT, C. E., ELBORN, J. S., RAMSEY, B. W., MARIGOWDA, G., HUANG, X., CIPOLLI, M., COLOMBO, C., DAVIES, J. C., DE BOECK, K., FLUME, P. A., KONSTAN, M. W., MCCOLLEY, S. A., MCCOY, K., MCKONE, E. F., MUNCK, A., RATJEN, F., ROWE, S. M., WALTZ, D. & BOYLE, M. P. 2015. Lumacaftor-Ivacaftor in Patients with Cystic Fibrosis Homozygous for Phe508del CFTR. *N Engl J Med*, 373, 220-31.
- WENNINGER, 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. *Qual Life Res*, 12, 77-85.
- WILSCHANSKI, M. & NOVAK, I. 2013. The cystic fibrosis of exocrine pancreas. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 3, a009746.
- WOJEWODKA, G., DE SANCTIS, J. B., BERNIER, J., BÉRUBÉ, J., AHLGREN, H. G., GRUBER, J., LANDRY, J., LANDS, L. C., NGUYEN, D., ROUSSEAU, S., BENEDETTI, A., MATOUK, E. & RADZIOCH, D. 2014. Candidate markers associated with the probability of future pulmonary exacerbations in cystic fibrosis patients. *PLoS One*, 9, e88567.
- WOODRUFF, S. A., SONTAG, M. K., ACCURSO, F. J., SOKOL, R. J. & NARKEWICZ, M. R. 2017. Prevalence of elevated liver enzymes in children with cystic fibrosis diagnosed by newborn screen. *J Cyst Fibros*, 16, 139-145.
- ZHANG, W., ZHANG, X., ZHANG, Y. H., STROKES, D. C. & NAREN, A. P. 2016. Lumacaftor/ivacaftor combination for cystic fibrosis patients homozygous for Phe508del-CFTR. *Drugs Today (Barc)*, 52, 229-37.

VII. Anhang

Untersuchungsbogen**1. Anamnese:**Atemwegsinfektion in den letzten 3 Monaten: nein; ja: _____

Letzte Antibiotikatherapie: _____

Besondere Beschwerden /NW : nein; ja: _____**2. Körperliche Untersuchung:**Auffälligkeiten obere Atemwege: nein; ja: _____Auffälligkeiten untere Atemwege: nein; ja: _____Auffälligkeiten Abdomen: nein; ja: _____

3. Länge: _____ cm; Gewicht: _____ kg; BMI: _____ FFM: _____

4. O₂-Sättigung: _____ %

5. LCI (Mittelwert aus 2 Messungen): _____ L LCI 1: _____ L LCI 2: _____ L

FRC (Mittelwert aus 2 Messungen): _____ L FRC 1: _____ L FRC 2: _____ L

LuFu: FEV1: _____ L FEV1 Soll: _____ L FEV1 % Soll: _____ %

FVC: _____ L FVC Soll: _____ L FVC % Soll _____ %

6. Schweißtest: Datum: _____ Ergebnis:

7. Fragebögen (CF HrQL und Orkambi)

8. Rachenabstrich (1x mit Medium in Mibi, 2x trocken einfrieren)

9. Induziertes Sputum (Menge _____)

10. Urinprobe (zentrifugieren 2000g/5min, dann Überstand einfrieren)

11. Blutentnahme: BSG _____ / _____ mm; 1 Serum (zentrifugieren 2000g/5min, dann Plasma einfrieren) + 1 EDTA extra

12. Stuhlprobe und Blut einfrieren

13. Stuhlprobenkit für nächste Vorstellung mitgeben

14. Orkambi-Rezept ausstellen

15. Augenarzt-Konsil

Protokoll der Sputum Prozessierung

Sputumexpektoration erfolgte mittels Physiotherapie und Inhalation von Kochsalzlösung. Das Sputum wird durchgehend gekühlt innerhalb von zwei Stunden im Labor prozessiert. Sputum von Saliva trennen und in einem Falconröhrchen wiegen. Das Sputumgewicht mal vier genommen mit 0,1% DTT-Lösung in Millilitern verdünnen. 0,1% DTT-Lösung besteht aus 0,5 ml 1% DTT-Stocklösung und 4,5 ml PBS. DTT ist mukolytisch und lässt eine Homogenisierung des zähen Sputums zu. Das Sputum- DTT-Gemisch für 15 Minuten gekühlt inkubieren. Das anfängliche Sputumgewicht mal zwei genommen, ergibt die Menge an PBS in Millilitern die nun hinzugefügt wird. Das Gemisch vortexen und anschließend filtern (75 µm Filter). 10 µl Filtrat mit 10 µl Trypanblau versetzen, um die Leukozyten-Zählung mittels Mikroskops und Neubauer Zellkammer durchzuführen. Der Anteil an Plattenepithelzellen zu Leukozyten darf nicht größer 10% sein, um eine qualitativ hochwertige Trennung von Saliva und Sputum sicher zu stellen. Restliches Filtrat 10 Minuten bei 750 G und 4°C zentrifugieren und den zellfreien Überstand abzentrifugieren. Die Proben werden bis zur weiteren Analyse bei -80°C aufbewahrt.

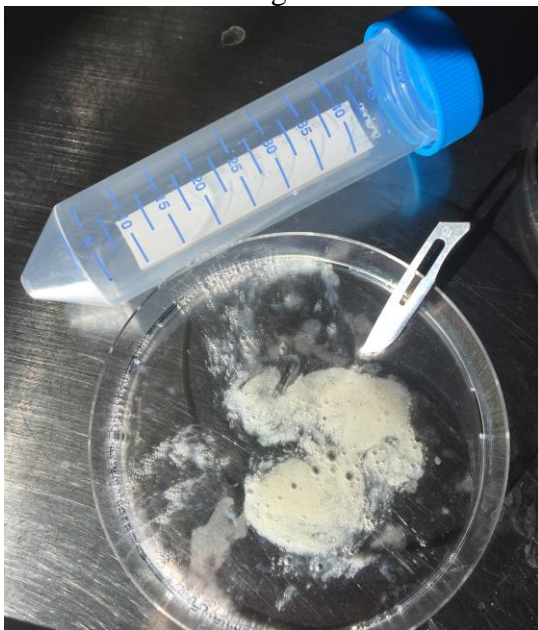


Abbildung 76 Trennung von Sputum und Saliva.

Transfer des Sputums in vorher gewogenes Falconröhrchen



Abbildung 75 Vortexen des Sputum-DTT-Gemisches für 15 Sekunden



Abbildung 78 exaktes Wiegen der Falconröhrchen um Mischungsverhältnisse zu berechnen



Abbildung 77 Benötigte Reagenzien



Abbildung 79 Physiotherapie



Mikroskopie

Zur Kontrolle der Abtrennung von Saliva und Sputum, wurde ein Teil der Probe unter dem Mikroskop bewertet. Die Anzahl der Plattenepithelien sollte unter 10% der Gesamtzahl der Zellen bleiben. Im Folgenden finden sich Fotos aus Mikropsie-Beispielen.

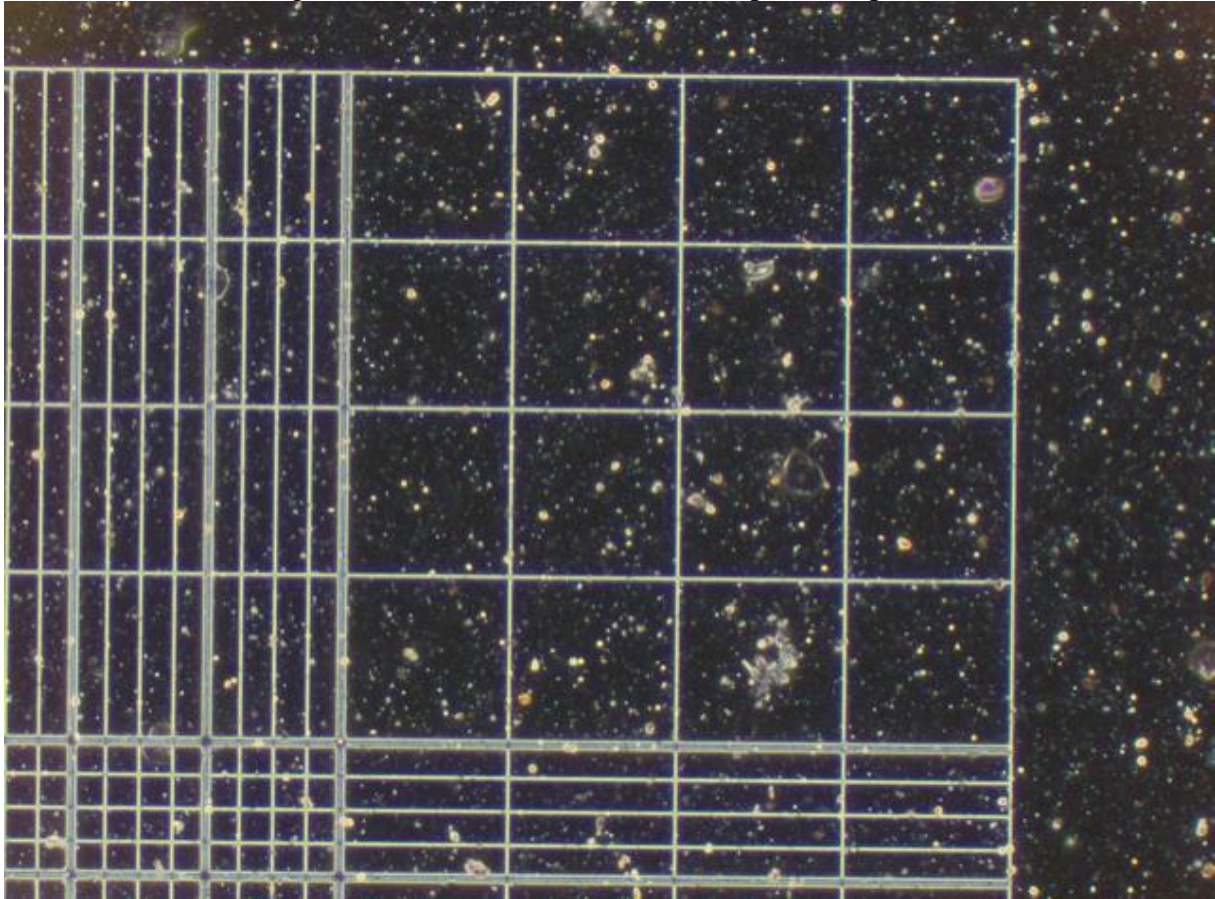


Abbildung 80 Großer Bildausschnitt mit Zählkammer

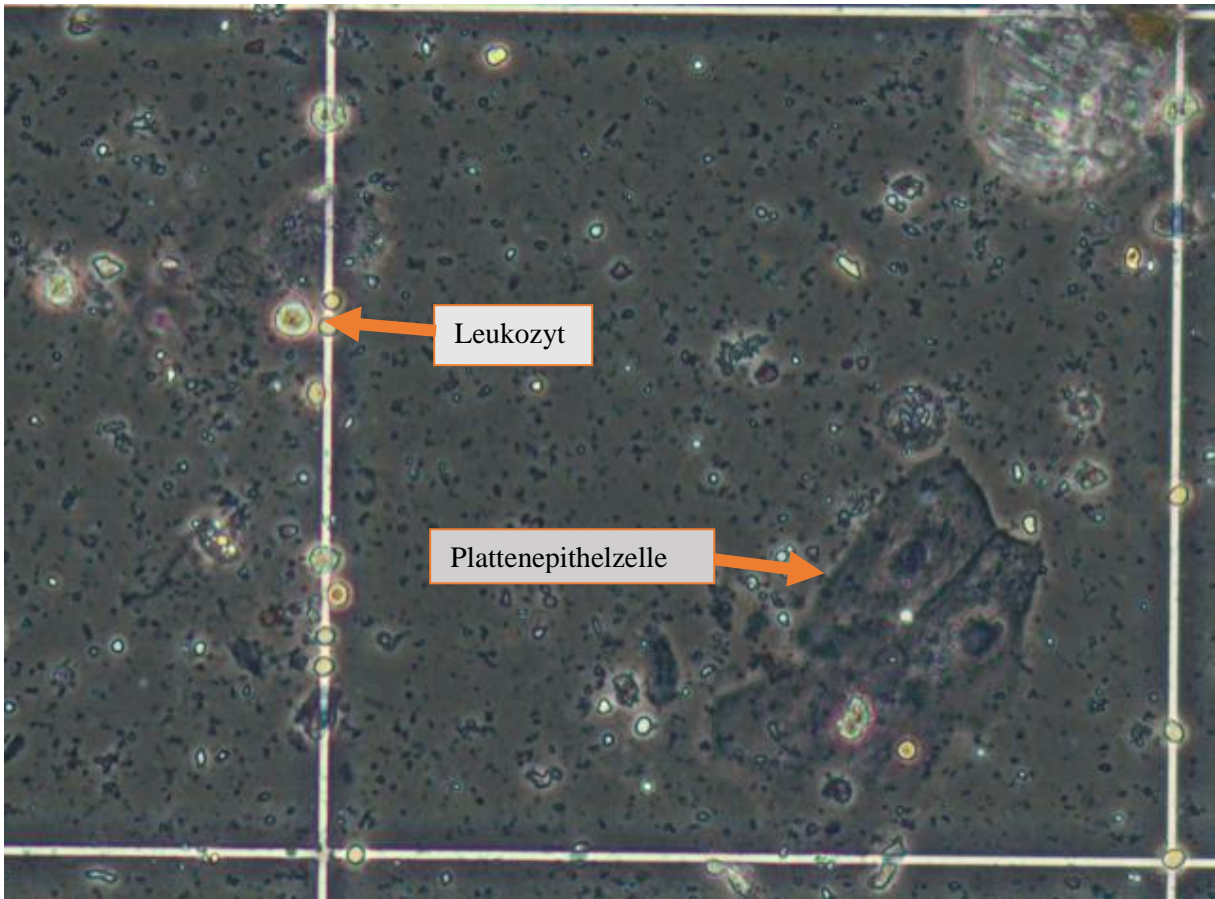


Abbildung 81 Leukozyten und Plattenepithelzellen

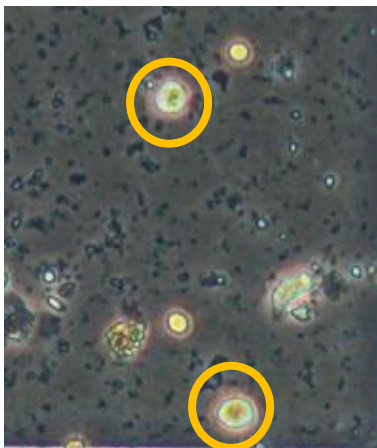


Abbildung 82 Leukozyten

Neutrophile Elastase Messung

- Durchführung bei 37 °C, Fluoreszenz Plate Reader
- Puffer: 100mM TRIS und 500mM NaCl und 40 ml Aqua dest.; pH 7,5
- Chromogenes MeO-Suc-AAPV-pNA -Substrat: 10 mg in 1,13 ml DMSO lösen (Konzentration 15mM)
 - o Verdünnen auf 1,2 mM mit Puffer
- Sivelestat: 10 mg in 1ml DMSO, 100 µMol
- NE: 1g/l in PBS gelöst → für die 1:2 verdünnte Standardreihe
- Sputum 1: 10 verdünnen mit Puffer und 75µl auf die 96-WellPlatte geben
- Negativkontrolle: Sputum mit 100 µmol Sivelestat mischen, 15 Minuten inkubieren
- 75µl Substrat in jede Well geben
- Die Proben wurden in Duplikaten gemessen (405nm)
- Das MeO-Suc-AAPV-pNA Substrat detektiert freie NE-Aktivität bis zu einem Limit von 20nM humane NE. Die Peptidsequenz des Substrats wird selektiv durch humane NE hydrolysiert und nicht durch Cathepsin G und Proteinase 3.

- Die Durchführung wurde aus (Elastase activity on sputum neutrophils correlates with severity of lung disease in cystic fibrosis; A. Susanne Dittrich, Iris Kühbandner, Stefanie Gehrig, Verena Rickert-Zacharias, Matthew Twigg, Sabine Wege, Clifford C. Taggart, Felix Herth, Carsten Schultz and Marcus A. Mall) entnommen

Sputuminduktion- Physiotherapeutisches Protokoll

- Inhalation von Salbutamol mit Vorsatzkammer und Mundstück
- 15 Minuten später: feuchte Inhalation
 - o 4ml 3%ige Kochsalzlösung in den Drüsenvernebler
 - o 10 Minuten mit Mundstück
 - o Atemmanöver: langes tiefes Einatmen - Atempause - langes vollständiges Ausatmen
 - o Ziel: durch Bronchialkaliberschwankung in der Lunge kommt es zu Mobilisation von Sputum
 - o Falls nötig mit Nasenklemme
 - o Abbruch bei Auftritt von Komplikationen
- 5 Minuten körperliche Betätigung: Trampolinspringen, evtl. mit Atemtechniken
- Ausspülen des Mundes, Reinigung der Nase (Reduktion von squamösen Zellen und Nasensekret)
- Tiefes Husten („Huffing“) um Sputum in einen Becher abzugeben; ggf. wiederholt
- Wenn keine Sputumexpektoratation möglich ist, können die inhalativen Atemmanöver mit 6%iger hypertoner Kochsalzlösung wiederholt werden; Vorgehen wie zu Anfang

Sputumproben und Rachenabstriche in der Mikrobiologie der Universitätsmedizin Mainz

Die gewonnenen Proben werden in einem sterilen Probengefäß in die Mikrobiologie der Universitätsmedizin Mainz gebracht. Hier sollte die Zeit für den Transportweg möglichst kurzgehalten werden (möglichst unter 2 Stunden), um vorzeitiges Absterben oder Überwucherung langsam wachsender Keime zu vermeiden.

Um das Anfertigen des Ausstriches aus dem zähen Sputum zu erleichtern, wird dieses mit 0,1%igen DTT-Lösung (1 mg/ml) verflüssigt.

Die Kulturverfahren sind dabei einheitlich und richten sich nach dem CF-Leitkeimspektrum, welches auch mit dem Alter der Patienten variiert. Die Kulturbedingungen unterscheiden sich weiterhin in Zeit der Anzucht und Temperatur (Podbielski, 2020). So werden zum Beispiel Kochblutplatten zum Nachweis von *Neisseria* mit 5% CO₂ bebrütet. Die Sabouraud-Platten werden bei 30° C bebrütet. Um den Nachweis von *H. influenzae* zu erleichtern, wird Oleandomycin verwendet.

Folgende Anzuchtplatten werden unter anderem verwendet:

- Sabouraud-Agar (zum Nachweis von Schimmelpilzen)
- Sabouraud selektiv-Agar (zum Nachweis von *Candida*)
- Kochblutagar (z.B. zum Nachweis von *H. influenzae*)
- CLED-Agar (Cystin-Lactose-Electrolyt defizienter Agar)
- MacConkey-Agar (zum Nachweis von gram negativen Bakterien)
- CNA-Blut-Agar (mit Colistin und Nalidixinsäure) (selektiv Agar für Gram positive Bakterien)
- *Burkholderia cepacia* Selektiv-Agar

Tiefe Rachenabstriche werden auf Agarmedien mittels 3-Ösenaustrich ausgeimpft. Bakterien sollen so möglichst vereinzelt werden, um das Wachstum semiquantitativ zu bewerten. Die Mikrobiologie gibt das Wachstum dabei in „wenig“ (1), „mäßig viel“ (2) und „sehr viel“ (3) an (Podbielski, 2020).



Abbildung 83 Anzuchtplatten in der Mikrobiologie Mainz

Symptome-Fragebogen

1. Haben Sie oder ihr Kind einer der folgenden Symptome **innerhalb der letzten 3 Monate** bemerkt?

Symptome	Zutreffendes bitte ankreuzen	Wie stark beeinträchtigen diese Symptome im Alltag?		
		leicht	mittel	stark
Kopfschmerzen	<input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja →	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Schwindel	<input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja →	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Verstopfte Nase	<input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja →	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Laufende Nase	<input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja →	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Vermehrter Auswurf	<input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja →	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Vermehrter Husten	<input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja →	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Übelkeit	<input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja →	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Engegefühl in der Brust	<input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja →	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Häufung von Erkältungen	<input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja →	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Kurzatmigkeit	<input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja →	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Bauchschmerzen	<input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja →	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Durchfall	<input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja →	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Blähungen	<input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja →	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Appetitlosigkeit	<input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja →	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Übelkeit	<input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja →	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Andere:	<input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja →	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Andere:	<input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja →	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

2. Welche Medikamente / Nahrungsergänzungsmittel (z.B. Probiotika, Ballaststoffe etc.) nimmt ihr Kind **aktuell** ein?

3. Wie ist die **aktuelle** Stuhlkonsistenz ihres Kindes? Bitte zutreffendes ankreuzen.

Typ 1: Einzelne feste Klümpchen	<input type="checkbox"/>
Typ 2: Wurstartig, klumpig	<input type="checkbox"/>
Typ 3: Wurstartig mit rissiger Oberfläche	<input type="checkbox"/>
Typ 4: Wurstartig mit glatter Oberfläche	<input type="checkbox"/>
Typ 5: Einzelne weiche, glattrandige Klümpchen, leicht auszuscheiden	<input type="checkbox"/>
Typ 6: Einzelne weiche Klümpchen mit unregelmäßigem Rand	<input type="checkbox"/>
Typ 7: Flüssig, ohne feste Bestandteile	<input type="checkbox"/>
Fett im Stuhl? viel <input type="checkbox"/>	Nein <input type="checkbox"/> ; wenig <input type="checkbox"/> ; mittel <input type="checkbox"/> ; viel <input type="checkbox"/>

“Wie war das in den letzten zwei Wochen:”

- | | Stimmt
genau | Stimmt
eher | Stimmt
eher nicht | stimmt
überhaupt
nicht |
|---|--------------------------|--------------------------|--------------------------|------------------------------|
| 24. Du hast oft Freunde zu dir nach Hause eingeladen..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 25. Du wurdest oft von anderen Kindern geärgert..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 26. Du hast gerne mit anderen über deine Krankheit geredet..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 27. Du fandest dich zu klein..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 28. Du fandest dich zu dünn..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 29. Du fandest, dass du körperlich anders bist als die anderen Kinder | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 30. Die Atemtherapie und das Inhalieren gingen dir auf die Nerven.. | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

(Interviewer zeigt dem Kind die blaue Karte.)

Suche dir bitte eine Antwort auf der blauen Karte aus.

“Denk wieder an die letzten zwei Wochen. Was ist passiert?”

- | | Immer | Oft | Manchmal | Nie |
|--|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 31. Du hast tagsüber gehustet..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 32. Du bist nachts vom Husten aufgewacht..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 33. Du hattest Auswurf..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 34. Du hattest Schwierigkeiten beim Atmen..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 35. Du hattest Bauchweh..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

Welche Fragen haben dir gefehlt und welche hast du nicht verstanden?

VIELEN DANK FÜR IHRE MITARBEIT!

(Interviewer zeigt dem Kind die blaue Karte.)

Ich stelle dir jetzt noch ein paar Fragen. Dismal suchst du deine Antwort auf der blauen Karte aus.!

“Wie hast du dich in den letzten zwei Wochen gefühlt?”

- | | Immer | Oft | Manchmal | Nie |
|--|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 7. Du warst müde..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 8. Du warst schnell aufgeregt..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 9. Du hattest schlechte Laune..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 10. Du hast dich ängstlich gefühlt oder dir Sorgen gemacht..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 11. Du warst traurig..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 12. Du hattest Schwierigkeiten beim Einschlafen..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 13. Du hattest schlechte Träume oder Alpträume..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 14. Du hast dich wohl gefühlt..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 15. Du hattest Schwierigkeiten zu Essen..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 16. Du musstest wegen der Atemtherapie oder Inhalation das Spielen unterbrechen..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 17. Du musstest zum Essen überredet werden..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

(Interviewer zeigt dem Kind die orangefarbene Karte.)

Wir wechseln wieder die Karte. Du suchst deine Antwort auf der orangefarbenen Karte aus.

“Wie war das in den letzten zwei Wochen:”

- | | Stimmt
genau | Stimmt
eher | Stimmt
eher nicht | stimmt
überhaupt
nicht |
|---|--------------------------|--------------------------|--------------------------|------------------------------|
| 18. Du warst in der Lage alle Behandlungen durchzuführen..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 19. Du hast gerne gegessen..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 20. Du warst häufig mit Freundinnen oder Freunden zusammen..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 21. Du hast mehr Zeit als dir lieb ist zu Hause verbracht..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 22. Du hast gerne wonanders als zu Hause übernachtet (z.B. bei einem Freund, einer Freundin oder Verwandten)..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 23. Du hast dich ausgeschlossen gefühlt..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

bitte das entsprechende Kästchen ankreuzen

“Wie waren die letzten zwei Wochen?“

- | | Stimmt
genau | Stimmt
eher | Stimmt
eher nicht | Stimmt
überhaupt
nicht |
|--|--------------------------|--------------------------|--------------------------|------------------------------|
| 1. Du konntest so schnell gehen wie die anderen. | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 2. Du konntest so schnell Treppen steigen wie die anderen. | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 3. Du konntest so rennen, springen und klettern wie du Lust hattest..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 4. Du konntest so schnell und so lange rennen wie die anderen..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 5. Du konntest jeden Sport machen, zu dem du Lust hattest, wie z.B. Schwimmen, Fußball, Tanzen..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 6. Dir fiel es schwer, schwere Gegenstände aufzuheben und zu tragen, wie z.B. deine Schultasche oder einen Rucksack..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

bitte das entsprechende Kästchen ankreuzen

“Wie hast du dich in den letzten zwei Wochen gefühlt?“

- | | Immer | Oft | Manchmal | Nie |
|---|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 7. Du warst müde..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 8. Du warst schnell aufgeregt..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 9. Du hattest schlechte Laune..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 10. Du hast dich ängstlich gefühlt oder dir Sorgen gemacht..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 11. Du warst traurig..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 12. Du hattest Schwierigkeiten beim Einschlafen..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 13. Du hattest schlechte Träume oder Alpträume..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 14. Du hast dich wohl gefühlt..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 15. Du hattest Schwierigkeiten zu Essen..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

Dieser Fragebogen ist für Kinder gemacht worden, die wie du Mukoviszidose haben. Wir wollen mit den Fragen wissen, woran du merkst, daß du Mukoviszidose hast, z.B. zu Hause, in der Schule oder beim Spielen. Der Fragebogen soll Ärzten dabei helfen, die Krankheit besser zu verstehen und zu behandeln, damit das Leben mit Mukoviszidose für dich leichter wird. Du kannst mithelfen, indem du mit mir die Fragen beantwortest.

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.

Der Fragebogen wird vom Interviewer ausgefüllt:

Patienten ID/Fragebogennummer _____ Tag der Befragung _____

Geschlecht des Kindes weiblich
männlich
Alter des Kindes: | | |

Anmerkung: Dieser Fragebogen ist immer in Verbindung mit dem Elternfragebogen zu betrachten.

bitte das entsprechende Kästchen ankreuzen

“Denk wieder an die letzten zwei Wochen. Was ist passiert?”

- | | Immer | Oft | Manchmal | Nie |
|---|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 31. Du hast tagsüber gehustet | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 32. Du bist nachts vom Husten aufgewacht | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 33. Du hattest Auswurf | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 34. Du hattest Schwierigkeiten beim Atmen | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 35. Du hattest Bauchweh | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

Welche Fragen haben dir gefehlt und welche hast du nicht verstanden?

Vielen Dank für deine Mitarbeit!

bitte das entsprechende Kästchen ankreuzen

“Wie hast du dich in den letzten zwei Wochen gefühlt?”

- | | Immer
genau | Oft
eher | Manchmal
eher nicht | Nie
überhaupt
nicht |
|---|--------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|
| 16. Du musstest wegen der Atemtherapie oder Inhalation das Spielen unterbrechen | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 17. Du musstest zum Essen überredet werden | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| <i>bitte das entsprechende Kästchen ankreuzen</i> | | | | |
| “Wie war das in den letzten zwei Wochen:” | | | | |
| 18. Du warst in der Lage alle Behandlungen durchzuführen | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 19. Du hast gerne gegessen | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 20. Du warst häufig mit Freundinnen oder Freunden zusammen | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 21. Du hast mehr Zeit als dir lieb ist zu Hause verbracht | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 22. Du hast gerne wohnanders als zu Hause übernachtet (z.B. bei einem Freund, einer Freundin oder Verwandten) | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 23. Du hast dich ausgeschlossen gefühlt | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 24. Du hast oft Freunde zu dir nach Hause eingeladen | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 25. Du würdest oft von anderen Kindern geärgert | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 26. Du hast gerne mit anderen über deine Krankheit geredet | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 27. Du fandest dich zu klein | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 28. Du fandest dich zu dünn | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 29. Du fandest, dass du körperlich anders bist als die anderen Kinder | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 30. Die Atemtherapie und das Inhalieren gingen dir auf die Nerven | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

II. Lebensqualität

Kreuzen Sie an, welche Antwort auf Sie zutrifft

Wie schwierig war es für Sie,

- | | | | | |
|--|--------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|
| | 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"/> |
| 2. 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"/> |

Geben Sie an, wie Sie sich in den letzten 2 Wochen gefühlt haben:

- | | | | | |
|---|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 6. Sie haben sich in guter Verfassung gefühlt..... | immer | oft | manchmal | nie |
| 7. Sie haben sich Sorgen gemacht..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 8. Sie haben sich nutzlos gefühlt..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 9. Sie haben sich müde gefühlt..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 10. Sie haben sich voller Energie gefühlt..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 11. Sie haben sich erschöpft gefühlt..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 12. Sie haben sich traurig oder niedergeschlagen gefühlt..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

Bitte kreuzen Sie mir eine Antwort an

Bitte kreuzen Sie an, welche der folgenden Aussagen auf Sie zutrifften. Denken Sie dabei an den Zeitraum der letzten 2 Wochen:

13. Inwieweit haben Sie Schwierigkeiten beim Gehen:
 Sie können lange gehen, ohne zu ermüden.....
 Sie können lange gehen, ermüden jedoch.....
 Sie gehen nicht sehr lange, weil Sie schnell ermüden.....
 Sie vermeiden das Gehen wo immer Sie können, weil es Sie zu sehr ermüdet.....
 14. Inwieweit sind Mahlzeiten ein Problem für Sie:
 Schon wenn vom Essen gesprochen wird, wird Ihnen übel.....
 Sie essen nie gern.....
 Manchmal essen Sie gern.....
 Sie essen gern.....
 15. Wie stark fühlen Sie sich durch Ihre tägliche Therapie (einschließlich Inhalieren und Krankengymnastik) belastet?
 überhaupt nicht/ein wenig.....
 mäßig.....
 stark.....
 sehr stark.....

Anleitung:

Ihr Wissen über die Auswirkungen Ihrer Krankheit und der Therapie auf Ihren Alltag ist für den Arzt von großer Bedeutung, um Ihren Gesundheitszustand besser erfassen und die Behandlung exakter anpassen zu können. Wir haben zu diesem Zweck einen Fragebogen über die gesundheitsbezogene Lebensqualität erstellt, der sich an Menschen wendet, die an Mukoviszidose erkrankt sind. Die folgenden Fragen beziehen sich auf Ihre Gesundheit, so wie Sie sie aktuell empfinden. Diese Auskunft ermöglicht uns ein besseres Verständnis Ihrer Gefühle in Ihrem Alltag.

WIE SOLL DER FRAGEBOGEN AUSGEFÜLLT WERDEN?

Wir möchten Sie bitten, den folgenden Fragebogen auszufüllen, indem Sie die entsprechende Antworten ankreuzen. Bitte lassen Sie keine Frage aus. Wenn Sie nicht genau wissen, welche Antwort korrekt ist, dann kreuzen Sie diejenige an, die Ihrer Situation am ehesten gerecht wird. Kreuzen Sie bei jeder Frage bitte nur eine Antwort an.

I. I. die statistische Untersuchung

Von der Patientin/dem Patienten auszufüllen:

Geschlecht weiblich männlich

Alter: | | |

Anleitung:

Ihr Wissen über die Auswirkungen der Mukoviszidose und ihrer Therapie auf den Alltag Ihres Kindes ist für den Arzt von großer Bedeutung, um den Gesundheitszustand des Kindes besser erfassen und die Therapie besser anpassen zu können.

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

Die folgenden Fragen beziehen sich auf die Gesundheit Ihres Kindes, und zwar wie Ihr Kind diese empfindet. Diese Auskunft ermöglicht uns ein besseres Verständnis der Gefühle Ihres Kindes im Alltag.

WIE SOLL DER FRAGEBOGEN AUSGEFÜLLT WERDEN?

Wir möchten Sie bitten, den folgenden Fragebogen auszufüllen, indem Sie die entsprechenden Antworten ankreuzen. Wenn Sie nicht genau wissen, welche Antwort korrekt ist, dann kreuzen Sie diejenige an, die der Situation Ihres Kindes am ehesten gerecht wird. Kreuzen Sie bei jeder Frage bitte nur eine Antwort an.

I. die statistische Untersuchung

Von den Eltern auszufüllen:

Der Fragebogen wird ausgefüllt von

Mutter
Vater

andere Betreuungsperson

Geschlecht des Kindes

weiblich
männlich

Alter des Kindes:

ANMERKUNG: DIESER FRAGEBOGEN IST IMMER IN VERBINDUNG MIT DEM KINDERFRAGEBOGEN ZU BETRACHTEN.

9. Hatten Sie Bauchschmerzen? täglich oft manchmal nie

10. Hatten Sie Probleme mit Essen?

vor Sie den Fragebogen abgeben, prüfen Sie bitte, ob Sie alle Fragen beantwortet haben.

VIELEN DANK FÜR IHRE MITARBEIT!

Kreuzen Sie an, welche Antwort auf Sie zutrifft

Bitte kreuzen Sie an, inwieweit die folgenden Aussagen auf Ihr Kind zutreffen. Denken Sie dabei an den Zeitraum der letzten 2 Wochen:

- | | stimmt
genau | stimmt
eher | stimmt
eher nicht | stimmt
überhaupt
nicht |
|--|--------------------------|--------------------------|--------------------------|------------------------------|
| 16. Nach einer körperlichen Anstrengung erholt es sich schwer | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 17. Die Mahlzeiten sind ein Alptraum | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 18. Die Therapie stört es bei den Freizeitaktivitäten | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 19. Es findet sich zu klein für sein Alter..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 20. Es findet, dass es körperlich anders ist als andere | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 21. Es findet sich zu dünn | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 22. Es fühlt sich körperlich gut und hat den Eindruck, nicht krank zu sein | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 23. Es zieht sich zurück | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 24. Es lebt ein normales Leben | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 25. Es hat weniger Spaß mit seinen Freunden als sonst | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 26. Es hat Schwierigkeiten, sich mit anderen zu verstehen | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 27. Es hat Probleme sich zu konzentrieren..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 28. Es kommt gut in der Schule mit | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 29. Es ist nicht mehr so leistungsfähig in der Schule wie sonst | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 30. Es verbringt viel Zeit mit der täglichen Therapie | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

Bitte kreuzen Sie nur eine Antwort an

31. Wie stark fühlt sich Ihr Kind durch die tägliche Therapie (einschließlich Inhalieren und Krankengymnastik) belastet?
überhaupt nicht/ein wenig
mäßig.....
stark.....
sehr stark.....
32. Wie schätzen Sie den derzeitigen Gesundheitszustand Ihres Kindes ein?
sehr gut
eher gut.....
eher schlecht
sehr schlecht

II. Lebensqualität

Beziehen Sie sich bei den folgenden Fragen bitte auf den Gesundheitszustand Ihres Kindes in den letzten 2 Wochen:

Wie schwierig war es für Ihr Kind,

- | | 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. die Treppen genau so schnell hinaufzusteigen wie andere | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 4. schwere Gegenstände aufzuheben und zu tragen (Bücher, Schultasche, Rucksack)..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 5. mehrere Etagen hochzusteigen | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
- Kreuzen Sie an, welche Antwort zutrifft**
- Wie Ihr Kind in den letzten 2 Wochen:
- | | immer | oft | manchmal | nie |
|-------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 6. fröhlich, heiter..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 7. besorgt / ängstlich..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 8. müde | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 9. leicht wütend | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 10. in guter Verfassung | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 11. schlecht gelaunt..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 12. voller Energie | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

Bitte kreuzen Sie an, welche der folgenden Aussagen auf Ihr Kind zutreffen. Denken Sie dabei an den Zeitraum der letzten 2 Wochen:

14. Inwieweit hat Ihr Kind in den letzten 2 Wochen am Sportunterricht teilgenommen:
Es nahm überhaupt nicht oder kaum teil
Es hatte Schwierigkeiten und hat weniger teilgenommen
Es hatte Schwierigkeiten, hat aber genauso teilgenommen wie sonst
Es hat ohne Schwierigkeiten immer teilgenommen.....
15. Inwieweit hat Ihr Kind Schwierigkeiten beim Gehen:
Es geht lange, ohne zu ermüden.....
Es geht lange, ermüdet jedoch.....
Es geht nicht lange, weil es schnell ermüdet.....
Es meidet Gehen wo immer es kann, weil es zu sehr ermüdet.....

III. SYMPTOMFRAGENBOGEN

Die folgenden Fragen beziehen sich auf die Symptome, die Ihr Kind möglicherweise während der letzten 2 Wochen gezeigt hat. Bitte kreuzen Sie bei jeder Frage nur eine Antwort an.

- | | stark | mäßig | ein wenig | überhaupt nicht |
|--|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 33. Hatte Ihr Kind Schwierigkeiten zuzunehmen? | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 34. Hatte Ihr Kind verschleimte Atemwege? | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 35. Hat Ihr Kind tagüber gehustet? | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 36. Hatte Ihr Kind Auswurf? | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
- ↓
falls überhaupt nicht, gehen Sie zu Frage 38
37. Wie sah der Auswurf meistens aus? klar hell bis gelblich dunkel bis grünlich
 blutig weiss nicht
38. Traten bei der Atmung Pfeifgeräusche auf?
39. Hatte Ihr Kind Schwierigkeiten bei der Atmung?
40. Ist Ihr Kind wegen des Hustens nachts aufgewacht?
41. Hatte Ihr Kind Blähungen?
42. Hatte Ihr Kind Durchfall?
43. Hatte Ihr Kind Bauchschmerzen?
44. Hatte Ihr Kind Essprobleme?
- | | täglich | oft | manchmal | nie |
|---|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 38. Traten bei der Atmung Pfeifgeräusche auf? | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 39. Hatte Ihr Kind Schwierigkeiten bei der Atmung? | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 40. Ist Ihr Kind wegen des Hustens nachts aufgewacht? | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 41. Hatte Ihr Kind Blähungen? | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 42. Hatte Ihr Kind Durchfall? | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 43. Hatte Ihr Kind Bauchschmerzen? | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 44. Hatte Ihr Kind Essprobleme? | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

Bevor Sie den Fragebogen abgeben, prüfen Sie bitte, ob Sie alle Fragen beantwortet haben.

VIELEN DANK FÜR IHRE MITARBEIT!

Cystic fibrosis Questionnaire -Revised Fragebögen

44th European Cystic Fibrosis Conference - Abstract

Evolution of inflammatory parameters during CFTR-modulator therapy with lumacaftor/ivacaftor in children aged 6 to 12 years.

J. Rössler ^{1,2}, R.L. Knoll ^{1,2}, S. Wirsching ², M.L. Cacicedo ², P. Mildenerger ³, S. Gehring, O. Nitsche ¹, K. Poplawska ¹

¹University Medical Center of the Johannes-Gutenberg University Mainz, Children's Hospital, Pediatric Pulmonology, Mainz, Germany, ²University Medical Center of the Johannes-Gutenberg University Mainz, Children's Hospital, Pediatric Immunology, Mainz, Germany, ³University Medical Center of the Johannes-Gutenberg University Mainz, Institute of medical biometry, epidemiology and informatics, Mainz, Germany

Objectives: This study aimed to investigate systemic, intestinal and pulmonary inflammatory patterns during the first 12 months of treatment with lumacaftor/ivacaftor (LUM/IVA) in children aged 6-12.

Methods: 7 patients aged 6-12 years, were enrolled in the prospective longitudinal interventional study. Sample collection took place every 3 month for the first year of treatment. Initial samples were collected prior to first drug intake. Induced sputum, processed with Dithiothreitol and PBS, was filtered and centrifuged. Sputum and urine supernatants, stool samples and blood serum were stored at -80°C. Cytometric Bead Array (BD™ CBA Human Inflammatory Cytokines Fix Set System) was performed analyzing TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70 in sputum supernatants. To determine Cathepsin B in urine supernatants, ELISA was performed (Human Cathepsin B ELISA Kit, Abcam). Total blood count and faecal calprotectin were measured at the central laboratory of the university medical centre.

Results: During the study period, a significant decrease in leucocyte blood count (Median Visit 1= 9.94/nl; Visit 5= 5.21/nl; p=.034); Serum-IgG (Median Visit1=11.82g/l; Visit5=7.58g/l; p=.018;) and in faecal calprotectin (Median Visit 1= 999 μ g/g; Visit 5= 34 μ g/g) were observed. There were no definite changes in inflammatory sputum biomarkers. IL -10 and IL-12p70 were not detected in sputum samples. However, with longer medication intake the amount of sputum and the possibility of sputum induction decreased (Visit 1=57%; Visit 5=42%). Cathepsin B in urine did not change over the study time.

Conclusions: CFTR-modulation with LUM/IVA significantly decreased markers of systemic and intestinal inflammation in children aged 6 to 12 years. These findings demonstrate the systemic disease-modifying effect of LUM/IVA. Inflammatory cytokines in sputum showed no striking values. This may be due to limited sample size or may represent an insufficient class effect of LUM/IVA.

Oral Presentation

Deutsche Mukoviszidose Tagung 2019

Titel: Umsetzbarkeit und Relevanz des induzierten Sputums für die mikrobiologische Diagnostik bei Kindern ab 6 Jahren

J. Rößler, R.L. Knoll, O. Nitsche, A. Diehl, K. Neumann, T. Jung,
K. Poplawska

Hintergrund: Um über die bakterielle Kolonisation der Atemwege bei der Erkrankung Mukoviszidose Aussagen zu treffen, werden bei Kindern tiefe Rachenabstriche (cough-swabs) verwendet. Auf Grund der Schwierigkeiten von Kindern mit stabilen Krankheitsverläufen Sputum zu expektorieren, kommt das deutlich aussagekräftigere, induziertes Sputum hier selten zum Einsatz.

Methoden: Im Rahmen der Studie „OrkambiKIDS“, wurden 7 Kinder zwischen 6-11 Jahre mit Lumacaftor/Ivacaftor behandelt. In den regelmäßigen 3-monatlichen Vorstellungen wird induziertes Sputum als Diagnostiktool für die bakterielle Besiedlung und Inflammation evaluiert.

Die Induktion des Sputums wird unter der Anleitung CF- Physiotherapeutinnen durchgeführt. Nach der Inhalation von hypertoner Kochsalzlösung (MucoClear 6%) sowie vorheriger Bronchodilatation mit Salbutamol DA (200µg) und mit Hilfe verschiedener Bewegungsabläufe (z.B. Trampolin springen und verschiedene Lagerungspositionen), gelingt es den Kindern Sputum zu expektorieren. Sowohl Rachenabstriche als auch Sputum werden anschließend jeweils konventionell mikrobiologisch untersucht und für weitere Untersuchungsverfahren prozessiert oder eingefroren.

Ergebnisse: In unserer Kohorte lag die Erfolgsrate induziertes Sputum zu erhalten bei 87% und ist daher vergleichbar mit den Ergebnissen aus der CF-Sputum Induction Trial (CF-SpIT) 1 (84%). Nach Mid-term-Evaluation zeigt sich, dass in ca. 60 % der Fälle Unterschiede in den mikrobiologischen Ergebnissen des tiefen Rachenabstrichs und des induzierten Sputums bestehen.

Die angewandte Methode zur Sputuminduktion konnte in unserem Kollektiv gut umgesetzt und toleriert werden. Die Methode wird als angenehmer als der tiefe Rachenabstrich wahrgenommen.

Schlussfolgerung: Induziertes Sputum kann zur mikrobiologischen Routine-Diagnostik auch bei jungen CF-Kindern verwendet werden und zeigt relevante Unterschiede zu den in der CF-Betreuung gut etablierten tiefen Rachenabstrichen. Dies könnte von Vorteil sein, um Besiedelung mit Problemkeimen frühzeitig zu erkennen. Des Weiteren kann die Untersuchung des Sputums im jungen Alter in der Zukunft helfen, Atemwegsinfektion durch die Bestimmung der Inflammationsmarker schneller zu erkennen. Wir werden die beschriebene Methode auch nach Abschluss der Studie weiter in unserer Routineuntersuchung anwenden. Weitere Ergebnisse werden wir während der Tagung präsentieren.

¹The Cystic Fibrosis Sputum Induction Trial (CF-SpIT). Induced sputum in young healthy non-productive children with cystic fibrosis; Journal of Cystic Fibrosis; Tame, J. et. al.

Induziertes Sputum zur Routine-Diagnostik bei Kindern ab 6 Jahren

Einleitung

Um über die bakterielle Besiedelung der Lunge bei Mukoviszidose-Patienten Aussagen zu treffen, werden bei Kindern vor allem Rachenabstriche verwendet. Auf Grund der Schwierigkeiten von Kindern Sputum zu expectorieren, kommt das deutlich aussagekräftigere Sputum seltener zum Einsatz.

Methoden

Im Zeitraum Oktober 2018 bis Oktober 2019 wurden sechs F508del- homozygote Patienten im Alter von 6 bis 12 Jahren auf Lumacaftor / Ivacaftor (Orkambi®) eingestellt.

Während der Routinevorstellungen im Abstand von 3 Monaten (V1, V2, V3) wurden im Rahmen der üblichen klinischen Verlaufskontrolle sowohl Rachenabstriche, wie auch induzierte Sputumproben gewonnen und konventionell mikrobiologisch untersucht.

Methode der Sputuminduktion:

Die Induktion des Sputums erfolgt unter physiotherapeutischer Anleitung. Nach Inhalation von 2 Hub Salbutamol (à 90 µg) wird unter Atemtherapie 6%ige-Natriumchlorid-Lösung inhaliert. Mit Hilfe verschiedener Bewegungsabläufe, wie zum Beispiel Trampolin springen und Lagerung bei alternierend angehobenem Oberkörper gelingt es den Kindern im Anschluss häufig induziertes Sputum zu expectorieren.



Bild 1 & 2: Sputuminduktion unter physiotherapeutischer Anleitung

Dieses wird in einer sterilen Petrischale aufgefangen und direkt im Anschluss in unsere Mikrobiologie verschickt. Dort werden die Proben konventionell mikrobiologisch bearbeitet. Die Anzucht von Bakterien und Pilzen erfolgt z.B. auf MacConkey-Agar, Burkholderia-cepacia-selektiv Agar, CNA-Blutagar, Kochblutagar, Sabouraud-Dextrose-Agar.

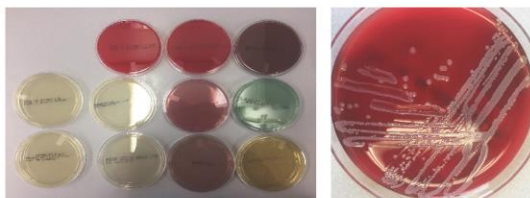


Bild 3 & 4: Agarplatten

Legende zu Grafik 1 & 2

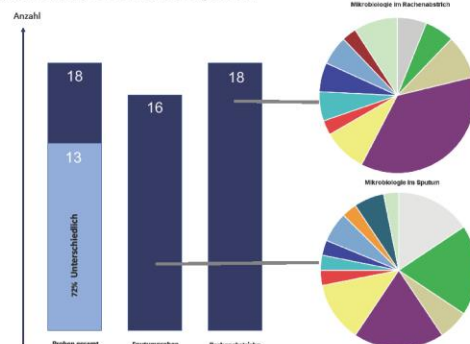
- kein Wachstum
- Lautropia mirabilis*
- Candida spesies*
- Staphylococcus aureus*
- Haemophilus influenzae*
- Serratia marcescens*
- Moraxella catarrhalis*
- Stenotrophomonas maltophilia*
- Aspergillus fumigatus*
- Nocardia farcinia*
- Enterobacter cloacae*
- Penicillium spesies*
- Streptococcus pyogenes*

Ergebnisse

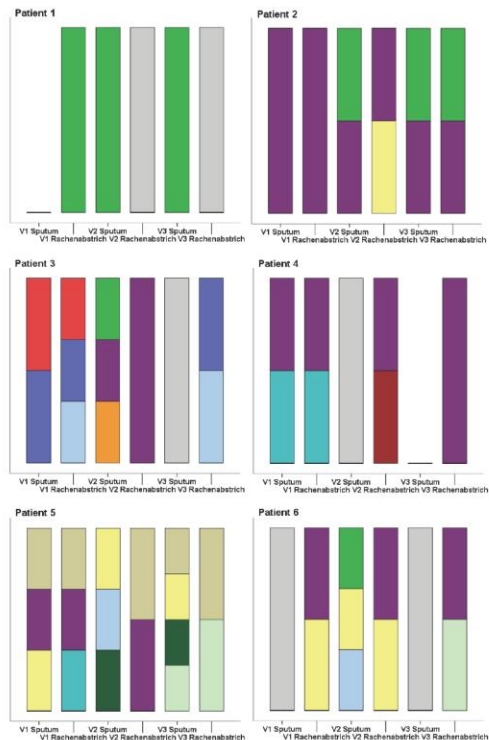
Die angewandte Methode zur Sputuminduktion konnte in unserem Kollektiv durch die Patienten gut umgesetzt werden. Die Erfolgsrate induziertes Sputum zu erhalten lag bei fast 89%.

Insgesamt konnten wir 16 Sputumproben mit 18 Rachenabstrichen vergleichen. In 72 % der Fälle bestanden Unterschiede in den mikrobiologischen Ergebnissen des Rachenabstrichs und des induzierten Sputums. Die patientenbezogenen Unterschiede können aus Graphik 2 entnommen werden.

Grafik 1: Probenanzahl und mikrobiologische Zusammensetzung in Sputum und Rachenabstrichen gesamt



Grafik 2: Unterschiedliche mikrobiologische Zusammensetzung in Sputum und Rachenabstrichen je Patient



Diskussion & Schlussfolgerung

Wir konnten deutliche Unterschiede der bakteriellen Zusammensetzung des induzierten Sputums und der Rachenabstriche feststellen. Insbesondere *Nocardia* und Sporen von *Penicillium* waren nur im Sputum nachweisbar, der Nachweis von *Enterobacter cloacae* im Rachen werten wir am ehesten als Kontamination. Tendenziell war auch die detektierte Speziesdiversität im Sputum höher als in den Rachenabstrichen. Diese Beobachtung war patienten- und altersunabhängig. Wir gehen davon aus, dass induziertes Sputum die bakterielle Atemwegsbesiedelung, insbesondere der tiefen Atemwege, von Kindern mit CF besser darstellen kann, als Rachenabstriche. Dies kann von Vorteil sein, um Besiedelung mit Problemkeimen wie z.B. *Pseudomonas aeruginosa* oder atypische Mykobakterien frühzeitig zu erkennen und ermöglicht dadurch früher therapeutisch eingreifen zu können. Auf Grund der guten Umsetzungsrate in unserem Kollektiv, werden wir die beschriebene Methode auch nach Abschluss der Studie weiter in unserer Routineuntersuchung anwenden.

Danksagung & Kontakt

Wir danken allen Patienten und deren Familien für ihre Teilnahme. Insbesondere danken wir dem Team der klinischen Mikrobiologie v. a. Claudia Goldschmitt, Anna Kubas, Verena Lind-Worren und Marion Rhein für die stets hervorragende Zusammenarbeit.

Dr. med. Krystyna Poplawska

Universitätsmedizin Mainz
Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin
Schwerpunkt Pneumologie, Allergologie und Mukoviszidose
Langenbeckstr. 1, 55131 Mainz

Krystyna.Poplawska@unimedizin-mainz.de

Deutsche Mukoviszidose Tagung 2021

Rebecca L. Knoll, J. Rößler, S. Wirsching, M.L. Cacicedo, P. Mildenerberger, S. Gehring, O. Nitsche, Krystyna Poplawska

Titel: Unter dem Zwerchfell: Einfluss der 2-jährigen CFTR-Modulation mit LUM/IVA auf die intestinale Inflammation, Leberwerte und gastrointestinale Symptome bei Kindern im Alter von 6 bis 12 Jahren

Hintergrund: Gastrointestinale Symptome tragen entscheidend zur Einschränkung der Lebensqualität von Patienten mit CF bei. Die Verbesserung der intestinalen Beschwerden wird, von CF-Patienten und deren Behandlern gleichermaßen, zu den Top-10 zu priorisierenden CF-Forschungsthemen gezählt. Zudem ist die CF-assoziierte Lebererkrankung die dritthäufigste Todesursache bei CF. Der Einfluss der CFTR-Modulation auf die gastrointestinale Inflammation und Lebensqualität im Kindesalter wurde bis jetzt nur selten untersucht.

Methoden: 7 Patienten zwischen 6-12 Jahren wurden in die prospektive longitudinale Studie eingeschlossen. Während der ersten zwei Jahre der Medikamenteneinnahme wurden alle 3 Monate Blut-, und Stuhlproben gewonnen. Die erste Datenerhebung fand unmittelbar vor der Einstellung auf LUM/IVA statt. Die Analyse der Parameter aus Blut- und Stuhlproben erfolgte durch das Zentrallabor der Universitätsmedizin Mainz. Die Erfassung der intestinal verursachten Symptome erfolgte mittels Cystic fibrosis Questionnaire-Revised (CFQR)-Fragebogen für Eltern der Patienten. Folgende Domänen wurden ausgewertet: Gastrointestinale Störungen, Essstörungen und Körperbild.

Ergebnisse: Während des Untersuchungszeitraums zeigten sich signifikante Reduktionen der Calprotectin-Konzentration im Stuhl (Median Visit 1: 350,5 µg/g; Visit 9: 93 µg/g) und der Konzentrationen der Aspartat-Aminotransferase (Median Visit 1: 32U/l; Visit 9: 25,5 U/l; p=0,014) und der Alanin-Aminotransferase (Median Visit 1: 28U/l; Visit 9: 16,5U/l; p=0,011) im Blut. Eine Reduktion zeigte sich auch bei der Analyse der alkalischen Phosphatase (Median Visit 1: 312 U/l; Visit 9: 248 U/l). Der Perzentilen-bezogene BMI verbesserte sich im Studienverlauf (Median Visit 1: 21; Visit 9: 40). Die Auswertung des CFQR-Fragebogens ergab Verbesserungen in den Kategorien: Gastrointestinale Störung (Median V1: 66,8%; V9: 77,8%) und Körperbild (Median V1: 77,8%; V9: 100%). Der Median der Domäne Essstörung lag schon zu Beginn der Studie bei 100%.

Schlussfolgerung: In unserer Kohorte vermindert die CFTR-Modulation mit LUM/IVA intestinale Inflammation, beeinflusst positiv Leberwerte und trägt zur Verbesserung der gesundheitsbezogenen Lebensqualität der von zwei der drei intestinalen Domänen über den Zeitraum von 2 Jahren bei.

24. Deutsche Mukoviszidose Tagung

19.11.2021 – 20.11.2021

Poster Nr

Unter dem Zwerchfell: Einfluss der CFTR-Modulation (LUM/IVA) auf den Intestinaltrakt bei Kindern im Alter von 6 bis 12 Jahren

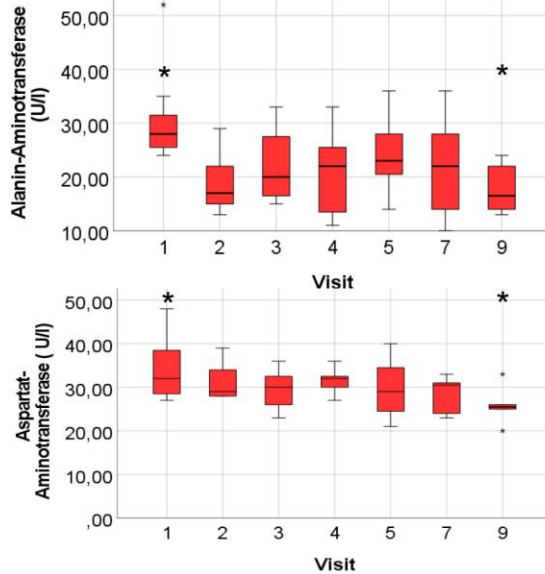
Einleitung



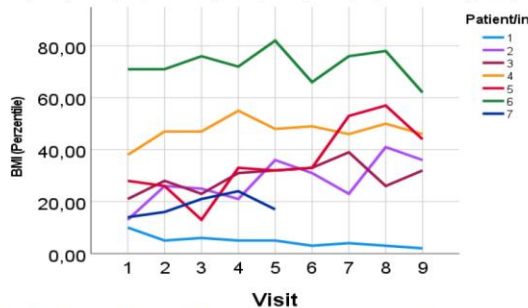
Gastrointestinale Symptome tragen entscheidend zur Einschränkung der Lebensqualität von Patienten mit CF bei. Die Verbesserung der intestinalen Beschwerden wird, von CF-Patienten und deren Behandlern gleichermaßen, zu den Top-10 zu priorisierenden CF-Forschungsthemen gezählt. Zudem ist die CF-assoziierte Lebererkrankung die dritthäufigste Todesursache bei CF. Der Einfluss der CFTR-Modulation auf die gastrointestinale Inflammation und Lebensqualität im Kindesalter wurde bis jetzt nur selten untersucht.

Methoden

7 Patienten zwischen 6-12 Jahren wurden in die prospektive longitudinale Studie eingeschlossen. Während der ersten zwei Jahre der Medikamenteneinnahme wurden alle 3 Monate Blut-, und Stuhlproben gewonnen. Die erste Datenerhebung fand unmittelbar vor der Einstellung auf LUM/IVA statt. Die Analyse der Parameter aus Blut- und Stuhlproben erfolgte durch das Zentrallabor der Universitätsmedizin Mainz. Die Konzentration von Calprotectin wurde aus gefrorenem Stuhl gemessen. Die Erfassung der intestinal verursachten Symptome erfolgte mittels Cystic fibrosis Questionnaire-Revised (CFQR)-Fragebogen für Eltern der Patienten. Folgende Domänen wurden ausgewertet: Gastrointestinale Störungen, Essstörungen und Körperbild.



Grafik 1: Darstellung der Konzentrationen von ALT und AST im Studienzeitraum, n=7; ALT (T-Test $p=0,011$ Cohen's $d_z=0,61$); AST (T-Test $p=0,014$ Cohen's $d_z=1,52$)



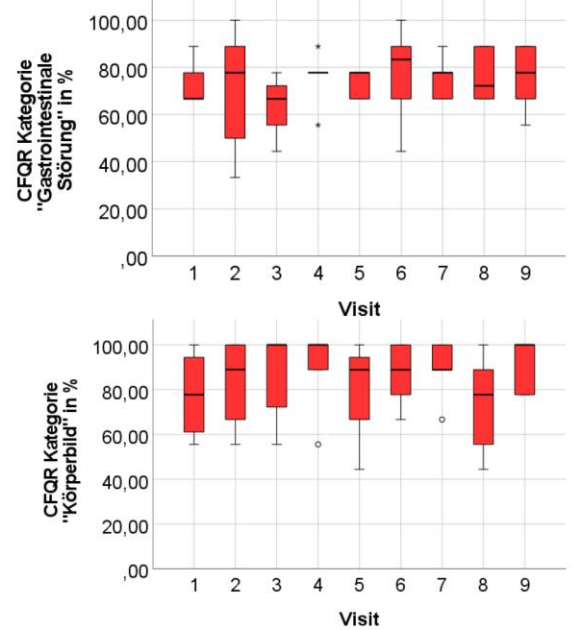
Grafik 2: Darstellung der BMI-Perzentilen pro Patient im Verlauf; T-Test ($p=0,252$)

Schlussfolgerung

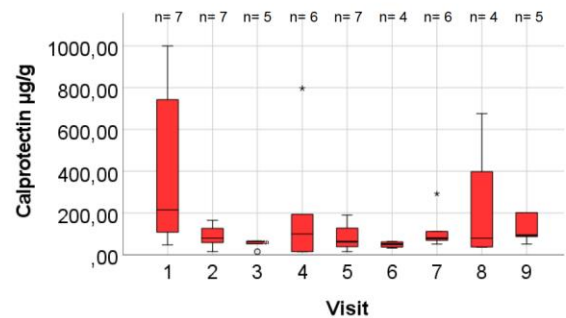
In unserer Kohorte vermindert die CFTR-Modulation mit LUM/IVA die intestinale Inflammation und beeinflusst positiv Leberwerte. Die gesundheitsbezogene Lebensqualität verbessert sich im Zeitraum von 2 Jahren. Dies wird auch in zwei von drei Domänen des CFQR-Fragebogens ersichtlich.

Ergebnisse

Während des Untersuchungszeitraums zeigten sich signifikante Reduktionen der Calprotectin-Konzentration im Stuhl (Median Visit 1: 215 $\mu\text{g/g}$; Visit 9: 93 $\mu\text{g/g}$) und der Konzentrationen der Aspartat-Aminotransferase (Median Visit 1: 32U/l; Visit 9: 25,5 U/l; $p=0,014$) und der Alanin-Aminotransferase (Median Visit 1: 28U/l; Visit 9: 16,5U/l; $p=0,011$) im Blut. Eine Reduktion zeigte sich auch bei der Analyse der alkalischen Phosphatase (Median Visit 1: 312 U/l; Visit 9: 248 U/l). Der Perzentilen-bezogene BMI verbesserte sich im Studienverlauf (Median Visit 1: 21; Visit 9: 40). Die Auswertung des CFQR-Fragebogens ergab Verbesserungen in den Kategorien: Gastrointestinale Störung (Median V1: 66,8%; V9: 77,8%) und Körperbild (Median V1: 77,8%; V9: 100%). Der Median der Domäne Essstörung lag schon zu Beginn der Studie bei 100%.



Grafik 3: Darstellung der CFQR Kategorien „Körperbild“ und „Gastrointestinale Störungen“ in Prozent über 9 Visits; n=7; Körperbild: T-Test ($p=0,18$); Gastrointestinale Störung: T-Test ($p=0,93$)



Grafik 4: Darstellung der Konzentrationen von Calprotectin im Studienzeitraum; T-Test ($p=0,690$)

Kontakt

Universitätsmedizin Mainz
Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin
Schwerpunkt Pneumologie, Allergologie und Mukoviszidose
Langenbeckstr. 1 55131 Mainz
Telefon: 06131 17-2768

Krystyna.Poplawska@unimedizin-mainz.de

Danksagung

Frau Dr. med. Krystyna Poplawska danke ich für die Überlassung des interessanten und anspruchsvollen Themas.

Insbesondere möchte ich Frau Dr. med. Rebecca Luise Knoll und auch Frau Dr. med. Krystyna Poplawska für die große Unterstützung und das hervorragende Mentoring während der Bearbeitung danken. Beide standen jederzeit mit wertvollen Anregungen zur Seite und haben in mir die Begeisterung für das wissenschaftliche Arbeiten geweckt.

Einen großen Dank möchte ich an Herrn Univ.-Prof. Dr. med. Stephan Gehring und alle Mitarbeiter des Labors für pädiatrische Immunologie aussprechen, die mir bei der Durchführung der Bestimmung der Inflammationsparameter eine sehr große Unterstützung waren und eine hervorragende wissenschaftliche Betreuung meiner Promotion ermöglichten.

Meinen besonderen Dank möchte ich dem gesamten Team des Schwerpunktbereichs pädiatrische Pneumologie, Allergologie und Mukoviszidose aussprechen, für die enge Zusammenarbeit bei der Datenbeschaffung. Genauso wie den Physiotherapeutinnen, die den Patienten bei der Sputumexpektoration zur Seite standen.

Vielen Dank an das Zentrallabor der Universitätsmedizin Mainz, und das Institut für medizinische Mikrobiologie und Hygiene der Universitätsmedizin Mainz.

Den Mitarbeitern des IMBEI danke ich für die statistische Beratung.

Bei allen Patienten und deren Eltern möchte ich mich herzlich für die Teilnahme bedanken. Ohne sie wäre die Studie nicht möglich gewesen.

Vielen Dank an meine Eltern für ihr Vertrauen, Zuspruch und Förderung, die sie mir während des gesamten Studiums und darüber hinaus zuteilwerden ließen

Danke!

Tabellarischer Lebenslauf

Name: Juliane Rößler

Geburtsort: Zwiesel
