

Diplomarbeit

Calprotectin bei zystischer Fibrose (CF): die Bedeutung als prädiktiver Wert für das Auftreten eines distalen intestinalen Obstruktionssyndroms (DIOS)

Eingereicht von

Selimović Kanita

Geburtsdatum: 15.02.1985

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktorin der gesamten Heilkunde

(Dr.ⁱⁿ med. univ.)

an der

Medizinischen Universität Graz

Ausgeführt an der

Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde

unter Anleitung von

OA. Dr. Jörg Jahnel

Univ.-Prof. Dr. Ernst Eber

Graz, März 2014

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, März 2014

Kanita Selimović

Danksagungen

Mein besonderer Dank gilt Herrn OA Dr. Jörg Jahnel und Univ.-Prof. Dr. Ernst Eber (Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde der Medizinischen Universität Graz) für das Ermöglichen dieser Arbeit, die hilfreiche fachliche Beratung und die besondere Gelegenheit, mich an diesem großen Projekt teilhaben zu lassen.

Darüber hinaus möchte ich mich beim gesamten Team der Klinischen Abteilung für pädiatrische Pulmonologie und Allergologie für die Unterstützung und Durchführung der Studie, sowie die Bereitstellung notwendiger Daten herzlich bedanken.

Meinem Ehemann, Samir Nuhanovic, gilt mein herzlichster Dank für die liebevolle Unterstützung, für seine Engelsgeduld und Hilfe bei der Formatierung und Lösung aller technischen Probleme.

An dieser Stelle möchte ich mich auch bei all meinen Freunden bedanken, die mich während meiner Studienzeit begleitet und bei der Erstellung dieser Arbeit unterstützt und aufgebaut haben.

Diese Diplomarbeit widme ich meinen Eltern, Mediha und Mensur Selimovic. Ich danke euch für eure unermessliche Liebe und Begleitung in all diesen Jahren. Ohne eure liebevolle Unterstützung wäre diese Arbeit nicht zu dem Werk geworden das es heute ist, und ich nicht zu dem Menschen der ich heute bin.

Danke

Zusammenfassung

Hintergrund:

Zystische Fibrose (cystic fibrosis, CF) ist eine chronische Erkrankung mit Manifestationen in der Lunge und allen exokrinen Drüsen. Im Dün- und Dickdarm kann eine gestörte epitheliale Schleimsekretion in Kombination mit anderen Faktoren (u.a. beeinträchtigte Darmmotilität, eingedickter Darminhalt) zu einer Vorstufe des Darmverschlusses führen, welche als „distales intestinales Obstruktionssyndrom“ (DIOS) bezeichnet wird. Die genaue Ätiologie des DIOS ist bisher unvollständig geklärt, insbesondere ist über die Rolle einer begleitenden Darmentzündung wenig bekannt. Ziel dieser Arbeit war es, die Häufigkeit von Darmentzündungen im Rahmen von CF bzw. vor einem DIOS mit Hilfe des Markers „Calprotectin“ zu untersuchen und Änderungen der Darmentzündungsaktivität nach einer Therapie bzw. nach einem DIOS zu beschreiben.

Methodik:

Bei PatientInnen unterschiedlichen Alters mit CF, die an der Klinischen Abteilung für Pulmonologie und Allergologie der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde Graz im Zeitraum von 18 Monaten stationär behandelt wurden, wurden Calprotectin-Werte im Stuhl mittels ELISA-Technik gemessen. Bei allen PatientInnen, aber speziell bei jenen, die während des stationären Aufenthaltes ein DIOS entwickelten, wurde versucht, die Calprotectin-Diagnostik am Ende des stationären Aufenthaltes zu wiederholen, damit die Rolle von stationär durchgeführten Therapien (v.a. mit Antibiotika und Glukokortikoiden) in der Entstehung des DIOS untersucht werden konnte.

Ergebnisse:

Die PatientInnen wurden in 2 Gruppen aufgeteilt: Gruppe A (n=56) beinhaltet CF-PatientInnen ohne DIOS, die vorwiegend aufgrund pulmonaler Verschlechterungen bzw. zur routinemäßigen i.v.-Antibiotika-Therapie stationär aufgenommen wurden. Gruppe B (n=14) beinhaltet DIOS-PatientInnen, die entweder „anamnestisch“ eine DIOS-Episode hatten (n=6), oder eine akute DIOS Episode zeigten (bei Aufnahme [n=2] oder im Rahmen des stationären Aufenthaltes [n=6]). Insgesamt wurde bei 36 PatientInnen Calprotectin gemessen, 26 davon gehören zur Gruppe A, 10 zur

Gruppe B. Wir konnten bei diesen 36 PatientInnen aufgrund Mehrfachmessungen insgesamt 55 Calprotectin-Werte erheben, wobei 21 Messungen negativ und somit ohne Hinweis auf eine Darmentzündung waren (Gruppe A n=15, Gruppe B n=6). Die restlichen 34 Calprotectin-Werte zeigten eine Erhöhung. Bei 9 PatientInnen (Gruppe A: n=7; Gruppe B: n=2) lagen Calprotectin-Werte vor und nach der Therapie vor und es zeigte sich, dass es bei 7 von 9 PatientInnen (77%) nach der Therapie zu einer Reduktion der Calprotectin-Werte kam. Bei zwei PatientInnen blieben die Werte unverändert. In der Gruppe B mit DIOS in der Anamnese waren die Calprotectin-Werte vergleichbar mit jenen der Gruppe A. Einige PatientInnen mit akutem DIOS hatten deutlich erhöhte Calprotectin-Werte vor dem DIOS, 2 von 6 PatientInnen zeigten unauffällige Calprotectin-Werte vor dem Auftreten eines DIOS. Werte bei der Entlassung liegen bei diesen PatientInnen (ausser bei einem) nicht vor.

Schlussfolgerung:

CF-PatientInnen haben häufig erhöhte Calprotectin-Werte im Stuhl und somit mit höchster Wahrscheinlichkeit eine begleitende Darmentzündung, aber diese PatientInnen entwickeln nicht automatisch ein DIOS. Einige unserer DIOS-PatientInnen hatten zuvor einen erhöhten Calprotectin-Wert. Nach einer routinemäßigen Therapie bei CF kommt es zu Änderungen der Calprotectin-Werte, wodurch hypothetisiert werden kann, dass durch die CF-Therapie eine begleitende Darmentzündung gebessert wird. Es könnte einen Zusammenhang zwischen der Besserung der Darmentzündung und der Entstehung eines DIOS geben. Zur Bestätigung dieser Hypothese wäre eine größere DIOS-PatientInnenzahl notwendig. Unsere Untersuchung kann daher nicht eindeutig klären, ob Calprotectin im Stuhl einen prädiktiven Wert für das Auftreten eines DIOS hat.

Abstract

Background: Distal intestinal obstruction syndrome (DIOS) is a common complication in cystic fibrosis (CF). The aim of this study was to investigate the relationship between the occurrence of DIOS and the intestinal inflammatory marker "calprotectin", which can be measured in stool. We hypothesised that patients who develop DIOS have initially very high calprotectin values.

Methods: In patients with CF hospitalized at the Respiratory and Allergic Disease Division / Department of Paediatrics and Adolescence Medicine during a period of 18 months, calprotectin values were measured in the stool by ELISA technique. Calprotectin measurement was repeated at the end of the hospitalisation after therapy with antibiotics and glucocorticoids.

Results: The patients were divided in 2 groups: Group A (n= 56) are patients without DIOS, group B (n=14) includes patients with DIOS. Calprotectin was measured in 36 patients, 26 belong to group A and 10 to group B. Due to multiple measurements 55 calprotectin values were collected in these 36 patients. 21 calprotectin values were negative (group A n=15, group B n=6). In 9 patients (group A n=7, group B n=2) calprotectin values were collected before and after the therapy. 7 of these 9 patients (77%) experienced a reduction in calprotectin values after therapy. In two patients the values remained unchanged. Calprotectin values of patients from group B were comparable to those of group A. Some patients with acute DIOS had significantly increased calprotectin levels before the DIOS, but the values after hospitalization are not available in these patients.

Conclusion: Some CF patients have increased calprotectin values in the stool as a hint for intestinal inflammation, but these patients do not automatically develop DIOS. Antibiotics and glucocorticoids in CF may change calprotectin values. We hypothesize that intestinal inflammation is ameliorated by the CF therapy and this could trigger a DIOS. To confirm this hypothesis, a larger number of DIOS patients would be necessary. Therefore, our study cannot clearly determine whether calprotectin in stool has a predictive value for the occurrence of DIOS.

Inhaltsverzeichnis

Danksagungen	III
Zusammenfassung	IV
Abstract.....	VI
Abbildungsverzeichnis.....	3
Tabellenverzeichnis.....	4
1. Einleitung	6
1.1. Zystische Fibrose.....	6
1.1.1. Definition und Pathogenese.....	6
1.1.2. Diagnosestellung und klinisches Bild der CF	7
1.1.3. CF und Lungenerkrankung	7
1.1.4. CF und intestinale Erkrankungen.....	9
1.1.4.1. CF und Morbus Crohn	9
1.1.5. Therapie der CF.....	10
1.2. DIOS.....	13
1.2.1. Inzidenz	13
1.2.2. Pathogenese	13
1.2.3. Symptome des DIOS	13
1.2.4. Diagnose und Differentialdiagnosen des DIOS	14
1.2.5. Therapie des DIOS.....	14
1.3. Calprotectin	15
1.3.1. Definition von Calprotectin.....	15
1.3.2. Klinische Bedeutung von Calprotectin	15
1.3.2.1. Calprotectin und entzündliche Darmerkrankungen	16
1.3.3. Calprotectin und „Small intestinal bacterial overgrowth“ (SIBO)	17
1.3.4. Serum-Calprotectin bei CF-PatientInnen	18

2. Material und Methoden	19
2.1. Literaturrecherche.....	19
2.2. Datenerhebung.....	19
2.3. PatientInnenrekrutierung	19
2.3.1. Ein- und Ausschlusskriterien	20
2.4. Messung von Calprotectin	20
2.5. Methoden zur Bestimmung von Calprotectin im Stuhl	21
2.5.1. Sandwich-ELISA.....	22
3. Ergebnisse	23
3.1. Charakterisierung der PatientInnen	23
3.1.1. Gliederung der PatientInnen in Gruppen	23
3.1.1.1. Gruppe A	24
3.1.1.2. Gruppe B	25
3.1.1.2.1. Aufteilung der DIOS-PatientInnen in Gruppe B.....	25
3.2. Calprotectin-Werte im Stuhl.....	27
3.2.1. Häufigkeit einzelner Calprotectin-Messwerte.....	27
3.2.2. Calprotectin-Messungen Gruppe A.....	28
3.2.3. Calprotectin-Messungen Gruppe B.....	30
3.2.3.1. Calprotectin-Werte bei DIOS-PatientInnen der Gruppe B.....	30
3.3. Glukokortikoid-/Antibiotikatherapie bei DIOS-PatientInnen.....	31
3.3.1. Calprotectin-Messwerte im Vergleich: Vor und nach Therapie	33
4. Diskussion	35
5. Literaturverzeichnis	38

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Aufbau der im Kit enthaltenen Gefäße und Böden.....	22
Abbildung 2: Aufteilung der 70 CF-PatientInnen.....	23
Abbildung 3: Charakterisierung der DIOS-PatientInnen.....	26
Abbildung 4: Darstellung der Häufigkeit der Calprotectin-Werte.....	28
Abbildung 5: Aufteilung der CF-PatientInnen mit DIOS.....	32

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Substanzgruppen und Dosierung von Antibiotika.....	12
Tabelle 2: Aufnahmegründe von PatientInnen der Gruppe A.....	24
Tabelle 3: Aufnahmegründe von PatientInnen der Gruppe B.....	25
Tabelle 4: Calprotectin-Messungen bei 36 PatientInnen.....	27
Tabelle 5: Calprotectin-Messwerte in der Gruppe A.....	29
Tabelle 6: Calprotectin-Messwerte in der Gruppe B.....	30
Tabelle 7: Calprotectin-Werte bei DIOS-PatientInnen.....	31
Tabelle 8: Glukokortikoid- und Antibiotikatherapie bei DIOS-PatientInnen.....	32
Tabelle 9: Calprotectin vor und nach der Therapie.....	33

Glossar und Abkürzungen

ABPA	Allergische bronchopulmonale Aspergillose
CF	Cystic fibrosis (zystische Fibrose)
CFTR	Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator
CU	Colitis ulcerosa
DIOS	Distales intestinales Obstruktionssyndrom
DM	Diabetes mellitus
MC	Morbus Crohn
MI	Mekoniumileus
GÖR	Gastroösophagealer Reflux
FSPK	Faecal Sample Preparation Kit
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
IRT	Immunoreaktives Trypsinogen
RSV	Respiratory Syncytial Virus
CT	Computertomographie
MRT	Magnet-Resonanz-Tomographie
MREG	Magnet-Resonanz-Enterographie
GIT	Gastrointestinaler Trakt
BSG	Blutsenkungsgeschwindigkeit
CRP	C-reaktives-Protein
s.u.	siehe unten
Abb.	Abbildung
Tab.	Tabelle
Pat.	PatientInnen

1. Einleitung

1.1. Zystische Fibrose

1.1.1. Definition und Pathogenese

Zystische Fibrose (CF; auch als Mukoviszidose bezeichnet) ist eine autosomal-rezessiv vererbte Erkrankung und zählt zu den häufigsten Stoffwechselerkrankungen. Die Inzidenz der CF liegt bei der kaukasischen Bevölkerung bei ca. 1:3000 Neugeborenen, bei Afroamerikanern bei 1:17000 und bei der asiatischen Bevölkerung bei 1:100000 (1,2). Heutzutage haben PatientInnen mit CF eine durchschnittliche Lebenserwartung von über 40 Jahren (3). Die Ursache der CF ist eine Genmutation, die sich auf dem langen Arm vom Chromosom 7 befindet und für ein Membranprotein namens „cystic fibrosis transmembrane conductance regulator“ (CFTR) codiert (2,4). Derzeit sind mehr als 1900 Mutationen im CF-Gen bekannt. Der häufigste Defekt des CFTR befindet sich an der Position 508 des Proteins. Der CFTR stellt einen ATP-abhängigen Chloridkanal dar, der sich in den apikalen Membranen der Epithelzellen der exkretorischen Drüsen befindet (1,3,5,6). Bei einer Störung des Kanals ist der Chloridtransport in das Lumen gestört. Daraus resultiert eine Störung der Sekrete aller exokrinen Drüsen, weswegen sich CF in allen Organen mit exokriner Funktion manifestieren kann (3,5). Es kommt zum progredienten Funktionsverlust betroffener Organe. Über 90% aller CF-PatientInnen sind von Atemwegserkrankungen betroffen (6). Die Störung der mukoziliären Clearance führt in den Atemwegen zum verminderten Abtransport eingeatmeter Erreger, wodurch eine Besiedelung der Lunge durch Bakterien und Viren begünstigt wird und es zu chronischen Entzündungen und progredienter Ateminsuffizienz kommt (4-6). Im Pankreas kann es zu exokrinen Pankreasfunktionsstörungen mit daraus folgenden Verdauungsproblemen kommen, welche bei ca. 85% aller CF-PatientInnen auftreten (5,6). In der Leber entwickelt sich im Regelfall eine fortschreitende Cholestase und im Verlauf eine biliäre Leberzirrhose mit portaler Hypertonie. Schweißdrüsen, die Keimdrüsen des Mannes und die Nasennebenhöhlen sind ebenfalls betroffen (1,5).

1.1.2. Diagnosestellung und klinisches Bild der CF

Die Diagnosesicherung kann durch CFTR-Mutationsanalyse oder durch Bestimmung des Chlorids im Nativschweiß (Schweißtest) erfolgen (7). CF wird in Österreich auch im Neugeborenen-Screening erfasst, wobei das immunoreaktive Trypsinogen (IRT) im Trockenblut der Ferse am 2-4 Tag postnatal unter Verwendung der ELISA-Technik bestimmt wird (8). Sind die IRT-Werte pathologisch, erfolgt ein Schweißtest des Neugeborenen (5). Während bei gesunden Menschen die Chloridkonzentration im Schweiß unter 30 mmol/l liegt, sind die Werte bei CF-PatientInnen deutlich erhöht (>60mmol/l) (8,9). Differentialdiagnostisch kommen Asthma bronchiale, Alpha 1-Antitrypsinmangel, Ziliendyskinesie oder angeborene Bronchiektasen in Frage (5,11).

Die Leitsymptome, die den Verdacht auf eine CF lenken können, sind pulmonale Probleme (u.a. häufig rezidivierende pulmonale Infekte, chronischer produktiver Husten; siehe unten), Gedeihstörungen, prolongierte Durchfälle, fettglänzende Stühle, salzig schmeckende Haut, sowie Trommelschlegelfinger und Uhrglasnägel (1,12).

Typische akut auftretende Komplikationen bei CF sind pulmonale Exazerbationen. Außerdem können neben rezidivierenden Bronchialinfekten eine allergische bronchopulmonale Aspergillose (ABPA) und Hämoptysen auftreten (5,12). Im Verlauf kann es neben einer exokrinen auch zu einer endokrinen Pankreasinsuffizienz kommen - mit Entstehung eines Diabetes mellitus (DM) (11). Eine Sekretionsstörung der Darmschleimdrüsen kann ein distales intestinales Obstruktionssyndrom (DIOS) bzw. einen Mekoniumileus (siehe unten) hervorrufen (1,5).

1.1.3. CF und Lungenerkrankung

Strukturelle Veränderungen der Lunge im Rahmen der CF führen bereits im ersten Lebensjahr durch einen herabgesetzten Muzinabfluss in kleinen Atemwegen zu Dilatationen und Hypertrophien des Lumens von submukösen Drüsen (4,5). Der Funktionsverlust respiratorischer Zilien und die verminderte mukoziliäre Clearance haben einen verminderten Abtransport inhalierter Erreger zur Folge und begünstigen die Entstehung von Infektionen durch Viren (z.B. Respiratory Syncytial Virus, RSV) und Bakterien (14-16). Die daraus resultierenden chronischen Entzündungsprozesse

zerstören die Bronchialwand der Atemwege, schädigen das Lungengewebe und führen zu Bronchiektasien, die ihrerseits die Sekretretention und die Besiedelung durch Bakterien begünstigen (1,17). Besonders charakteristisch für CF sind Infektionen mit Staphylokokken (*S. aureus*), *Haemophilus influenzae* (*H. influenzae*), *Pseudomonas aeruginosa* oder mit Pilzen (z.B. *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*) (4,15,17). Während *S. aureus* und *H. influenzae* hauptsächlich bei jüngeren CF-PatientInnen gesehen werden, findet man *P. aeruginosa* vorwiegend bei erwachsenen CF-PatientInnen (4). Im fortgeschrittenen Stadium der Krankheit treten Bronchiektasien sowie Atelektasen auf (1,18). In der Lungenfunktionsdiagnostik können Veränderungen wie Erhöhungen des Residual- und Intrathorakalvolumens und Verminderungen der Strömungsgeschwindigkeiten in den Atemwegen nachgewiesen werden (5,12).

Respiratorische Manifestationen und Komplikationen der CF sind in der folgenden Übersicht dargestellt (1,12,15):

Respiratorische Manifestationen:

- Polyposis nasi, chronische Sinusitis
- Rezidivierender oder chronischer Husten
- Mukoides oder putrides Sputum
- Giemen und feuchte Rasselgeräusche in der Auskultation
- Atemnot/Tachypnoe/Dyspnoe

Komplikationen:

- Asthma bronchiale; Atopie
- Allergische bronchopulmonale Aspergillose (ABPA)
- Atelektasen
- Bronchiektasien
- Pneumothorax
- Hämoptysen
- Pulmonale Hypertension
- Respiratorische Insuffizienz (akut, chronisch)

1.1.4. CF und intestinale Erkrankungen

CF-PatientInnen können an verschiedenen gastrointestinalen Komplikationen leiden. Diese reichen von gastroösophagealem Reflux (GÖR; betrifft ca. 27% aller CF-PatientInnen), Magen-Darm-Ulcera und akuter Appendizitis (1-4% aller CF-PatientInnen) bis zu pseudomembranöser Kolitis (z.B. durch Clostridium difficile verursacht) (2,13,19).

Wichtige mit CF assoziierte Darmerkrankungen sind Mekoniumileus (MI) und DIOS (20,21). Der MI entsteht bei Neugeborenen im terminalen Ileum durch eine Obstruktion des Dünndarms infolge zähen Mekoniums. Ca. 10% aller Neugeborenen mit CF weisen einen MI auf und werden klinisch durch das Fehlen von Mekoniumabgang in den ersten 48 Lebensstunden auffällig (13,20). Dies indiziert dringend einen Schweißtest und Mutationsanalysen im CF-Gen (s.o.) (1). Das DIOS ist dem MI sehr ähnlich, tritt aber bei älteren CF-PatientInnen auf (s.u.).

1.1.4.1. CF und Morbus Crohn

Morbus Crohn (MC) ist eine chronisch-entzündliche Darmerkrankung und präsentiert sich meistens mit den Symptomen Bauchschmerzen und Durchfall (13,22). Die Anfälligkeit für MC umfasst sowohl genetische als auch Umweltfaktoren (13). Da die Symptome des MC denen anderer Darmerkrankungen (z.B. DIOS) ähnlich sind, müssen vor der Diagnosestellung eventuelle Differentialdiagnosen ausgeschlossen werden (2,23). Die Prävalenz der Erkrankung ist bei PatientInnen mit CF um das 17-fache erhöht (23). Die Empfindlichkeit von CF-PatientInnen für MC hat ihre Ursache möglicherweise in einem Blutmarker, dem „Anti-Saccharomyces cerevisiae Antikörper (ASCA)“. Die Prävalenz von ASCA liegt bei MC bei ca. 60-70% (24). Es konnte nachgewiesen werden, dass ASCA auch bei 40% der CF-PatientInnen auftritt, wodurch eine pathogenetische Verbindung zwischen CF und MC möglich erscheint. Die Ursache für die erhöhte Seropositivität für ASCA bei CF-PatientInnen konnte bisher nicht geklärt werden (24,25).

1.1.5. Therapie der CF

CF kann derzeit in der Regel nur symptomatisch behandelt werden. Hauptziele der lebenslangen supportiven Therapie sind die bestmögliche Erhaltung der Lungenfunktion, Kompensation von Funktionsstörungen anderer betroffener Organe, Erhaltung des Normalgewichts und Prävention sekundärer Probleme, wie z.B. vermehrter Auswurf, Brustschmerzen und Appetitlosigkeit (1,15,26). Das Ziel der pulmonalen Therapie ist die Infektionsbekämpfung, Kompensation der Sekret-Clearance und Entzündungshemmung (15).

Ernährungsergänzung und Antioxidantien wie Vitamin A, D, E und K, sowie Beta-Carotin werden häufig eingesetzt (27). Untergewicht soll bei CF-PatientInnen aufgrund der schlechteren Prognose vermieden werden, daher ist eine optimale Nahrungsaufnahme ein wesentlicher Bestandteil der Versorgung von CF-PatientInnen (18,27). Atemphysiotherapeutische Maßnahmen sind wichtig und dienen der Sekretmobilisation. Regelmäßige Sport- und Rehabilitationstherapien wirken ergänzend (1,18).

Glukokortikoide werden insbesondere bei Atelektasen, pulmonaler Verschlechterung und ABPA angewendet. Sie führen zur Verminderung von proinflammatorischen Faktoren, reduzieren die Bildung von Schleim und Ödemen, hemmen die Chemotaxis, sowie die Adhäsion und Aktivierung von Leukozyten und führen zu einer Verbesserung der Lungenfunktion (15). Bei ABPA erfolgt die initiale Therapie mit Hochdosis-Prednisolon mit anschließender Reduktion der Dosis und dem langsamen Ausschleichen der Steroidtherapie über einen längeren Zeitraum (1). Trotz des nachgewiesenen Nutzens systemischer und inhalativer Glukokortikoide sollten die Nebenwirkungen besonders beachtet werden, da diese überwiegen können (26). Das „CF Foundation’s Pulmonary Therapies Committee“ besagt, dass keine ausreichenden Studienergebnisse vorliegen, um Kortikosteroide in der Behandlung einer akuten Exazerbation von Lungenerkrankungen routinemäßig anzuwenden. Die CF-Leitlinien empfehlen daher keine routinemäßigen Behandlungen mit Glukokortikoiden (15,26). In seltenen Fällen ist jedoch eine langjährige, niedrigdosierte Glukokortikotherapie indiziert (1,26).

Die antibiotische Therapie bei CF-PatientInnen sollte auf Basis der nachgewiesenen Bakterien im Sputum erfolgen. Indikationen für eine antibiotische Therapie sind

Lungenfunktionsminderung, Nachweis pathogener Keime, Gewichtsverlust, sowie jeglicher Hinweis auf einen Wechsel des Keimspektrums oder Resistenzentwicklung (1,15). Die orale Therapie wird in erster Linie bei Befall mit *H. influenzae* und *S. aureus* angewendet und mit β -Laktam-Antibiotika (z.B. Flucloxacillin) durchgeführt. Infektionen mit *P. aeruginosa* werden z.B. mit Tobramycin und Aztreonam behandelt (15). Eine intravenöse Antibiotikatherapie bei Pseudomonasinfectionen der Lunge wird in Form von Kombinationen durchgeführt (z.B. β -Laktam-Antibiotika in Kombination mit Aminoglykosiden) (5,26). Die inhalative Therapie mit Antibiotika erfolgt ebenfalls mit Aminoglykosiden oder Colistin oder Aztreonam (1). Die Dosierung von Aminoglykosiden ist jedoch aufgrund der Nephrotoxizität eingeschränkt (15).

In Tabelle 1 sind die Substanzgruppen und Dosierungen empfohlener Antibiotika zur Behandlung bakterieller Infektionen bei CF-PatientInnen dargestellt:

Substanzgruppe	Substanz	Tagesdosierung (mg/kgKG)
Penicilline	Oxacillin, Flucoloxacillin	100 – 150
	Amoxicillin	40 – 80
	Amoxicillin/Clavulansäure	40 – 80
	Azlocillin	300 – 400
	Piperacillin	300 – 400
Cephalosporine	Cephalexin	100
	Cefuroxim-Axetil	(50-)100
	Ceftazidim	(200-)300
	Cefsoludin	200
Aminoglykoside	Gentamicin	10(-15)
	Tobramycin	10(-15)
	Netilmycin	10 – 15
Monobactame	Aztreonam	100 – 150
Fusidinsäure		50
Carbapeneme	Meropenem	40 – 50
	Imipenem	50
Chinolone	Ciprofloxacin	30
Tetrazykline	Doxycyclin	4
Makrolide	Clarithromycin	30
	Erythromycin	50
	Azithromycin	10 – 15
Lincosamide	Clindamycin	30 – 50
Oxazolidinone	Linezolid	20
Trimethoprim (TMP)		6 – 10 mg
Chloramphenicol		75
Colistin		2,5 – 5
Fosfomycin		150 – 300

Tabelle 1: Substanzgruppen und Dosierungen von Antibiotika (modifiziert nach Lentze 2007) (5)

1.2. DIOS

1.2.1. Inzidenz

Ein DIOS stellt bei Jugendlichen und Erwachsenen mit CF die häufigste Ursache für einen Ileus dar (31). Die Inzidenz des DIOS liegt in Europa zwischen 5 und 12 Episoden pro 1000 PatientInnen pro Jahr (32). Gehäuft tritt das Syndrom bei CF-PatientInnen im Alter von 15 - 20 Jahren (ca. 5-7,5% aller CF-PatientInnen) und von 20-25 Jahren (ca. 35% aller CF-PatientInnen) auf (11,31).

1.2.2. Pathogenese

Beim DIOS kommt es zur intestinalen Obstruktion. Die Ursachen dafür können eine Pankreasinsuffizienz, unregelmäßige Darmmotilität und Ansammlung von sekretarmem Stuhl im terminalen Ileum, Zaekum und proximalen Colon sein (2). Der visköse Darminhalt verbindet sich mit den Krypten und Zotten der Darmwand und ist nur schwer zu entfernen (2,32). Zusätzlich wurde eine Verdickung der Muscularis mucosae der Darmwand beobachtet. Dies könnte eine Folge der Motilitätsstörungen und/oder eines zähen Darminhalts sein (32). Begünstigende Faktoren scheinen neben suboptimal dosierten oralen Pankreasenzymen auch die geringe Trinkmenge bei bereits bestehender Pankreasinsuffizienz zu sein (20,32). Zusätzlich können Stuhlpassagestörungen die Entstehung eines DIOS begünstigen (20,33). Eine gestörte Gallensäureresorption könnte teilweise für die Lokalisation des DIOS verantwortlich sein, denn Gallensäuren werden im terminalen Ileum aktiv resorbiert (32,34).

1.2.3. Symptome des DIOS

Das DIOS kann in eine „akute“ und eine „chronische“ Form unterteilt werden (20). Die akute Form manifestiert sich klinisch durch fehlenden Stuhlgang, Windverhalten, geblähtes Abdomen (Meteorismus), aber auch durch kolikartige Bauchschmerzen, die häufig mit Erbrechen (seltener Erbrechen von Galle) assoziiert sind. Bei der chronischen Form treten Symptome wie kolikartige Bauchschmerzen, Obstipation, Blähungen und Appetitmangel auf (20,32,35).

1.2.4. Diagnose und Differentialdiagnosen des DIOS

In der klinischen Praxis ist das akute DIOS von den Symptomen einer Obstipation, Appendizitis oder Invagination schwer abzugrenzen, da diese sich klinisch ähnlich wie ein DIOS präsentieren können (2,5,32). Mögliche Differentialdiagnosen bei Verdacht auf DIOS sind:

- Obstipation
- Appendizitis
- Invagination
- Morbus Crohn
- Volvulus
- Fibrosierende Kolonopathie
- Malignität

Die Diagnosestellung erfolgt in der Regel durch eine Ultraschalluntersuchung (5). In den meisten Fällen ist aber die Anamnese, kombiniert mit einer klinischen Untersuchung und einer Abdomen-Leer-Aufnahme ausreichend, um die Diagnose zu stellen (2,32). Länger andauernde Symptome, ein atypisches Röntgenbild oder ein Versagen der Behandlung sollten zum Hinterfragen der Diagnose animieren (20,32). Neben der Sonographie sollte in solchen Fällen zusätzlich eine Computertomographie (CT) des Abdomens durchgeführt werden. Die Magnetresonanztomographie (MRT) wird nur selten zur Diagnosestellung verwendet (32). Künftig könnte die Magnet-Resonanz-Enterographie (MREG) eine diagnostische Alternative darstellen (36).

1.2.5. Therapie des DIOS

Nach Ausschluss eines mechanischen Ileus oder einer Invagination erfolgt bevorzugt eine konservative Behandlung mit oraler Gabe von isoosmotischen Polyethylenglykollösungen (PEG) (5,32). Da CF-PatientInnen wiederholt ein DIOS entwickeln können, kann eine kontinuierliche Gabe von PEG-Präparaten (z.B. Klean-Prep[®], Movicol[®]) die Rezidivrate vermindern (2,20). PEG kann in einer Dosis von 2g/kg/Tag (höchstens 80-100g/Tag) oder als eine fertig vorbereitete isoosmotische PEG-Lösung in einer Dosis von 20-40ml/kg/h (bis max. 1l/h über 8 Stunden)

verabreicht werden (32). Alternativ zur PEG kann in Einzelfällen eine Gabe von Gastrografin® (Natriumamidotrizoat) erfolgen (20). Dieses kann oral oder über eine Magensonde verabreicht werden. Die Dosierung für Kinder <6 Jahren beträgt 50ml Gastrografin®/Tag (aufgelöst in 200ml Wasser oder Saft). Für ältere PatientInnen wird eine Dosierung von 100ml Gastrografin®/Tag (aufgelöst in 400ml Wasser) empfohlen (32). Chirurgische Interventionen sind den schweren Formen des DIOS mit akutem Abdomen oder Fällen, in denen die konservativen Therapiemaßnahmen versagen, vorbehalten (5,32). Präventiv und bei chronischem DIOS sind die Optimierung der Pankreasenzymsubstitution, ausreichende Flüssigkeitszufuhr, ballastreiche Kost, sowie abführende Substanzen zu empfehlen (2,5).

1.3. Calprotectin

1.3.1. Definition von Calprotectin

Beim Calprotectin handelt es sich um ein Kalzium bindendes Protein, welches durch neutrophile Granulozyten, Monozyten und Makrophagen bei Entzündungsprozessen freigesetzt wird (3,37,38). Erhöhte Konzentrationen von Calprotectin reflektieren eine erhöhte Aktivität der neutrophilen Granulozyten und können in Plasma, Gelenkflüssigkeit, Urin, Liquor, Speichel, Sputum und im Stuhl nachgewiesen werden (39,40). Das Vorkommen von Calprotectin im Stuhl erklärt sich durch die Neutrophilen-Emigration im gastrointestinalen Trakt (GIT) im Verlauf einer Entzündung (39). Die Höhe der gemessenen Werte korreliert mit dem Schweregrad des entzündlichen Prozesses im Darm (38). Wenn Calprotectin nicht im Stuhl nachgewiesen werden kann, kann davon ausgegangen werden, dass keine Entzündung vorliegt (38,41). Die Untersuchung des Calprotectins wird heute zum Screening und zur Verlaufskontrolle chronisch entzündlicher Darmerkrankungen bei Kindern und Jugendlichen angewendet (41,42).

1.3.2. Klinische Bedeutung von Calprotectin

Zu den entzündlichen Veränderungen des GIT, die zu einer Erhöhung des Calprotectin-Wertes im Stuhl führen, gehören neben den chronisch entzündlichen Darmerkrankungen, wie Morbus Crohn (MC) und Colitis ulcerosa (CU), auch

infektiöse Gastroenteritiden (z.B. bakterieller oder viraler Genese), bakterielle Fehlbesiedelungen (s.u.), maligne Tumoren mit entzündlicher Komponente oder eine allergische Kolitis. Neue Untersuchungen zeigten, dass auch PatientInnen mit CF erhöhte Stuhl-Calprotectin-Werte aufweisen (1,5,18).

Calprotectin hat eine hohe Resistenz gegenüber der Proteolyse und dem bakteriellen Abbau im Kolon, weswegen es in Stuhlproben bis zu einer Woche (bei Raumtemperatur) verlässlich nachweisbar ist (39). Bereits eine Probe mit weniger als 5g Stuhl reicht aus, um eine zuverlässige Messung zu erzielen (43). Der Calprotectin-Toleranzwert ist vom Analyseverfahren abhängig (42). Es wird empfohlen, unterschiedliche Toleranzwerte für unterschiedliche PatientInnengruppen zu verwenden - bei PatientInnen mit bekannten entzündlichen Erkrankungen sollte der Toleranzwert höher liegen, während zu Screening-Zwecken eher ein niedriger Toleranzwert verwendet werden sollte (39). Konzentrationen von $<50\mu\text{g/g}$ werden als normal gewertet, $50\text{-}100\mu\text{g/g}$ gilt als schwach positiv, während Konzentrationen von über $100\mu\text{g/g}$ ein positives Ergebnis bedeuten (44,39,42).

Calprotectin stellt zwar einen wichtigen Entzündungsmarker für organische Erkrankungen dar, der Wert ist jedoch unspezifisch und nicht krankheitsspezifisch. Die Methode der Wahl zur Erfassung und Bewertung von Darmentzündungen bleibt die Endoskopie (und Histologie) (38,33,52). Diese stellt eine invasive, kostspielige und zeitaufwändige Untersuchungsmethode dar, weswegen Labormarker für Darmerkrankungen von großem Interesse sind (38,39,42). Die bisher am häufigsten verwendeten Laborparameter bei Verdacht auf Darmerkrankungen sind die Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG) und das C-reaktive Protein (CRP). Beide zeigen keine ausreichende Spezifität und Sensitivität und korrelieren nur mäßig mit Krankheitssymptomen (39,38).

1.3.2.1. Calprotectin und entzündliche Darmerkrankungen

Canani et al. haben in einer Studie mit 58 PatientInnen (Kinder und Jugendliche) gefunden, dass Calprotectin mit dem histologischen Grad der Schleimhaut-Entzündung korreliert. Calprotectin erwies sich als der beste Biomarker (mit einer Sensitivität von 94% und einer Spezifität von 64%) zur Feststellung einer aktiven Schleimhautentzündung. Dagegen konnten Entzündungsmarker wie die BSG nur eine Sensitivität von 42% und Spezifität von 68% erreichen, und das CRP eine

Sensitivität von 44% und eine Spezifität von 82% (53). Roon et al. bewerteten die diagnostische Genauigkeit des Calprotectins für entzündliche Darmerkrankungen unter Verwendung prospektiver Studien. Sie verglichen das Calprotectin mit den histologischen Diagnosen und berechneten anhand dieser eine Sensitivität von 95% und eine Spezifität von 91% (für die Diagnose der entzündlichen Darmerkrankungen gegenüber den nicht entzündlichen Darmerkrankungs-Diagnosen) (54). Calprotectin kann daher als ein spezifischer und zuverlässiger Marker angesehen werden, der zwischen einer inaktiven, leicht, mäßig und hoch aktiven Form der Darmentzündung unterscheiden kann. Eine Normalisierung der Calprotectin-Werte spricht in der Regel für eine Heilung der Darmschleimhaut (39).

1.3.3. Calprotectin und „Small intestinal bacterial overgrowth“ (SIBO)

Bei einem SIBO handelt es sich um eine bakterielle Überwucherung im Dünndarm (45). Prädisponierende Faktoren für die Entstehung eines SIBO sind Magen-Darm-Anomalien, Dünndarmstenosen, Motilitätsstörungen und Hypochlorhydrie (13,46). Zu den Symptomen gehören Diarrhoe, Meteorismus, Flatulenz, Steatorrhoe, makrozytäre Anämie und Gewichtsverlust (47). Der am häufigsten verwendete Test zur Diagnosestellung eines SIBO ist der Wasserstoffatemtest (13,48). Die Untersuchung erfolgt nach Einnahme einer Testlösung bestehend aus Glucose. Die Höhe der gemessenen Wasserstoffkonzentration ist abhängig von der Glucose-Verdauung, welche proportional zur Konzentration von intestinalen Bakterien ist (47,13). Die Spezifität und Sensitivität dieser Methode liegt bei 77-100% (45).

Montalto et al. untersuchten die Korrelation zwischen erhöhten Calprotectin-Werten und SIBO. Insgesamt wurden 40 Probanden mit einem (durch Wasserstoffatemtest) diagnostizierten SIBO und 40 gesunde Probanden untersucht. Das Ergebnis dieser Studie war, dass die Höhe der Calprotectin-Konzentration bei Probanden mit SIBO vergleichbar mit gesunden Probanden war. Diese Daten zeigen, dass bei PatientInnen mit SIBO die Calprotectin-Werte nicht automatisch erhöht sind und, dass PatientInnen mit SIBO nicht unbedingt eine begleitende Darmentzündung haben müssen (45).

1.3.4. Serum-Calprotectin bei CF-PatientInnen

Auch im Serum kann Calprotectin gemessen werden. Bei CF-PatientInnen wurden erhöhte Serum-Calprotectin-Werte und auch erhöhte Calprotectin-Werte in Sekreten des Respirationstrakts gemessen (3). Golden et al. zeigten in einer Studie, dass Kinder mit CF, die zum Zeitpunkt der Messung unter einer pulmonalen Exazerbation litten, erhöhte Calprotectin-Konzentrationen im Serum hatten. Das Serum-Calprotectin war bei CF-Kindern höher als bei gesunden Probanden (49). In der Studie von Gray et al., die an 22 PatientInnen durchgeführt wurde, konnte gezeigt werden, dass das Serum-Calprotectin nach Behandlung einer Exazerbation deutlich zurückgegangen war (40). Der Wert des Calprotectins als Serum-Biomarker wurde dank dieser Studien erkannt. Weitere Untersuchungen sind aber erforderlich, um die möglichen klinischen Auswirkungen dieser neuen Beobachtungen zu beurteilen (50).

2. Material und Methoden

2.1. Literaturrecherche

Grundlage für diese Arbeit waren ausführliche Literaturrecherchen. In der Orientierungsphase wurden Vorlesungen, Lehrbücher und Artikel im Internet (<http://www.uptodate.com/de/home>, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>) studiert. Anschließend wurden ausschließlich Publikationen der Datenbank „PubMed“ verwendet. In regelmäßigen Abständen wurde u.a. nach folgenden Schlagwörtern gesucht: cystic fibrosis and intestinal obstruction, DIOS, CF and calprotectin, DIOS and therapy.

2.2. Datenerhebung

Es handelt sich bei dieser Arbeit um eine retrospektive Aufarbeitung von Daten von PatientInnen, die an der Klinischen Abteilung für Pulmonologie und Allergologie der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde stationär waren. Gemeinsam mit den betreuenden ÄrztInnen erfolgte das Rekrutieren der PatientInnen auf Basis der Ein- und Ausschlusskriterien (s.u.). Mit Hilfe des Krankenhausinformationssystems „Medocs“ wurden klinische Daten (Geschlecht, Geburtsdatum, aktuelle Symptome, Vorerkrankungen, Aufnahmegrund, Beginn der Beschwerden, Verschlechterung des Zustandes, Ergebnisse von Voruntersuchungen, aktuelle Medikation, etc.) der PatientInnen ergänzt. Zusätzlich erfolgte die Zusammenfassung von Labordaten (pathologische Calprotectin-Werte in der Anamnese, Calprotectin-Werte bei Aufnahme und bei Entlassung). Die Messungen von Calprotectin erfolgten routinemäßig mit Hilfe eines ELISA-Kits am Institut für Medizinische und Chemische Labordiagnostik (s.u.). Die PatientInnen wurden anonymisiert (Nummerierung), sodass die Herkunft der Daten für externe Personen nicht mehr nachvollziehbar war.

2.3. PatientInnenrekrutierung

Das PatientInnenkollektiv dieser Arbeit waren alle CF-PatientInnen, die an der Klinischen Abteilung für Pulmonologie und Allergologie der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde Graz im Zeitraum von März 2011 bis September 2012

stationär behandelt wurden. Es ist hier zu erwähnen, dass an der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde auch PatientInnen im Erwachsenenalter betreut werden, da ein vergleichbares internistisches Zentrum für Erwachsene in Südostösterreich fehlt.

2.3.1. Ein- und Ausschlusskriterien

Es gab für diese Arbeit keine speziellen Ein- oder Ausschlusskriterien, PatientInnen jeder Altersklasse konnten eingeschlossen werden.

Einschlusskriterien:

- Vorliegen einer CF bei Kindern, Jugendlichen und Erwachsenen, die an der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde Graz betreut werden

Ausschlusskriterien:

- Unklare Anamnese
- Fehlendes Vorliegen von Laborwerten (wie Calprotectin)
- Rezente Operationen

2.4. Messung von Calprotectin

Ein zentraler Punkt dieser Arbeit war die Beurteilung der Calprotectin-Werte im Stuhl. An der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde war das Testverfahren für Calprotectin für PatientInnen mit gastrointestinalen Beschwerden bereits etabliert. In der Klinischen Abteilung für Pulmonologie und Allergologie wurde aufgrund von Berichten kurz vor Beginn dieser Diplomarbeit begonnen, routinemäßig Calprotectin-Werte im Stuhl bei CF-PatientInnen zu messen.

Am Beginn des stationären Aufenthaltes wurden bei allen CF-PatientInnen routinemäßig Calprotectin-Messungen durchgeführt. Die Messungen erfolgten in Zusammenarbeit mit dem Klinischen Institut für Medizinische und Chemische Labordiagnostik. Bei PatientInnen, die während der stationären Aufnahme DIOS-Symptome entwickelten, wurde die Calprotectin-Diagnostik wiederholt. Vor der

Entlassung der PatientInnen wurde versucht, die Calprotectin-Bestimmung erneut durchzuführen. Am Ende der Evaluierungsperiode wurden im Rahmen dieser Diplomarbeit die Daten retrospektiv analysiert und zusammengefasst.

2.5. Methoden zur Bestimmung von Calprotectin im Stuhl

Um die Prozedur der Stuhlgewinnung zu optimieren und zu vereinfachen, wurde der „Faecal Sample Preparation Kit (FSPK)“ („Stuhlproben-Präparations-Set“) der Firma Bühlmann Laboratories AG verwendet (siehe Abb.1). Zur Probenvorbereitung wird dabei die Stuhlprobe vorsichtig in eine Dosierkammer gedrückt und glattgestrichen. Im zweiten Schritt wird eine Hülse fest auf den Boden gedrückt und die Lasche abgerissen. Nun werden der Stopfen des Gefäßes entfernt und 4ml Extraktionspuffer (B-CAL-EX) dazu pipettiert. Das Gefäß wird anschließend mit dem Stopfen wieder gut verschlossen. Mit Hilfe eines Vibrationsmischers (z.B. Vortex) wird der Stuhl solange homogenisiert (ca. 1 Minute), bis keine größeren Partikel mehr in der Probe erkennbar sind. Im letzten Schritt wird der Überstand gesammelt und die entsprechende Verdünnung für die Quantifizierung von Calprotectin verwendet (10).

Die gewonnene Probe wird in ein neues etikettiertes Röhrchen pipettiert, fünf Minuten zentrifugiert und mittels Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA, auch als antikörperbasiertes Nachweisverfahren bezeichnet) gemessen, oder bei -20°C gelagert. Das Gefrieren der Proben gewährleistet eine Haltbarkeit für mindestens 4 Monate (51,40).

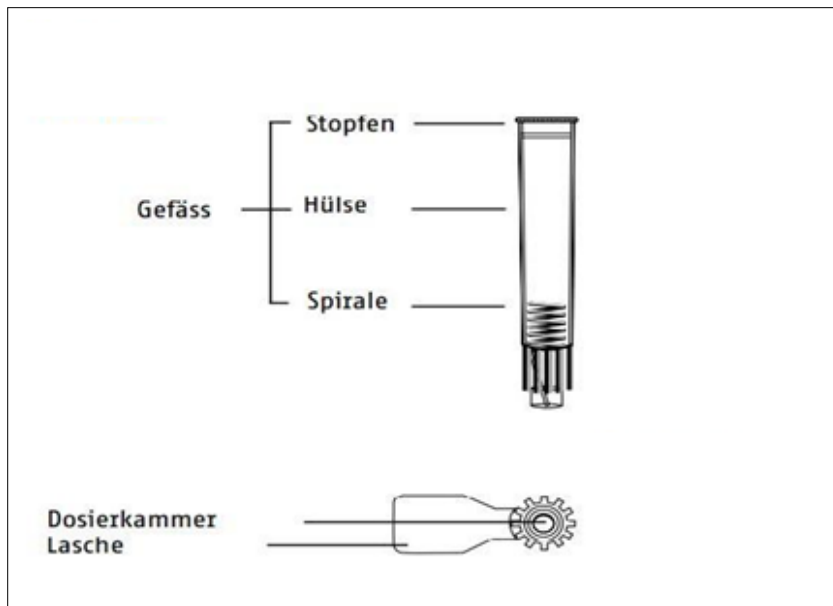


Abbildung 1: Aufbau der im Kit enthaltenen Gefäße und Böden (10)

2.5.1. Sandwich-ELISA

Bei der Sandwich-ELISA-Technik werden zwei Antikörper verwendet, die beide das nachzuweisende Antigen binden. Die Antikörper binden an unterschiedliche Stellen des Antigens, damit sie sich nicht gegenseitig blockieren. Für diese Technik braucht man Teströhrchen oder Testplatten, die mit dem Antikörper (AK) beschichtet sind, welcher sich gegen das bestimmende Antigen (AG) richtet. Nach Gabe der Probe bindet das AG an diesen AK, der Überstand wird entfernt und das Teströhrchen gewaschen. Danach wird ein zweiter AK, an den ein Enzym gekoppelt ist, gegen das AG gerichtet. Das gebundene AG bindet an den sekundären AK, womit das gekoppelte Enzym in der Lage ist, einen beigemischten Farbstoff zu aktivieren, mit Hilfe dessen die Enzymaktivität durch ein Photometer erfasst werden kann. Mittels einer Kalibrationskurve kann danach die Konzentration des nachzuweisenden Antigens bestimmt werden (40,51).

3. Ergebnisse

3.1. Charakterisierung der PatientInnen

Es wurden insgesamt 70 CF-PatientInnen an der Klinischen Abteilung für Pulmonologie und Allergologie der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde stationär aufgenommen, behandelt und schließlich in unsere Studie eingeschlossen. Von den 70 CF-PatientInnen waren 37 weiblich (52,9%) und 33 männlich (47,1%). Das Durchschnittsalter aller PatientInnen war 16,8 Jahre, das der Patientinnen 14,7 und das der Patienten 19,1 Jahre.

3.1.1. Gliederung der PatientInnen in Gruppen

Die 70 CF-PatientInnen wurden je nach ihrem Aufnahmegrund in zwei Gruppen unterteilt. Die Anzahl jener PatientInnen mit einem anderen Aufnahmegrund als DIOS war deutlich höher als die der PatientInnen mit DIOS als Aufnahmegrund. Die Abbildung 2 zeigt die Aufteilung der 70 PatientInnen in 2 Gruppen.

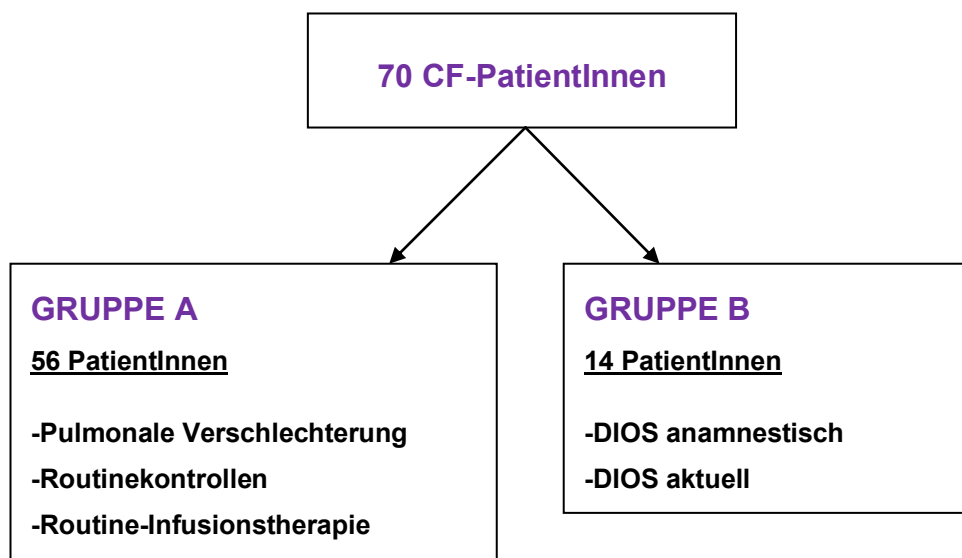


Abbildung 2: Aufteilung der 70 CF-PatientInnen

3.1.1.1. Gruppe A

Die Gruppe A umfasst alle CF-PatientInnen mit einem anderen Aufnahmegrund als DIOS (n = 56). In dieser Gruppe stand vorwiegend die pulmonale Verschlechterung als Aufnahmegrund im Vordergrund, aber auch routinemäßige Wiederaufnahmen zur intravenösen Antibiotikatherapie waren häufig. Alle Aufnahmegründe, sowie die Anzahl der PatientInnen, die sich mit einem bestimmten Aufnahmegrund präsentierten, sind in Tabelle 2 aufgelistet.

Aufnahmegrund	Patientenanzahl
Routinekontrollen	10
Geplante i.v. Antibiotikatherapie	10
Abdominelle Beschwerden (Krampfartige Bauchschmerzen und Meteorismus)	1
Blutbeimengung im Sputum	3
Pulmonale Verschlechterung	6
Zunehmender Husten	7
Rezidivierendes Erbrechen	5
Fieber, grippaler Infekt	8
Subjektives Unwohlbefinden, Müdigkeit	5
Atemnot, Kreislaufschwäche	1
GESAMT	n = 56

Tabelle 2: Aufnahmegründe von PatientInnen der Gruppe A

3.1.1.2. Gruppe B

Die restlichen 14 (von 70) CF-PatientInnen wurden der Gruppe B zugeordnet. Das ist jene Gruppe von CF-PatientInnen, die entweder primär wegen eines DIOS aufgenommen wurden, oder im Rahmen des stationären Aufenthaltes ein DIOS entwickelten. Alle Aufnahmegründe von PatientInnen der Gruppe B sind in Tabelle 3 aufgelistet.

Aufnahmegrund	Patientenanzahl
DIOS	2
Geplante i.v. Antibiotikatherapie	3
Routinekontrollen	2
Pulmonale Verschlechterung	3
Abdominelle Beschwerden (Krampfartige Bauchschmerzen, Meteorismus)	2
Subjektives Unwohlbefinden, Müdigkeit	1
Fieber, grippaler Infekt	1
GESAMT	n = 14

Tabelle 3: Aufnahmegründe von PatientInnen der Gruppe B

3.1.1.2.1. Aufteilung der DIOS-PatientInnen in Gruppe B

In der Gruppe B wurden 14 PatientInnen mit anamnestischem oder „akutem“ DIOS untersucht. Eine Aufnahme mit anschließender Diagnose eines „akuten DIOS“ hatten 2 PatientInnen. 6 PatientInnen entwickelten während des stationären Aufenthaltes ein DIOS. 6 PatientInnen hatten in der Anamnese ein DIOS (2 CF-PatientInnen im Jahr 2005, 2 im Jahr 2006, ein Patient im Jahr 2007 und eine Patientin im Jahr 2008). Von den 14 DIOS-PatientInnen waren 6 (42,9%) weiblich und 8 (57,1%) männlich. Das Durchschnittsalter aller DIOS-PatientInnen lag bei 18,9 Jahren bei den Männern und 23,7 Jahren bei den Frauen. 2 PatientInnen wiesen bei der Aufnahme krampfartige Bauchschmerzen auf und entwickelten in Folge ein DIOS. Alle

PatientInnen, die ein DIOS während des stationären Aufenthaltes entwickelten, erhielten bei Aufnahme eine Kombinationstherapie aus Antibiotika und Glukokortikoiden.

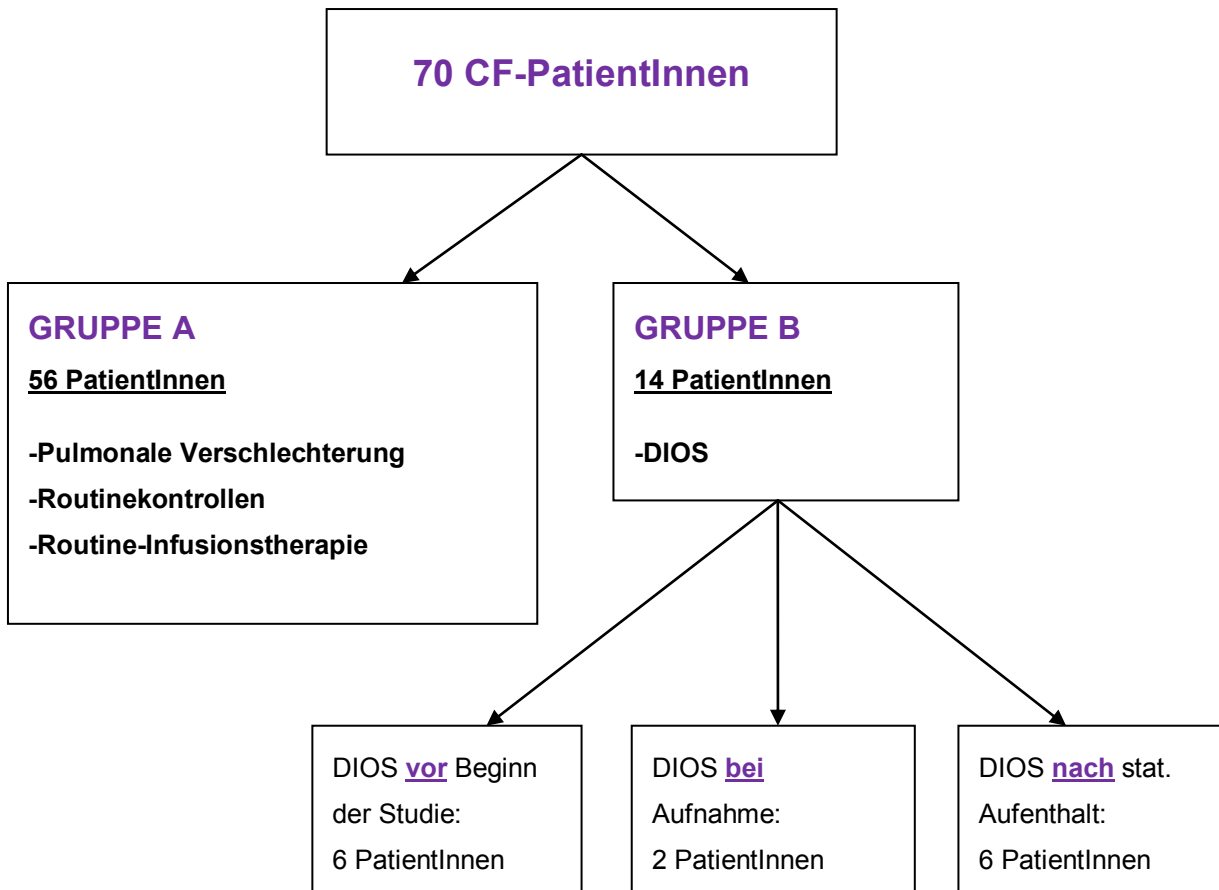


Abbildung 3: Charakterisierung der DIOS-PatientInnen

3.2. Calprotectin-Werte im Stuhl

Insgesamt wurden bei 36 von 70 CF-PatientInnen Calprotectin-Messungen durchgeführt. 26 PatientInnen fallen in die Gruppe A, 10 in die Gruppe B (siehe Kap. 3.2.2.). Bei den restlichen 34 PatientInnen wurden keine Calprotectin-Messungen erhoben.

Tabelle 4 zeigt die Häufigkeit der Calprotectin-Messungen bei den 36 PatientInnen. Insgesamt wurden 55 Messungen erhoben. Auf die Messungen in Gruppe A bzw. Gruppe B wird unten im Detail eingegangen.

Calprotectin-Messungen bei 36 PatientInnen	
PatientInnen	Messungen
Bei 22 PatientInnen 1x gemessen	22 Messungen
Bei 10 PatientInnen 2x gemessen	20 Messungen
Bei 3 PatientInnen 3x gemessen	9 Messungen
Bei 1 Patienten 4x gemessen	4 Messungen
= 36 PatientInnen	= 55 Messungen

Tabelle 4: Calprotectin-Messungen bei 36 PatientInnen

3.2.1. Häufigkeit einzelner Calprotectin-Messwerte

Abbildung 5 zeigt die Verteilung der Calprotectin-Werte und mit welcher Häufigkeit sie gemessen wurden. Das Diagramm stellt dar, wie oft die einzelnen Messwerte erhoben wurden und wie häufig die Werte gemessen wurden. Auf der x-Achse sind die einzelnen Calprotectin-Werte angeordnet. Auf der y-Achse ist die Häufigkeit bestimmter Calprotectin-Werte dargestellt (z.B. wurde der Wert <300 insgesamt 5x gemessen).

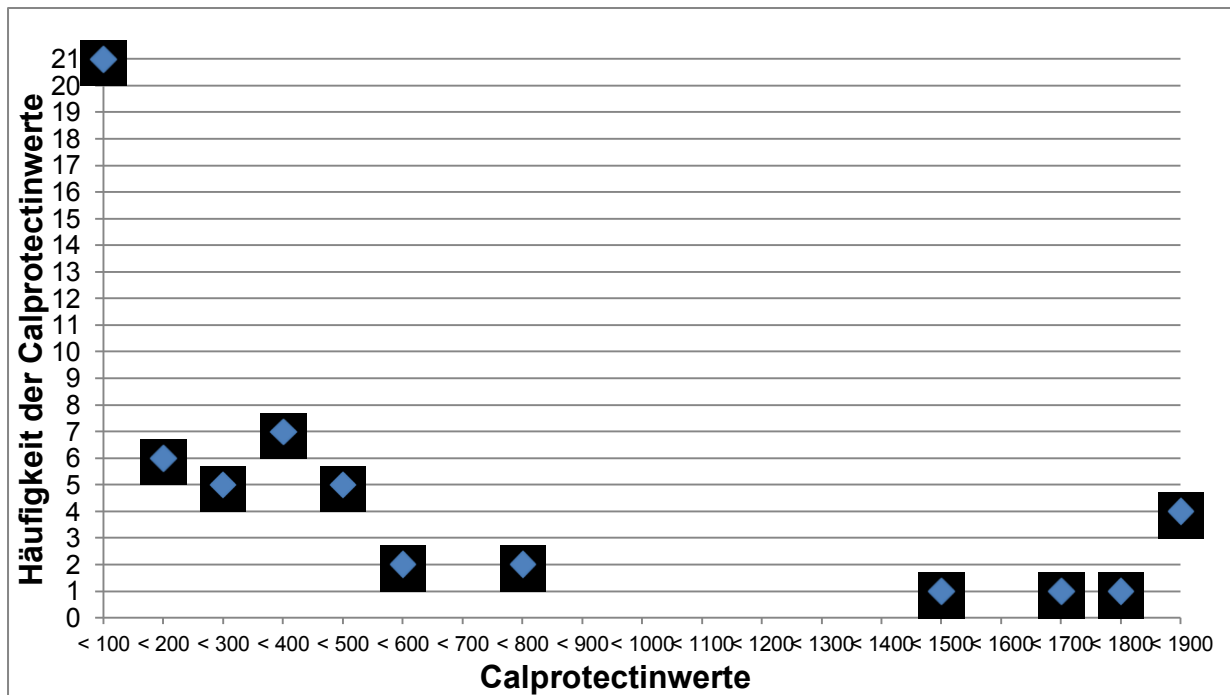


Abbildung 4: Darstellung der Häufigkeit der Calprotectin-Werte

Von den insgesamt 55 Messungen erwiesen sich 21 Messungen als nicht-pathologisch mit einem Wert von <100 µg/g, was dem Normwert entspricht. Die restlichen 34 Calprotectin-Werte waren erhöht. Die höchsten Werte betragen 1800-1900 µg/g und wurden bei 4 PatientInnen beobachtet.

3.2.2. Calprotectin-Messungen in Gruppe A

In der Tabelle 5 sind die Calprotectin-Messwerte aller 26 PatientInnen der Gruppe A aufgelistet. Einige PatientInnen wurden während der Dauer unserer Beobachtungsphase mehrmals (2-4x) stationär aufgenommen. Bei diesen PatientInnen liegen daher mehrere Calprotectin-Werte vor.

PatientIn	Alter (in Jahren)	Calprotectin-Wert bei Aufnahme (in µg/g)	Aufnahmegrund
1	9	1. Aufnahme: 285	Geplante i.v. Therapie
2	20	1. Aufnahme: 480	
3	30	1. Aufnahme: >300 2. Aufnahme: 146 3. Aufnahme: 129 4. Aufnahme: 483	
4	17	1. Aufnahme: >300	
5	26	1. Aufnahme: >300 2. Aufnahme: >1800	
6	20	1. Aufnahme: >91 2. Aufnahme: <100	Routinekontrolle
7	20	1. Aufnahme: <100	
8	18	1. Aufnahme: 781	
9	18	1. Aufnahme: <100	
10	17	1. Aufnahme: >1800 2. Aufnahme: >1800	Pulmonale Verschlechterung
11	23	1. Aufnahme: 784 2. Aufnahme: 414 3. Aufnahme: 125	
12	1	1. Aufnahme: <100	
13	7	1. Aufnahme: <100 2. Aufnahme: 416	
14	18	1. Aufnahme: <100	
15	5	1. Aufnahme: 244	Zunehmender Husten
16	7	1. Aufnahme: <100	
17	6	1. Aufnahme: <100	
18	25	1. Aufnahme: <100	Rezidivierendes Erbrechen
19	14	1. Aufnahme: <100	Fieber/grippaler Infekt
20	26	1. Aufnahme: 368	
21	42	1. Aufnahme: <100	
22	27	1. Aufnahme: <100	
23	13	1. Aufnahme: 263 2. Aufnahme: 152	Subjektives Unwohlbefinden/Müdigkeit
24	27	1. Aufnahme: <1800	
25	18	1. Aufnahme: 1627	
26	8	1 Aufnahme: <100	Blutbeimengung im Sputum

Tabelle 5: Calprotectin-Messwerte in der Gruppe A

3.2.3. Calprotectin-Messungen in Gruppe B

In der Gruppe B wurde bei 10 von 36 CF-PatientInnen Calprotectin gemessen. Alle Calprotectin-Werte, die bei Aufnahme erhoben wurden (auch jene Werte der PatientInnen, die mehrmals stationär aufgenommen wurden), sind in Tabelle 6 dargestellt.

PatientIn	Alter	Calprotectinwert bei der Aufnahme (in µg/g)	Aufnahmegrund
1	4	1. Aufnahme: >300 2. Aufnahme: <100 3. Aufnahme: <100	Geplante i.v. Therapie
2	18	1. Aufnahme: 74 2. Aufnahme: <100	
3	35	1. Aufnahme: >300	
4	23	1. Aufnahme: >300 2. Aufnahme: <100 3. Aufnahme: 506 4. Aufnahme: <100	Routinekontrolle
5	16	1. Aufnahme: <100 2. Aufnahme: 232	
6	24	1. Aufnahme: 318	Krampfartige Bauchschmerzen
7	34	1. Aufnahme: 133 2. Aufnahme: 592	
8	15	1. Aufnahme: 154	Pulmonale Verschlechterung
9	32	1. Aufnahme: 1443 2. Aufnahme: >1880	
10	13	1. Aufnahme: 413	

Tabelle 6: Calprotectin-Messwerte in der Gruppe B

3.2.3.1. Calprotectin-Werte bei PatientInnen mit akutem DIOS in der Gruppe B

Für 6 DIOS-PatientInnen, die nach dem stationären Aufenthalt ein DIOS entwickelten (siehe Abb. 3), liegen Calprotectin-Werte vor. Diese wurden vor dem Beginn der Therapie gemessen und sind in Tabelle 7 dargestellt. Bei den anderen 8

PatientInnen (2 mit DIOS bei der Aufnahme und 6 mit DIOS vor dem Studienzeitraum) liegen keine Calprotectin-Werte vor. Ebenso liegen bei den in Tabelle 7 dargestellten PatientInnen keine Vergleichswerte nach der Therapie vor.

PatientIn	Calprotectin-Wert (in µg/g) <u>vor</u> der Therapie und <u>vor</u> dem DIOS
1	<100
2	>300
3	>300
4	318
5	>1880
6	<100

Tabelle 7: Calprotectin-Werte bei DIOS-PatientInnen

4 von 6 PatientInnen zeigten vor dem Auftreten eines DIOS erhöhte Calprotectin-Werte, bei 2 PatientInnen waren die Calprotectin-Werte vor dem DIOS im Normbereich.

3.3. Glukokortikoid-/Antibiotikatherapie bei DIOS-PatientInnen

Die Therapie der DIOS-PatientInnen inkludierte Antibiotika und Glukokortikoide. Von insgesamt 6 PatientInnen, die ein DIOS nach dem stationären Aufenthalt entwickelten, wurden 3 mit dieser Kombination behandelt, zwei nur mit Antibiotika und eine DIOS-Patientin weder mit Antibiotika noch mit Glukokortikoiden (siehe Abb. 6).

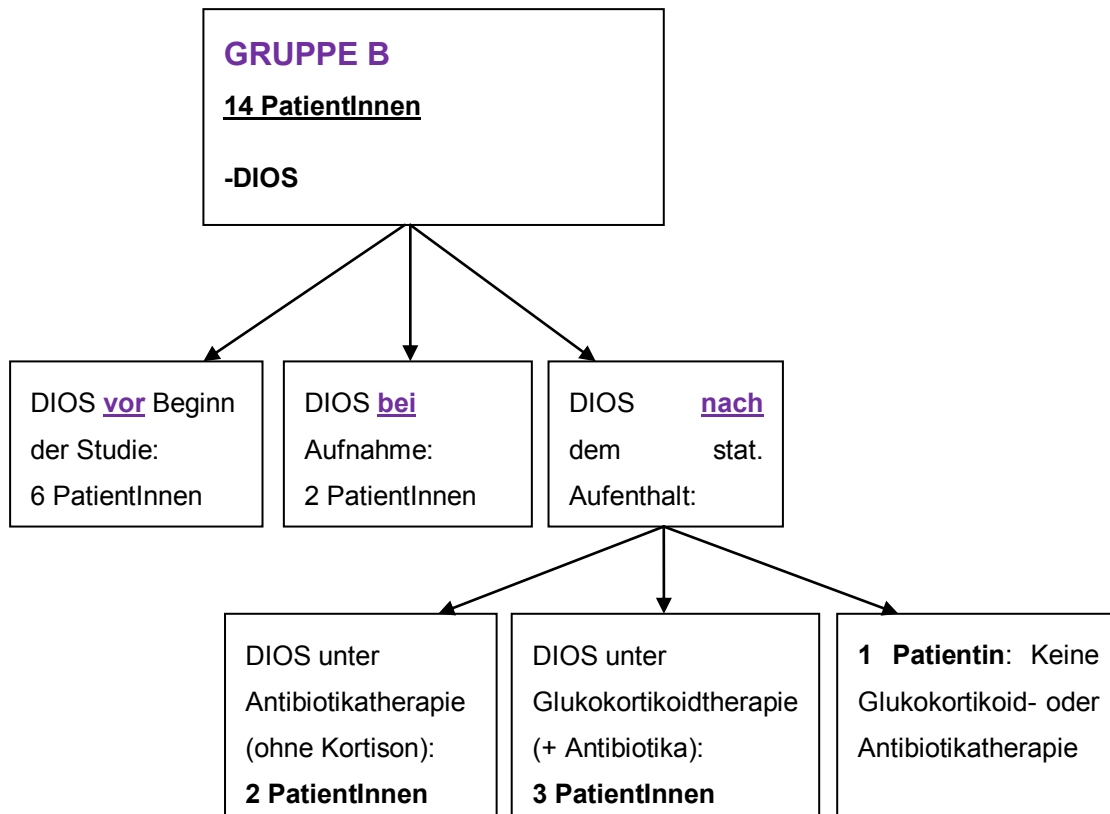


Abbildung 5: Aufteilung der CF-PatientInnen mit DIOS

Die folgende Tabelle zeigt die verwendeten Antibiotika bei jenen 5 DIOS-PatientInnen, die mit einer Kombination von Antibiotika behandelt wurden sowie die Kortisontherapie:

PatientIn	Targocid	Ceftazidim	Optinem	Tobrasix	Biklin	Kortison
1	x		x	x		x
2	x	x		x		
3	x	x		x		x
4	x		x	x		
5	x	x			x	x

Tabelle 8: Glukokortikoid- und Antibiotikatherapie bei DIOS-PatientInnen (es handelt sich teils um Handelsnamen der Antibiotika, Wirkstoffnamen siehe unten)

Bei drei PatientInnen (Nr. 1, 3 und 5 aus Tab. 8) wurde eine Kombination von drei Antibiotika und ein Kortisonpräparat verabreicht. Zwei PatientInnen (Nr. 2 und 4 aus Tab.8) wurde nur eine Kombinationstherapie aus drei Antibiotika verabreicht, (keine zusätzliche Gabe von Glukokortikoiden). Alle 5 PatientInnen entwickelten 3-8 Tage nach dieser Therapie ein DIOS.

Das Antibiotikum Targocid[®] (Teicoplanin) wurde allen PatientInnen verabreicht. Drei PatientInnen erhielten Fortum[®] (Ceftazidim), zwei Optinem[®] (Meropenem), weitere vier Tobrasix[®] (Tobramycin), ein/e erhielt Biklin[®] (Amikacin). Zusätzlich zu den Antibiotika wurde 3 PatientInnen ein Glukokortikoid verabreicht. Dabei handelte es sich um Präparate wie Aprednison[®] (Prednisolon) und Fortecortin[®] (Dexamethason).

3.3.1. Calprotectin-Mess-Werte im Vergleich: Vor und nach Therapie

PatientInnen	Calprotectin vor Therapie	Calprotectin nach Therapie	Gruppe
1	259µg/g	30µg/g	A
2	>300µg/g	176µg/g	A
3	>300µg/g	>300µg/g	A
4	>1800µg/g	586µg/g	A
5	>1800µg/g	>1800µg/g	A
6	>1800µg/g	125µg/g	B
7	368µg/g	<100µg/g	A
8	154µg/g	<100µg/g	B
9	781µg/g	<100µg/g	A

Tabelle 9: Calprotectin vor und nach der Therapie

Bei 9 PatientInnen wurde auch am Ende des stationären Aufenthaltes Calprotectin im Stuhl gemessen (Tab. 9). 2 von 9 PatientInnen gehören der Gruppe B (DIOS-PatientInnen) an. Die restlichen 7 PatientInnen fallen in die Gruppe A.

7 von 9 PatientInnen (77%) zeigten nach der Therapie eine Verringerung oder Normalisierung der Calprotectin-Werte. Zwei PatientInnen hatten trotz Therapie unveränderte Werte.

4. Diskussion

Ziel dieser Arbeit war es zu untersuchen, ob PatientInnen, die ein DIOS entwickeln, zum Zeitpunkt des Auftretens des DIOS erhöhte Calprotectin-Werte und somit einen Hinweis auf eine intestinale Darmentzündung haben. Des Weiteren wurde der Frage nachgegangen, welche Rolle die Therapie mit Glukokortikoiden und/oder Antibiotika in der Entwicklung eines DIOS haben könnte und, ob Calprotectin im Stuhl einen prädiktiven Faktor für das Auftreten eines DIOS bei CF darstellen könnte. Die Hypothese war, dass es durch eine Glukokortikoidtherapie bei akuter pulmonaler Exazerbation der CF zu einer Abheilung einer intestinalen Darmentzündung kommt. Durch die abrupte Abheilung der chronischen Colitis könnte es zu einer Veränderung der Mukosa-Zusammensetzung kommen, was wiederum ein fördernder Faktor für das DIOS sein könnte.

Es wurde bereits berichtet, dass CF-PatientInnen häufig an einer Darmentzündung leiden (20,21,31,32,43). Der Nachweis einer solchen Entzündung gelang einerseits durch erhöhte Calprotectin-Werte als indirektem Hinweis, andererseits wurden Untersuchungen mit Hilfe von Kapselendoskopien bei CF-PatientInnen durchgeführt, welche Bilder auffälliger Darmschleimhaut lieferten. KollegInnen der Klinischen Abteilung für Pulmonologie und Allergologie beobachteten, dass ein DIOS häufig einige Tage nach Therapiebeginn, wenn sich die respiratorischen Beschwerden bereits besserten, auftrat. Daraus entstand der Eindruck, dass die Therapie einer pulmonalen Exazerbation mit der Entstehung eines DIOS im Zusammenhang stehen könnte. Glukokortikoide gehören nicht zur Standardtherapie einer CF-Exazerbation, jedoch stellen Glukokortikoide die Standardtherapie bei einem Schub einer chronisch entzündlichen Darmerkrankung dar. Über die Auswirkung einer Glukokortikoid-Therapie auf die Calprotectin-Werte gibt es wenig Literatur. Zuletzt beschrieben Kolho et al. in einer prospektiven Studie an 15 Kortikoid-therapierten Kindern und Jugendlichen mit einer chronisch entzündlichen Darmerkrankung, dass sich die Calprotectin-Werte meistens - aber nicht immer - normalisierten. Bei einigen PatientInnen wurde zwar eine klinische Remission erreicht, aber die Calprotectin-Werte waren weiterhin leicht erhöht, was für eine persistierende, subklinische Darmentzündung spricht. Unsere Ergebnisse zeigen, dass ein Großteil der CF-PatientInnen erhöhte Calprotectin-Werte hat und somit unter einer subklinischen Colitis leidet. Die erhöhten Calprotectin-Werte unserer PatientInnen waren nach

Antibiotika- bzw. Glukokortikoid-Therapie in der Regel rückläufig, teilweise wurden aber auch nach Therapie erhöhte Werte beobachtet. Es stellt sich die Frage, ob erhöhte Calprotectin-Werte tatsächlich nur von Darmentzündungen stammen, oder ob es eine andere Ursache dafür geben könnte. Eine Möglichkeit wäre das Auftreten erhöhter Calprotectin-Werte im Rahmen einer bakteriellen Fehlbesiedelung im Dünndarm, welche sehr häufig bei CF-PatientInnen auftritt. Studien zu „small intestinal bacterial overgrowth“ (SIBO) zeigten jedoch, dass es keinen Zusammenhang zwischen SIBO und erhöhten Calprotectin-Werten gibt (45). Mit einer Zahl von 14 PatientInnen liegt die Frequenz der DIOS-PatientInnen, die an der Klinischen Abteilung für Pulmonologie und Allergologie in Graz im untersuchten Zeitraum behandelt wurden (20 Prozent aller in diesem Zeitraum behandelten CF PatientInnen), höher als die in anderen europäischen Zentren. Houwen et al. führten von 2001 bis 2005 eine Studie durch, an der 8 Zentren europaweit teilnahmen. Ziel dieser Studie war es unter anderem, die Inzidenz des DIOS in den verschiedenen Zentren festzustellen. Insgesamt wurde bei 39 PatientInnen ein DIOS diagnostiziert. Das Zentrum mit der höchsten Anzahl von DIOS-PatientInnen war das „Necker-Enfants-Malades“ in Paris, mit insgesamt 9 PatientInnen von insgesamt 39 CF-PatientInnen (entspricht 23 Prozent). Die Ursache(n) für den hohen Prozentsatz von DIOS-PatientInnen in Graz ist/sind derzeit noch ungeklärt.

Bei Auswertung der Daten zu unseren DIOS-PatientInnen zeigte sich, dass 5 (von 14) PatientInnen nach einer Antibiotika- und/oder Glukokortikoidtherapie ein DIOS entwickelten. Daher kann die Hypothese, dass durch die Therapie eine Darmentzündung gebessert wird und dies in weiterer Folge ein DIOS auslöst, nur zum Teil bestätigt werden. Eine größere PatientInnenzahl, eine längere Dauer der Studie, sowie die Erfassung größerer Datenmengen (mehr Calprotectin-Werte vor und nach Therapie, Zeitpunkt einer pulmonalen Exazerbation) wären notwendig, um die Hypothese eventuell zu bestätigen.

Für den Vergleich vor - nach Therapie standen Calprotectin-Werte von nur 9 (von 36) PatientInnen zur Verfügung. Bei 7 konnten wir eine Reduktion der Werte bzw. eine Tendenz in Richtung Normalisierung sehen, bei 2 PatientInnen waren die Werte nach Therapie unverändert. Aufgrund der wenigen vorliegenden Calprotectin-Messwerte, die nach Therapie gemessen wurden, konnte nicht mit Sicherheit gezeigt werden, wie die Calprotectin-Werte bei PatientInnen durch die Therapie beeinflusst werden.

Die Calprotectin-Werte waren zwar bei vielen CF-PatientInnen erhöht, es konnte aber kein für die Entwicklung eines DIOS prädiktiver Wert erkannt werden.

Eine große Zahl der PatientInnen, deren Daten in dieser Studie ausgewertet wurden, haben eine lange Krankheitsanamnese mit unterschiedlichen Begleiterkrankungen. Infolge dessen nehmen viele dieser PatientInnen regelmäßig Medikamente ein, welche die Calprotectin-Werte anscheinend nicht oder nur wenig beeinflussen.

Zusammenfassend konnte mit dieser Studie gezeigt werden, dass CF-PatientInnen erhöhte Calprotectin-Werte im Stuhl aufweisen und unter der Therapie im Rahmen eines stationären Aufenthaltes ein DIOS entwickeln können. Calprotectin-Werte sind unter Therapie zumeist rückläufig. Ergänzende Untersuchungen sind notwendig, wobei einerseits die Anzahl der untersuchten DIOS-PatientInnen größer sein muss und andererseits ein zweiter Marker für die Bestimmung einer gastrointestinalen Inflammation wünschenswert wäre. Für die Zukunft stellt sich die Frage, ob eine Darmentzündung bei CF-PatientInnen behandelt werden sollte, um die Entwicklung eines DIOS zu verhindern.

5. Literaturverzeichnis

- (1) Koletzko, Berthold (Ed.) (2004): *Kinderheilkunde und Jugendmedizin*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg (Springer-Lehrbuch).
- (2) Chaun, H (2001): Colonic disorders in adult cystic fibrosis. In *Can J Gastroenterol* 2001;15, pp.586-590
- (3) Lee, Jung M.; Leach, Steven T.; Katz, Tamarah; Day, Andrew S.; Jaffe, Adam; Ooi, Chee Y. (2012): Update of Faecal Markers of Inflammation in Children with Cystic Fibrosis. In *Mediators of Inflammation* 2012 (1, supplement), pp. 1–6. DOI: 10.1155/2012/948367.
- (4) Hartl, D.; Gaggar, A.; Bruscia, E.; Hector, A.; Marcos, V.; Jung, A. et al. (2012): Innate immunity in cystic fibrosis lung disease. In *Journal of Cystic Fibrosis* 11 (5), pp. 363–382. DOI: 10.1016/j.jcf.2012.07.003.
- (5) Lentze, Michael J. (2007): *Pädiatrie. Grundlagen und Praxis*. 3., vollständig überarbeitete und erw. Aufl. Heidelberg: Springer Medizin.
- (6) Radlovic, Nedeljko (2012): Cysticfibrosis. In *SrpArhCelokLek*140 (3-4), pp. 244–249. DOI: 10.2298/SARH1204244R
- (7) Southern, Kevin W.; Munck, Anne; Pollitt, Rodney; Travert, Georges; Zanolla, Luisa; Dankert-Roelse, Jeannette; Castellani, Carlo (2007): A survey of newborn screening for cystic fibrosis in Europe. In *Journal of Cystic Fibrosis* 6 (1), pp. 57–65. DOI: 10.1016/j.jcf.2006.05.008
- (8) Massie, R John H; Curnow, Lisette; Glazner, Judith; Armstrong, David S.; Francis, Ivan (2011): Lessons learned from 20 years of newborn screening for cystic fibrosis. In *Med J Aust*196 (1), pp. 67–70. DOI: 10.5694/mja11.10686.
- (9) Bombieri, C.; Claustres, M.; Boeck, K. de; Derichs, N.; Dodge, J.; Girodon, E. et al. (2011): Recommendations for the classification of diseases as CFTR-related disorders. In *Journal of Cystic Fibrosis* 10, pp. S86. DOI: 10.1016/S1569-1993(11)60014-3
- (10) Castellani, Carlo; Southern, Kevin W.; Brownlee, Keith; DankertRoelse, Jeannette; Duff, Alistair; Farrell, Michael et al. (2009): European best practice guidelines for cystic fibrosis neonatal screening. In *Journal of Cystic Fibrosis* 8 (3), pp. 153–173. DOI: 10.1016/j.jcf.2009.01.004.
- (11) Niesen, K.-H. (Ed.) (1999): *Pädiatrie*. Stuttgart: Georg ThiemeVerlag
- (12) Rand, Sarah; Prasad, S. Ammani (2012): Exercise as part of a cystic fibrosis therapeutic routine. In *Expert Review of Respiratory Medicine* 6 (3), pp. 341–352. DOI: 10.1586/ers.12.19.
- (13) De Lisle, R. C.; Borowitz, D. (2013): The Cystic Fibrosis Intestine. In *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine* 3 (9), pp. a009753. DOI: 10.1101/cshperspect.a009753.

- (14) Giebels, Karin; Marcotte, Jacques-Edouard; Podoba, John; Rousseau, Céline; Denis, Marie-Hélène; Fauvel, Véronique; Laberge, Sophie (2008): Prophylaxis against respiratory syncytial virus in young children with cystic fibrosis. In *Pediatr. Pulmonol.* 43 (2), pp. 169–174. DOI: 10.1002/ppul.20751.
- (15) Chmiel, J. F.; Konstan, M. W.; Elborn, J. S. (2013): Antibiotic and Anti-Inflammatory Therapies for Cystic Fibrosis. In *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine* 3 (10), pp. a009779. DOI: 10.1101/cshperspect.a009779.
- (16) Elnazir, Basil; Oni, Oluwole; Hassan, Taha; Grealley, Peter; Paes, Bosco (2012): Does prophylaxis with palivizumab reduce hospitalisation rates for respiratory-syncytial-virus-related infection in cystic fibrosis children less than 2 years of age? In *Journal of Paediatrics and Child Health* 48 (11), pp. 1033–1038, checked on 11/6/2013.
- (17) Ratjen, Felix; McColley, Susanna A. (2012): Update in Cystic Fibrosis 2011. In *Am J Respir Crit Care Med* 185 (9), pp. 933–936. DOI: 10.1164/rccm.201202-0306UP
- (18) Speer, Christian; Gahr, Manfred (2001): Pädiatrie. 2. Aufl. Berlin: Springer.
- (19) Robertson MB, Choe KA, Joseph PM. Review of the abdominal manifestations of cystic fibrosis in the adult patient. *RadioGraphics* 2006; 26:679-690
- (20) Doef, Hubert P. J.; Kokke, Freddy T. M.; Ent, Cornelis K.; Houwen, Roderick H. J. (2011): Intestinal Obstruction Syndromes in Cystic Fibrosis: Meconium Ileus, Distal Intestinal Obstruction Syndrome, and Constipation. In *Curr Gastroenterol Rep* 13 (3), pp. 265–270. DOI: 10.1007/s11894-011-0185-9.
- (21) Baral, Vijay; Connett, Gary (2008): Acute intestinal obstruction as a presentation of cystic fibrosis in infancy. In *Journal of Cystic Fibrosis* 7 (4), pp. 277–279. DOI: 10.1016/j.jcf.2007.10.005.
- (22) Sandborn, William J. (2012): The Future of Inflammatory Bowel Disease Therapy: Where Do We Go from Here? In *Dig Dis* 30 (s3), pp. 140–144. DOI: 10.1159/000342742.
- (23) Panagopoulou, Paraskevi; Fotoulaki, Maria; Tsitouridis, Ioannis; Nousia-Arvanitakis, Sanda (2007): Soft tissue inflammation: Presenting feature of Crohn's disease in a cystic fibrosis adolescent. In *Journal of Cystic Fibrosis* 6 (5), pp. 366–368. DOI: 10.1016/j.jcf.2007.01.003.
- (24) Keller, M. K.; Schröder, O.; Wagner, T. O.F.; Posselt, H. G.; Stein, J. (2005): Hohe Prävalenz von Anti-Saccharomycescervisiae Antikörpern bei Patienten mit zystischer Fibrose – eine mögliche neue pathogenetische Verbindung zwischen zystischer Fibrose und Morbus Crohn. In *Z Gastroenterol* 43 (05). DOI: 10.1055/s-2005-919921.
- (25) Condino, Adria A.; Hoffenberg, Edward J.; Accurso, Frank; Penvari, Chureeporn; Anthony, Meg; Gralla, Jane; O'Connor, Judith A. (2005): Frequency of ASCA Seropositivity in Children with Cystic Fibrosis. In *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 41 (1), pp. 23–26. DOI: 10.1097/01.mpg.0000166801.61708.60.

- (26) Flume, Patrick A.; Mogayzel, Peter J.; Robinson, Karen A.; Goss, Christopher H.; Rosenblatt, Randall L.; Kuhn, Robert J.; Marshall, Bruce C. (2009): Cystic Fibrosis Pulmonary Guidelines. In *Am J Respir Crit Care Med* 180 (9), pp. 802–808. DOI: 10.1164/rccm.200812-1845PP.
- (27) Borowitz, Drucy; Baker, Robert D.; Stallings, Virginia (2002): Consensus Report on Nutrition for Pediatric Patients With Cystic Fibrosis. In *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 35 (3), pp. 246–259. DOI: 10.1097/00005176-200209000-00004.
- (28) Pier, G. B. (2012): The challenges and promises of new therapies for cystic fibrosis. In *Journal of Experimental Medicine* 209 (7), pp. 1235–1239. DOI: 10.1084/jem.20121248.
- (29) Hebestreit, H.; Kieser, S.; Junge, S.; Ballmann, M.; Hebestreit, A.; Schindler, C. et al. (2010): Long-term effects of a partially supervised conditioning programme in cystic fibrosis. In *European Respiratory Journal* 35 (3), pp. 578–583. DOI: 10.1183/09031936.00062409.
- (30) Havermans, Trudy; Colpaert, Kristine; Boeck, Kris de; Dupont, Lieven; Abbott, Janice (2013): Pain in CF: Review of the literature. In *Journal of Cystic Fibrosis* 12 (5), pp. 423–430. DOI: 10.1016/j.jcf.2013.04.001.
- (31) Houwen, RoderickH.; vanderDoef, HubertP; Sermet, Isabelle; Munck, Anne; Hauser, Bruno; Walkowiak, Jaroslawetal. (2010): Defining DIOS and Constipation in Cystic Fibrosis With a Multicentre Study on the Incidence, Characteristics, and Treatment of DIOS. In *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 50 (1), pp. 38–42. DOI: 10.1097/MPG.0b013e3181a6e01d.
- (32) Colombo, Carla; Ellemunter, Helmut; Houwen, Roderick; Munck, Anne; Taylor, Chris; Wilschanski, Michael (2011): Guidelines for the diagnosis and management of distal intestinal obstruction syndrome in cystic fibrosis patients. In *Journal of Cystic Fibrosis* 10, pp. S24. DOI: 10.1016/S1569-1993(11)60005-2.
- (33) Shah, Neil; Tan, Hui-leng; Sebire, Neil; Suri, Ranjan; Leuven, Ku (2013): The role of endoscopy and biopsy in the management of severe gastrointestinal disease in cystic fibrosis patients. In *Pediatr Pulmonol*.48 (12), pp. 1181–1189. DOI: 10.1002/ppul.22697.
- (34) Houten, Sander M. (2006): Homing in on bile acid physiology. In *Cell Metabolism*4 (6), pp. 423–424. DOI: 10.1016/j.cmet.2006.11.006.
- (35) Smaczny, C.; Born, T.; Wagner, T.O.F. (2012): Notfälle bei erwachsenen Mukoviszidosepatienten. In *Internist* 53 (5), pp. 575–584. DOI: 10.1007/s00108-012-3019-4.
- (36) Guimarães, Luís S.; Fidler, Jeff L.; Fletcher, Joel G.; Bruining, David H.; Huprich, James E.; Siddiki, Hassan et al. (2010): Assessment of appropriateness of indications for CT enterography in younger patients. In *Inflammatory Bowel Diseases* 16 (2), pp. 226–232. DOI: 10.1002/ibd.21025.
- (37) Kapel, Nathalie; Campeotto, Florence; Kalach, Nicolas; Baldassare, Mariella; Butel, Marie-José; Dupont, Christophe (2010): Faecal Calprotectin in Term and Preterm Neonates. In *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 51 (5), pp. 542–547. DOI: 10.1097/MPG.0b013e3181e2ad72.

- (38) Burri, Emanuel; Beglinger, Christoph; Lehmann, Frank Serge (2012): Monitoring of Therapy for Inflammatory Bowel Disease. In *Digestion* 86 (s1), pp. 1–5. DOI: 10.1159/000341953.
- (39) Montalto, M.; Gallo, A.; Santoro, L.; D'Onofrio, F.; Landolfi, R.; Gasbarrini, A. (2013): Role of fecal calprotectin in gastrointestinal disorders. In *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 17 (12), pp. 1569–1582.
- (40) Gray, R. D.; Imrie, M.; Boyd, A. C.; Porteous, D.; Innes, J. A.; Greening, A. P. (2010): Sputum and serum calprotectin are useful biomarkers during CF exacerbation. In *Journal of Cystic Fibrosis* 9 (3), pp. 193–198. DOI: 10.1016/j.jcf.2010.01.005
- (41) Kostakis, Ioannis D.; Cholidou, Kyriaki G.; Vaiopoulos, Aristeidis G.; Vlachos, Ioannis S.; Perrea, Despina; Vaos, George (2013): Fecal Calprotectin in Pediatric Inflammatory Bowel Disease: A Systematic Review. In *Dig Dis Sci* 58 (2), pp. 309–319. DOI: 10.1007/s10620-012-2347-5.
- (42) Vaos, George; Kostakis, Ioannis D.; Zavras, Nick; Chatzemichael, Athanasios (2013): The Role of Calprotectin in Pediatric Disease. In *BioMed Research International* 2013 (6), pp. 1–8. DOI: 10.1155/2013/542363.
- (43) Konikoff, Michael R.; Denson, Lee A. (2006): Role of fecal calprotectin as a biomarker of intestinal inflammation in inflammatory bowel disease. In *Inflammatory Bowel Diseases* 12 (6), pp. 524–534. DOI: 10.1097/00054725-200606000-00013.
- (44) Sherwood, R. A. (2012): Faecal markers of gastrointestinal inflammation. In *Journal of Clinical Pathology* 65 (11), pp. 981–985. DOI: 10.1136/jclinpath-2012-200901.
- (45) Montalto, M.; Gallo, A.; Santoro, L.; D'Onofrio, F.; Landolfi, R.; Gasbarrini, A. (2013): Role of fecal calprotectin in gastrointestinal disorders. In *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 17 (12), pp. 1569–1582.
- (46) Schippa, Serena; Iebba, Valerio; Santangelo, Floriana; Gagliardi, Antonella; De Biase, Riccardo Valerio; Stamato, Antonella et al. (2013): Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR) Allelic Variants Relate to Shifts in Faecal Microbiota of Cystic Fibrosis Patients. In *PLoS ONE* 8 (4), pp. e61176. DOI: 10.1371/journal.pone.0061176.
- (47) Jones, Hilary F.; Davidson, Geoffrey P.; Brooks, Doug A.; Butler, Ross N. (2011): Is Small-bowel Bacterial Overgrowth an Underdiagnosed Disorder in Children With Gastrointestinal Symptoms? In *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 52 (5), pp. 632–634. DOI: 10.1097/MPG.0b013e31820d5c16.
- (48) Fundarò, C.; Fantacci, C.; Ansuini, V.; Giorgio, V.; Filoni, S.; Barbaro, F.; Gasbarrini, A.; Rossi, C. (2011): Fecal Calprotectin concentration in children affected by SIBO. In *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2011; 15 (11): 1328-1335
- (49) Golden, B. E.; Clohessy, P. A.; Russell, G.; Fagerhol, M. K. (1996): Calprotectin as a marker of inflammation in cystic fibrosis. In *Archives of Disease in Childhood* 74 (2), pp. 136–139. DOI: 10.1136/ad.74.2.136.
- (50) Shoki, Alborz Hakimi (2013): Systematic Review of Blood Biomarkers in Cystic Fibrosis Pulmonary Exacerbations. In *Chest* 144 (5), p. 1659. DOI: 10.1378/chest.13-0693.

(51) Bruzzese, E.; Raia, V.; Gaudiello, G.; Polito, G.; Buccigrossi, V.; Formicola, V.; Guarino, A. (2004): Intestinal inflammation is a frequent feature of cystic fibrosis and is reduced by probiotic administration. In *Aliment Pharmacol Ther* 20 (7), pp. 813–819. DOI: 10.1111/j.1365-2036.2004.02174.x.

(52) Werlin SL, Benuri-Silbiger I, Kerem E, Adler S, Goldin E, Zimmerman J, Malka N, Cohen L, Armoni S, Yatzkan-Israelit Y, Bergwerk A, Aviram M, Bentur L, Mussaffi H, Bjarnasson I, Wilschanski M. Evidence of Intestinal Inflammation in Cystic Fibrosis Patients. *J Pediatr Gastro Nutr*. 2010; 51(3):304-8. DOI:10.1097/MPG.0b013e3181d1b013

(53) Canani, RB.; Terrin, G.; Rapacciuolo, L.; Miele, E.; Siani, MC.; Puzone, C.; Cosenza, L.; Staiano, A.; Troncone, R. (2008): Faecal calprotectin as reliable non-invasive marker to assess the severity of mucosal inflammation in children with inflammatory bowel disease. In *Dig Liver Dis*. 2008 Jul;40(7):547-53. Epub 2008 Mar 20. DOI: 10.1016/j.dld.2008.01.017

(54) von Roon AC, Karamountzos L, Purkayastha S, et al. Diagnostic precision of fecal calprotectin for inflammatory bowel disease and colorectal malignancy. In *American Journal of Gastroenterology*. 2007;102(4):803–813. DOI: 10.1111/j.1572-0241.2007.01126.x

Anhang – Projektplan

- Mai 2012
 - Kontaktaufnahme mit dem Betreuer und Erstgespräch
 - Auswahl des Themas und Festlegung des Diplomarbeitstitels

- Juni 2012
 - Erstellung des Konzeptformulars und des Studienprotokolls
 - Wöchentliche Besprechungen mit dem Betreuer
 - Beginn mit der Literaturrecherche

- Juli – August 2012
 - Gespräche mit den MitarbeiterInnen der Klinischen Abteilung für Pulmonologie und Allergologie im Rahmen einer zweiwöchigen Famulatur
 - Detaillierte Planung der Ablaufprozesse
 - Einschluss weiterer PatientInnen und Erhebung bereits vorhandener Daten
 - Erstellung der Excel-Tabellen
 - Beginn des ersten Kapitels „Einleitung“ der Diplomarbeit

- September – November 2012
 - Weitere Datenerhebung im Rahmen einer dreiwöchigen Famulatur an der Univ.-Klinik für Kinder- und Jugendheilkunde
 - Auswertung der ersten Calprotectin-Daten
 - Ergänzung der Tabellen
 - Verfassen des Kapitels „Material und Methoden“ der Diplomarbeit

- Dezember 2012 – Jänner 2013
 - Auswertung aller anhand der Tabellen erfassten Calprotectin-Daten

- Beginn der Verfassung des ersten Teils des Kapitels „Ergebnisse“ der Diplomarbeit
 - Erstellung von ersten Diagrammen und Abbildungen
- Februar – Mai 2013
 - Änderung einzelner Kapitel der Diplomarbeit
 - Verfassen von weiteren Teilen des Kapitels „Ergebnisse“
- 20. Juni 2013
 - Präsentation der Diplomarbeit im Rahmen einer „Mariatroster Forschungsklausurtagung 2013“ (Öffentlicher Vortrag)
- Juli – November 2013
 - Verfassen der restlichen Teile der Diplomarbeit
 - Korrekturen seitens der Betreuer
- Dezember – Februar 2013
 - Fertigstellung der Diplomarbeit
- März 2014
 - Einreichen der Diplomarbeit