

**ERSTELLUNG UND ANWENDUNG EINES SPEZIFISCHEN SCORES ZUR ERFASSUNG DER
ABDOMINELLEN SYMPTOME BEI PATIENTEN MIT ZYSTISCHER FIBROSE (CF) UND
RELATION DER UNTERSUCHUNGSBEFUNDE ZU KLINISCHEN, LABORCHEMISCHEN UND
SONOGRAPHISCHEN PARAMETERN**

**DISSERTATION
ZUR ERLANGUNG DES AKADEMISCHEN GRADES**

DOCTOR MEDICINAE (DR. MED.)

**VORGELEGT DEM RAT DER MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER FRIEDRICH-SCHILLER-UNIVERSITÄT JENA**

VON HAROLD TABORI

GEBOREN AM 10.02.1988 IN LIMA, PERÚ

Gutachter

1. Prof. Dr. med. Jochen Mainz, Klinikum Brandenburg
2. Prof. Dr. med. Stefan Lüth, Klinikum Brandenburg
3. Prof. Dr. med. Uwe Schneider, Universitätsklinikum Jena

Tag der öffentlichen Verteidigung: 02.11.2020

1 Abkürzungsverzeichnis

ALT	Alanin-Aminotransferase
AP	Analprolaps
AST	Aspartat-Aminotransferase
BMI	Body-Mass-Index
CF	Cystische Fibrose, engl.: Cystic Fibrosis
CFLD	engl.: Cystic Fibrosis related Liver Disease
CFRD	engl.: Cystic Fibrosis related Diabetes
CFTR	<i>Cystic Fibrosis Transmembrane (Conductance) Regulator</i>
DIOS	Distales Intestinales Obstruktionssyndrom
GGT	γ -Glutamyltransferase
GI	Gastrointestinal
GLDH	Glutamatdehydrogenase
HRQoL	Health Related Quality of Life
LFT	Leberenzymerrhöhung, engl.: Liver Function Test
MI	Mekoniumileus
NBF1	engl.: Nucleotide Binding Fold
OGW	Oberer Grenzwert
PI	Pankreasinsuffizienz
PIP	Pankreasinsuffizienz-Prävalenz-Score
PS	Pankreassuffizienz
PsA	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
SA	<i>Staphylokokkus aureus</i>
SIBO	Dünndarmfehlbesiedlung, engl. : Small Intestine Bacterial Overgrowth
UGW	Unterer Grenzwert
VAS	Visuelle Analogskala

2 Inhaltsverzeichnis

1	Abkürzungsverzeichnis	3
2	Inhaltsverzeichnis.....	4
3	Zusammenfassung.....	6
3.1	Fragestellung und Ziele.....	6
3.2	Methodik	6
3.3	Ergebnisse.....	6
3.4	Diskussion	7
3.5	Schlussfolgerungen.....	7
4	Einleitung.....	9
4.1	Mutationsklasse.....	10
4.2	Physiologie des exokrinen Pankreas.....	11
4.3	Pathophysiologie des exokrinen Pankreas.....	12
4.4	Funktion des CFTR-Kanals auf den Cholangiozyten	13
4.5	Cystic Fibrosis Liver Disease - CFLD	14
4.6	Beteiligung des Darmtraktes bei CF Patienten.....	15
4.7	CFTR-Dysfunktion und das Spektrum der CF-assoziierten Organmanifestationen	17
4.7.1	Gastrointestinale Manifestationen	19
5	Ziel der Arbeit	20
6	Publikationen.....	21
6.1	Publikation 1	21
6.1.1	Skizzierung der 1. Publikation	21
6.1.2	Originalpublikation 1.....	21
6.2	Publikation 2	41
6.2.1	Skizzierung der 2. Publikation	41
6.2.2	Originalpublikation 2.....	41
7	Diskussion.....	50
7.1	Abdominelle Symptome und JenAbdomen-CF Score 1.0.....	50
7.2	Ultraschallbefunde und CFAbd-Score.....	55

8	Schlussfolgerungen	58
9	Literatur- und Quellenverzeichnis.....	59
10	Anhang	64
10.1	Lebenslauf.....	64
10.2	Ehrenwörtliche Erklärung	65
10.3	Danksagung.....	66

3 Zusammenfassung

3.1 Fragestellung und Ziele

Obwohl abdominelle Symptome kennzeichnend für die gastrointestinale Manifestation bei Mukoviszidose (zystische Fibrose, engl.: cystic fibrosis, CF) sind, wurden sie bisher im klinischen Alltag kaum strukturiert erfasst und im Vergleich zur Lungenpathologie liegen wenig Studiendaten vor.

Ziel der zweigliedrigen Studie ist es, die abdominellen Symptome bei CF qualitativ und quantitativ zu erfassen und die Ergebnisse mit klinischen, laborchemischen und sonographischen Parametern zu korrelieren. In diesem Rahmen soll ein standardisierter neuer Fragebogen für die klinische und wissenschaftliche Arbeit mit CF entwickelt werden.

3.2 Methodik

Initial wurde ein 5-seitiger Fragebogen (CFAbd-Score 1.0/Anfangs JenAbdomen-CF Score 1.0 genannt) mit 17 Items zu qualitativ beurteilten abdominellen Beschwerden erstellt. Hiermit wurden im ersten Studienteil 131 im Jenaer CF-Zentrum betreute Patienten aller Altersgruppen beziehungsweise auf die letzten 3 Monate befragt. Ergebnisse wurden mit anamnestisch erfassten abdominellen Manifestationen, Voroperationen, dem Ernährungszustand, der Lungenfunktion, dem *CFTR*-Genotyp und Laborbefunden, einschließlich Befunden zur Besiedlung der Atemwege mit *Pseudomonas aeruginosa* (PsA) und *Staphylokokkus aureus* (SA) und der resultierenden antibiotischen Therapie korreliert. Im anschließenden zweiten Studienteil wurden im Jenaer CF-Zentrum bei 114 CF-Patienten die Ergebnisse des auf eine 2-seitige Version weiterentwickelten Fragebogens (CFAbd-Score 2.0) mit 17 sonographischen Parametern (US-17 Score) korreliert.

3.3 Ergebnisse

Alle CF-Patienten wiesen in den vorhergehenden drei Monaten Symptome auf, die im Zusammenhang mit der abdominellen Beteiligung stehen können. Am häufigsten waren Appetitlosigkeit (130/131), Geschmacksminderung (119/131), Bauchschmerzen (104/131), Blähungen (102/131) und Völlegefühl (83/131). Statistisch signifikant waren folgende Ereignisse in der Anamnese mit ausgeprägteren abdominellen Symptomen assoziiert: Analprolapse (AP; $p=0,013$), distales intestinales Obstruktionssyndrom (DIOS; $p=0,013$), Laparotomie ($p=0,022$), Mekoniumileus (MI; $p=0,037$), Pankreasinsuffizienz (PI; $p=0,042$), Dünndarmresektion ($p=0,048$), ein „schwerer“ *CFTR*-Genotyp ($p=0,09$) und eine

intermittierende PsA-Besiedlung ($p=0,006$). Im Gegensatz fand sich keine signifikante Assoziation von abdominellen Beschwerden zum Vorliegen einer CF-Lebererkrankung, eines CF-assoziierten Diabetes, einer Leberenzymerrhöhung, einer chronischen PsA- bzw. SA-Besiedlung, der Lungenfunktion und des Ernährungszustandes. Ein Hauptergebnis des zweiten Studienteils ist, dass Patienten mit der häufig sonographisch diagnostizierten Pankreaslipomatose (88%) deutlich mehr abdominelle Beschwerden und somit einen höheren Score aufwiesen.

3.4 Diskussion

Unsere strukturierte retrospektive Analyse der abdominellen Symptome bei CF bringt relevante neue Erkenntnisse und bestätigt bisher nicht ausreichend untersuchte aber erwartete Zusammenhänge. Patienten, die in der Vorgeschichte typische Komplikationen wie einen MI, DIOS oder AP erlitten und Patienten mit PI sowie mit sonographisch diagnostizierter Pankreaslipomatose weisen im Verlauf häufiger abdominelle Symptome auf. Dieses Ergebnis bestätigt, dass die gastrointestinale Symptomatik mit einem schwereren Verlauf der Erkrankung einhergeht. Eine exokrine Pankreassuffizienz (PS), ein milder *CFTR*-Genotyp bzw. Trägerschaft einer G551D Mutation sind dagegen mit weniger Symptomen assoziiert. Allerdings erhielten 10/17 (59%) Patienten mit einer G551D Mutation im Befragungszeitraum eine Therapie mit dem neuerdings zur Verfügung stehenden *CFTR*-Modulator Ivacaftor, so dass mögliche Therapieeffekte hier nicht von primären Einflüssen der Mutation differenziert werden können.

Interessanterweise fanden wir bezüglich der abdominellen Beschwerden im CFAbd-Score keine Unterschiede zwischen Lebergesunden und Patienten mit CFLD oder CFLD-induzierter Zirrhose. Eine stabile CF assoziierte Lebererkrankung (CF-liver disease/CFLD) ist demnach wegen ihres langfristig asymptomatischen Verlaufs kaum mit abdominellen Beschwerden assoziiert.

3.5 Schlussfolgerungen

Der neue Fragebogen ermöglicht die strukturierte Erfassung der abdominellen Beteiligung bei CF-Patienten. Er kann zur klinischen Betreuung und als wissenschaftliches Werkzeug, auch für die Erfassung von Änderungen der Symptomatik unter neuen Therapieoptionen eingesetzt werden. Mit Veröffentlichung der beiden ersten Publikationen dieses Studienprojektes kamen zahlreiche nationale und internationale Anfragen zur Nutzung des Scores in klinischen

Studien, so dass der validierte Fragebogen aktuell ins Englische, Französische, Spanische, Portugiesische, Italienische, Dänische, Schwedische und Flämische/Niederländische übersetzt wurde und nun international eingesetzt wird.

4 Einleitung

CF ist mit einer Inzidenz von 1:2000 bis 1:3500 die häufigste lebensbegrenzende angeborene Stoffwechselerkrankungen in der europäischen Bevölkerung. Die autosomal-rezessiv vererbte Mutation befindet sich auf dem langen Arm des Chromosoms 7. Aktuell sind über 2.000 verschiedene Genmutationen bekannt, von denen etwa 200 als krankheitsauslösend identifiziert wurden. Die *CFTR* (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator) Mutation deltaF508 ist weltweit am häufigsten nachweisbar. Es handelt sich um eine drei Basenpaare umfassende in-frame-Deletion im Exon 10, welche den Verlust der 508. Aminosäure, Phenylalanin (F) verursacht (Ratjen and Doring 2003). Sie betrifft 86,5% aller CF-Patienten (annual data Report 2012 USA) und in Deutschland kommt sie zu 47% in homozygoter Form vor (Sens and Stern 2012).

Das *CFTR* Gen kodiert für das *CFTR*-Chlorid-Kanal Protein, welches am aktiven Transport von Chlorid- und Bicarbonationen durch die Zellmembran von Epithelzellen und sezernierenden Zellen exokriner Drüsen beteiligt ist. Der CFTR ist somit wichtiger Regulator der respiratorischen und gastrointestinalen mukoziliären Clearance sowie der Alkalisierung des magensauren Chymus im Dünndarm (Ratjen 2006) (Abb. 1).

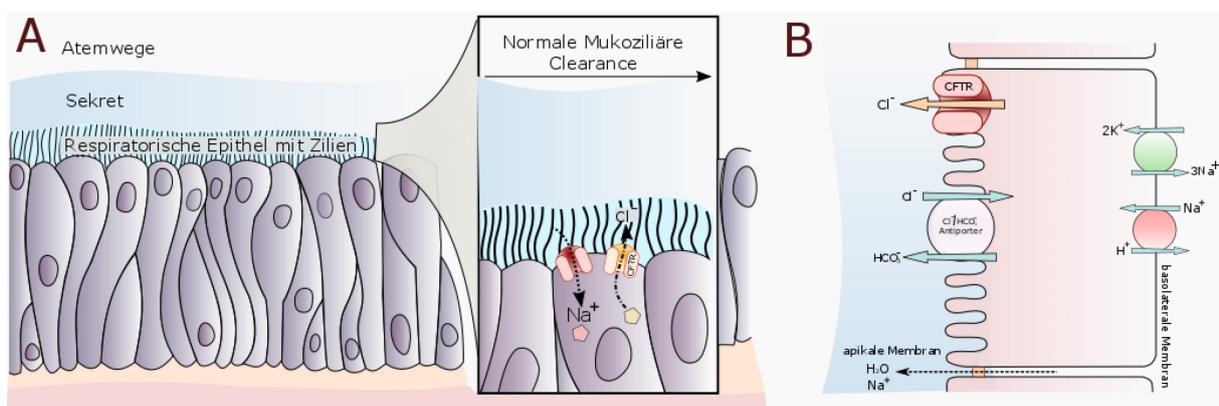


Abbildung 1. Schematische Darstellung des normalen Ionentransports (A) in den Lungenepithelien und (B) in den Azinuszellen und Ausführungsgängen des Pankreas, der Hepatozyten, Gallenblase, Gallenwege und des Dünn- und Dickdarmepithels. Adaptiert nach Ratjen, F., NEJM, 2006. Illustration: H. Tabori

4.1 Mutationsklasse

Fünf bzw. sechs verschiedene Mechanismen/Mutationsklassen werden heute modellhaft aufgeführt, um den Einfluss von verschiedenen *CFTR*-Mutationen auf den Chlorid-Transport durch die Epithelzellen zu kategorisieren (Abb. 2):

Klasse I: Hierzu zählen die Mutationen, die zu einer fehlerhaften Synthese der mRNA (messenger-Ribonukleinsäure) führen. Durch „Nonsense“- , „Splice-Site“- und „Frameshift“- Mutationen entsteht funktionslose mRNA und somit wird kein CFTR-Protein gebildet (Beispiel: R553X).

Klasse II: In dieser Klasse ist der Ausreifungsprozess des CFTR-Proteins beeinträchtigt; es kommt es zur Fehlfaltung des Proteins, das im endoplasmatischen Retikulum ausgesondert und im Proteosom abgebaut wird (Beispiel: deltaF508).

Klasse III: Mutationen dieser Klasse produzieren vollständig ausgereifte CFTR-Proteine, welche zwar an die Plasmamembran gelangen, aber einen nicht bzw. schlecht aktivierbaren CFTR-Kanal darstellen. Durch diese Mutation werden ATP-Bindungsstellen und in der R-Domäne Phosphorylierungsstellen zerstört, was einen teilweisen bis kompletten Verlust der Kanal-Aktivierung durch ATP zur Folge hat. Zur Klasse III gehört die Mutation G551D, die in Deutschland durch den zugelassenem CFTR-Potentiator Ivacaftor (Kalydeco®) erfolgreich behandelt werden kann.

Klasse IV: Bei diesen Mutationen ist der Chloridionen-Durchfluss beeinträchtigt (Beispiel: R347P).

Klasse V: Mutationen dieser Klasse führen durch alternatives Spleißen zum Funktionsverlust der *CFTR*-Proteine (Beispiel: 3849 + 10 kb C->T in Intron 19).

Klasse VI: Bei diesen Mutationen ist die Halbwertszeit von CFTR erniedrigt . Durch einen Aminosäuretausch im Protein sitzt der CFTR-Kanal instabil in der Zellmembran und wird vorzeitig abgebaut (Beispiel: 4326delTC) (Rowe, Miller et al. 2005, Tummler 2013).

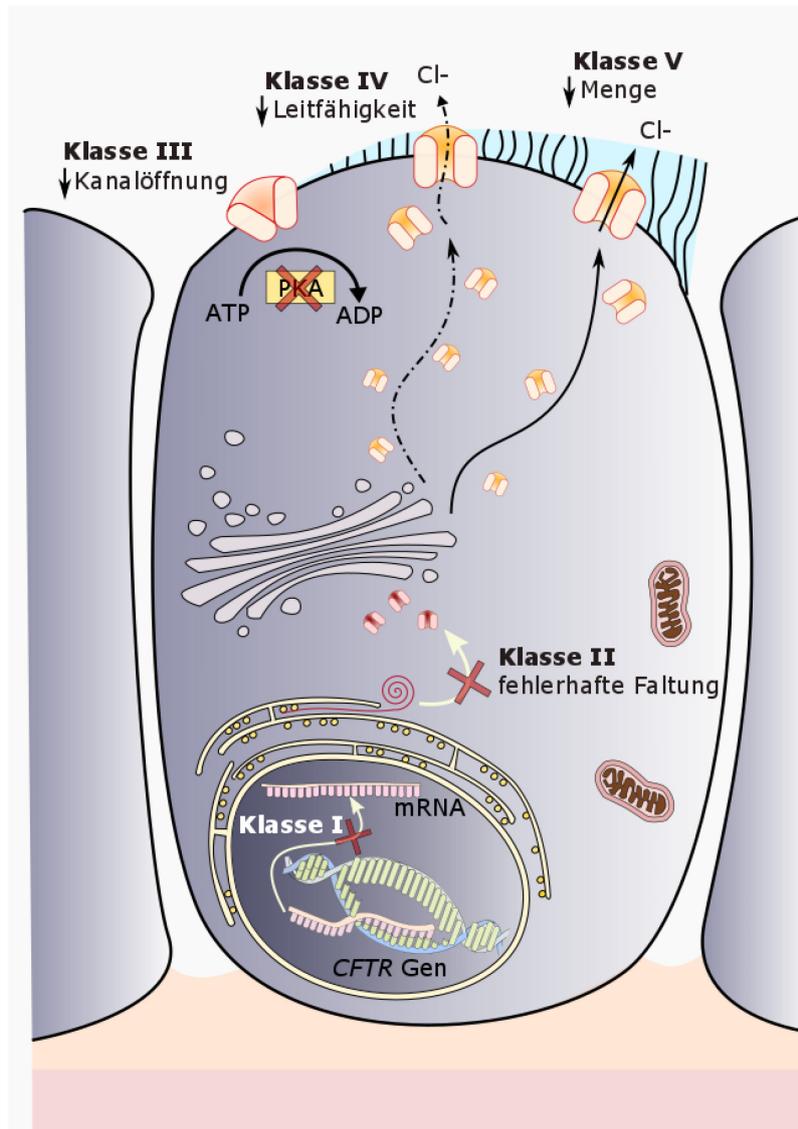


Abbildung 2: Schematische Darstellung der Mutationsklassen des *CFTR*-Gens. Je nach Art der *CFTR*-Mutation kommt es zu verschiedenen Beeinträchtigungen der CFTR-Proteinfunktion. Adaptiert nach Rowe et al., NEJM, 2005. Illustration: H. Tabori (publiziert in Expert Rev Respir Med 2016; 12:1-10)

4.2 Physiologie des exokrinen Pankreas

Gesteuert wird die Pankreassekretion durch die Hormone Sekretin, Cholezystokinin und durch Vagusaktivierung. Cholezystokinin wird in I-Zellen des Duodenums und des proximalen Jejunums produziert. Als Stimuli dienen die Anwesenheit von Nahrungsbestandteilen wie Lipiden, Aminosäuren und Peptiden. Das Hormon Sekretin wird in den S-Zellen des Duodenums gebildet (St-Pierre and Broglio 2010). Der Sekretinstimulus ist ein durch den Übertritt von Magensäure verursachter niedriger pH-Wert des Chymus im Duodenum. Die

Produktion von Verdauungsenzymen wird durch Cholezystokinin in den Azinuszellen angeregt, wobei die proteolytischen Enzyme (Endo- und Exopeptidasen) überwiegen. Letztere müssen erst aus inaktiven Vorstufen aktiviert werden. Dies erfolgt im Dünndarm durch ein Bürstensaumenzym der Duodenalschleimhaut, die Enterokinase. Das hierdurch aktivierte Trypsin aktiviert autokatalytisch Trypsinogen und andere Proteasen. Umgekehrt hemmen Trypsininhibitoren des Pankreassaftes (α_2 -Makroglobulin, α_1 -Antitrypsin, „pancreatic secretory trypsin inhibitor“) als zusätzliche Sicherung die Wirkung von Trypsin und wirken damit einer Autodigestion des Gewebes entgegen (Berg, Tymoczko et al. 2013).

Die Bikarbonat-Sekretion in den dukталen Zellen hängt von der Aktivität der Na^+/K^+ -ATPase und des Na^+/H^+ Austauschers in der basolateralen Membran ab. Letzterer treibt einen luminalen $\text{HCO}_3^-/\text{Cl}^-$ -Antiporter an, über den Cl^- -Ionen wieder in die Zellen gelangen, die über einen CFTR-Chlorid-Kanal zur Rezirkulation bereitgestellt werden. Wasser und Natrium folgen passiv auf parazellulärem Weg ins Lumen, wodurch das ins Duodenum abgegebene Sekret isotonisch bleibt, sodass größere Volumina eines alkalischen, muzinreichen Sekrets ins Duodenum abgegeben werden. Hierdurch wird eine Neutralisierung des sauren Chymus erreicht und ein pH-Optimum für die Pankreasenzyme geschaffen (Vaupel 2011).

4.3 Pathophysiologie des exokrinen Pankreas

Ein Defekt des CFTR- Cl^- -Kanals führt bei Patienten mit zystischer Fibrose zu einer Beeinträchtigung der Sekretionsleistung des Pankreas. Hierdurch kommt es zu einer gestörten Bikarbonatsekretion in das Lumen der Azini, gefolgt von einer Präzipitation des Pankreassekretes, was zu einer Obstruktion des Ausführungsganges und weiterhin zur fibrotischen Umwandlung des exokrinen Pankreas und im Verlauf durch Zerstörung der endokrinen Inseln häufig zu einem CF-Diabetes mellitus führt (Stern 2013) (Abb. 3).

Die Fettverdauung muss gewährleisten, dass Fett gespalten und im wässrigen Milieu resorbiert werden kann. Erreicht wird dies einerseits durch fettspaltende Enzyme und andererseits durch Gallensalze. Durch fehlende fettspaltende Enzyme (v.a. Lipase) wird die Aufnahme von Fett, Eiweiß, Kohlenhydraten und der Vitamine A, E, K, D und B 12 bei einem Teil der CF-Patienten beeinträchtigt. Dadurch kommt es häufig zu einem Mangel der fettlöslichen Vitamine, die durch die Einführung einer Enzymsubstitution mit verbesserter Digestion zumindest teilweise kompensiert werden kann (Koletzko 2001).

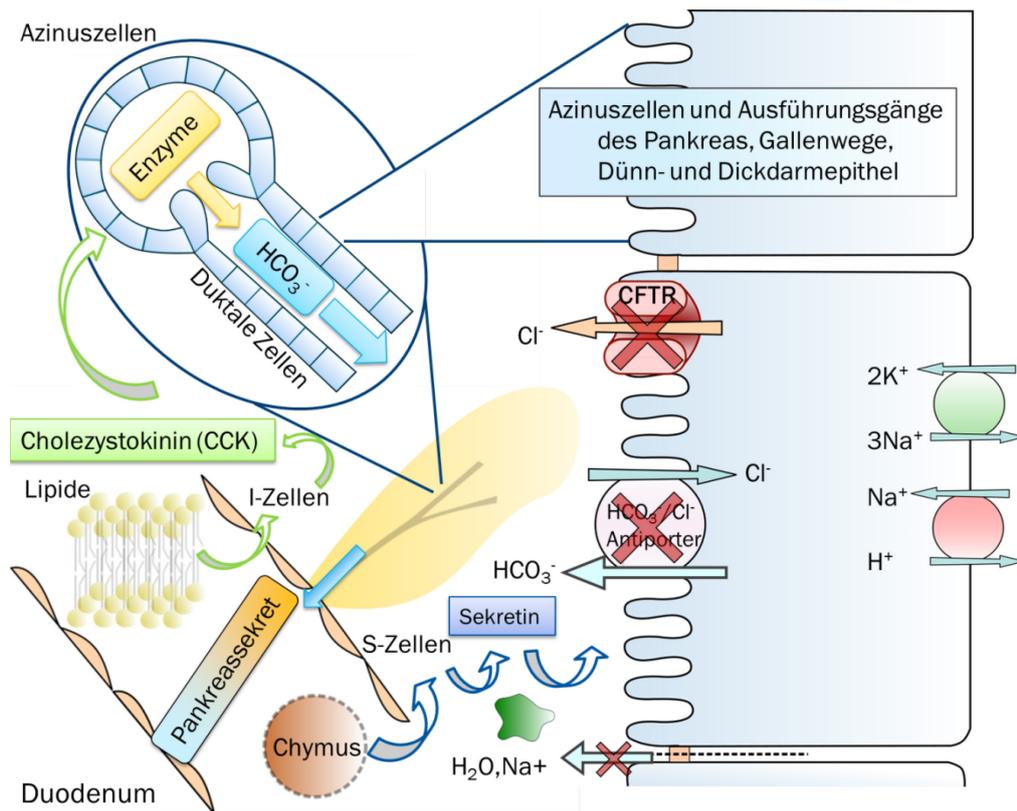


Abbildung 3. Klassisches Modell der gestörten Elektrolyttransporte der exokrinen Drüsen des Verdauungstrakts bei CF. Illustration: H. Tabori (publiziert in Poster 39th European Cystic Fibrosis Conference, Basel / Journal of Cystic Fibrosis 2016; 15(1): S92)

4.4 Funktion des CFTR-Kanals auf den Cholangiozyten

Ähnlich wie in den Pankreasgangepithelien wird der CFTR-Kanal auf der apikalen Membran der Cholangiozyten exprimiert. Unter dem Einfluss von Sekretin wird eine HCO_3^- -reiche Flüssigkeit sezerniert, wodurch Gallengangepithelien erheblich zur Alkalisierung der Galle beitragen. Im Vergleich zu den Hepatozyten beträgt das von den Gangepithelien produzierte Gallenvolumen 125-150 ml/Tag (ca. 20% der gesamten Galle). Ein Teil der vorhandenen Gallensäure rezirkuliert mehrfach durch den Darm und die Leber (enterohepatischer Kreislauf) (Vaupel 2011).

Ein kleiner Anteil von $\leq 10\%$ der Gallensäuren gelangt über einen Na^+ -Symport (*apical sodium bile acid transporter* [ASBT]) aus den Gallenkanälchen in die Nieren zur Ausscheidung und führt zur Gelbfärbung des Urins. Der Rest wird mit dem Stuhl eliminiert und ist für dessen im Gesunden meist gelbbraune Farbe verantwortlich (Schaap, Trauner et al. 2014) (Abb. 4).

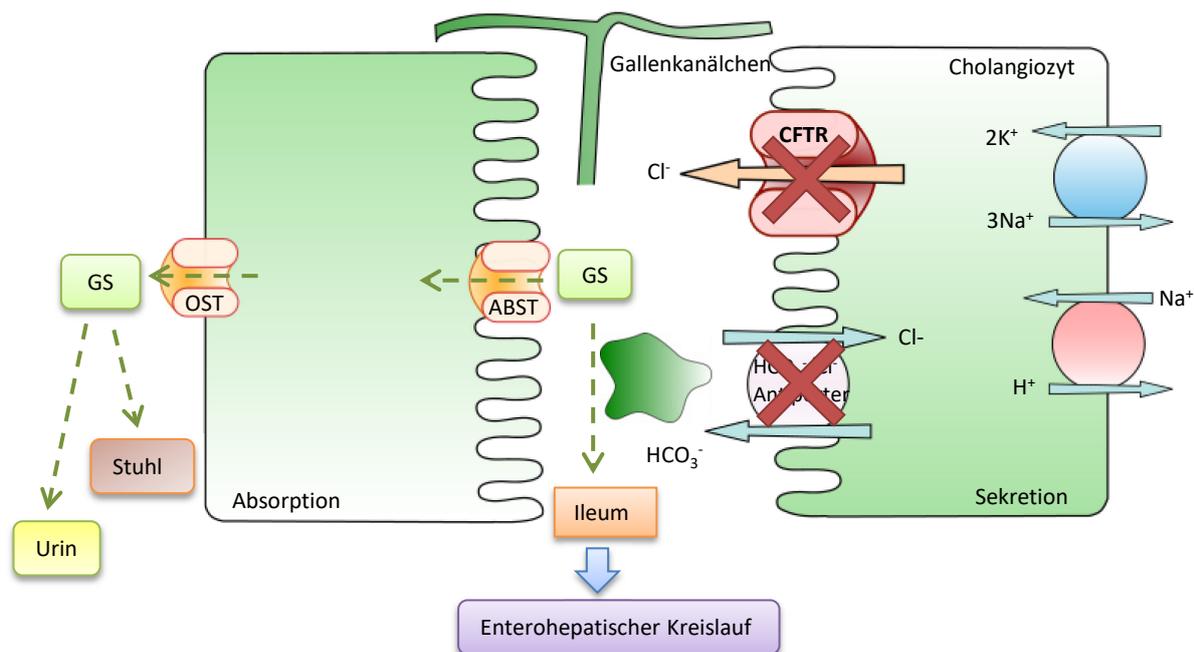


Abbildung 4. CFTR-Dysfunktion in den Gallenkanälchen

(CFTR=Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator, ASBT: apical sodium bile acid transporter, OST: organic solute transporter, GS: Gallensäuren). Adaptiert nach Schaap et al., Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2014. Illustration: H. Tabori

4.5 Cystic Fibrosis Liver Disease - CFLD

Aus der Funktionsstörung des CFTR-Ionenkanals resultiert eine mangelhafte Hydratisierung des Gallensekrets im Gallengangsepithel, wodurch es zu progredienter Obstruktion der Gallengänge mit Cholestase und sekundär zu lokaler Zellschädigung kommt, welche bis hin zu einer fokalen biliären Zirrhose (herdförmige Leberzirrhose) und im Verlauf bei einem Teil der CF-Patienten zu einer multilobulären Zirrhose führen kann (Colombo 2007). Der Wirkmechanismus einer Verlaufsform (fokale biliäre Zirrhose / multilobuläre Zirrhose) ist bei CF-Patienten noch unklar. Bei Patienten mit fortgeschrittener Leberzirrhose ist eine Lebertransplantation indiziert. Zur Besserung der Cholestasezeichen kommt die orale Therapie mit Ursodeoxycholsäure (UDC) zum Einsatz. Diese soll sowohl die sekretorische Leistung der Gallenflüssigkeit als auch der enterohepatische Kreislauf optimieren (Stern 2013).

Unter dieser Berücksichtigung etablierten sich deshalb weitgehend die CFLD-Diagnosekriterien von Colombo et al. (2002), wobei eine CFLD demnach vorliegt, wenn mindestens zwei der folgenden Kriterien zutreffen (Debray, Kelly et al. 2011):

- 1) sonographisch nachgewiesene „altersbezogene“ Hepatomegalie und/oder Splenomegalie und/oder,
- 2) 1,5 über dem oberen Grenzwert (OGW) der Leberparameter im Serum (ASAT, ALAT, GGT) bei zwei aufeinander folgenden Untersuchungen binnen eines Jahres unter Ausschluss von anderen Leberkrankheiten und/oder
- 3) weitere sonographische Veränderungen wie z.B. erhöhte oder heterogene Echogenität der Leber, unregelmäßige Lebergrenzen, eine knotige Leberstruktur, ein portaler Bluthochdruck, große Kollateralvenen, Aszitis oder auffällige Gallenwege.

Bei der Nutzung der Richtlinien nach Debray treten bei 22,6 % der CF Patienten eine CFLD auf. Nach der kardiopulmonale Probleme ist die CF-assoziierte Lebererkrankung (CFLD) die zweithäufigste Todesursache bei CF-Patienten (Colombo, Battezzati et al. 2002, Efrati, Barak et al. 2003). Von den insgesamt 63 im Jahr 2012 verstorbenen CF-Patienten in Deutschland war hepato-intestinale Probleme bei 9,5% die häufigste nicht-pulmonale Todesursache (Sens and Stern 2012).

4.6 Beteiligung des Darmtraktes bei CF Patienten

Die Becherzellen der Zotten, die Brunner-Drüsen des Duodenums und die Hauptzellen der Dünndarmkrypten produzieren ein muzin- und bikarbonatreiches, alkalisches Sekret, das das Epithel gelartig (engl.: *unstirred layer*) überzieht. Die $\text{HCO}_3^-/\text{Cl}^-$ -Sekretion ins Lumen erfolgt, wie im Pankreasgangepithel und den Gallenwegen über einen $\text{HCO}_3^-/\text{Cl}^-$ -Austauscher, der über einen Na^+/H^+ -Antiporter von der Na^+/K^+ -ATPase in der basolateralen Membran angetrieben wird, über den Cl^- -Ionen dabei durch apikale cAMP-abhängige CFTR-Kanäle wieder in die Zellen gelangen. Na^+ folgt passiv auf parazellulärem Weg, Wasser parazellulär über die Schlussleisten und transzellulär durch Aquaporine (Abb. 5). Die Dickdarmmukosa produziert normalerweise nur kleinere Volumina einer plasmatisotonen, Muzin-, HCO_3^- - und K^+ -reichen, alkalischen Flüssigkeit (Vaupel 2011). Die Sekretionsmechanismen des Darmepithels unterscheiden sich nicht wesentlich von denen anderer Epithelien. Die Dysfunktion des CFTR-Kanals auf der Darmschleimhaut führt zur Ansammlung von zähem Sekret, das im Dünndarm zu gastrointestinalen Komplikationen wie einem MI oder DIOS beiträgt (Stern 2013).

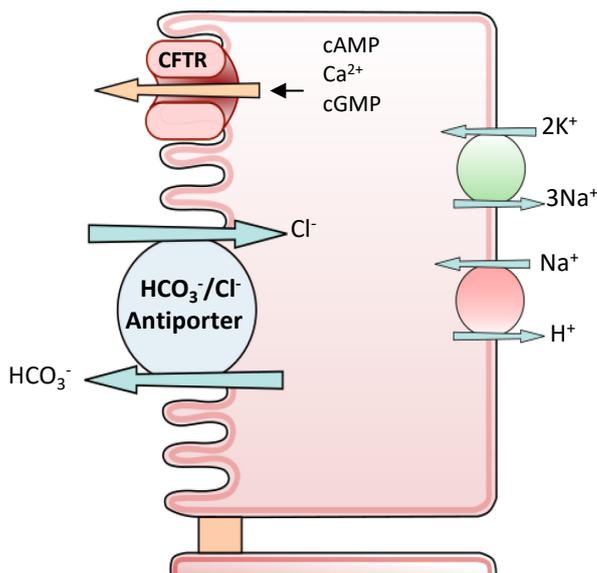


Abbildung 5: Die Becherzellen der Zotten, Lieberkühn-Krypten, Brunner-Drüsen des Duodenums, Hauptzellen der Dünndarmkrypten. Adaptiert nach Vaupel (2011), Funktionen des Magen-Darm-Trakts. In: R. F. Schmidt, F. Lang and M. Heckmann. Physiologie des Menschen: mit Pathophysiologie. Illustration: H. Tabori

Als weitere Folge wird vor allem eine Dysbiose (z.B. eine Reduktion von *Bacteroides* spp. Besiedlung) sowie eine Inflammation der Darmschleimhaut verursacht. Veränderte Immunantwort, lange postprandiale Azidität, beeinträchtigte Peristaltik, reduzierte Fluidität mit veränderter Elektrolytzusammensetzung führen zur exzessiven Mukusbildung und –akkumulation, was die Grundlage für abnormales Bakterienwachstum im Dünndarm ist (SIBO) (Munck 2014). Dies führt gleichzeitig zu einer Freisetzung von inflammatorischen Mediatoren wie Calprotektin, das sich in den Epithelzellen des Darms befindet und setzt als Folge einer Aktivierung von inflammatorischen Molekülen aus Makrophagen wirkenden Zytokinen wie Interleukin 1 (IL-1) oder durch die Interaktion mit Lipopolysacchariden (LPS) bei allen gramnegativen Bakterien frei. Diese können ihrerseits in hoher Konzentration zu Darmschäden führen, die langfristig eine Darmverdickung im Colon verursachen kann. Eine erhöhte Permeabilität im Darm führt dann zu einer bakteriellen Translokation und zur Aufnahme von PAMP's (Pathogen Associated Molecular Pattern), welche dann durch Immunprozesse zu einer Inflammation in der Leber und zu einem reaktiven fibrotischen Umbau führen. Dies trägt zur systemischen Inflammation bei, die durch verschlucktes Sputum

aus den Lungen in den Darmtrakt getragen wird, ein Circulus vitiosus der chronischen Entzündung (Adriaanse, van der Sande et al. 2015) (Abb. 6).

Ein anderer beitragender Faktor für die Entstehung einer Dysbiose ist die regelmäßige Einnahme von Breitbandantibiotika, da sie eine Reduktion von physiologischen anaeroben Bakterien verursachen (Uusijarvi, Bergstrom et al. 2014).

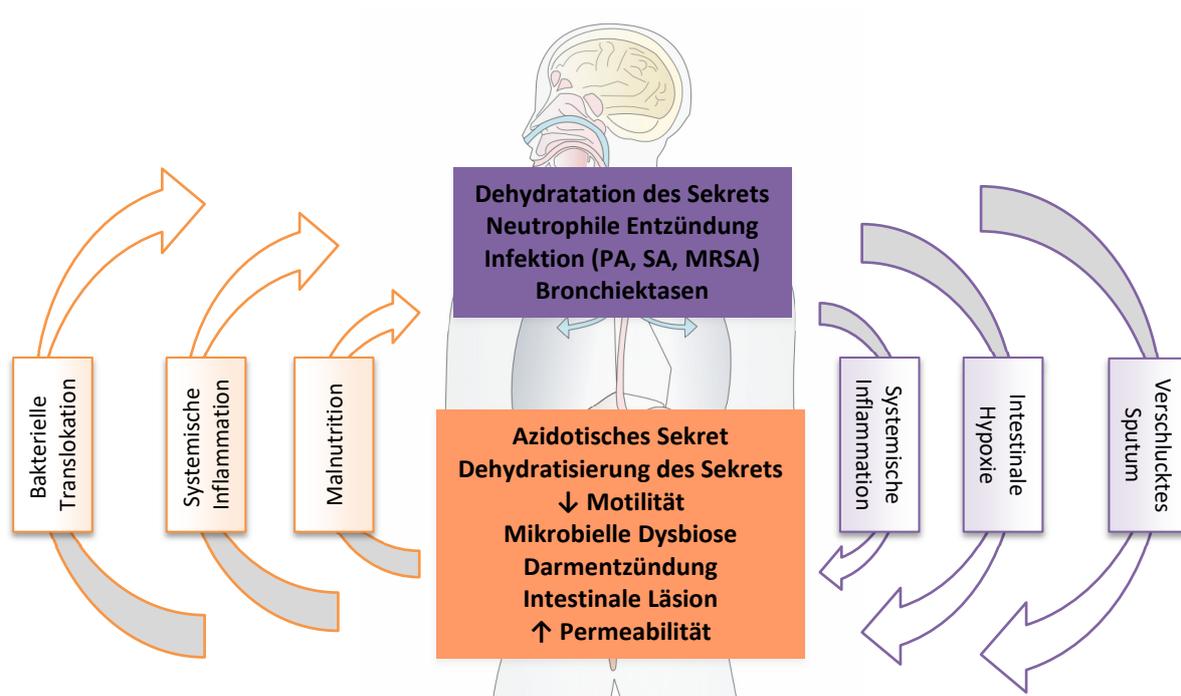


Abbildung 6. Modell für den Circulus vitiosus der intestinalen und pulmonalen Interaktion bei CF. Adaptiert nach Adriaanse et al., PLoS One, 2015. Illustration: H. Tabori

4.7 CFTR-Dysfunktion und das Spektrum der CF-assozierten Organmanifestationen

Die Hauptursache für die Morbidität und Mortalität von Mukoviszidose-Patienten liegt in der pulmonalen Beteiligung mit fortschreitender Lungendestruktion. Respiratorisches Versagen ist bei ca. 90% der CF Patienten die Todesursache. Durch erhebliche Entwicklungen in der Diagnostik und Therapie ist es in den vergangenen Jahren gelungen, Lebenserwartung und Lebensqualität deutlich zu verbessern (vor 50 Jahren erreichten die Patienten in der Regel nicht das Schulalter, heute geborene Patienten werden in Deutschland im Mittel über 50 Jahre alt) (Sens and Stern 2012, Stern 2013, Nährlich, Burkhart et al. 2018). Mit diesem Anstieg der Lebenserwartung sind die gastrointestinalen Komplikationen insgesamt häufiger bei den

Patienten zu beobachten. Da, wie in anderen Studien beschrieben, Patienten in Abhängigkeit vom *CFTR*-Genotyp eine gewisse Restfunktion des CFTR-Proteins aufweisen, variiert der Phänotyp stark (Abb. 7).

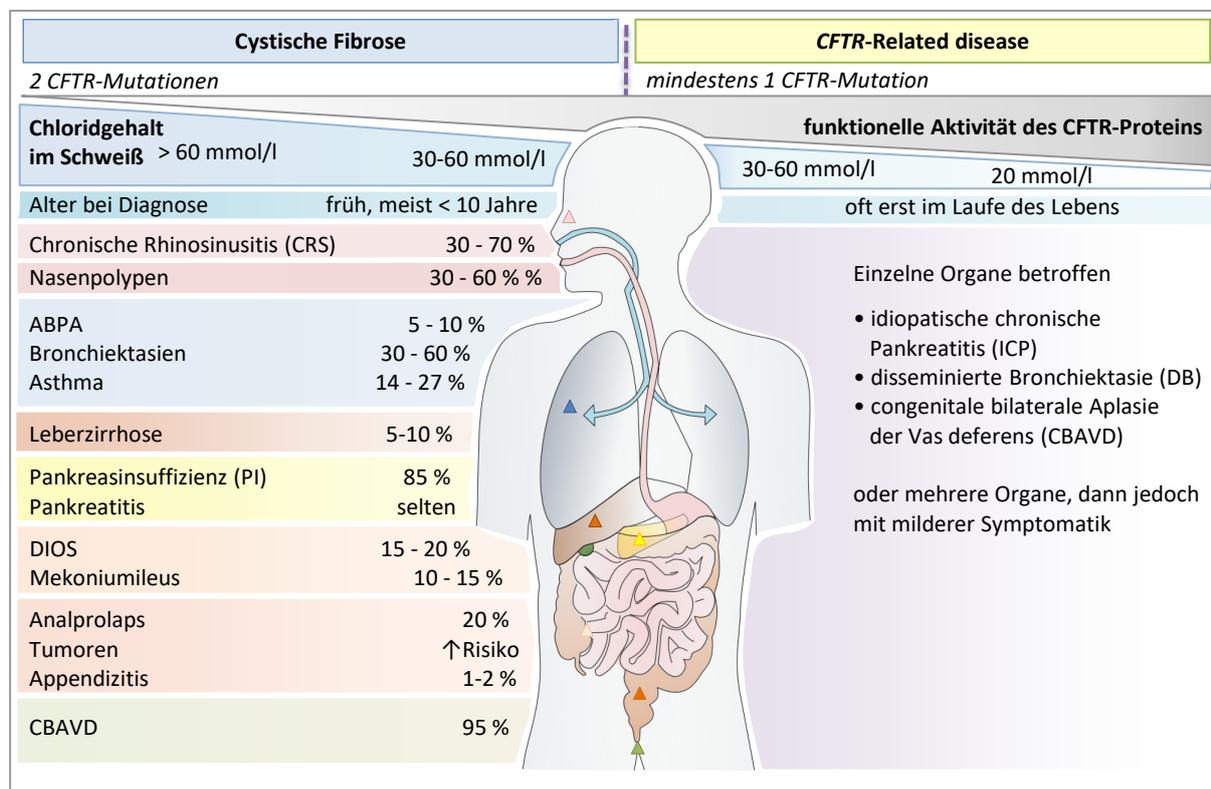


Abbildung 7: Übersicht zur klinischen Manifestation der Mukoviszidose. Abhängig vom *CFTR*-Genotyp besteht eine graduelle Restfunktion des CFTR-Proteins, die zu einer unterschiedlich starken Beteiligung verschiedener Organsysteme führt. Die Minimalvariante mit unterschiedlicher Beteiligung nur einzelner Organe wird heute als „CFTR-Related Disease“ bezeichnet

(CFTR=Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator, ABPA=Allergische bronchopulmonale Aspergillose, DIOS=Distales intestinales Obstruktionsyndrom, CBAVD=Congenitale bilaterale Aplasie des Vas deferens). Illustration: H. Tabori (publiziert in *LaboratoriumsMedizin* 2016, 40(6), 373-384)

4.7.1 Gastrointestinale Manifestationen

Die der Mukoviszidose zu Grunde liegende CFTR-Dysfunktion betrifft sowohl den gesamten Magen-Darm-Trakt, als auch die Pankreas- und Gallengänge und führt bei den meisten Patienten in ähnlicher Weise wie in den Atemwegen zur einer Bildung von zähem Sekret und zur Obstruktion der Drüsenausführungsgänge (Potthoff 2016). In vielen Publikationen wurde aufgezeigt, dass die Entstehung der meisten gastrointestinalen Symptome und Komplikationen bei CF durch eine verminderte Sekretion von Chloridionen, Bicarbonat und Flüssigkeit in das Darmlumen verstanden werden kann (De Lisle and Borowitz 2013, Tummler 2013, Borowitz 2015). Im Rahmen der Multisystemerkrankung kann es im Gastrointestinaltrakt zu verschiedenen relevanten Manifestationen kommen: intestinale Obstruktion (postnatal als MI oder im Verlauf als DIOS), Transportstörung, exokrine Pankreasinsuffizienz, Rectumprolapse, Invaginationen, Gedeihstörung durch Maldigestion, Diabetes mellitus und Gallengangobstruktionen (Stern 2013).

5 Ziel der Arbeit

Obwohl abdominellen Symptome kennzeichnend für die gastrointestinale Beteiligung bei CF sind, wurden diese im klinischen Alltag kaum strukturiert dokumentiert und es liegen im Vergleich zur Lungenpathologie wenige Daten vor. Im Rahmen dieser Arbeit sollte ein multivarianter Fragebogen erstellt werden, der die komplexe abdominale Beteiligung bei CF erfasst. Somit stellt die vorliegende Arbeit den ersten Schritt im Validierungsprozess eines neuen sog. patient-reported outcome measures (PROM) für die genannte Fragestellung dar. Es sollte zunächst darum gehen, ein Instrument zu entwickeln, mit dessen Hilfe genau die Aspekte der abdominellen Beteiligung bei CF erfasst werden, die von klinischer Relevanz sind. Die Zusammenstellung der Fragebogen-Items erfolgte aufgrund logischer und fachlicher Überlegungen nach intensiver Literaturrecherche und zusammen mit Ärzten und Patienten. Dann wurde auswertend geprüft, ob der Fragebogen das misst, was er messen soll (Inhaltsvalidität). Hierzu wurden mit der ersten Version des Fragebogens Ausprägung und Stärke der abdominellen Beschwerden von CF Patienten erfasst und mit laborchemischen Befunden und anamnestischen Hintergründen der abdominellen Komplikationen und der Therapie korreliert. Im zweiten Teil dieser Arbeit wurden die Ergebnisse des inzwischen weiterentwickelten Scores mit sonographischen Befunden korreliert.

6 Publikationen

6.1 Publikation 1

Titel	Abdominal symptoms in cystic fibrosis and their relation to genotype, history, clinical and laboratory findings
Autoren	Tabori H, Arnold C, Jaudszus A, Mentzel HJ, Renz DM, Reinsch S, Lorenz M, Michl R, Gerber A, Lehmann T, Mainz JG
Journal	PLoS ONE
Auflagefrequenz	fortlaufende Online-Publikationen
Begutachtung	peer-reviewed
Sprache	Englisch
Impact Factor	2.806 (2016) Punkte
Publikationsdatum	4. Mai 2017
ISSN	1932-6203 (elektronisch)
DOI	10.1371/journal.pone.0174463
Pubmed-ID	PMC5417419
Literaturangaben	60

6.1.1 Skizzierung der 1. Publikation

Im Rahmen dieser Arbeit wurde ein 5-seitiger Fragebogen (JenAbdomen-CF Score 1.0 genannt) mit 17 Items zu qualitativ beurteilten abdominellen Beschwerden erstellt. Ergebnisse wurden mit anamnestisch erfassten abdominellen Manifestationen, Voroperationen, dem Ernährungszustand, der Lungenfunktion, dem *CFTR*-Genotyp und Laborbefunden, einschließlich Befunden zur Besiedlung der Atemwege mit *P.aeruginosa* (PsA) und *S.aureus* (SA) und der resultierenden antibiotischen Therapie korreliert.

6.1.2 Originalpublikation 1

RESEARCH ARTICLE

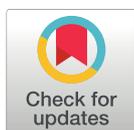
Abdominal symptoms in cystic fibrosis and their relation to genotype, history, clinical and laboratory findings

Harold Tabori¹, Christin Arnold¹✉, Anke Jaudszus¹, Hans-Joachim Mentzel², Diane M. Renz², Steffen Reinsch³, Michael Lorenz¹, Ruth Michl¹, Andrea Gerber¹, Thomas Lehmann⁴, Jochen G. Mainz¹✉*

1 Jena University Hospital, Cystic Fibrosis Center, Jena, Germany, **2** Jena University Hospital, Pediatric Radiology, Jena, Germany, **3** Jena University Hospital, Pediatric Gastroenterology, Jena, Germany, **4** Jena University Hospital, Institute of Medical Statistics, Jena, Germany

✉ These authors contributed equally to this work.

* Jochen.Mainz@med.uni-jena.de



Abstract

Background & aims

Abdominal symptoms (AS) are a hallmark of the multiorgan-disease cystic fibrosis (CF). However, the abdominal involvement in CF is insufficiently understood and, compared to the pulmonary manifestation, still receives little scientific attention. Aims were to assess and quantify AS and to relate them to laboratory parameters, clinical findings, and medical history.

Methods

A total of 131 patients with CF of all ages were assessed with a new CF-specific questionnaire (JenAbdomen-CF score 1.0) on abdominal pain and non-pain symptoms, disorders of appetite, eating, and bowel movements as well as symptom-related quality of life. Results were metrically dimensioned and related to abdominal manifestations, history of surgery, *P. aeruginosa* and *S. aureus* colonization, genotype, liver enzymes, antibiotic therapy, lung function, and nutritional status.

Results

AS during the preceding 3 months were reported by all of our patients. Most common were lack of appetite (130/131) and loss of taste (119/131) followed by abdominal pain (104/131), flatulence (102/131), and distention (83/131). Significantly increased AS were found in patients with history of rectal prolapse ($p = 0.013$), distal intestinal obstruction syndrome ($p = 0.013$), laparotomy ($p = 0.022$), meconium ileus ($p = 0.037$), pancreas insufficiency ($p = 0.042$), or small bowel resection ($p = 0.048$) as well as in patients who have been intermittently colonized with *P. aeruginosa* ($p = 0.006$) compared to patients without history of these events. In contrast, no statistically significant associations were found to CF-associated liver

is, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Competing interests: The authors have declared that no competing interests exist.

Abbreviations: CFTR, cystic fibrosis transmembrane (conductance) regulator; CF, cystic fibrosis; GI, gastrointestinal; PI, pancreatic insufficiency; PS, pancreatic sufficiency; DIOS, distal intestinal obstruction syndrome; MI, meconium ileus; CFLD, CF-associated liver disease; CFRD, CF-related diabetes; RP, rectal prolapse; PIP, pancreatic insufficiency prevalence; SA, *Staphylococcus aureus*; PsA, *Pseudomonas aeruginosa*; Wtp, weight percentile; Htp, height percentile; BMIp, body mass index percentile; LFT, liver function test; ALT, alanine aminotransferase; AST, aspartate aminotransferase; GGT, gamma glutamyl transferase; VAS, visual analogue scale; HRQoL, health related quality of life; ULN, Upper limit of normal.

disease, chronic pathogen colonization, lung function, CF-related diabetes, and nutritional status.

Conclusion

As the complex abdominal involvement in CF is still not fully understood, the assessment of the common AS is of major interest. In this regard, symptom questionnaires like the herein presented are meaningful and practical tools facilitating a wider understanding of the abdominal symptoms in CF. Furthermore, they render to evaluate possible abdominal effects of novel modulators of the underlying cystic fibrosis transmembrane (conductance) regulator (CFTR) defect.

Introduction

Cystic fibrosis (CF) is the most common life threatening autosomal recessive disorder caused by mutations in the cystic fibrosis transmembrane (conductance) regulator (*CFTR*) gene. The *CFTR* protein, which is essential in the regulation of chloride and sodium transport in epithelial cells [1], is highly expressed on the apical surface of intestinal epithelial cells, pancreatic ductal cells, and cholangiocytes in bile ducts which in the healthy transport ions, bicarbonate and fluid to the organs' lumen [2]. Thus, *CFTR* dysfunction results in viscous luminal secretions obstructing the bile and pancreatic ducts as well as the intestine [3]. The resulting gastrointestinal (GI) manifestations include pancreatic insufficiency (PI), meconium ileus (MI), distal intestinal obstruction syndrome (DIOS), and biliary tract complications which can lead to cirrhosis and hepatic failure [4]. Typical resulting GI symptoms are frequent and voluminous greasy stools, flatulence, abdominal bloating, constipation, abdominal pain, an impaired nutritional status, as well as failure to thrive. Even though GI symptoms are a hallmark of CF [5–7], often leading to diagnosis of the inherited disease, they are still insufficiently understood for why deeper investigations into the abdominal involvement in CF are needed [2]. Moreover, with enhanced survival due to improved therapeutic options and patient management, comorbidities of the GI, hepatobiliary, and pancreatic tract are of increasing clinical and scientific interest. However, because of the complex interaction of a variety of dysfunctioning organs, medicinal effects, and even psychosocial factors (Fig 1), the differentiation of the multitude of abdominal symptoms constitutes a major challenge.

Interestingly, previous studies assessing the general symptom of pain in CF indicate that its most common location was the abdomen [8–11]. Nevertheless, most of these studies did not differentiate abdominal pain e.g. regarding frequency, intensity and location, and thus failed to specify the origin of GI symptomatology and its clinical associations. In a recent systematic review, 16 studies investigating pain in CF were evaluated [12]. Eight of them reported occurrences of abdominal pain in CF, with a high variance ranging between 21% and 60% of the assessed CF patients, while only few studies measured pain intensity. This mostly was not specific for the abdominal region and based on single items scales (e.g. a numerical rating scale). It has been recognized that abdominal symptoms relevantly impair health related quality of life (HRQoL) by affecting CF patients' daily activities as well as their emotional, social and physical functioning [13]. Yet, only one study focused on reporting prevalence of recurrent abdominal pain in CF [14].

Recent developments of small molecules that potentiate or correct defective *CFTR* protein function entail a need to assess changes in abdominal involvement by the new systemic

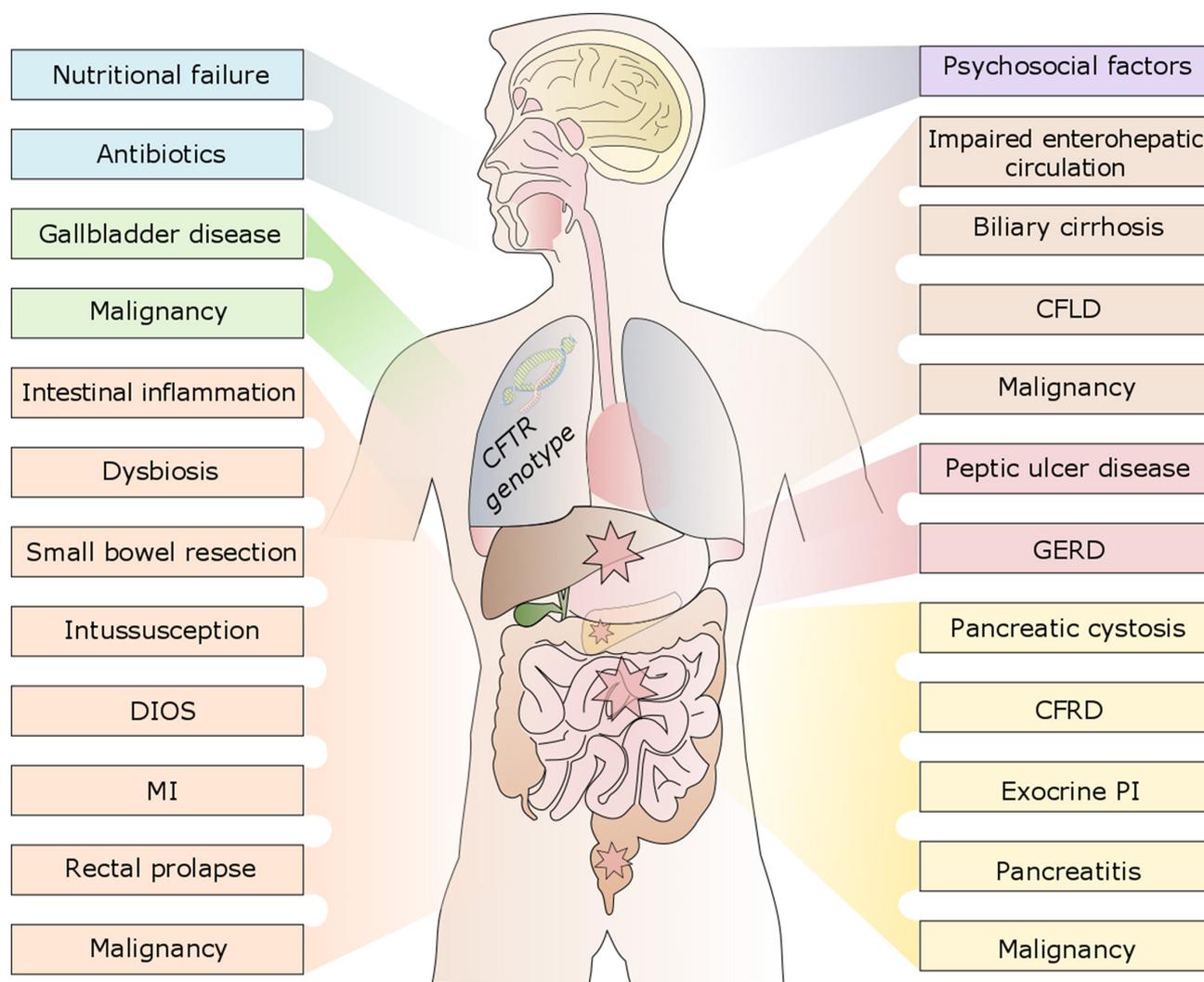


Fig 1. Multifactorial causes of abdominal symptoms in CF. CFLD—CF-associated liver disease, CFRD—CF-related diabetes, DIOS—distal intestinal obstruction syndrome, GERD—gastroesophageal reflux disease, MI—meconium ileus, PI—pancreatic insufficiency.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174463.g001>

treatment. Most interestingly, in some mutations (e.g. *G551D*) CFTR modulators even allow restoration of pancreatic function in some patients [15,16] and they procured a trend towards normalization of sweat tests [17,18]. Besides outcome measures acquired by laboratory, radiological and electrophysiological methods, the Food and Drug Administration (FDA) encourages the usage of patient reported outcome measures (PROM) such as symptom questionnaires as supportive tools or even endpoint measures in clinical trials and offers guidance for their development [19].

Aim of the present study was to obtain structured and detailed information on GI involvement and symptoms with a new pilot score specifically designed for assessment of abdominal involvement in CF patients (JenAbdomen-CF Score 1.0) and relate results to clinical and laboratory findings, history, and *CFTR* genotype.

Materials and methods

Ethical statement

This study has been conducted in strict accordance with the ethical guidelines in the Declaration of Helsinki and it was approved by the Jena University ethics committee (registration number 4458-06/15). All patients aged ≥ 18 y and parents of minors provided written informed consent.

Patients

The prospective study was performed including CF patients of all ages at the Jena University Hospital CF Center. Inclusion criteria were: (1) a diagnosis of CF determined by a sweat chloride of >60 mEq/L and/or (2) detection of 2 disease causing *CFTR* mutations with evidence of organ involvement.

Evaluation of the score

The novel JenAbdomen-CF Score 1.0 was designed considering the recommendations given by the FDA for development of a PROM [19] including in-depth interviews with patients, literature reviews, and physician expert opinions. During routine presentation in our outpatient clinic, patients and/or the guardians completed a questionnaire consisting of 17 items (Fig 2, S1 Table) to measure the GI symptoms during the previous three months grouped into the following four domains:

1. abdominal pain,
 2. non-pain symptoms,
 3. subjective evaluation of the feces' frequency, form and color, and
 4. disorders of eating and appetite.
1. The abdominal pain domain consists of three items which assess frequency, intensity, and duration of abdominal pain. In addition, one item regarding the intensity of pain during bowel movements was evaluated. Pain frequency was measured using a Likert-type scale [20], with six response options ranging from 'never' (0pts) to 'daily' (5pts). Pain intensity was assessed using a well-validated Visual Analogue Scale (VAS) [21], which consists of an 11-point scale ranging from 0 to 10 with a series of six emotion expressing faces anchored at either end by 'no pain' (0pts) to 'worst pain ever' (5pts; 2 VAS steps each). The duration of experienced abdominal pain was assessed by offering six options ranging from '0 minutes' (0pts) to 'more than 360 minutes' (5pts). In addition, we asked for the location, aggravating and alleviating factors, coping strategies, radiation, onset and quality of abdominal pain. Location of the abdominal pain was marked on a well-validated body outline adapted from Savedra et al. [22] displaying an anterior and posterior view of the abdomen. Coding of body location was conducted using the nine quadrants of abdomen including: hypochondriac (right and left); epigastric; lumbar (right and left); umbilical; iliac (right and left) and hypogastric regions. Cut-off points for mild (VAS <3), moderate (VAS 3–5) and severe (VAS ≥ 5) abdominal pain was given according to Kainzwaldner et al. [23].
 2. The non-pain symptoms consist of 8 items which include flatulence, abdominal distention, constipation, nausea, vomiting, heartburn, fatty stools, and reflux of stomach content. Each symptom was measured with a 6-point rating scale anchored at either end by 'not at all'

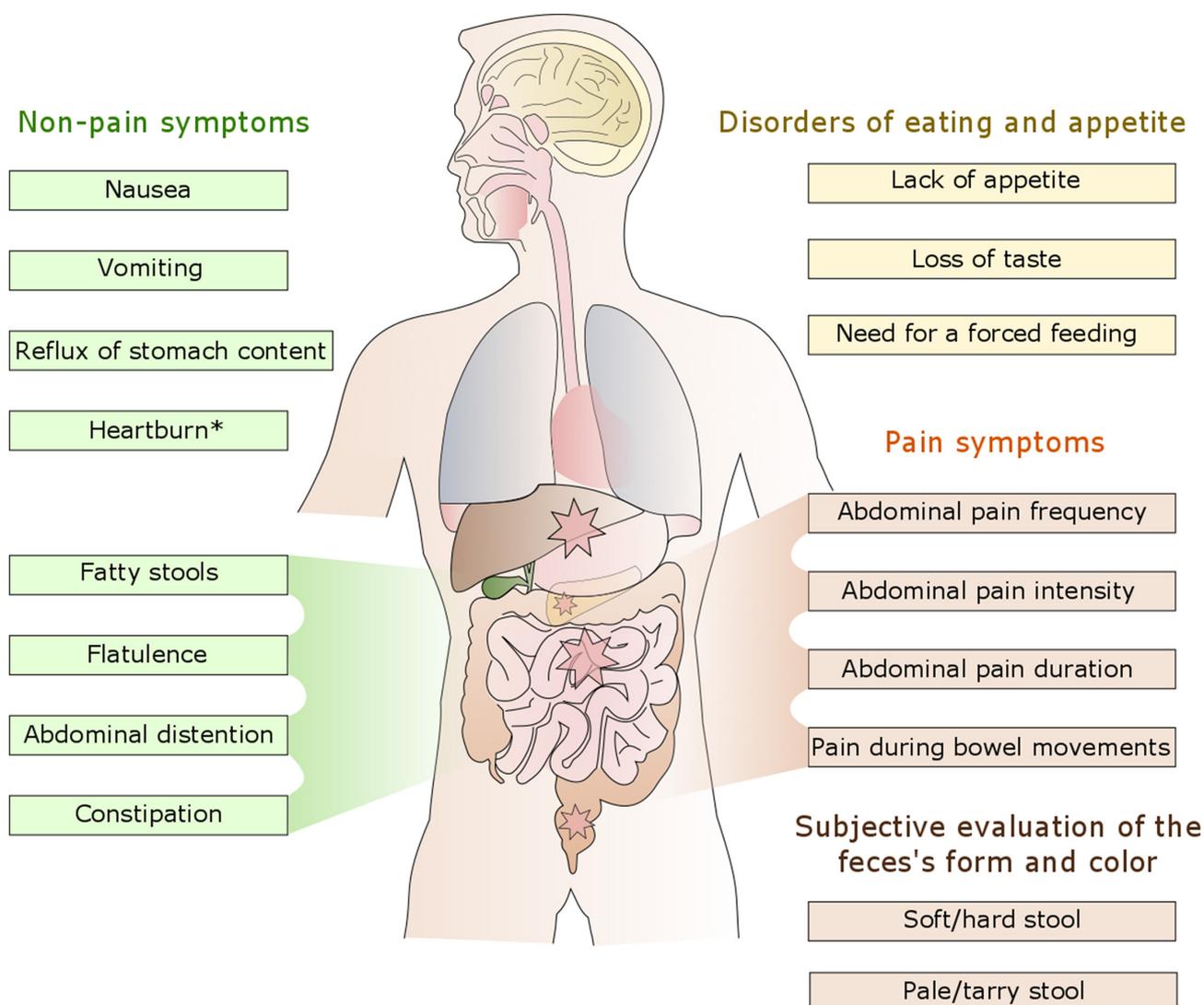


Fig 2. Pain and non-pain symptoms of the JenAbdomen-CF Score 1.0. *to some extent additionally related to pain symptoms.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174463.g002>

(0pts) to 'always' (5pts) at the other end, except for fatty stools that was assessed by a binary response: 'no' (0pts) and 'yes' (5pts).

- The consistency of stool (one item) was evaluated using an adaptation of the well-validated Bristol Stool Form Scale [24,25] classified into seven types (type 1–2 = hard; type 3–4 = formed; type 5–7 = soft). Zero points were given for this item by a formed stool consistency; 1 point for a hard stool consistency; 3 points for both hard and soft stool consistency and 5 points for a soft stool consistency. The patient's stool color (one item) was assessed using a modified Stool Color Card for the screening of biliary atresia by addition of five from brown to black, tarry stool colors adapted from Gu et al. [26] with 12 consecutive pictures ranging from pale

to tarry stools (1–3 = pale; 4–11 = normal; 12 = tarry). For this scoring, 0 points were given for a normal color, 5 points for a pale color and 3 points for a tarry color.

4. Disorders of eating and appetite were assessed questioning the following three items: lack of appetite, loss of taste, and need for a forced feeding (by the patient himself or by others). The first two items were measured on a 6-point rating scale anchored at either end by 'not at all' (0pts) to 'always' (5pts), respectively. The last item was evaluated by a binary response: 'no' (0pts) and 'yes' (5pts). A total of 17 items were evaluated so that the sum of obtained points could range from 0 to 85 points with higher rates for increasing severity of GI symptoms. Abdomen scores were compared with each other and gastrointestinal CF manifestations, history of surgery, the nutritional status, *CFTR* genotype, liver function test (LFT) including alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), gamma-glutamyl transpeptidase (GGT), total bilirubin (BIL), and alkaline phosphatase (ALP), adherence to pancreas enzyme intake (self-reported), antibiotic therapy, weight (Δ WtP), height (Δ HtP) and BMI (Δ BMIP) percentiles changes in the previous 3, 12, and 24 months for patients <18 yrs and Δ BMI in the previous 3, 12, and 24 months in adults, lung function including FEV1%, and airway colonization with *P. aeruginosa* (PsA) and/or *S. aureus* (SA).

Classification of *CFTR* genotype

The recently established pancreatic insufficiency prevalence (PIP) scores [27] were used to measure the severity of specific *CFTR* mutations in regard to pancreatic function. The PIP score is calculated as the proportion of PI among all patients (PI and non-PI) carrying the same CF-causing mutation in a homozygous or in a heterozygous state, in the latter case considering the lower PIP value for both alleles. The term 'genotype' therefore refers to the combination of *CFTR* mutations on both alleles, accounting for the milder of both alleles for characterization of the PIP score [28]. According to the Canadian Consortium for CF Genetic Studies (CCCFGs), CF mutations are classified as 'mild' regarding pancreatic involvement when PIP is ≤ 0.25 and as 'moderate-severe' when PIP is > 0.25 . The patients carrying at least one mutation not reported from Ooi that could not be attributed to a specific PIP score were excluded from the genotype analysis (15/131 patients in the Jena CF center).

Measures of clinical data

Demographic, clinical, and laboratory data were obtained from the charts. Nutritional failure was defined according to the 2002 Cystic Fibrosis Foundation (CFF) criteria [29]. Specifically, weight-for-height percentile (WHp) $< 10^{\text{th}}$ for ages 0–2 y, or body mass index percentile (BMIP) $< 10^{\text{th}}$ for ages 2–20 y were used to identify underweight. BMI was calculated as [weight in kilograms/(height in meters)²]. Age- and gender-specific percentiles for BMI (BMIP), weight (Wtp) and height (Htp) were classified according to the longitudinal local anthropomorphic data from Jena obtained by Krohmeyer-Hauschild [30]. Changes in Wtp, Htp and BMIP were calculated by subtracting baseline from values in the previous 3, 12, and 24 months, thus a negative value corresponded to a decrease in Wtp, Htp, and BMIP and a positive value to an increase of those. A potentially clinically significant (PCS) LFT elevation was defined as ALT/AST/GGT $> 3 \times$ upper limit of normal (ULN) or BIL/ALP $> 2 \times$ ULN. CF-associated liver disease (CFLD) was defined according to recently published guidelines for the diagnosis and management of CFLD [31]. Pulmonary disease severity was divided into three groups accounting FEV1 ≥ 70 percent of predicted (pp) as 'mild' disease, FEV1 40–69 pp as 'moderate' disease, and FEV1 ≤ 39 pp as 'severely advanced' lung disease. This established

classification has been adopted internationally as a categorization of disease severity for CF [32–34]. Status of PsA and SA colonization were defined according to Leeds criteria [35].

Data analysis

Statistical analyses were performed with SPSS, Version 23.0 (IBM Corp. 2015, Version 23.0. Inc., Armonk, NY, USA). Normal distribution of the data was tested using the Kolmogorov-Smirnov (K-S) test. Parametric tests were used to compare means between two independent samples (two-tailed Student t-Test) or more than two groups (ANOVA), when the samples were normally distributed. When criteria for normal distribution were not met, nonparametric tests were chosen to detect statistical difference in means of two independent samples (Mann-Whitney U test) or more than two groups (Kruskal-Wallis test). Nominal data were compared with Chi-square test or Fisher's exact tests, as appropriate. Correlations between variables were examined using the Pearson's correlation coefficient, the Spearman's rank correlation coefficient and the mean square contingency coefficient, as appropriate. Data are given as means \pm SD. A p-value ≤ 0.05 indicated a significant difference or correlation.

Results

Baseline characteristics of the total study cohort

Between April 2015 and December 2015 a total of 131 CF patients attended in the Jena University CF center were included into the prospective study. The mean age was 19.1 ± 14.2 years. Mean FEV1 was 84% predicted and 31 patients (24%) had CF-related diabetes, of whom 14 (45%) were insulin dependent. CF diagnosis most frequently was established on the basis of either predominant GI or respiratory symptoms, whereby 24% of the patients presented a combination of symptoms. *CFTR* gene mutations were identified on both alleles in all patients. The most common *CFTR* mutation in the German population, *F508del*, was detected in 117/131 (89%) of the included CF patients, with 56 (43%) being homozygous for this *CFTR* defect. *G551D* was detected in 17 patients (13%). Further characteristics of CF patients are presented in Table 1 and in S1 Table.

JenAbdomen-CF Score 1.0

Abdominal symptoms. Abdominal symptoms during the previous three months were reported from all CF patients. Most common were lack of appetite (99%) and loss of taste (91%; Table 2) followed by abdominal pain (79%), flatulence (78%), and abdominal distention (63%; Fig 3A, Table 2). Interestingly, children reported to have more abdominal pain than adults (87% vs. 70%; $p = 0.022$), while adults more frequently reported abdominal distention (79% vs. 51%; $p = 0.001$) and heartburn (61% vs. 22%; $p < 0.001$; Fig 3B). 11% of patients admitted they forgot to take pancreas enzyme at least once a week. These patients did not report significantly more GI symptoms than patients who had good adherence to treatment (21.7 vs. 19.6 score points; $p = 0.280$).

Abdominal pain. The most frequent locations of abdominal pain were the umbilical (83%) and epigastric regions (11%), and 8% of patients reported a radiation of pain to the dorsum (Fig 4). More than one pain location was reported by 28%. Pain intensity on the visual analogue scale (VAS) resulted in a mean of 3.4 of maximally 10 points (SD: 2.3). Of these patients, 7% had mild- (VAS: 1–3pts), 43% moderate- (VAS: 4–5pts), and 30% severe pain (VAS: ≥ 5 pts). Thereby, 34% reported a frequency of abdominal pain occurring 'at least once a week' (Table 3). Most common quality of abdominal pain experienced were 'pulling' (42%), 'colicky' (41%) and 'sharp' (28%). 49% of patients described abdominal pain lasting 'less than

Table 1. Patient characteristics.

Variable	Frequency (n = 131)	
Gender		
Male	58/131	(44.3%)
Female	73/131	(55.7%)
CFTR genotype		
F508del/ F508del	56/131	(42.7%)
F508del/ other	61/131	(46.6%)
G551D/ other	17/131	(13.0%)
ther/ other	14/131	(10.7%)
Age (y)		
0–5	23/131	(17.6%)
6–11	27/131	(20.6%)
12–17	24/131	(18.3%)
≥18	57/131	(43.5%)
Nutritional status (<18 yrs.)		
Underweight	6/74	(8.1%)
Short stature	2/74	(2.7%)
<i>P. aeruginosa</i> (PsA): chronic	41/129	(31.3%)
<i>P. aeruginosa</i> (PsA): intermittent	16/129	(12.2%)
Antibiotic therapy		
Intravenous therapy	27/131	(20.6%)
Oral therapy	85/131	(64.9%)
Inhaled therapy	55/131	(42.0%)
Abdominal surgeries		
Laparotomy	17/131	(13.0%)
Small bowel resection	12/131	(9.2%)
Appendectomy	12/131	(9.2%)
Elevated liver function test (LFT)	90/129	(69.8%)
CF abdominal manifestations		
Exocrine pancreatic insufficiency (PI)	121/131	(92.4%)
PIP score ‘mild’	4/116	(3.4%)
PIP score ‘moderate-severe’	112/116	(96.6%)
Meconium ileus (MI)	12/131	(9.2%)
Distal intestinal obstruction syndrom (DIOS)	11/131	(8.4%)
Rectal prolapse	14/131	(10.7%)
CF-associated liver disease (CFLD)	25/122	(20.5%)
CF-related diabetes (CFRD)	31/131	(23.7%)

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174463.t001>

45 minutes’ and a small subgroup of patients (8%) lasting ‘five hours’ or ‘longer’. It appeared more frequently ‘during meals’ (35%), ‘before bowel movements’ (34%), and ‘during stressful events’ (12%). Interestingly, a small subgroup of patients (3%) reported that pain is relieved ‘after antibiotics administration’ and 10% reported amelioration by ‘bowel movements’.

The percentage of missing item responses on the abdomen score was 4.8%. Abdomen scores were non-normally distributed (different sizes of subgroups, e.g., PI and PS) with a mean/median (range) of 19.3/18.0 (3–46). Altogether, female patients revealed slightly higher abdomen scores than males (20.4 vs. 18.0; $p = 0.139$). Moreover, no significant difference was observed among age subgroups (<18 y: 19.7 vs. ≥18 y: 18.9; $p = 0.385$). In contrast, significantly increased AS were found in patients with history of rectal prolapse ($p = 0.013$), distal

Table 2. Frequency of abdominal symptoms in patients with CF.

Abdominal symptoms (Item)	Responded [%]	Reported symptom ^a [n]	Mean symptom score ^b (SEM)
Lack of appetite	99.2	130	2.1 (0.1)
Loss of taste	90.8	119	1.6 (0.1)
Abdominal pain	100	104	— ^c
Flatulence	95.4	102	2.6 (0.1)
Abdominal distention	81.7	83	1.9 (0.1)
Pain during bowel movements	96.2	58	1.5 (0.1)
Fatty stools	97.0	57	— ^d
Soft and hard stool consistency	98.5	54	— ^e
Heartburn	92.4	51	1.9 (0.1)
Reflux of stomach content	94.7	49	1.6 (0.1)
Nausea	99.2	48	1.4 (0.1)
Constipation	95.4	40	1.7 (0.1)
Vomiting	99.2	32	1.3 (0.1)
Forced feeding	99.2	20	— ^d
Soft stool consistency	98.5	12	— ^e
Pale stool	98.5	6	— ^f
Hard stool consistency	98.5	2	— ^e
Tarry stool	98.5	2	— ^f

^aItem scale '1–5' (anything but '0')^bwithin the respective item (item scale '1–5')^cresponse type: Likert^dbinary response type^eBristol Stool Form Scale^fStool Card Color<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174463.t002>

intestinal obstruction syndrome ($p = 0.013$), laparotomy ($p = 0.022$), meconium ileus ($p = 0.037$), pancreatic insufficiency ($p = 0.042$), or small bowel resection ($p = 0.048$) as well as in patients who have been intermittently colonized with PsA ($p = 0.006$) compared to patients without history of these events (Fig 5). For appendectomy, a strong trend was seen ($p = 0.053$; Fig 5).

CFTR genotype. Patients who carry mild genotypes (PIP score ≤ 0.25) had significantly lower rates for GI symptoms compared to those with severe mutations (PIP score > 0.25) (11.0 vs. 19.6; $p = 0.042$). In addition, patients with a *G551D* mutation on at least one allele had significantly lower JenAbdomen-CF Scores 1.0 compared to patients without this mutation (15.6 vs. 19.9; $p = 0.020$). Of these patients, 59% (10/17) were treated with ivacaftor (Fig 6).

CF-associated liver disease (CFLD). A total of 122 (93%) patients were assessed for a diagnosis of CFLD. Patients who underwent liver transplantation ($n = 2$) or had < 2 consecutive examinations spanning a 1-year period ($n = 7$) were excluded from the evaluation of a liver disease. Twenty-five of 122 patients (21%) met the criteria for CFLD and seven of these had liver cirrhosis (6% of all included patients). There were no significant differences between CFLD patients and those without liver involvement concerning the JenAbdomen-CF Score 1.0 (18.3 vs. 19.8; $p = 0.487$). Interestingly, JenAbdomen-CF Score 1.0 did not differ significantly between non-cirrhotic CFLD individuals and CF patients without liver involvement (17.9 vs. 19.8; $p = 0.462$). Even in cirrhotic CFLD individuals, JenAbdomen-CF Score 1.0 did not reveal

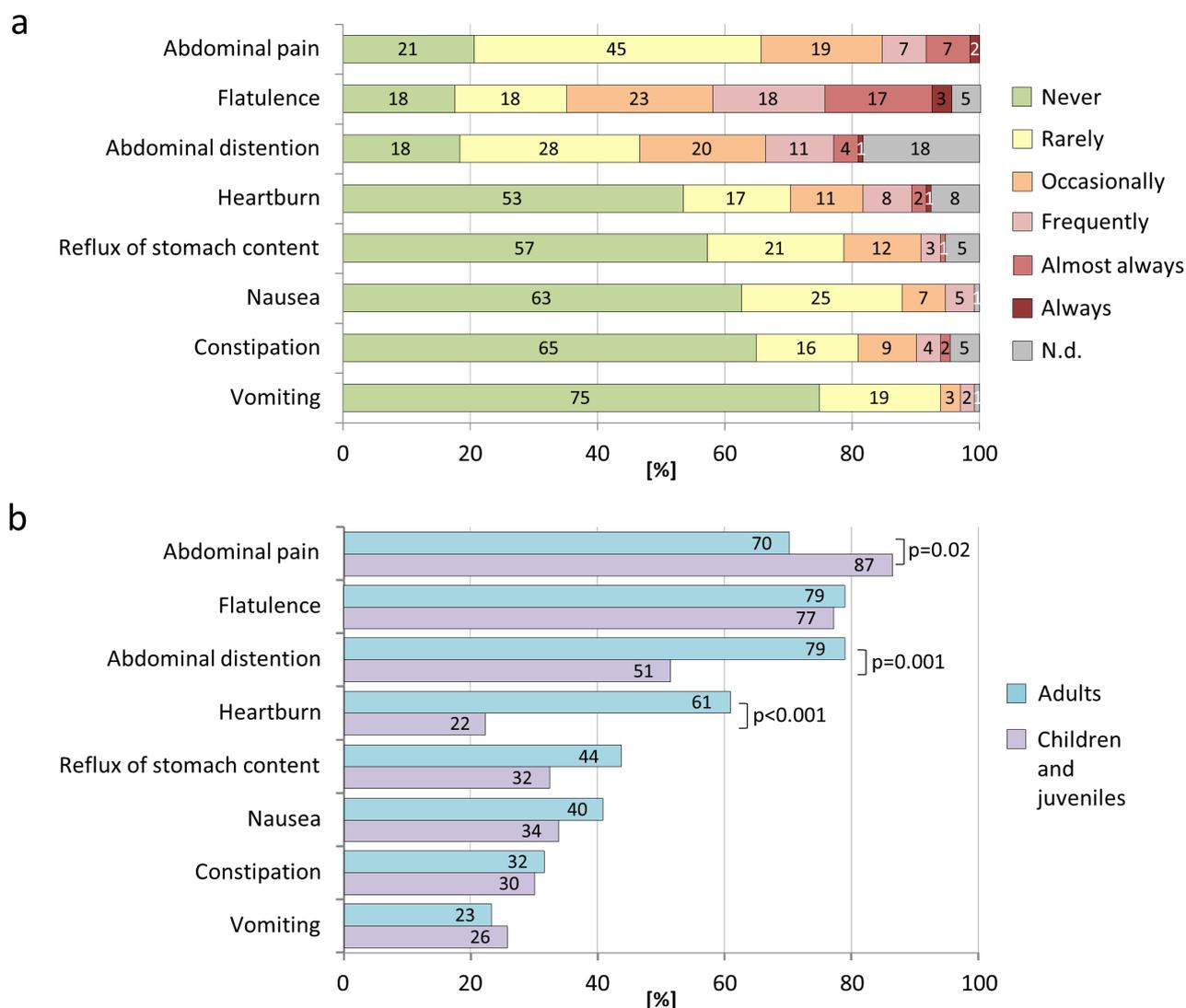


Fig 3. Abdominal symptoms in patients with CF. Frequencies of abdominal symptoms in CF patients of all ages (Fig 3a) and in children compared with adults (Fig 3b). N.d.—not determined (missing data).

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174463.g003>

a significant difference when compared to patients without liver involvement (20.0 vs. 19.8; p = 833).

Liver enzymes in serum. Of the 131 patients, 129 were tested for liver enzymes in the past three months. A total of 90/129 participants (70%) had at least one elevation above the ULN and 14% (18/129) presented elevations of LFT considered as PCS. There was no statistically significant difference in mean JenAbdomen-CF Scores 1.0 between patients with and without elevated LFT (19.6 vs. 18.9; p = 0.699). Similarly, there was no difference between LFT considered as PCS and those without PCS consideration (19.6 vs. 19.3; p = 0.897).

Nutritional status. No significant differences in JenAbdomen-CF Score 1.0 were observed between CF patients with a reduced (nutritional failure) and stable nutritional status.

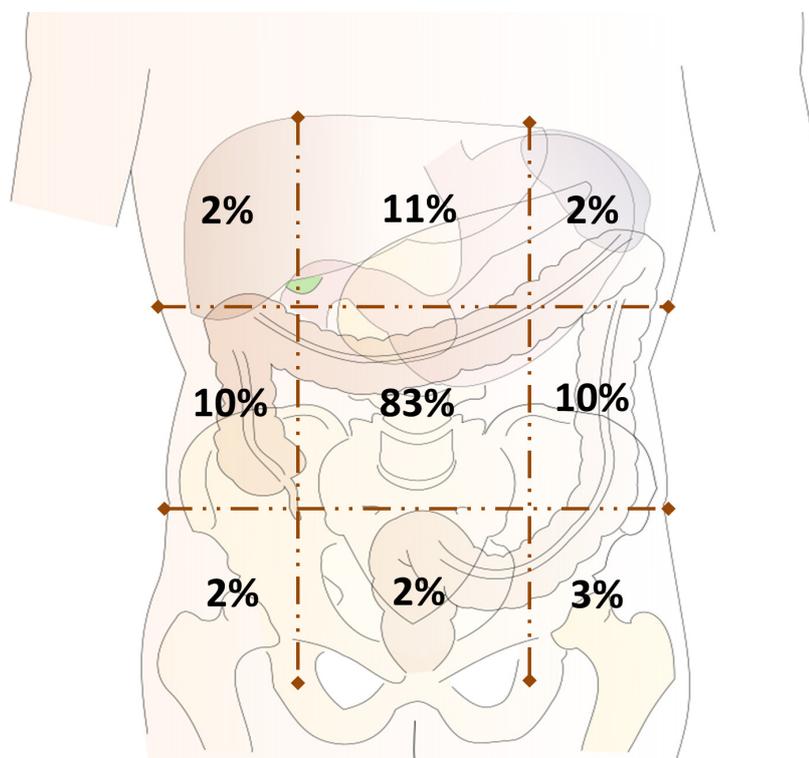


Fig 4. Location of abdominal pain in patients with CF.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174463.g004>

Additionally, there were no significant differences in JenAbdomen-CF Score 1.0 between negative and positive changes in Wt, Ht and BMI in the previous 3, 12, and 24 months (data not shown).

Lung function. Patients with ‘severe’ lung disease showed slightly decreased scores compared to patients with ‘moderate’ lung disease (17.2 vs. 19.7; $p = 0.360$) and ‘mild’ lung disease (17.2 vs. 19.5; $p = 0.402$).

Antibiotics. Of all included patients, 97 (75%) were treated with oral, intravenous, or inhaled antibiotics during the past three months. Average JenAbdomen-CF Scores 1.0 were slightly higher in children who received any antibiotics therapy compared with adults treated with antibiotics (20.5 vs. 18.9; $p = 0.175$). Among all patients who received antibiotics, patients treated with ciprofloxacin and/or meropenem tended to score higher than patients treated with any other antibiotics (23.3 vs. 19.0; $p = 0.085$).

Discussion

Although GI involvement is a hallmark of CF, until now it received comparatively little clinical and, even less, scientific attention. To our best knowledge, GI symptoms in CF as a multiorgan manifestation have not yet been systematically quantified. Here, we present data of a new questionnaire assessing the complexity of GI symptoms from 131 CF patients of all ages; the questionnaire prospectively shall be elaborated to a standardized and validated abdominal CF score, considering the FDA guidelines [19]. Additionally, quantified symptoms were related to phenotypic characteristics and to laboratory findings. The JenAbdomen-CF Score 1.0

Table 3. Abdominal pain characteristics.

Characteristic	Total (n = 131)		Children (n = 74)		Adults (n = 57)	
Intensity (VAS)	3.4 ± 2.3		3.7 ± 2.1		3.1 ± 2.5	
Frequency						
Never	27/131	(20.6%)	10/74	(13.5%)	17/57	(29.8%)
Ca. once a month	59/131	(45.0%)	29/74	(39.2%)	30/57	(52.6%)
Ca. once a week	25/131	(19.1%)	21/74	(28.4%)	4/57	(7.0%)
Each 2–4 days	9/131	(6.9%)	6/74	(8.1%)	3/57	(5.3%)
Almost daily	9/131	(6.9%)	6/74	(8.1%)	3/57	(5.3%)
Daily	2/131	(1.5%)	2/74	(2.7%)	0/57	(0.0%)
Location						
Umbilical	77/93	(82.8%)	48/54	(88.9%)	29/39	(74.4%)
Right hypochondriac	2/93	(2.2%)	1/54	(1.9%)	1/39	(2.6%)
Epigastric	10/93	(10.8%)	6/54	(11.1%)	4/39	(10.3%)
Left hypochondriac	2/93	(2.2%)	1/54	(1.9%)	1/39	(2.6%)
Left lumbar	9/93	(9.7%)	4/54	(7.4%)	5/39	(12.8%)
Right lumbar	9/93	(9.7%)	1/54	(1.9%)	8/39	(20.5%)
Left iliac	3/93	(3.2%)	0/54	(0.0%)	3/39	(7.7%)
Hypogastric	9/93	(9.7%)	3/54	(5.6%)	6/39	(15.4%)
Right iliac	9/93	(9.7%)	2/54	(3.7%)	7/39	(17.9%)
Quality						
Pulling	35/83	(42.2%)	19/44	(43.2%)	16/39	(41.0%)
Colicky	34/83	(41.0%)	17/44	(38.6%)	17/39	(43.6%)
Sharp	23/83	(27.7%)	11/44	(25.0%)	12/39	(30.8%)
Burning	4/83	(4.8%)	1/44	(2.3%)	3/39	(7.7%)
Pressing	3/83	(3.6%)	2/44	(4.5%)	1/39	(2.6%)
Crampy	2/83	(2.4%)	1/44	(2.3%)	1/39	(2.6%)
Duration (min)						
0	26/108	(24.1%)	10/58	(17.2%)	16/50	(32.0%)
<45	53/108	(49.1%)	37/58	(63.8%)	16/50	(32.0%)
45–90	6/108	(5.6%)	4/58	(6.9%)	2/50	(4.0%)
91–180	11/108	(10.2%)	2/58	(3.4%)	9/50	(18.0%)
181–360	3/108	(2.8%)	2/58	(3.4%)	1/50	(2.0%)
>360	9/108	(8.3%)	3/58	(5.2%)	6/50	(12.0%)
Onset						
Suddenly	50/81	(61.7%)	27/44	(61.4%)	23/37	(62.2%)
Progressively	31/81	(38.3%)	17/44	(38.6%)	14/37	(37.8%)
Radiation to dorsum	7/90	(7.7%)	5/52	(9.6%)	2/38	(5.3%)

VAS: visual analogue scale

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174463.t003>

questionnaire is a simple but meaningful two-page instrument capable to detect differences between several CF phenotypic characteristics, as shown within this publication. For purposes of monitoring, it can quickly and therefore routinely filled-in at on-site visits. In clinical trials, it can be implemented as an additional easy and inexpensive tool of, however, high relevance.

First of all, our study showed that all included CF patients presented at least one abdominal symptom within the preceding three months. A high prevalence rate of GI symptoms in 60% of 70 CF patients has also been reported in a recent survey by Fraquelli et al. [36]. This study, however, considered a lower number of items for the evaluation of the GI symptoms (7 items,

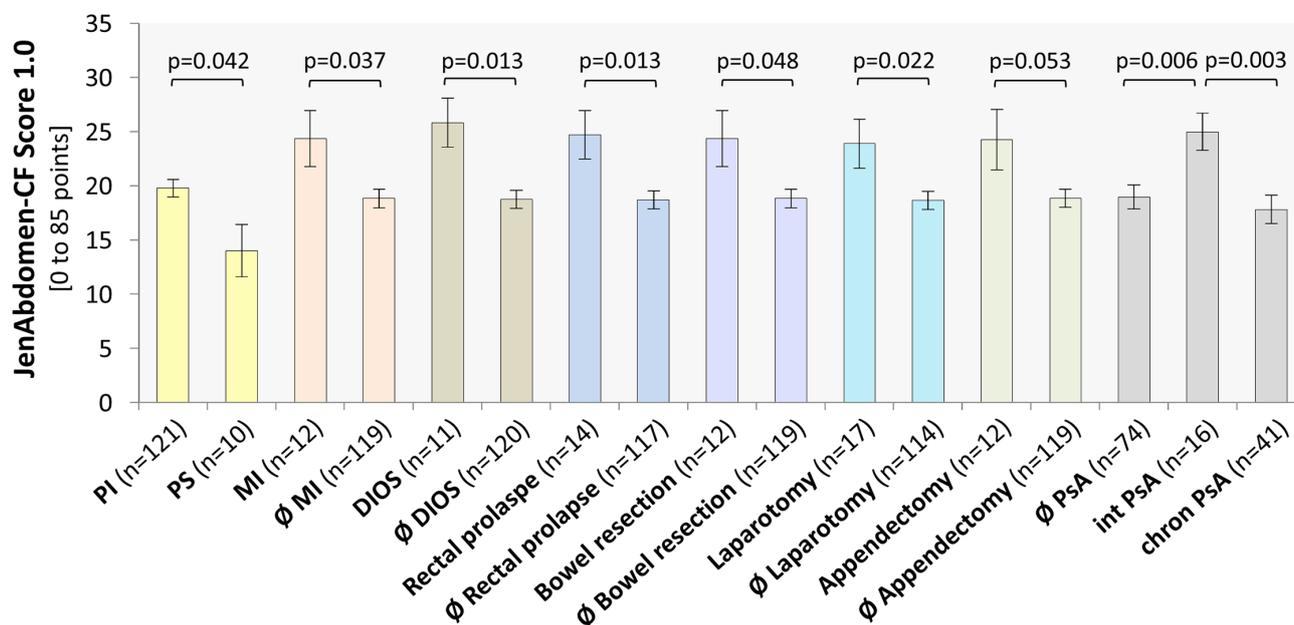


Fig 5. JenAbdomen-CF Score 1.0 of patients presenting indicated abdominal manifestations and complications of surgery in comparison with patients without history of these events (Ø). Int PsA—intermittently colonized with *P. aeruginosa*, chr PsA—chronically colonized with *P. aeruginosa*. Means \pm SEM.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174463.g005>

compared to 17 items in the JenAbdomen-CF Score 1.0) what might explain the difference in the prevalence rates. Nevertheless, high prevalence rates of GI symptoms are known to be representative in CF. For reasons of comparison, clear distinction, and specification, age-matched healthy controls should be included in future research on CF-related GI symptoms using the questionnaire.

In our study, around one-third (34%) of CF patients experienced at least one episode of abdominal pain per week with a small subgroup suffering ‘almost always’ (7%) and ‘always’ (2%) from the relevant symptom. By comparison, Munck et al. [14] reported a very low prevalence of recurrent abdominal pain (RAP) of 6%, yet using the more strict Apley’s criteria (at least three bouts of pain, severe enough to affect one’s activities, over a period of not less than three months, with attacks continuing in the year preceding the examination) [37]. In our study, the mean abdominal pain intensity was indicated as moderate (3 VAS pts; median = 4/ max = 10) and of relatively short duration (<45 min), which is in the range of previous reports [8,10]. The majority of studies on abdominal pain in CF, however, did not specify the localization of pain [8,10,38,39].

In the 85% of patients with exocrine PI, enzyme substitution may relieve many but not all GI symptoms. Thereby, low treatment adherence is considered a major cause of increased symptomatology. That adherence to pancreatic enzyme intake was self-reported may constitute a limitation of our study, as maladherence might be under-reported. Of all included PI patients, 76% stated to have taken their enzymes regularly (never or less than once a month missed a dose). Furthermore, 3% stated to have forgotten them several times a week, 7% about once a week, and 14% several times a month. This self-reported rate of adherence regarding enzyme intake is comparatively high. For instance, Modi et al. only estimated an adherence rate at 50% or below [40]. Compared to objective measures, self-reports in general involve

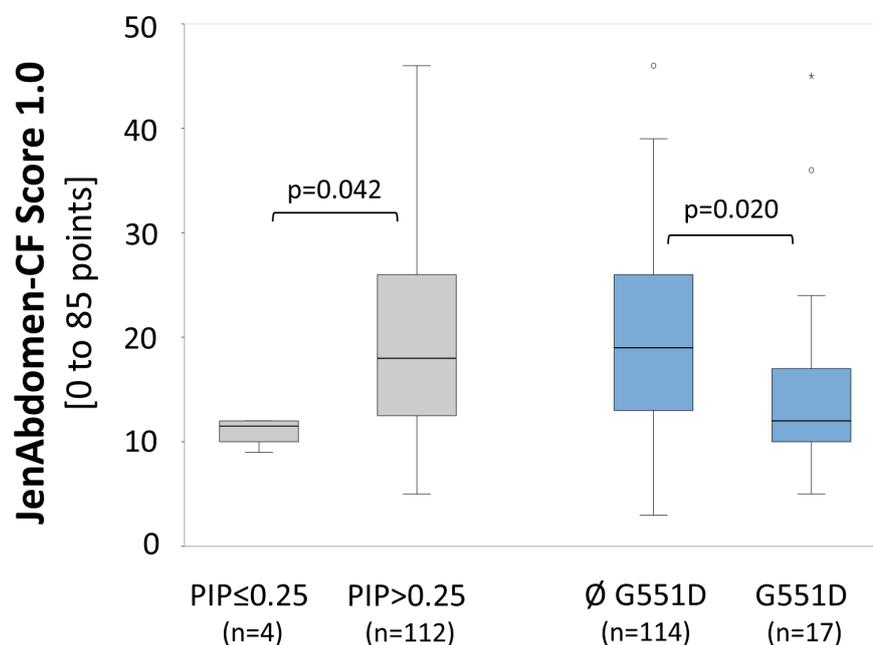


Fig 6. JenAbdomen-CF Score 1.0 in relation to genotype. Left: Scores obtained from 'mild' ($PIP \leq 0.25$) compared to 'moderate-severe' ($PIP > 0.25$) genotypes. Right: Scores of patients carrying the *G551D* mutation compared to those without this mutation. Of note, the fact that 10/17 of the patients with *G551D* mutation received ivacaftor may have influenced the result.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174463.g006>

some uncertainty and may be biased for several reasons. In consecutive studies it would be most interesting to use objective methods to measure adherence to enzyme intake and its correlation to symptoms but possibilities to effectively and objectively control intake of tablets within daily life are markedly limited.

Altogether, in our study, female subjects revealed slightly higher JenAbdomen-CF Score 1.0 values than males. To some extent, this may be explained by an overlap with some symptoms associated with the menstruation cycle. In accordance, significantly more abdominal pain has been described both in CF and in healthy pubescent girls [14,41]. Of note, our study revealed no differences in the overall abdomen scores between the age groups. This accords well to a recent systematic review showing that prevalence and intensity of nonspecific pain was not linked to age in CF [12].

Our results showed slightly higher abdomen scores in patients with mild lung symptomatology ($FEV1 \geq 70$ pp; 19.5 score points) compared to patients with severe lung disease ($FEV1 \leq 39$ pp; 17.2 score points). In line with this, it has recently been noticed that mild lung disease in CF is associated with more severe extrapulmonary manifestations [42].

In general, CFLD reveals a slow progression over years and even decades and often is asymptomatic until most advanced stages [31,43,44]. In accordance, we did not see differences in abdomen scores among non-CFLD, non-cirrhotic CFLD, and cirrhotic CFLD groups. Furthermore, six of the seven cirrhotic CFLD individuals included in our study were classified with Child-Pugh score A indicating compensated liver cirrhosis without signs of portal hypertension.

In our study, CF patients with nutritional failure (reduced nutritional state) did not report higher rates of GI symptoms. This finding can be explained by the retrospective and cross

sectional character of our questionnaire. In a prospective study, Shoff et al. [45] reported that a better nutritional status was associated with increased HRQoL scores. This questionnaire, however, included only one item on 'digestive symptoms'. Thus, further prospective studies using meaningful questionnaires are warranted to evaluate the impact of GI symptoms on the nutritional status of CF patients. In this respect, additional factors that contribute to growth failure such as intestinal inflammation [46–49] and dysbiosis [50,51] should be considered.

A main finding of our study was that the majority of patients who underwent laparotomy scored higher than those without such surgery. This might be attributed to a more severe course of gastrointestinal disease, causing volvulus, intestinal atresia, intussusception, MI, and DIOS in these patients. Interestingly, in 15 of these 17 patients, PIP scores were ≥ 0.96 that accords to PI in almost all of these patients.

Among children and adolescents, those who received several antibiotic i.v. courses tended to suffer from more pronounced GI symptoms than patients without antibiotic treatments. Especially early in life, antibiotic treatment may affect the intestinal microbiota with putative long-term health consequences [52]. The usage of broad-spectrum antibiotics has been suspected to increase the risk of abdominal pain on the one hand [52]. On the other hand, it has been associated with a reduction in physiological anaerobic species and enterobacteria in the intestinal flora [53,54]. Some studies have shown that ciprofloxacin particularly suppresses gram-negative rods such as *Enterobacteriaceae* and *Bacteroides* species [55,56], thus promoting dysbiosis in CF [50]. In accordance, we observed higher symptom scores in patients with intermittent *P. aeruginosa* colonization, who often receive longer courses of ciprofloxacin.

Altogether, the 17 CF patients of our cohort carrying at least one *G551D-CFTR* mutation showed lower scores than non-*G551D-CFTR* patients (13.6 vs. 17.0; $p = 0.029$). As 59% of these patients (10/17) received ivacaftor at the time of questioning, we cannot distinguish whether this outcome was due to therapy or because of the general milder clinical phenotype compared to *F508del*, as previously suggested [57,58]. In addition, patients treated with ivacaftor (IVA) reported significantly lower scores in comparison with non-*G551D-CFTR* patients (11.7 vs. 17.0; $p = 0.032$). In line with this, we herein propose the usage of our questionnaire with special emphasis on its value for future clinical studies. As CFTR modulators such as IVA act systemically, the assessment of changes in abdominal symptoms is of outstanding interest, especially, since first CFTR modulators for frequent mutations like *F508del* are now available [59], and many studies with novel modulating substances are on the way. Thereby, a deeper understanding of the complex abdominal involvement is needed and assessment of changes of abdominal symptoms during CFTR modulation is of high interest. In light of this, the complementing usage of PROMs such as symptom questionnaires like the herein presented is promising.

As mentioned above, one limitation of our study is its retrospective character. Furthermore, missing values in the questionnaire were replaced by zero what might have introduced biased estimates interfering with the final score. However, the percentage of missing data was only 4.8%, what can be considered as low, according to Monte Carlo [60].

Finally, from our data we can conclude that patients with a severe course of the disease or with genotypes causing a moderate to severe abdominal involvement (what at the same time more frequently is associated with history of DIOS, MI, PI and rectal prolapses) are more likely to have higher rates for GI symptoms. Concurrently, GI symptomatology was not associated with CFLD or elevated LFTs.

Meanwhile, we have elaborated a revised and improved version of our questionnaire and the deduced JenAbdomen-CF Score, which now will undergo the following steps:

- Evaluation of reliability of the questionnaire by examining internal consistency and construct validity,
- Evaluation of reproducibility of the questionnaire by re-testing of patients,
- Assessment of cross-generational applicability of the questionnaire by subscore of age groups,
- Evaluation of the responsiveness of the score by comparison with age-matched healthy controls,
- Evaluation of the power of the questionnaire by comparison with the Cystic Fibrosis Questionnaire Revised (CFQ-R) which inquires mainly QoL items,
- Assessment of applicability of the questionnaire in other CF centers,
- Assessment of putative relationships of abdominal symptoms with faecal inflammatory markers.

Prospectively, we aim at disseminating and applying our JenAbdomen-CF Score to a larger patient cohort not only in Germany but also in other countries in order to assess practicability of the questionnaire and provide proof of principle for the significance of the thus calculated score on GI involvement in CF.

Supporting information

S1 Table.
(XLSX)

Acknowledgments

The authors especially thank the patients who participated in this study.

Author Contributions

Conceptualization: HT JGM CA.

Data curation: HT CA TL.

Formal analysis: HT TL.

Funding acquisition: HT JGM.

Investigation: HT ML RM AG CA JGM.

Methodology: HT CA JGM SR HJM DR.

Project administration: CA JGM.

Resources: ML RM AG JGM.

Supervision: CA TL AJ JGM.

Validation: HT CA TL JGM.

Visualization: HT CA TL AJ JGM.

Writing – original draft: HT CA JGM.

Writing – review & editing: HT CA JGM.

References

1. Riordan JR, Rommens JM, Kerem B, Alon N, Rozmahel R, Grzelczak Z, et al. (1989) Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. *Science* 245: 1066–1073. PMID: [2475911](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2475911/)
2. Ooi CY, Durie PR (2016) Cystic fibrosis from the gastroenterologist's perspective. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 13: 175–185. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2015.226> PMID: [26790364](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26790364/)
3. Chaudry G, Navarro OM, Levine DS, Oudjhane K (2006) Abdominal manifestations of cystic fibrosis in children. *Pediatr Radiol* 36: 233–240. <https://doi.org/10.1007/s00247-005-0049-2> PMID: [16391928](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16391928/)
4. Kelly T, Buxbaum J (2015) Gastrointestinal Manifestations of Cystic Fibrosis. *Dig Dis Sci* 60: 1903–1913. <https://doi.org/10.1007/s10620-015-3546-7> PMID: [25648641](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25648641/)
5. Dray X, Bienvenu T, Desmazes-Dufeu N, Dusser D, Marteau P, Hubert D (2004) Distal intestinal obstruction syndrome in adults with cystic fibrosis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2: 498–503. PMID: [15181619](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15181619/)
6. Robertson MB, Choe KA, Joseph PM (2006) Review of the abdominal manifestations of cystic fibrosis in the adult patient. *Radiographics* 26: 679–690. <https://doi.org/10.1148/rg.263055101> PMID: [16702447](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16702447/)
7. van der Doef HP, Kokke FT, van der Ent CK, Houwen RH (2011) Intestinal obstruction syndromes in cystic fibrosis: meconium ileus, distal intestinal obstruction syndrome, and constipation. *Curr Gastroenterol Rep* 13: 265–270. <https://doi.org/10.1007/s11894-011-0185-9> PMID: [21384135](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21384135/)
8. Sermet-Gaudelus I, De Villartay P, de Dreuzy P, Clairicia M, Vrielynck S, Canoui P, et al. (2009) Pain in children and adults with cystic fibrosis: a comparative study. *J Pain Symptom Manage* 38: 281–290. <https://doi.org/10.1016/j.jpainsymman.2008.08.009> PMID: [19364632](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19364632/)
9. Blackwell LS, Quittner AL (2015) Daily pain in adolescents with CF: Effects on adherence, psychological symptoms, and health-related quality of life. *Pediatr Pulmonol* 50: 244–251.
10. Koh JL, Harrison D, Palermo TM, Turner H, McGraw T (2005) Assessment of acute and chronic pain symptoms in children with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 40: 330–335. <https://doi.org/10.1002/ppul.20292> PMID: [16106349](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16106349/)
11. Stenekes SJ, Hughes A, Gregoire MC, Frager G, Robinson WM, McGrath PJ (2009) Frequency and self-management of pain, dyspnea, and cough in cystic fibrosis. *J Pain Symptom Manage* 38: 837–848. <https://doi.org/10.1016/j.jpainsymman.2009.04.029> PMID: [19819666](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19819666/)
12. Lee AL, Rawlings S, Bennett KA, Armstrong D (2016) Pain and its clinical associations in individuals with cystic fibrosis: A systematic review. *Chron Respir Dis* 13: 102–117. <https://doi.org/10.1177/1479972316631135> PMID: [26873725](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26873725/)
13. Palermo TM, Harrison D, Koh JL (2006) Effect of disease-related pain on the health-related quality of life of children and adolescents with cystic fibrosis. *Clin J Pain* 22: 532–537. <https://doi.org/10.1097/01.ajp.0000210996.45459.76> PMID: [16788339](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16788339/)
14. Munck A, Pesle A, Cunin-Roy C, Gerardin M, Ignace I, Delaisi B, et al. (2012) Recurrent abdominal pain in children with cystic fibrosis: a pilot prospective longitudinal evaluation of characteristics and management. *J Cyst Fibros* 11: 46–48. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2011.07.010> PMID: [21907638](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21907638/)
15. Cheah E, Venuti E, McKay K, Gaskin K (2015) ePS05.6 Cessation of pancreatic enzyme replacement therapy (PERT) after initiation of therapy with ivacaftor—a case series. *Journal of Cystic Fibrosis* 14: S51.
16. McKay K, Cheah E, Venuti E, Gaskin K (2015) 231 The effect of ivacaftor on exocrine pancreatic function in patients with cystic fibrosis and the G551D CFTR mutation who are naïve for ivacaftor. *Journal of Cystic Fibrosis* 14: S117.
17. Ramsey BW, Davies J, McElvaney NG, Tullis E, Bell SC, Drevinek P, et al. (2011) A CFTR potentiator in patients with cystic fibrosis and the G551D mutation. *N Engl J Med* 365: 1663–1672. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1105185> PMID: [22047557](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22047557/)
18. Davies JC, Wainwright CE, Canny GJ, Chilvers MA, Howenstine MS, Munck A, et al. (2013) Efficacy and safety of ivacaftor in patients aged 6 to 11 years with cystic fibrosis with a G551D mutation. *Am J Respir Crit Care Med* 187: 1219–1225. <https://doi.org/10.1164/rccm.201301-0153OC> PMID: [23590265](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23590265/)
19. FDA (2009) Guidance for Industry, Patient-Reported Outcome Measures: Use in Medical Product Development to Support Labeling Claims. FDA/CDER/CBER/CDRH. Rockville.
20. Harland NJ, Dawkin MJ, Martin D (2015) Relative utility of a visual analogue scale vs. a six-point Likert scale in the measurement of global subject outcome in patients with low back pain receiving physiotherapy. *Physiotherapy* 101: 50–54. <https://doi.org/10.1016/j.physio.2014.06.004> PMID: [25282389](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25282389/)

21. McGrath PA (1987) An assessment of children's pain: a review of behavioral, physiological and direct scaling techniques. *Pain* 31: 147–176. PMID: [3324017](#)
22. Savedra MC, Tesler MD, Holzemer WL, Wilkie DJ, Ward JA (1989) Pain location: validity and reliability of body outline markings by hospitalized children and adolescents. *Res Nurs Health* 12: 307–314. PMID: [2798951](#)
23. Kainzwaldner V, Rachinger-Adam B, Mioc-Curic T, Wohrle T, Hinske LC, Luchting B, et al. (2013) [Quality of postoperative pain therapy: evaluation of an established anesthesiology acute pain service]. *Anaesthesist* 62: 453–459. <https://doi.org/10.1007/s00101-013-2177-7> PMID: [23670580](#)
24. Lane MM, Czyzewski DI, Chumpitazi BP, Shulman RJ (2011) Reliability and validity of a modified Bristol Stool Form Scale for children. *J Pediatr* 159: 437–441 e431. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2011.03.002> PMID: [21489557](#)
25. Chumpitazi BP, Lane MM, Czyzewski DI, Weidler EM, Swank PR, Shulman RJ (2010) Creation and initial evaluation of a Stool Form Scale for children. *J Pediatr* 157: 594–597. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2010.04.040> PMID: [20826285](#)
26. Gu YH, Yokoyama K, Mizuta K, Tsuchioka T, Kudo T, Sasaki H, et al. (2015) Stool color card screening for early detection of biliary atresia and long-term native liver survival: a 19-year cohort study in Japan. *J Pediatr* 166: 897–902 e891. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2014.12.063> PMID: [25681196](#)
27. Ooi CY, Dorfman R, Cipolli M, Gonska T, Castellani C, Keenan K, et al. (2011) Type of CFTR mutation determines risk of pancreatitis in patients with cystic fibrosis. *Gastroenterology* 140: 153–161. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2010.09.046> PMID: [20923678](#)
28. Ooi CY, Durie PR (2012) Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) gene mutations in pancreatitis. *J Cyst Fibros* 11: 355–362. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2012.05.001> PMID: [22658665](#)
29. Borowitz D, Baker RD, Stallings V (2002) Consensus report on nutrition for pediatric patients with cystic fibrosis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 35: 246–259. PMID: [12352509](#)
30. Kromeyer-Hauschild K, Zellner K, Jaeger U, Hoyer H (1999) Prevalence of overweight and obesity among school children in Jena (Germany). *Int J Obes Relat Metab Disord* 23: 1143–1150. PMID: [10578204](#)
31. Debray D, Kelly D, Houwen R, Strandvik B, Colombo C (2011) Best practice guidance for the diagnosis and management of cystic fibrosis-associated liver disease. *J Cyst Fibros* 10 Suppl 2: S29–36.
32. Quittner AL, Buu A, Messer MA, Modi AC, Watrous M (2005) Development and validation of The Cystic Fibrosis Questionnaire in the United States: a health-related quality-of-life measure for cystic fibrosis. *Chest* 128: 2347–2354. <https://doi.org/10.1378/chest.128.4.2347> PMID: [16236893](#)
33. Britto MT, Kotagal UR, Hornung RW, Atherton HD, Tsevat J, Wilmott RW (2002) Impact of recent pulmonary exacerbations on quality of life in patients with cystic fibrosis. *Chest* 121: 64–72. PMID: [11796433](#)
34. Schmidt A, Wenninger K, Niemann N, Wahn U, Staab D (2009) Health-related quality of life in children with cystic fibrosis: validation of the German CFQ-R. *Health Qual Life Outcomes* 7: 97. <https://doi.org/10.1186/1477-7525-7-97> PMID: [19954541](#)
35. Lee TW, Brownlee KG, Conway SP, Denton M, Littlewood JM (2003) Evaluation of a new definition for chronic *Pseudomonas aeruginosa* infection in cystic fibrosis patients. *J Cyst Fibros* 2: 29–34. [https://doi.org/10.1016/S1569-1993\(02\)00141-8](https://doi.org/10.1016/S1569-1993(02)00141-8) PMID: [15463843](#)
36. Fraquelli M, Baccarin A, Corti F, Conti CB, Russo MC, Della Valle S, et al. (2016) Bowel ultrasound imaging in patients with cystic fibrosis: Relationship with clinical symptoms and CFTR genotype. *Dig Liver Dis* 48: 271–276. <https://doi.org/10.1016/j.dld.2015.09.010> PMID: [26514737](#)
37. Apley J, Naish N (1958) Recurrent abdominal pains: a field survey of 1,000 school children. *Arch Dis Child* 33: 165–170. PMID: [13534750](#)
38. Festini F, Ballarin S, Codamo T, Doro R, Loganes C (2004) Prevalence of pain in adults with cystic fibrosis. *J Cyst Fibros* 3: 51–57. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2003.12.001> PMID: [15463887](#)
39. Ravilly S, Robinson W, Suresh S, Wohl ME, Berde CB (1996) Chronic pain in cystic fibrosis. *Pediatrics* 98: 741–747. PMID: [8885955](#)
40. Modi AC, Lim CS, Yu N, Geller D, Wagner MH, Quittner AL (2006) A multi-method assessment of treatment adherence for children with cystic fibrosis. *J Cyst Fibros* 5: 177–185. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2006.03.002> PMID: [16679071](#)
41. Perquin CW, Hazebroek-Kampschreur AA, Hunfeld JA, Bohnen AM, van Suijlekom-Smit LW, Passchier J, et al. (2000) Pain in children and adolescents: a common experience. *Pain* 87: 51–58. PMID: [10863045](#)
42. O'Sullivan BP, Freedman SD Cystic fibrosis. *The Lancet* 373: 1891–1904.

43. Colombo C (2007) Liver disease in cystic fibrosis. *Curr Opin Pulm Med* 13: 529–536. <https://doi.org/10.1097/MCP.0b013e3282f10a16> PMID: 17901760
44. Stauer K, Halilbasic E, Trauner M, Kazemi-Shirazi L (2014) Cystic fibrosis related liver disease—another black box in hepatology. *Int J Mol Sci* 15: 13529–13549. <https://doi.org/10.3390/ijms150813529> PMID: 25093717
45. Shoff SM, Tluczek A, Laxova A, Farrell PM, Lai HJ (2013) Nutritional status is associated with health-related quality of life in children with cystic fibrosis aged 9–19 years. *J Cyst Fibros* 12: 746–753. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2013.01.006> PMID: 23410621
46. Bruzzese E, Raia V, Gaudiello G, Polito G, Buccigrossi V, Formicola V, et al. (2004) Intestinal inflammation is a frequent feature of cystic fibrosis and is reduced by probiotic administration. *Aliment Pharmacol Ther* 20: 813–819. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2004.02174.x> PMID: 15379842
47. Dhaliwal J, Leach S, Katz T, Nahidi L, Pang T, Lee JM, et al. (2015) Intestinal inflammation and impact on growth in children with cystic fibrosis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 60: 521–526. <https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000000683> PMID: 25539196
48. Werlin SL, Benuri-Silbiger I, Kerem E, Adler SN, Goldin E, Zimmerman J, et al. (2010) Evidence of intestinal inflammation in patients with cystic fibrosis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 51: 304–308. <https://doi.org/10.1097/MPG.0b013e3181d1b013> PMID: 20512061
49. Munck A (2014) Cystic fibrosis: evidence for gut inflammation. *Int J Biochem Cell Biol* 52: 180–183. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2014.02.005> PMID: 24548777
50. Bruzzese E, Callegari ML, Raia V, Viscovo S, Scotto R, Ferrari S, et al. (2014) Disrupted intestinal microbiota and intestinal inflammation in children with cystic fibrosis and its restoration with *Lactobacillus GG*: a randomised clinical trial. *PLoS One* 9: e87796. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0087796> PMID: 24586292
51. Li L, Somerset S (2014) The clinical significance of the gut microbiota in cystic fibrosis and the potential for dietary therapies. *Clin Nutr* 33: 571–580. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2014.04.004> PMID: 24767984
52. Uusijarvi A, Bergstrom A, Simren M, Ludvigsson JF, Kull I, Wickman M, et al. (2014) Use of antibiotics in infancy and childhood and risk of recurrent abdominal pain—a Swedish birth cohort study. *Neurogastroenterol Motil* 26: 841–850. <https://doi.org/10.1111/nmo.12340> PMID: 24708246
53. Jernberg C, Lofmark S, Edlund C, Jansson JK (2010) Long-term impacts of antibiotic exposure on the human intestinal microbiota. *Microbiology* 156: 3216–3223. <https://doi.org/10.1099/mic.0.040618-0> PMID: 20705661
54. Sullivan A, Edlund C, Nord CE (2001) Effect of antimicrobial agents on the ecological balance of human microflora. *Lancet Infect Dis* 1: 101–114. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(01\)00066-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(01)00066-4) PMID: 11871461
55. Wistrom J, Gentry LO, Palmgren AC, Price M, Nord CE, Ljungh A, et al. (1992) Ecological effects of short-term ciprofloxacin treatment of travellers' diarrhoea. *J Antimicrob Chemother* 30: 693–706. PMID: 1493985
56. Borzio M, Salerno F, Saudelli M, Galvagno D, Piantoni L, Fragiaco L (1997) Efficacy of oral ciprofloxacin as selective intestinal decontaminant in cirrhosis. *Ital J Gastroenterol Hepatol* 29: 262–266. PMID: 9646219
57. Comer DM, Ennis M, McDowell C, Beattie D, Rendall J, Hall V, et al. (2009) Clinical phenotype of cystic fibrosis patients with the G551D mutation. *QJM* 102: 793–798. <https://doi.org/10.1093/qjmed/hcp120> PMID: 19734299
58. Parad RB (1996) Heterogeneity of phenotype in two cystic fibrosis patients homozygous for the CFTR exon 11 mutation G551D. *J Med Genet* 33: 711–713. PMID: 8863168
59. Wainwright CE, Elborn JS, Ramsey BW, Marigowda G, Huang X, Cipolli M, et al. (2015) Lumacaftor-Ivacaftor in Patients with Cystic Fibrosis Homozygous for Phe508del CFTR. *N Engl J Med* 373: 220–231. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1409547> PMID: 25981758
60. Roth PL (1994) Missing Data—a Conceptual Review for Applied Psychologists. *Personnel Psychology* 47: 537–560.

6.2 Publikation 2

Titel	Relation of Ultrasound Findings and Abdominal Symptoms obtained with the CFAbd-Score in Cystic Fibrosis Patients
Autoren	Tabori H, Jaudszus A, Arnold C, Mentzel HJ, Lorenz M, Michl R, Lehmann T, Renz DM, Mainz JG
Journal	<i>Scientific Reports</i>
Auflagefrequenz	fortlaufende Online-Publikationen
Begutachtung	peer-reviewed
Sprache	Englisch
Impact Factor	4.259 (2016)
Publikationsdatum	12. Dezember 2017
ISSN	2045-2322 (elektronisch)
DOI	10.1038/s41598-017-17302-4
Pubmed-ID	PMC5727223
Literaturangaben	36

6.2.1 Skizzierung der 2. Publikation

Im folgenden zweiten Studienteil wurden im Jenaer CF-Zentrum bei 114 CF-Patienten die Ergebnisse des auf eine 2-seitige Version weiterentwickelten Fragebogens (CFAbd-Score) mit 17 sonographischen Parametern (US-17 Score) korreliert.

6.2.2 Originalpublikation 2

SCIENTIFIC REPORTS

OPEN

Relation of Ultrasound Findings and Abdominal Symptoms obtained with the CFAbd-Score in Cystic Fibrosis Patients

Harold Tabori^{1,3}, Anke Jaudszus¹, Christin Arnold¹, Hans-Joachim Mentzel², Michael Lorenz¹, Ruth K. Michl¹, Thomas Lehmann⁴, Diane M. Renz² & Jochen G. Mainz¹

Received: 7 September 2017
Accepted: 22 November 2017
Published online: 12 December 2017

Abdominal symptoms are a hallmark of Cystic fibrosis (CF). Yet, their association with morphological abnormalities of different abdominal organs is still poorly understood. Aim was therefore to relate these symptoms, assessed with a questionnaire, to findings in abdominal ultrasound (US). In 114 CF patients of all ages, findings in US considering seventeen specific parameters were related to abdominal symptoms compiled with our novel CF-specific 26-modal symptom score (CFAbd-Score). US abnormalities were detected in 95% of the patients. Most frequent findings were pancreatic lipomatosis (88%), liver steatosis (37%), hepatomegaly (31%), and thickened bowel walls (23%). Highest burden of GI-symptoms was clearly associated with pancreatic lipomatosis ($p = 0.036$). In detail, patients revealing this pathology reported higher rates of abdominal pain ($p = 0.018$), flatulence ($p = 0.006$), heartburn ($p = 0.04$), and reflux of stomach content ($p = 0.006$). Patients with pancreatic sufficiency had less US-findings ($p = 0.033$), which in turn was associated with lower rates of abdominal symptoms. The majority of them were carriers of class IV-VI or G551D mutations. Our approach gives new insights regarding the underestimated multi-organ abdominal involvement in CF. The new score can be of high interest e.g. as a complementary tool to assess the gastrointestinal effects of promising novel CF therapeutics.

Whereas pulmonary involvement in cystic fibrosis (CF), the most frequent autosomal recessive lethal disorder in Caucasians, has been intensively studied, the abdominal manifestations in CF are still not sufficiently understood. Abdominal manifestations, which substantially contribute to the high burden of symptoms and to preliminary death in CF, include pancreatic insufficiency (PI), focal biliary cirrhosis, micro-gallbladder with sludge and concretions, meconium ileus (MI), intestinal prolapses and intussusception and, in higher ages, distal intestinal obstruction syndrome (DIOS)¹. Dysfunction of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) in the pancreatic and biliary ducts and in intestinal epithelia results in viscous acidic secretions leading to lumen obstruction and impaired digestion. The resulting deficiency of nutrients and fat-soluble vitamins, failure to thrive and reduced body weight are strongly correlated to impaired pulmonary function and reduced survival². Ultrasound (US) has a high value for detecting abdominal pathologies non-invasively and without exposition to radiation. In our center, US has been established as routine control, performed every 6 to 12 months in CF patients. It allows static and dynamic assessment of pathologies such as pancreatic lipomatosis and cystosis, liver abnormalities, and bowel wall thickness³.

With our recently presented JenAbdomen-Score we showed that, among the complex symptoms, abdominal pain and distention, flatulence, lack of appetite and nausea, fatty stools, and diarrhea are most prominent⁴. Yet, the relation of these symptoms to morphological abnormalities of different abdominal organs is still poorly understood. Therefore, we recorded and quantified the complex GI symptoms with a revised, improved, and now 26-modal

¹Jena University Hospital, Cystic Fibrosis Centre, Jena, Germany. ²Jena University Hospital, Pediatric Radiology, Jena, Germany. ³Jena University Hospital, Department of Internal Medicine IV (Gastroenterology, Hepatology, and Infectious Diseases), Jena, Germany. ⁴Jena University Hospital, Institute of Medical Statistics, Jena, Germany. Harold Tabori, Anke Jaudszus, Diane M. Renz and Jochen G. Mainz contributed equally to this work. Correspondence and requests for materials should be addressed to J.G.M. (email: jochen.mainz@med.uni-jena.de)

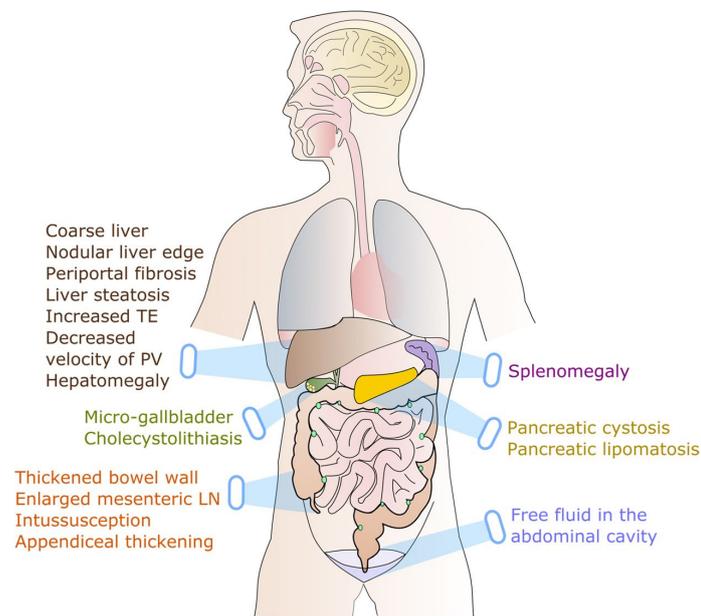


Figure 1. Seventeen abdominal abnormalities in cystic fibrosis detected with ultrasound. TE: transient elastography; PV: (maximal flow velocity in) portal vein; LN: lymph nodes.

version of our questionnaire (CFAbd-Score) and related the calculated scores to morphological findings obtained with structured abdominal US, assessing seventeen parameters which are frequently abnormal in CF (Fig. 1).

Materials and Methods

Participants and Settings. The prospective study was performed consecutively including CF patients of all ages attended at the Jena University Hospital CF Center. Inclusion criteria were: (1) a diagnosis of CF determined by a sweat chloride of >60 mEq/L and/or (2) detection of 2 disease causing *CFTR* mutations with evidence of organ involvement. We considered patients of all ages who completed the self-reported or parent-proxy reported CFAbd-Score.

Ethical Statement. The study was approved by the Jena University ethics committee (registration number 4458-06/15) and done in adherence to ethical principles. All methods were performed in accordance with the relevant guidelines and regulations. All patients and parents of minors provided written informed consent.

Evaluation of abdominal symptoms. The CFAbd-Score was further developed from our recently presented JenaAbdomen-CF Score 1.0⁴ with additional 9 items concerning GI symptoms-related quality of life (QoL), thus now consisting of 26 items. QoL items were: embarrassed, physical activity limitation, reduced productivity, fatigue, reduced concentration, frustrated/restless/irritable, sad, difficulty falling asleep, and waking up at night, measured with a 6-point Likert scale from 'not at all' (0 pts) to 'always' (5 pts).

In contrast to the first version, each item was reversely scored and linearly transformed to a 100-points scale (0 = 100, 1 = 80, 2 = 60, 3 = 40, 4 = 20, 5 = 0) with lower rates for increasing severity of GI symptoms. Only the domains with more than 50% of the items answered were included in the calculation. CFAbd-Score (26 items) was calculated as the sum of the items over the number of items answered in each domain.

Measurement of ultrasound abnormalities. The US examinations were performed in a single center using an ultrasound scanner (Philips; U22; Philips Healthcare, Best, the Netherlands) under standardized conditions. The findings were confirmed by and discussed with a second experienced radiologist in order to enhance the quality of the data. The abdominal US findings included evaluation of 17 parameters:

- (1) *Bowel wall thickness* (BWT) was measured in a longitudinal and transverse section. The measurement was taken from the central hyperechoic line of the lumen (representing the interface between content of the lumen and the mucosa) to the outer hyperechoic margin of the wall (representing the serosa). BWT was considered 'normal' up to 4 mm⁵.
- (2) *Enlarged mesenteric lymph nodes* were defined as greater than 5 mm in the shorter axis and larger than 10 mm in the long axis⁵.
- (3) *Intussusception* was defined as the invagination of a proximal segment of the intestine into an adjacent distal segment. In US, it appears as a mass with multiple concentric rings or doughnut signs on the short axis⁵.

- (4) *Appendiceal thickening* was defined as a diameter of more than 6 mm and/or an appendiceal wall thicker than 2 mm⁶.
- (5) *Free fluid* within the peritoneal cavity.
- (6) *Pancreatic cystosis* was defined as anechoic structures which are usually round and oval (cystic lesions) with sizes greater than 1 cm (macroscopic cysts)⁷.
- (7) *Pancreatic lipomatosis* was given when pancreatic echogenicity was *partially* or *completely* higher than liver (or the kidney in case of liver hyperechogenicity)⁸.
- (8) *Cholecystolithiasis* was demonstrated by typical acoustic shadow in the gallbladder.
- (9) *Micro-gallbladder* was defined as less than 2–3 cm long and 0.5–1.5 cm wide⁹.
- (10) *Coarseness of the hepatic parenchyma*,
- (11) *nodularity of the liver edge*, and
- (12) *periportal fibrosis* (increased periportal echoes) were documented according to a scoring system established by Williams *et al.*¹⁰.
- (13) *Liver steatosis* criteria were increased echogenicity compared to renal parenchyma, vascular blurring, and deep attenuation of the US signal¹¹.
- (14) The *maximum velocity of flow in the portal vein* (PV) was measured in cm/s and was considered decreased below 15 cm/s¹².
- (15) *Transient elastography* (TE) was measured in kPa and was considered increased with a value above 7.1 kPa¹³.
- (16) *Hepatomegaly* was indicated when the liver span at the mid-clavicular line exceeded the upper limits according to height¹⁴.
- (17) *Splenomegaly* was indicated when spleen length (measured as the larger diameter through the hilum in a cranio-caudal axis) exceeded the upper limits according to age¹⁵.

These 17 parameters were scored either as absent (0 pts) or present (1 pt) with a maximal score of 17 points (US-17). In addition to US-17, the Williams score¹⁰ and TE were correlated separately to the CFAbd-Score.

In order to link the pancreatic status (pancreas sufficiency = PS/pancreas insufficiency = PI) to US abnormalities, doses of substituted enzymes quantified as intake of international units of pancreatic lipase per kg of body weight and day (IU/kg/d) were additionally factored in.

Measures of clinical data. The recently established pancreatic insufficiency prevalence (PIP) scores adapted from Ooi were used to measure the severity of specific *CFTR* mutations in regard to pancreatic function¹⁶. Patients carrying mutations which had not been included into the study from Ooi could not be attributed to a specific PIP score and thus were excluded from the PIP-genotype analysis (12/114 patients). *CFTR*-mutations were classified as I-III (severe) and IV-V (mild)¹⁷. An adequate visualization of the pancreas by US was present in 92% of the patients (105/114). TE could be performed in 99 of the 114 patients. CF-liver disease (CFLD) was defined according to Debray *et al.*¹⁸.

Data Analysis. Statistical analyses were performed using SPSS v.23.0. Median, lower (Q_1) and upper (Q_3) interquartiles of the score in relation to the respective US parameter are given as median [Q_1 ; Q_3]. To detect statistical differences between the US findings-associated symptom scores, Mann-Whitney-U test was chosen following Kolmogorov-Smirnov (K-S) testing of normal distribution. To evaluate the difference between two patient groups (e.g. PS vs. PI), the Hodges-Lehmann (HL) estimator (median of all pairwise differences) with 95% confidence interval (CI) was reported. Nominal data was compared with the Chi-square test or Fisher's exact tests, as appropriate. Correlations between variables were examined using the Pearson's correlation coefficient. A p-value ≤ 0.05 indicates a significant difference or correlation.

Results

One-hundred fourteen patients (52.6% females) were enrolled prospectively. The mean age was 19.8 ± 13.6 (1–75) years. Exocrine PI was present in 106 patients (93%, Table 1) at time of inclusion, 8 patients were PS and 9 patients (8%) had undergone bowel resection. *CFTR* mutations were identified on both alleles in all patients.

Relation of US-findings to symptoms assessed with the CFAbd-Score. Ultrasound abnormalities detected in the included CF patients are listed in Table 2 and Fig. 2. Altogether, patients with pancreatic lipomatosis detected by abdominal US revealed lower values for CFAbd-Score (84 [76;91] vs. 94 [81;95]; $p = 0.036$) according to a higher burden of symptoms than those without pancreatic lipomatosis. In detail, they reported a higher burden of abdominal pain (AP) frequency (HL = 20 pts, 95% CI [0;20]; MWW $p = 0.018$), AP duration (HL = 0 pts, 95% CI [0;20]; MWW $p = 0.046$), and AP intensity (HL = 20 pts, 95% CI [10;30]; MWW $p = 0.002$) as well as flatulence (HL = 20 pts, 95% CI [0;20]; MWW $p = 0.006$), heartburn (HL = 0 pts, 95% CI [0;20]; MWW $p = 0.04$), and reflux of stomach content (HL = 0 pts, 95% CI [0;20]; MWW $p = 0.006$) (Supplementary Table S1). Furthermore, patients with micro-gallbladder detected in US reported higher rates of pain during bowel movements (HL = 10 pts, 95% CI [0;10]; MWW $p = 0.014$) whereas patients with liver steatosis more frequently suffered from fatty stools (HL = 0 pts, 95% CI [0;20]; MWW $p = 0.031$). At the same time, we did not detect significant differences in the CFAbd-Score with thickened bowel walls ($n = 26/114$), enlarged mesenteric lymph nodes ($n = 10/114$), appendiceal thickening ($n = 7/114$), free abdominal fluid ($n = 11/114$), pancreatic cystosis ($n = 6/105$), hepatic parenchymal abnormalities such as coarse/irregular parenchyma ($n = 25/114$), nodular liver edge ($n = 7/114$), periportal fibrosis ($n = 19/114$), as well as hepatomegaly ($n = 35/114$), splenomegaly ($n = 12/114$), decreased velocity of PV ($n = 11/114$) and increased TE ($n = 7/99$). Cholecystolithiasis ($n = 3/114$) and intussusception ($n = 2/114$) were not evaluated because of the small number of patients with these pathologies

	Variable	N (%)
Sex	Female	61 (52.6%)
	Male	53 (47.4%)
Genotype	<i>F508del/F508del</i>	48 (42.1%)
	<i>F508del/other</i>	53 (46.5%)
	<i>G551D/other</i>	15 (13.0%)
	<i>Other/other</i>	13 (10.7%)
Age (yrs.)	0–5	17 (14.9%)
	6–11	25 (21.9%)
	12–17	14 (12.3%)
	≥18	58 (50.9%)
Therapy	Antibiotic therapy in the previous 3 months	84 (73.7%)
	Pancreatic enzymes intake	107 (93.9%)
	Proton pump inhibitors (PPI)	30 (36.3%)
Comorbidities	Exocrine pancreatic insufficiency (EPI)	106 (93.0%)
	Meconium ileus (MI)	9 (7.9%)
	Distal intestinal obstruction syndrome (DIOS)	11 (9.6%)
	Rectal prolapse	13 (11.4%)
	CF liver disease (CFLD)	21 (18.4%)
	Small bowel resection	9 (7.9%)
Serum	Elevated [†] ALT	60 (52.6%)
	Elevated [†] AST	25 (21.9%)
	Elevated [†] γ -GT	12 (10.5%)
	Elevated [†] AP	48 (42.1%)
	Platelet counts reduced	5 (4.4%)

Table 1. Characteristics of the included CF patients (n = 114). [†]Elevated in regard to age and gender-related reference. ALT: alanine aminotransferase; AST: aspartate aminotransferase; γ -GT: γ -glutamyl transpeptidase; and AP: alkaline phosphatase.

Pathologies detected by abdominal US	N (%)
Pancreatic lipomatosis [†]	92/105 (88)
Liver steatosis	42/114 (37)
Hepatomegaly	35/114 (31)
Thickened bowel wall (>4 mm)	26/114 (23)
Coarse/irregular hepatic parenchyma	25/114 (22)
Micro-gallbladder	24/114 (21)
Periportal fibrosis	19/114 (17)
Splenomegaly	12/114 (11)
Free fluid in the abdominal cavity	11/114 (10)
Decreased velocity of PV	11/114 (10)
Enlarged mesenteric lymph nodes	10/114 (9)
Increased TE*	7/99 (7)
Appendiceal thickening	7/114 (6)
Nodular liver edge	7/114 (6)
Pancreatic cystosis [†]	6/105 (6)
Cholelithiasis	3/114 (3)
Intussusception	2/114 (2)

Table 2. Frequencies of detected abnormalities in abdominal ultrasound (US-17). [†]Pancreas was adequately visualized in 105 of the 114 patients. *Transient elastography (TE) was performed in 99 of the 114 patients.

detected in US. In general, CFAbd-Score did not correlate with US-17 scores ($r = 0.01$; $p = 0.92$), maximum velocity of PV ($r = 0.17$; $p = 0.08$), TE values ($r = 0.17$; $p = 0.09$), or the Williams score ($r = 0.02$; $p = 0.86$).

Furthermore, we did not find differences in US-17 between sexes. Altogether, only 5.3% of the included CF patients (6/114) did not reveal any pathological US-finding, which in part also could have been caused by superposition of the pancreas or other organs with bowel gases (minimal abdominal US). Moreover, enzyme dose was not related to US abnormalities (Supplementary Table S2).

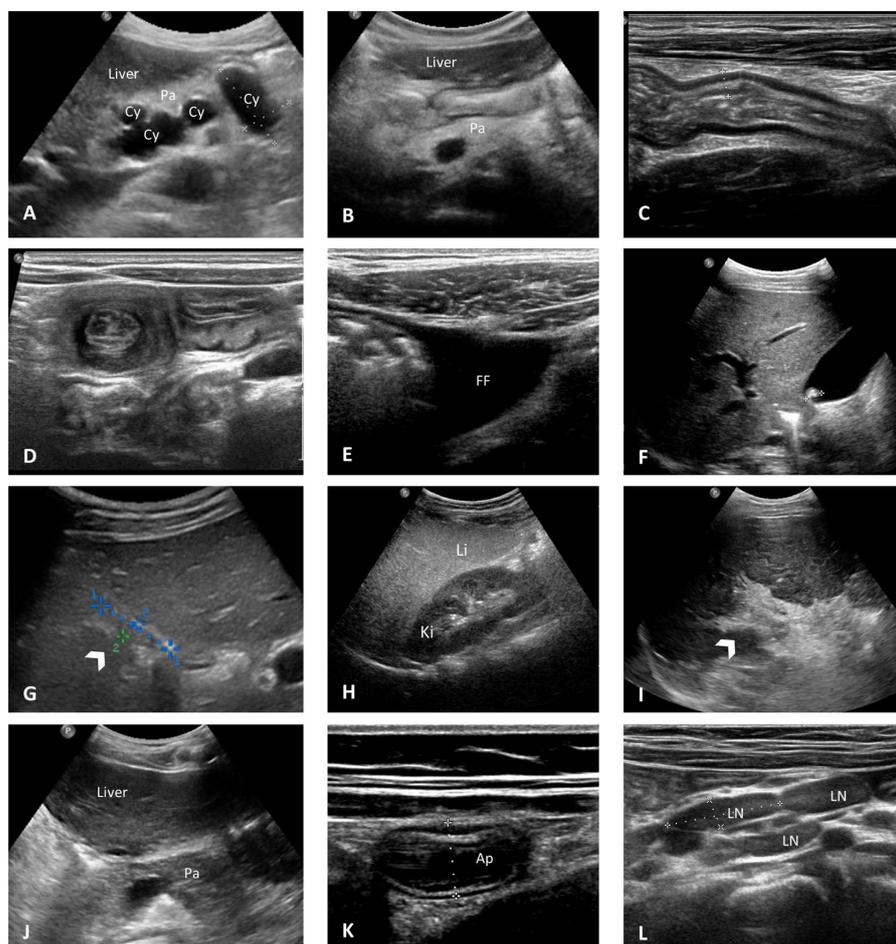


Figure 2. Specific US abnormalities identified in the Jena University CF cohort. (A) Pancreatic cystosis in an asymptomatic 41-year-old female patient heterozygous for *G551D* showing a hyperechoic pancreas (Pa) containing multiple cysts (Cy) with sizes approximately of $21 \times 34 \times 20$ mm and $21 \times 40 \times 24$ mm. CFAbd-Score: 82 (*range: highest burden of symptoms [0 points] to no symptoms [100 points], respectively). (B) Hyperechoic pancreas (Pa) with fat replacement as typical for pancreatic lipomatosis in a 10-year-old female patient homozygous for *F508del* with pancreatic insufficiency (symptom score: 95). (C) Longitudinal US image of the bowel wall in the terminal ileum measuring approximately 5 mm in a context of thickened bowel wall in a 19-year-old patient homozygous for *F508del* (symptom score: 81). (D) Transversal section of the small bowel showing the classic target sign appearance of intussusception in a 3-year-old female asymptomatic patient homozygous for *F508del* (symptom score: 96). (E) Free fluid (FF) in the right lower quadrant in a 32-year-old male patient homozygous for *F508del* with severe liver disease (symptom score: 80). (F) Single gallstone in a 12-year-old male asymptomatic patient heterozygous for *G551D* (symptom score: 100). (G) Gallbladder (arrow) in a 11-year-old female patient heterozygous for *G551D* measuring 18×4 mm in a context of microgallbladder (symptom score: 88). (H) US image of liver steatosis in a 4-year-old male patient homozygous for *F508del*, showing diffused increased echogenicity of the right lobe of the liver (Li) relative to right kidney cortex (Ki) (symptom score: 85). (I) Severe periportal fibrosis (arrow) in a 28-year-old male patient heterozygous for *F508del/R347P* with cystic fibrosis liver disease (CFLD) (symptom score: 87). (J) Isoechoic pancreas (Pa) relative to liver in a 18 year-old female patient heterozygous for *G551D* with pancreatic sufficiency (PS) in longitudinal sonogram at level of the pancreatic head (symptom score: 99). (K) US scan of the appendix (Ap) in a 10-year-old asymptomatic female patient homozygous for *F508del*. Note the thickened aspect of the appendix (diameter of 9 mm) (symptom score: 95). (L) Enlarged mesenteric lymph nodes (LN) greater than 18 mm in the larger axis in a 10-year-old asymptomatic patient homozygous for *F508del*, in a context of an inflammatory etiology (symptom score: 95).

US-findings in relation to the pancreatic status. Comparison of ultrasound findings between PS and PI patients revealed pancreatic lipomatosis in 75% vs. 91%, ($p = 0.034$) and liver steatosis in 13% vs. 42% of patients, respectively ($p = 0.021$) (Supplementary Table S3). Accordingly, pancreatic sufficient patients showed an overall lower frequency of US-findings compared with patients with PI (1.5 [0;2] vs. 3 [2;4]; $p = 0.033$).

Correlations between *CFTR* genotype and ultrasound findings (US-17). The number of US findings (US-17) showed a weak positive correlation with the PIP-score ($r = 0.26$; $p < 0.01$). Patients carrying at least one class IV to VI mutation revealed lower rates of pathologies in US-17 than patients carrying class I to III mutations (1 [1;2] vs. 3 [2;4]; $p = 0.004$). Thereby, patients carrying a *G551D* mutation ($\approx 13\%$ of the CF patients attended in the Jena University CF center) showed a lower number of US findings (US-Score) compared to those without this mutation (2 [1;3] vs. 3 [2;5]; $p = 0.018$). However, 8/15 of these patients received ivacaftor at the time of inclusion, so that we cannot determine whether this outcome is primary for patients with a *G551D* mutation or secondary due to therapy with the potent *CFTR* modulator.

Discussion

To our knowledge, this is the first study correlating the wide range of different findings in abdominal ultrasound in CF patients with the range of typical abdominal symptoms assessed with a second, revised version of our CF-specific score (CFAbd-Score). Thereby, we queried frequency, duration, and intensity of symptoms together with the related burden for the patient's daily life. By using US measures we found that particularly pancreatic lipomatosis is associated with an increased abdominal symptom load. Altogether, pancreatic lipomatosis was detected in 88% (92/105) of the included CF patients. Overall, this accords well to the pancreatic status, as the majority of the included CF patients with pancreatic lipomatosis were pancreas insufficient (PI) (91%), and these US changes are a common finding in this subgroup^{15,19}. By means of serial radiology, four states have been revealed in the course of the progression from PS to PI: normal pancreas, an atrophic state subsequent to recurrent pancreatitis, a lipomatous state in which pancreatic tissue is successively replaced by fat-dense tissue, and a macro- or microcystic pancreas with parietal calcifications²⁰. Finally, many patients who initially were classified as PS will become PI. The finding of lipomatosis in our PS patients indicates an advanced stage in the progression from PS to PI. On the basis of a first and preliminary version of our score (JenAbdomen-CF Score 1.0) we demonstrated that PI-CF patients report significantly more GI symptoms compared to PS-CF patients⁴. A recent study using a symptom questionnaire developed as PI-specific patient-reported outcome measure (PROM) revealed that 84% of the patients reported experiencing abdominal pain²¹. This is quite similar to our finding that 79% of our CF patients (92% PI) recurrently and regularly suffer from abdominal pain. The most frequent locations of abdominal pain were the umbilical (83%) and epigastric regions (11%)⁴. Our finding on the impact of a pancreatic lipomatosis fits very well with the patients' statements. The elevated rate of GI symptoms in PI patients may be caused by the combination of exocrine pancreatic deficiency to liberate enzymes, the failure to neutralize the acidic gastric contents, and intestinal inflammation²². Nevertheless, this finding should be taken carefully, as a smaller number of patients with elevated pancreatic echogenicity quoted as pancreatic lipomatosis still maintain residual pancreatic function according to a PS phenotype and vice versa. At the same time, US revealing a hypoechoic pancreas, which does not accord to pancreatic lipomatosis, could represent a fibrotic pancreas, as found in patients with PI⁹. However, these cases accounted for a minority of our cohort.

Interestingly, prominent US findings such as pancreatic cystosis, which was detected in 6/105 patients (6%), with cyst lesions measuring up to 40 mm did not significantly contribute to the burden of abdominal symptoms in these patients. However, this specific pathology might cause symptoms later, e.g. when further growth of cysts compress surrounding structures, as described in a single case report by deGruchy *et al.*: the 9 year old patient with pancreatic cystosis suffered from intense radiating abdominal pain²³. Previously, Dietrich *et al.* reported that abdominal US reveals small pancreatic cysts with a mean diameter of 18 mm (7–27 mm) in up to 18% of CF patients ($n = 12/67$)⁹.

Thickened bowel walls, as detected in 26 of 114 patients (23%) of our CF cohort, were not significantly correlated with an increased burden of GI symptoms. Thereby, until now, etiology of bowel wall thickening in CF is not fully understood. A relation to intestinal inflammation, and possibly to dysbiosis has been discussed and also that in the long run it could lead to segmental submucosal fibrosis²⁴. However, this assumption needs further evaluation in future studies. As previously reported, the dose of applied pancreatic enzymes did not correlate with the presence of thickened bowel walls²⁴, even though such a correlation was discussed²⁵.

The presence of an enlarged appendix was observed in 7 of the included CF patients (6%). This finding was not related to an increased burden of GI symptoms. Apparently, patients remain asymptomatic until occurrence of an appendiceal perforation or abscess formation⁶. Altogether, the appendix in CF has been reported to be usually filled with mucoid contents, which maintain the appendiceal lumen distended and less prone to total luminal occlusion and acute inflammation. Consequently, progress to acute appendicitis in CF appears to be rare, occurring in only 1–2% of patients²⁶.

As suspected, hepatic abnormalities including coarse parenchyma, nodular edges, periportal fibrosis, organomegaly, increased TE, and decreased PV velocity was not correlated with an increased burden of GI symptoms. However, symptoms like upper GI hemorrhage and tarry stools may manifest with end-stage liver disease²⁷. Such an acute hepatic decompensation, which is often associated with metabolic disorders, is rare and did not occur in our observational period.

In the present study, 42 patients (37%) revealed sonographic signs of liver steatosis, which is in accordance with previous ultrasound studies reporting steatosis in 23–75% of CF patients²⁸. The most common abdominal symptom found in that subgroup was 'fatty stools', which was significantly more frequent in this group ($p = 0.031$). Interestingly, 41 out of these 42 patients were PI. As recently published, patients who underwent pancreatectomy are likely to develop hepatosteatosis due to maldigestion. This largely depended on the endo- and

exocrine function of the remnant pancreas and a well-adjusted enzyme supplementation²⁹. In non-CF patients, hepatosteatosis is closely linked to an impaired glucose metabolism³⁰. It is conceivable that also in CF the development of a liver steatosis is promoted by insulin deficiency due to pancreatic insufficiency. Once in progress, the situation is worsened by an inadequate synthesis of hepatic phosphatidylcholine and apolipoprotein B, which results in impaired VLDL assembly and, subsequently, disturbed removal of triacylglycerols from the liver^{1,31,32}. Moreover, deficiency of essential fatty acids and carnitine are factors discussed in the context of hepatosteatosis in CF³³.

Enlarged abdominal lymph nodes, consistently with a reactive morphology, were detected in 10 of our patients (9%). This finding was not associated with elevated GI symptomatology. Likewise, detection of gallstones (found in 3% of patients) was not related to elevated symptoms. However, it is not unlikely to give rise to symptoms in the course of time.

Interestingly, PS patients carrying a mild genotype (class IV–VI) as well as patients with a *G551D* mutation had significantly lower rates of US abnormalities (US-17) compared to patients with class I–II mutations and PI, respectively. As a limitation, 8 of the 15 patients carrying a *G551D* mutation were treated with ivacaftor (IVA) at the time of inclusion. With higher patient numbers, it would be most interesting to assess changes of abdominal symptoms due to introduction of the potent *CFTR* modulator. According to recent publications, IVA improved many of the abdominal pathologies such as a hyperacidic gastric content and liver steatosis, and even restored exocrine pancreatic function to some extent in some patients^{34–36}. Even more impressive, improvement of GI symptoms was observed in CF patients treated with orkambi, the combination of the *CFTR* corrector lumacaftor and the potentiator IVA, which was recently approved for CF patients homozygous for *F508del* in many countries. Here is where a differential score assessing the multimodal abdominal involvement in CF is of outstanding interest to sufficiently document and quantify such interesting effects. This would be one of many interesting fields for the application of a score like the present CFAbd-Score, which could bring substantial new insights as a PROM. As previously mentioned, the validation of this PROM is still in progress and, just like the JenAbdomen-CF Score 1.0, the second version presented herein is preliminary⁴. Nevertheless, we show that especially pancreatic lipomatosis was well reflected by self-reported elevated GI-symptoms. Our data may contribute to the still little understanding of the abdominal involvement in CF.

References

- Kelly, T. & Buxbaum, J. Gastrointestinal Manifestations of Cystic Fibrosis. *Digestive diseases and sciences* **60**, 1903–1913, <https://doi.org/10.1007/s10620-015-3546-7> (2015).
- Steinkamp, G. & Wiedemann, B. 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 (2002).
- Liong, S. Y., Awad, D., Jones, A. M. & Sukumar, S. A. The adult cystic fibrosis patient with abdominal pain: what the radiologist needs to know. *Clinical radiology* **66**, 132–139, <https://doi.org/10.1016/j.crad.2010.09.002> (2011).
- Tabori, H. *et al.* Abdominal symptoms in cystic fibrosis and their relation to genotype, history, clinical and laboratory findings. *PloS one* **12**, e0174463, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174463> (2017).
- Maconi, G., Bianchi Porro G (eds.). *Ultrasound of the Gastrointestinal Tract.*, (Springer-Verlag, 2013).
- Lardenoye, S. W., Puylaert, J. B., Smit, M. J. & Holscher, H. C. Appendix in children with cystic fibrosis: US features. *Radiology* **232**, 187–189, <https://doi.org/10.1148/radiol.2321030363> (2004).
- Berrocal, T., Pajares, M. P. & Zubillaga, A. F. Pancreatic cystosis in children and young adults with cystic fibrosis: sonographic, CT, and MRI findings. *AJR. American journal of roentgenology* **184**, 1305–1309, <https://doi.org/10.2214/ajr.184.4.01841305> (2005).
- Worthen, N. J. & Beabeau, D. Normal pancreatic echogenicity: relation to age and body fat. *AJR. American journal of roentgenology* **139**, 1095–1098, <https://doi.org/10.2214/ajr.139.6.1095> (1982).
- Dietrich, C. F. *et al.* Sonographic findings of the hepatobiliary-pancreatic system in adult patients with cystic fibrosis. *Journal of ultrasound in medicine: official journal of the American Institute of Ultrasound in Medicine* **21**, 409–416; quiz417 (2002).
- Williams, S. G. *et al.* An ultrasound scoring system for the diagnosis of liver disease in cystic fibrosis. *Journal of hepatology* **22**, 513–521 (1995).
- Williams, C. D. *et al.* Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis among a largely middle-aged population utilizing ultrasound and liver biopsy: a prospective study. *Gastroenterology* **140**, 124–131, <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2010.09.038> (2011).
- Kuo, C. H., Changchien, C. S., Tai, D. I. & Chen, J. J. Portal vein velocity by duplex Doppler ultrasound as an indication of the clinical severity of portal hypertension. *Changcheng yi xue za zhi* **18**, 217–223 (1995).
- Friedrich-Rust, M. *et al.* Non-invasive measurement of liver and pancreas fibrosis in patients with cystic fibrosis. *Journal of cystic fibrosis: official journal of the European Cystic Fibrosis Society* **12**, 431–439, <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2012.12.013> (2013).
- Lawson, E. E., Grand, R. J., Neff, R. K. & Cohen, L. F. Clinical estimation of liver span in infants and children. *American journal of diseases of children (1960)* **132**, 474–476 (1978).
- Rosenberg, H. K. *et al.* Normal splenic size in infants and children: sonographic measurements. *AJR. American journal of roentgenology* **157**, 119–121, <https://doi.org/10.2214/ajr.157.1.2048509> (1991).
- Ooi, C. Y. *et al.* Type of *CFTR* mutation determines risk of pancreatitis in patients with cystic fibrosis. *Gastroenterology* **140**, 153–161, <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2010.09.046> (2011).
- Ahmed, N. *et al.* Molecular consequences of cystic fibrosis transmembrane regulator (*CFTR*) gene mutations in the exocrine pancreas. *Gut* **52**, 1159–1164 (2003).
- Debray, D., Kelly, D., Houwen, R., Strandvik, B. & Colombo, C. Best practice guidance for the diagnosis and management of cystic fibrosis-associated liver disease. *Journal of cystic fibrosis: official journal of the European Cystic Fibrosis Society* **10**(Suppl 2), S29–36, [https://doi.org/10.1016/s1569-1993\(11\)60006-4](https://doi.org/10.1016/s1569-1993(11)60006-4) (2011).
- Engjom, T. *et al.* Ultrasound echo-intensity predicts severe pancreatic affection in cystic fibrosis patients. *PloS one* **10**, e0121121, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0121121> (2015).
- Feigelson, J. *et al.* Imaging changes in the pancreas in cystic fibrosis: a retrospective evaluation of 55 cases seen over a period of 9 years. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* **30**, 145–151 (2000).
- Johnson, C. D. *et al.* Qualitative Assessment of the Symptoms and Impact of Pancreatic Exocrine Insufficiency (PEI) to Inform the Development of a Patient-Reported Outcome (PRO) Instrument. *The patient*. <https://doi.org/10.1007/s40271-017-0233-0> (2017).
- Hart, P. A. & Conwell, D. L. Challenges and Updates in the Management of Exocrine Pancreatic Insufficiency. *Pancreas* **45**, 1–4, <https://doi.org/10.1097/mpa.0000000000000457> (2016).

23. deGruchy, S. & Lee, E. Y. Pancreatic cystosis in a child with cystic fibrosis. *Pediatric radiology* **38**, 1142, <https://doi.org/10.1007/s00247-008-0968-9> (2008).
24. Dialer, I., Hundt, C., Bertele-Harms, R. M. & Harms, H. K. Sonographic evaluation of bowel wall thickness in patients with cystic fibrosis. *Journal of clinical gastroenterology* **37**, 55–60 (2003).
25. Smyth, R. L. Fibrosing colonopathy in cystic fibrosis. *Archives of disease in childhood* **74**, 464–468 (1996).
26. Shields, M. D., Levison, H., Reisman, J. J., Durie, P. R. & Canny, G. J. Appendicitis in cystic fibrosis. *Archives of disease in childhood* **66**, 307–310 (1991).
27. Colombo, C. Liver disease in cystic fibrosis. *Current opinion in pulmonary medicine* **13**, 529–536, <https://doi.org/10.1097/MCP.0b013e3282f10a16> (2007).
28. Flass, T. & Narkewicz, M. R. Cirrhosis and other liver disease in cystic fibrosis. *Journal of cystic fibrosis: official journal of the European Cystic Fibrosis Society* **12**, 116–124, <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2012.11.010> (2013).
29. Hata, T. *et al.* Clinical Characteristics and Risk Factors for the Development of Postoperative Hepatic Steatosis After Total Pancreatectomy. *Pancreas* **45**, 362–369, <https://doi.org/10.1097/mpa.0000000000000462> (2016).
30. Lewis, J. R. & Mohanty, S. R. Nonalcoholic fatty liver disease: a review and update. *Digestive diseases and sciences* **55**, 560–578, <https://doi.org/10.1007/s10620-009-1081-0> (2010).
31. Vaughan, W. J., Lindgren, F. T., Whalen, J. B. & Abraham, S. Serum lipoprotein concentrations in cystic fibrosis. *Science (New York, N.Y.)* **199**, 783–786 (1978).
32. Grothe, J. *et al.* Plasma phosphatidylcholine alterations in cystic fibrosis patients: impaired metabolism and correlation with lung function and inflammation. *Cellular physiology and biochemistry: international journal of experimental cellular physiology, biochemistry, and pharmacology* **35**, 1437–1453, <https://doi.org/10.1159/000373964> (2015).
33. Treem, W. R. & Stanley, C. A. Massive hepatomegaly, steatosis, and secondary plasma carnitine deficiency in an infant with cystic fibrosis. *Pediatrics* **83**, 993–997 (1989).
34. Hayes, D. Jr., Warren, P. S., McCoy, K. S. & Sheikh, S. I. Improvement of hepatic steatosis in cystic fibrosis with ivacaftor therapy. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* **60**, 578–579, <https://doi.org/10.1097/mpg.0000000000000765> (2015).
35. Rowe, S. M. *et al.* Clinical mechanism of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator potentiator ivacaftor in G551D-mediated cystic fibrosis. *American journal of respiratory and critical care medicine* **190**, 175–184, <https://doi.org/10.1164/rccm.201404-0703OC> (2014).
36. Elborn, J. S. *et al.* Efficacy and safety of lumacaftor/ivacaftor combination therapy in patients with cystic fibrosis homozygous for Phe508del CFTR by pulmonary function subgroup: a pooled analysis. *The Lancet. Respiratory medicine* **4**, 617–626, [https://doi.org/10.1016/s2213-2600\(16\)30121-7](https://doi.org/10.1016/s2213-2600(16)30121-7) (2016).

Acknowledgements

The authors especially thank the patients who participated in this study. This research was supported by the German Academic Exchange Service (DAAD, Grant: 57130097) to HT. The funder had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Author Contributions

Conceptualization: H.T., J.G.M., C.A. Funding acquisition: H.T., J.G.M. Project administration: C.A., A.J., J.G.M. Recruitment: J.G.M., M.L., R.K.M., Investigation: H.T., J.G.M., D.M.R., M.L., R.K.M. Data acquisition: D.M.R., H.T., C.A. Formal analysis: H.T., A.J., T.L. Resources: J.G.M., H.J.M. Supervision: J.G.M., H.J.M. Draft writing - original draft: H.T., A.J., J.G.M. Drawing: H.T., A.J.

Additional Information

Supplementary information accompanies this paper at <https://doi.org/10.1038/s41598-017-17302-4>.

Competing Interests: The authors declare that they have no competing interests.

Publisher's note: Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons license, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons license and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this license, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

© The Author(s) 2017

7 Diskussion

Ziel der Studie war es, die abdominellen Symptome qualitativ und quantitativ zu erfassen und die Ergebnisse mit klinischen, laborchemischen und sonographischen Parametern zu korrelieren. Es wurde ein neuer Fragebogen (CFAbd-Score 1.0/Anfangs JenAbdomen-Score 1.0 genannt) zu abdominellen Beschwerden bei CF-Patienten erstellt, mit dem 131 CF-Patienten aller Altersgruppen in unserem Zentrum befragt wurden. Die Ergebnisse wurden mit abdominellen Manifestationen, Voroperationen, dem Ernährungszustand, dem *CFTR*-Genotyp, Laborbefunden, der Besiedlung der Atemwege mit *P. aeruginosa* (PsA) und *S. aureus* (SA), antibiotischer Therapie und der Lungenfunktion korreliert. Die Ultraschallbefunde wurden bei 114 CF-Patienten unseres Zentrums mit der zweiten Version unseres Fragebogens (CFAbd-Score) assoziiert.

Voraussetzung für die Anerkennung von PROMs als psychometrisches Instrument ist eine Untersuchung der psychometrischen Eigenschaften, also der Gütekriterien, entsprechend internationalen Standards. Im Rahmen der vorliegenden Studie erfolgte die Prüfung der Inhaltsvalidität.

7.1 Abdominelle Symptome und JenAbdomen-CF Score 1.0

Alle unsere eingeschlossenen CF Patienten (100%) wiesen mindestens ein abdominelles Symptom in den letzten drei Monaten auf. Der Anteil der CF-Patienten mit mindestens einem abdominellen Symptom betrug bei Fraquelli bis zu 60% (Fraquelli, Baccarin et al. 2016). Dieser Unterschied könnte darauf zurückgeführt werden, dass mit dem JenAbdomen-CF Score 1.0 einerseits mehr abdominelle Symptome (17 Items) erfragt wurden und andererseits die Symptome in einer sechsstufigen Skala (0 – 5) eingeteilt waren, so dass auch Symptome mit geringer Häufigkeit (Stufe 1 – 2) erfasst wurden. Eine Vergleichuntersuchung mit einem gesunden Kollektiv ist im Rahmen dieser Studie des Abdomen-Projektes nicht durchgeführt worden. Dieser Schritt der Validierung erfolgt im Rahmen einer weiteren Dissertation. Wenn man, wie in der Studie von Muck et al. CF-Patienten retrospektiv folgende geschlossene Frage stellt: *„Haben Sie über chronisch rezidivierende Bauchschmerzen, mindestens 1 Episode pro Monat in 3 aufeinanderfolgenden Monaten geklagt, die Einfluss auf die täglichen Verrichtungen haben“*, beklagen nur etwa 6% der CF-Patienten (8/130) rezidivierende Bauchschmerzen (englisch, Recurrent abdominal pain, *RAP*) (Munck, Pesle et al. 2012).

Demgegenüber wurden in unserem Fragebogen offenen Fragen gestellt, z.B.: *„Wie oft haben*

Sie in den letzten 3 Monaten unter Bauchschmerz gelitten, und *„Wann hatten Sie im letzten Monat Bauchschmerzen“* unabhängig von Einschränkungen der täglichen Aktivität. Die Patienten gaben hierauf zu 34% (45/131) an „ca. 1-mal pro Woche“, zu 7% (9/131) „fast täglich“ und zu 1,5% (2/131) „täglich“ an diesen Symptomen gelitten zu haben. Die Häufigkeit ist erheblich höher als die berichtete Prävalenz bei Munck et al., da die zusätzliche Komponente bezüglich des Einflusses der Bauchschmerzen in der täglichen Aktivität nicht zwingend einbezogen ist.

Festini et al. gaben für ihr Patientenkollektiv eine Häufigkeit der Bauchschmerzen von 33% und des Sodbrennens von 51% an (Festini, Ballarin et al. 2004). Koh et al. beschrieben für 46% ihrer Patienten chronische Schmerzen, wobei diese bei der Hälfte der Untersuchten im Abdomen lokalisiert wurden (Koh, Harrison et al. 2005). Weitere Angaben zu den Schmerzen bezogen sich in dieser Studie auf die Intensität (mild: 72% der Patienten), die Dauer (weniger als 1 Stunde: 65%) und die Häufigkeit (weniger als einmal pro Monat: 36%). Dagegen wiesen 43% unserer Patienten moderate Bauchschmerzen (VAS: 4-5 Punkte), 45% eine Häufigkeit von ca. einmal pro Monat und 49% eine Dauer von weniger als 45 Minuten auf. Die Studie von Sermet-Gaudelus et al. ergab, dass 60% der Kinder und 36% der Erwachsenen Bauchschmerzen im letzten Monat vor dem Rekrutierungstag aufwiesen, bei denen die Schmerzintensität eine durchschnittliche Punktzahl auf der VAS von 4,9 Punkten erreichte (Sermet-Gaudelus, De Villartay et al. 2009). Zum Vergleich gaben fast 79% unserer Patienten (104/131) an, Bauchschmerzen gehabt zu haben. Die durchschnittliche VAS lag bei 3,4 Punkten, was moderaten Schmerzen entspricht (Simanski, Lefering et al.).

Pankreasinsuffiziente Patienten müssen die fehlenden Pankreasenzyme oral supplementieren, um die Verdauung der Nahrungsinhaltsstoffe (in erster Linie Fette und Fettbegleitstoffe) zu gewährleisten. Pankreasinsuffizienz betrifft ca. 85% der CF Patienten. Es ist denkbar, dass die gastrointestinalen Symptome bei inadäquater Enzymeinnahme (bspw. durch mangelnde Therapieadhärenz) zunehmen, bzw. umgekehrt sich durch strikte Adhärenz verbessern.

76% der eingeschlossenen Patienten gaben an, ihre Enzyme regelmäßig eingenommen zu haben. 14% der Patienten gestanden ein, die Enzymeinnahme „mehrmals pro Monat“, 7% „einmal die Woche“, 3% „mehrmals in der Woche“, zu vergessen zu haben. Im Vergleich dazu betrug die berichtete Adhärenz in der Studie von Modi et al. lediglich 50% (Modi, Lim et al. 2006).

In unserer Studie zeigte sich, dass weibliche Patienten tendenziell mehr abdominelle Symptome aufwiesen als männliche Patienten (17,7 vs. 15,2; $p=0,067$). Ähnlich sind die Befunde von Schmidt (Schmidt, Wenninger et al. 2009), in denen die Werte von Jungen ($n=75$) und Mädchen ($n=61$) verglichen wurden. Im Selbstbericht (CFQk-R) (1 Frage) zeigte sich ein signifikanter Unterschied in den "Gastrointestinalen Symptomen" (77 vs. 67; $p=0,03$). Mädchen wiesen jeweils niedrigere Werte auf als Jungen, die im Zusammenhang mit einer niedrigeren Lebensqualität stehen (Perquin, Hazebroek-Kampschreur et al. 2000, Munck, Pesle et al. 2012). Für unser Kollektiv haben wir keine signifikante Altersabhängigkeit der abdominellen Beschwerden festgestellt ($r=-0,1$; $p=0,25$). Diese fehlende Korrelation zwischen dem Alter der CF-Patienten und dem JenAbdomen-CF Score 1.0 bestätigt, dass gastrointestinale Symptome in allen Altersklassen auftreten (Lee, Rawlings et al. 2016).

Unsere Ergebnisse zeigen, dass Patienten mit milder Erkrankung ($FEV1 \geq 70\%$) im Trend einen höheren Score aufwiesen als Patienten mit schwerer Erkrankung. Das heißt, dass mehr abdominelle Symptome (JenAbdomen-CF Score 1.0) nicht mit einer fortgeschrittenen Erkrankung im Zusammenhang besteht. Daraus könnte man ableiten, dass bei Patienten mit schwerer pulmonaler Manifestation nicht notwendigerweise gleichzeitig eine schwere GI Problematik besteht. Hier sind weiterführende prospektive Studien erforderlich (O'Sullivan and Freedman 2009).

In unserem Studienkollektiv fanden sich keine Unterschiede in den JenAbdomen-CF Scores 1.0 zwischen der CFLD-Gruppe und Patienten ohne Lebererkrankung (MW: 18,3 Punkte vs. 19,8 Punkte; $p=0,49$). Sogar im Vergleich der CFLD-induzierten zirrhotischen mit den lebergesunden Patienten gab es keine Unterschiede (MW: 17,9 vs. 19,8; $p=0,46$). Gründe hierfür wären zum einen, dass alle unserer 7 zirrhotischen Patienten noch eine kompensierte Leberzirrhose ohne Ikterus, Aszites und Enzephalopathie aufwiesen (6 Patienten im Stadium Child-Pugh-Stadium A, einen im Stadium B) und zum anderen, dass 6 der 7 Patienten keine Zeichen einer portalen Hypertension entwickelten (nur bei einem Patienten mit ösophagealen Varizen II°, Z.n. Ligaturen). Unsere Beobachtungen passen zum klassischen Verlauf einer CFLD, der bis zum Auftreten von Symptomen des Endstadiums häufig asymptomatisch ist, so dass die CFLD oft erst verspätet diagnostiziert wird (Colombo 2007, Debray, Kelly et al. 2011, Stauer, Halilbasic et al. 2014).

Es wurde im Vorfeld nachgewiesen, dass ein reduzierter Ernährungszustand einen direkt negativen Einfluss auf die pulmonale Situation und das Überleben der Patienten hat

(Steinkamp and Wiedemann 2002, Cano Megias, Guisado Vasco et al. 2015). Trotzdem gibt es bisher kaum Daten zum Zusammenhang des Ernährungsstatus mit den gastrointestinalen Manifestationen, den abdominellen Symptomen, sowie einer Darmentzündung und Dysbiose. Ein schlechter Ernährungszustand wurde in unserer Studie nicht mit häufigeren abdominellen Beschwerden im JenAbdomen-CF Score 1.0 assoziiert. Es stellt sich die Frage, ob eine Darmentzündung (Bruzzese, Raia et al. 2004, Werlin, Benuri-Silbiger et al. 2010, Munck 2014, Dhaliwal, Leach et al. 2015) bzw. eine Dysbiose (Bruzzese, Callegari et al. 2014, Li and Somerset 2014) zu häufigeren abdominellen Symptomen führt.

Weiterhin zeigen unsere Daten, dass die Anzahl der Bauch-Operationen mit der abdominellen Problematik bei CF in Zusammenhang steht. Wir konnten im Rahmen unserer Studie zeigen, dass am Bauch operierte Patienten (43/131; 33%) signifikant erhöhte Mittelwerte des Abdomen-Scores aufwiesen als die nicht operierten (19,2 vs. 15,2; $p=0,006$). Von diesen Patienten hatten 56% (24/43) mehr als einen abdominellen Eingriff, wobei der Score nicht mit der Anzahl der Operationen korrelierte ($r=0,2$; $p=0,02$). Am häufigsten führten, wie erwartet, „intestinale Obstruktion“ mit verschiedenen Ursachen (58%) zur OP-Indikation. Bei 17/24 Patienten (71%) wurde ein Ileostoma nach Bishop und Koop behandelt, v.a. wegen Volvulus, ileokolische Invagination und Darmatresie, gefolgt von der jeweiligen Rückverlegung des endständigen Stomas nach Wochen bis Monaten. Ob die Beschwerden präoperativ ausgeprägter waren, können wir retrospektiv nicht beurteilen. Grundlegend ist aber präoperativ von ausgeprägten abdominellen Symptomen auszugehen. *P. aeruginosa* ist bei CF ein besonders relevanter Problemkeim, der mit vorzeitigem Versterben durch fortschreitenden Funktionsverlust der Lunge assoziiert ist. Zum Zusammenhang einer PsA-Besiedlung mit der abdominellen Symptomatik bei CF ist wenig bekannt. Im Rahmen dieser Studie hatten intermittierend mit PsA besiedelte CF-Patienten signifikant mehr abdominelle Symptome, als PsA-freie sowie mit PsA chronisch besiedelte Patienten. Als wichtige Ursache für diese Unterschiede sehen wir, dass intermittierend besiedelte CF-Patienten neben der Antibiotikainhalation mehr orales Ciprofloxacin zur Eradikation des Problemkeims erhalten, das unerwünschte abdominelle Symptome verursachen kann. In der Subgruppe der Kinder und Jugendlichen wiesen die mit i.v. Antibiotikatherapie in den letzten drei Monaten im Trend mehr abdominelle Symptome auf als die, die nicht mit Antibiotika behandelt wurden. Es ist bekannt, dass die Darmmikrobiota durch Antibiotikatherapie beeinflusst und langfristig beeinträchtigt werden. Zum Beispiel ist

die Einnahme von Breitbandantibiotika zwischen dem 9. und 12. Lebensjahr mit einem erhöhten Risiko von Bauchschmerzen assoziiert, da sie eine Reduktion von physiologischen anaeroben Bakterien verursachen (Uusijarvi, Bergstrom et al. 2014). Wir haben gesehen, dass orales Ciprofloxacin im Trend mit mehr abdominellen Symptomen assoziiert ist im Vergleich zu anderen oralen Therapien (Sullivan, Edlund et al. 2001, Jernberg, Lofmark et al. 2010). Diese Beobachtung erklärt warum Patienten mit intermittierender PsA-Besiedlung mehr abdominelle Symptome aufwiesen, da diese Patienten oft langfristige Ciprofloxacin-Therapie für 30 (-90) Tage erhalten. Einige Studien haben gezeigt, dass Ciprofloxacin das Gleichgewicht der Darmbesiedlung durch Supprimieren der gram-negativen Bakterien wie z.B. Enterobacteriaceae und Bacteroides stört (Wistrom, Gentry et al. 1992, Borzio, Salerno et al. 1997), was zu einer Dysbiose führen kann (Bruzese, Callegari et al. 2014).

Insgesamt wiesen die eingeschlossenen 131 CF Patienten 35 verschiedene Mutationen im *CFTR*-Gen auf; am häufigsten die Mutation deltaF508, welche bei 117 Patienten (89%) nachweisbar war. 56 Patienten (43%) waren homozygot für deltaF508 und 17 Patienten (13%) waren heterozygot für die *CFTR*-Mutation G551D. Patienten mit der Mutation G551D (MW: 13,6) wiesen signifikant weniger abdominelle Symptome auf, als andere Patienten (MW: 17,0). Von den G551D-tragenden Patienten waren 59% (10 Pat.) mit Ivacaftor (IVA) behandelt. Die durchschnittliche Score-Punktzahl der Patienten mit einer G551D-Mutation lag bei 11,7. Wir können aber nicht differenzieren, ob dieses Ergebnis auf die IVA-Therapie oder die milde Ausprägung des Phänotyps bei G551D-Mutation zurückzuführen ist (Parad 1996, Comer, Ennis et al. 2009). Hierzu liegen bisher keine Studien vor, auch aufgrund des fehlenden wissenschaftlichen Werkzeugs zur Erfassung der abdominellen Symptome bei Mukoviszidose. Auch hier liegt eine interessante Anwendungsmöglichkeit des neuen Scores. Neue Therapieansätze, die den *CFTR*-Kanal modulieren, führen zu einem vermehrten Öffnen der *CFTR*-Kanäle und damit potentiell zur Minderung der CF Manifestation in den verschiedenen Organsystemen (Wainwright, Elborn et al. 2015). Das bekannteste Beispiel ist der inzwischen für die Klasse III (z.B. die Mutation G551D) zugelassene *CFTR*-Potenziator Ivacaftor. PROMs sind wichtige Hilfsmittel, um eine Perspektive des Patienten von der Krankheit zu liefern (Health, Human Services et al. 2006). PROMs sind auch von großem Interesse, um die Effekte der neuen und vielversprechenden *CFTR*-modulierenden Medikamente (Korrektoren und Potenziatoren) in der neuen Ära der CF-Therapie zu evaluieren. Unser Score, dessen

Validierung nach den Kriterien von der Food and Drug Administration (FDA) erfolgt, soll ein effektives Instrument für die Erfassung der abdominalen Symptome bei CF werden.

7.2 Ultraschallbefunde und CFAbd-Score

Ein Hauptergebnis der Ultraschalluntersuchung ist, dass Patienten mit sonographisch diagnostizierter Pankreaslipomatose deutlich mehr abdominale Beschwerden und somit einen höheren Score hatten, als Patienten ohne diese Diagnose. An dieser Stelle sei darauf hingewiesen, dass der Score für diesen Teil der Arbeit bereits weiterentwickelt und leicht verändert berechnet wurde. Ein niedriger Score (neu: „CFAbd-Score“) bedeutet eine höhere Symptomlast. Eine standardisierte Berechnung des Scores soll in den kommenden Studien entwickelt werden.

Eine Pankreaslipomatose wurde bei 92 von 105 untersuchten Patienten nachgewiesen (88%). Ein Großteil der Patienten mit Pankreaslipomatose war pankreasinsuffizient (91%). Es wurde häufiger ein echovermehrtes Pankreas nachgewiesen als hypoechogenes Parenchym im Sinne eines fibrotischen Umbaus. In der Studie von Friedrich-Rust wurde gezeigt, dass pankreasinsuffiziente (PI) Patienten niedrigere ARFI (Acoustic Radiation Force Impulse Imaging)-Befunde im Pankreas aufwiesen als pankreassuffiziente Patienten (0.90 m/s vs. 1.08 m/s). Ein Grund dafür ist ein Überwiegen des Fettgewebes gegenüber dem fibrotischen Ersatz des erkrankten Pankreas bei pankreasinsuffizienten Patienten (Friedrich-Rust, Schlueter et al. 2013). Bei pankreasinsuffizienten Patienten wird trotzdem am häufigsten eine vermehrte Echogenität des Pankreasparenchyms in der Sonographie gefunden (Engjom, Erchinger et al. 2015).

In Bezug auf die abdominalen Symptome berichteten pankreassuffiziente Patienten (PS) im Trend weniger Beschwerden im JenAbdomen-CF Score 1.0, als pankreasinsuffiziente Patienten (PI) (Tabori, Arnold et al. 2017). Ein Grund dafür ist, dass pankreassuffiziente Patienten (PS) in der Regel einen milden Genotyp (Klasse I-III/Klasse IV-V) aufweisen. Obwohl pankreassuffiziente Patienten (PS) ein großes Risiko für die Entwicklung von Pankreatitiden haben, sind meist die Symptome bei einer akuten Pankreatitis bzw. Schub einer chronischen Pankreatitis transient und selbstlimitierend (Freeman and Ooi 2017). Zum Vergleich berichteten Johnson et al., dass 84% der PI-Patienten unter Bauchschmerzen litten (Johnson, Arbuckle et al. 2017).

Das Beispiel eines unserer zwölfjährigen Patienten zeigt aber auch, dass mit zwei schweren Mutationen (deltaF508/G551D) eine residuale Pankreasfunktion (PS) vorhanden sein kann,

wenn ein ausreichender residualer Teil des Gewebes trotz der ansonsten fast vollständigen Destruktion des Pankreas noch funktionell ist. Meistens kommt es bei diesen Patienten im späteren Alter durch rezidivierende Pankreatitiden zur Entwicklung einer PI (Engjom, Erchinger et al. 2015).

Bezüglich der abdominalen Symptome fand sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen mit und ohne Pankreaszysten. DeGruchy et. al beschrieben am Beispiel eines 9-jährigen Patienten, dass klinische Symptome im Zusammenhang mit Pankreaszysten erst dann auftreten, wenn die Zysten eine Größe von über 40 mm entwickelt haben (deGruchy and Lee 2008). In einer anderen retrospektiven Studie berichteten Dietrich et al. bei 72 CF-Patienten, dass bei 18% (12/67) der CF-Patienten Pankreaszysten mit einem durchschnittlichen Durchmesser von 18 mm (7-27 mm) auftraten (Dietrich, Chichakli et al. 2002).

Weiterhin konnten wir feststellen, dass Patienten mit verdickter Darmwand (23%) nicht häufiger unter abdominalen Symptomen leiden, als Patienten ohne Darmwandverdickung. Die Ursachen für Darmwandverdickung sind weitestgehend unbekannt. Möglicherweise ist sie Folge einer Entzündung, die mit einer Dysbiose in Zusammenhang stehen könnte und langfristig zu einer segmentalen submukosalen Fibrose führt (Dialer, Hundt et al. 2003). Bei 6% unserer Patienten wurde sonographisch eine Appendixvergrößerung nachgewiesen, ohne dass sie typische Symptome einer Appendizitis aufwiesen. Dies passt zu den Beobachtungen von Keyzer et al., die in einer Studie mit 71 CF-Patienten zeigten, dass sich die Appendixgröße zwischen Gesunden und CF-Patienten unabhängig von der Symptomatik signifikant unterscheidet (6,6 mm vs. 10,6 mm; $p < 0,001$) (Keyzer, Knoop et al. 2014). Eine Appendixverdickung ist ein häufiger Befund in der Sonographie, der nach Menten und Labecque bei CF-Patienten öfter asymptomatisch verbleibt (Lardenoye, Puylaert et al. 2004, Menten, Lebecque et al. 2005). In unserem Kollektiv litten 9% der Patienten unter einer sonographischen / oder im Vorfeld klinisch manifesten Appendizitis, während die Prävalenz bei CF-Patienten mit 1-2% unter der allgemeinen Prävalenz von 7% liegt (Shields, Levison et al. 1991). Als Grund hierfür wird zum einen gesehen, dass das erweiterte Lumen des Appendix bei CF aufgrund des zähen Sekrets permeabel bleibt (Chaudry, Navarro et al. 2006). Zum anderen wird die Diagnose einer Appendizitis bei CF oft verspätet gestellt, wegen der Überschneidung der Symptome mit einem DIOS. Eine Appendizitis wird häufiger erst diagnostiziert, wenn bereits eine Perforation oder ein perityphlitische Abszess eingetreten ist (Kelly and Buxbaum 2015).

Eine sonographisch erfasste Steatosis hepatis wiesen 37% unserer Patienten auf, die im Allgemeinen einer vermehrten Echogenität des Leberparenchyms entspricht. Zahlen zur Prävalenz von Steatosis hepatis bei CF reichen von 23-75% (Flass and Narkewicz 2013). In der Gruppe der Patienten mit Steatosis hepatis war das am häufigsten genannte Symptom „Fettauflagerungen auf dem Stuhl/in der Toilette“, ($p = 0,031$ i. Vgl. zu Patienten ohne Steatosis hepatis). In diesem Subkollektiv waren 41 Patienten pankreasinsuffizient (98%). Mit der Pankreasinsuffizienz eng verbunden sind pathophysiologische Veränderungen der Leber und damit assoziierte Störungen des Lipid- und Glukosestoffwechsels. Hierzu zählen die bei CF gestörte β -Oxidation (Durieu, Vericel et al. 2007) oder der gestörte Transport von Triglyceriden von der Leber ins Blut (Grothe, Riethmuller et al. 2015). Dies führt zur Ansammlung von Triglyceriden in der Leber und in Folge zur Entwicklung einer Steatosis hepatis (Kelly and Buxbaum 2015). Andere Faktoren, die im Zusammenhang mit Steatosis hepatis bei CF diskutiert werden, sind ein Mangel an essenziellen Fettsäuren wie z.B. Linolsäure oder Docosahexaensäure (DHA), Pankreatektomie und ein Carnitin-Mangel (Treem and Stanley 1989, Dodge and Turck 2006, Flass and Narkewicz 2013, Hata, Ishida et al. 2016).

Die sonographischen Befunde „vergrößerte abdominelle Lymphknoten“ (9% der Patienten) sowie „Gallensteine“ (3% der Patienten) waren nicht mit einem erhöhten Score assoziiert.

Insgesamt wiesen Patienten mit einer milder Ausprägung des Genotyps (Klasse I-III/Klasse IV-VI) sowie mit der G551D Mutation und mit Pankreassuffizienz (PS) signifikant weniger abdominelle US-Befunde (US-17) auf als Patienten mit einer schweren Ausprägung des Genotyps (Klasse I-III/Klasse I-III) und mit Pankreasinsuffizienz (PI).

Als Limitationen unserer Studie können der retrospektive Charakter (Erinnerungsverzerrung bzw. engl.: recall bias) sowie der „*Bewertungsbias*“ (fehlende Daten wurden mit „null“ ersetzt) genannt werden. Allerdings war Anteil der fehlenden Daten mit 4,8% gering (Monte Carlo), so dass davon ausgegangen werden kann, dass der Score kaum durch den Bewertungsbias beeinflusst wurde (Roth 1994). Ein Vorteil eines längeren Zeitraumes zur Erfassung der abdominalen Symptomatik wäre eine umfangreiche Gewinnung von selteneren Symptomen. In den kommenden Studien werden die Symptomen auf die letzten 2 Wochen erfasst (Reduktion der Erinnerungverzerrung).

8 Schlussfolgerungen

CF Patienten mit einer Pankreasinsuffizienz oder einem Mekoniumileus, DIOS oder Analprolapsen in der Anamnese sowie mit sonographisch diagnostizierter Pankreaskipomatose weisen häufiger GI Symptome auf, während Patienten mit Pankreassuffizienz weniger GI Symptomatik zeigen. In diesem Sinne berichteten Patienten mit einem „milden“ Genotyp ($PIP < 0,25$) weniger über GI Symptome, als Patienten mit einem „moderaten bis schweren“ oder „schweren“ *CFTR*-Genotyp ($PIP \geq 0,25$). Im Gegensatz dazu sind Leberbeteiligung bzw. Leberenzym erhöhungen, Gedeihstörungen, oder eine chronische Besiedlung mit *P. aeruginosa* sowie Lungenfunktionseinschränkungen nicht mit einer erhöhten GI Symptomatik assoziiert.

Der im Rahmen dieser Dissertation entwickelte Fragebogen mit 17 Items, der in der ersten Version JenAbdomen-CF Score 1.0, später CFAbd-Score genannt wird, ermöglicht die strukturierte Erfassung der abdominalen Beteiligung bei CF-Patienten mit Quantifizierung der Beschwerden über einen Score. Die weitere Entwicklung des Scores soll zu einem international nutzbaren sensitiven Werkzeug für die klinische und wissenschaftliche Arbeit mit CF führen. Den FDA Richtlinien für die Entwicklung eines PROM folgend ist der nächste Schritt in dieser Arbeit die Validierung unseres JenAbdomen-CF Scores 1.0 für die Altersgruppen 0-5, 6-11, 12-17 und ≥ 18 Jahre, die Untersuchung gesunder Vergleichskollektive und der Transfer in andere europäische Sprachen.

9 Literatur- und Quellenverzeichnis

Adriaanse, M. P., L. J. van der Sande, A. M. van den Neucker, P. P. Menheere, E. Dompeling, W. A. Buurman and A. C. Vreugdenhil (2015). "Evidence for a Cystic Fibrosis Enteropathy." PLoS One **10**(10): e0138062.

Berg, J. M., J. L. Tymoczko and L. Stryer (2013). Der Fettsäurestoffwechsel. Stryer Biochemie. Berlin, Heidelberg, Springer Berlin Heidelberg: 645-680.

Borowitz, D. (2015). "CFTR, bicarbonate, and the pathophysiology of cystic fibrosis." Pediatr Pulmonol **50 Suppl 40**: S24-S30.

Borzio, M., F. Salerno, M. Saudelli, D. Galvagno, L. Piantoni and L. Fragiaco (1997). "Efficacy of oral ciprofloxacin as selective intestinal decontaminant in cirrhosis." Ital J Gastroenterol Hepatol **29**(3): 262-266.

Bruzzese, E., M. L. Callegari, V. Raia, S. Viscovo, R. Scotto, S. Ferrari, L. Morelli, V. Buccigrossi, A. Lo Vecchio, E. Ruberto and A. Guarino (2014). "Disrupted intestinal microbiota and intestinal inflammation in children with cystic fibrosis and its restoration with Lactobacillus GG: a randomised clinical trial." PLoS One **9**(2): e87796.

Bruzzese, E., V. Raia, G. Gaudiello, G. Polito, V. Buccigrossi, V. Formicola and A. Guarino (2004). "Intestinal inflammation is a frequent feature of cystic fibrosis and is reduced by probiotic administration." Aliment Pharmacol Ther **20**(7): 813-819.

Cano Megias, M., P. Guisado Vasco, O. Gonzalez Albarran, A. Lamas Ferreiro and L. Maiz Carro (2015). "Association of the relative change in weight and body mass index with lung function in teenagers and adults with cystic fibrosis: Influence of gender and diabetes." Endocrinol Nutr **62**(9): 422-429.

Chaudry, G., O. M. Navarro, D. S. Levine and K. Oudjhane (2006). "Abdominal manifestations of cystic fibrosis in children." Pediatr Radiol **36**(3): 233-240.

Colombo, C. (2007). "Liver disease in cystic fibrosis." Curr Opin Pulm Med **13**(6): 529-536.

Colombo, C., P. M. Battezzati, A. Crosignani, A. Morabito, D. Costantini, R. Padoan and A. Giunta (2002). "Liver disease in cystic fibrosis: A prospective study on incidence, risk factors, and outcome." Hepatology **36**(6): 1374-1382.

Comer, D. M., M. Ennis, C. McDowell, D. Beattie, J. Rendall, V. Hall and J. S. Elborn (2009). "Clinical phenotype of cystic fibrosis patients with the G551D mutation." QJM **102**(11): 793-798.

De Lisle, R. C. and D. Borowitz (2013). "The cystic fibrosis intestine." Cold Spring Harb Perspect Med **3**(9): a009753.

Debray, D., D. Kelly, R. Houwen, B. Strandvik and C. Colombo (2011). "Best practice guidance for the diagnosis and management of cystic fibrosis-associated liver disease." J Cyst Fibros **10 Suppl 2**: S29-36.

deGruchy, S. and E. Y. Lee (2008). "Pancreatic cystosis in a child with cystic fibrosis." Pediatr Radiol **38**(10): 1142.

Dhaliwal, J., S. Leach, T. Katz, L. Nahidi, T. Pang, J. M. Lee, R. Strachan, A. S. Day, A. Jaffe and C. Y. Ooi (2015). "Intestinal inflammation and impact on growth in children with cystic fibrosis." J Pediatr Gastroenterol Nutr **60**(4): 521-526.

Dialer, I., C. Hundt, R. M. Bertele-Harms and H. K. Harms (2003). "Sonographic evaluation of bowel wall thickness in patients with cystic fibrosis." J Clin Gastroenterol **37**(1): 55-60.

Dietrich, C. F., M. Chichakli, T. O. Hirche, J. Bargon, P. Leitzmann, T. O. Wagner and B. Lembcke (2002). "Sonographic findings of the hepatobiliary-pancreatic system in adult patients with cystic fibrosis." J Ultrasound Med **21**(4): 409-416; quiz 417.

Dodge, J. A. and D. Turck (2006). "Cystic fibrosis: nutritional consequences and management." Best Pract Res Clin Gastroenterol **20**(3): 531-546.

Durieu, I., E. Vericel, D. Guichardant, H. Roth, J. P. Steghens, J. Draï, R. N. Josserand, E. Fontaine, M. Lagarde and G. Bellon (2007). "Fatty acids platelets and oxidative markers following intravenous n-3 fatty acids administration in cystic fibrosis: An open pilot observational study." J Cyst Fibros **6**(5): 320-326.

Efrati, O., A. Barak, D. Modan-Moses, A. Augarten, D. Vilozni, D. Katznelson, A. Szeinberg, J. Yahav and Y. Bujanover (2003). "Liver cirrhosis and portal hypertension in cystic fibrosis." Eur J Gastroenterol Hepatol **15**(10): 1073-1078.

Engjom, T., F. Erchinger, B. N. Laerum, E. Tjora, O. H. Gilja and G. Dimcevski (2015). "Ultrasound echointensity predicts severe pancreatic affection in cystic fibrosis patients." PLoS One **10**(3): e0121121.

Festini, F., S. Ballarin, T. Codamo, R. Doro and C. Loganes (2004). "Prevalence of pain in adults with cystic fibrosis." J Cyst Fibros **3**(1): 51-57.

Flass, T. and M. R. Narkewicz (2013). "Cirrhosis and other liver disease in cystic fibrosis." J Cyst Fibros **12**(2): 116-124.

Fraquelli, M., A. Baccarin, F. Corti, C. B. Conti, M. C. Russo, S. Della Valle, R. Pozzi, M. Cressoni, D. Conte and C. Colombo (2016). "Bowel ultrasound imaging in patients with cystic fibrosis: Relationship with clinical symptoms and CFTR genotype." Dig Liver Dis **48**(3): 271-276.

Freeman, A. J. and C. Y. Ooi (2017). "Pancreatitis and pancreatic cystosis in Cystic Fibrosis." J Cyst Fibros **16 Suppl 2**: S79-S86.

Friedrich-Rust, M., N. Schlueter, C. Smaczny, O. Eickmeier, M. Rosewich, K. Feifel, E. Herrmann, T. Poynard, W. Gleiber, C. Lais, S. Zielen, T. O. Wagner, S. Zeuzem and J. Bojunga (2013). "Non-invasive measurement of liver and pancreas fibrosis in patients with cystic fibrosis." J Cyst Fibros **12**(5): 431-439.

Grothe, J., J. Riethmuller, S. M. Tschurtz, M. Raith, C. J. Pynn, D. Stoll and W. Bernhard (2015). "Plasma phosphatidylcholine alterations in cystic fibrosis patients: impaired metabolism and correlation with lung function and inflammation." Cell Physiol Biochem **35**(4): 1437-1453.

Hata, T., M. Ishida, F. Motoi, N. Sakata, G. Yoshimatsu, T. Naitoh, Y. Katayose, S. Egawa and M. Unno (2016). "Clinical Characteristics and Risk Factors for the Development of Postoperative Hepatic Steatosis After Total Pancreatectomy." Pancreas **45**(3): 362-369.

Health, U. S. D. o., F. D. A. C. f. D. E. Human Services, Research, U. S. D. o. Health, F. D. A. C. f. B. E. Human Services, Research, U. S. D. o. Health, F. D. A. C. f. D. Human Services and H. Radiological (2006). "Guidance for industry: patient-reported outcome measures: use in medical product development to support labeling claims: draft guidance." Health Qual Life Outcomes **4**(1): 79.

- Jernberg, C., S. Lofmark, C. Edlund and J. K. Jansson (2010). "Long-term impacts of antibiotic exposure on the human intestinal microbiota." Microbiology **156**(Pt 11): 3216-3223.
- Johnson, C. D., R. Arbuckle, N. Bonner, G. Connett, E. Dominguez-Munoz, P. Levy, D. Staab, N. Williamson and M. M. Lerch (2017). "Qualitative Assessment of the Symptoms and Impact of Pancreatic Exocrine Insufficiency (PEI) to Inform the Development of a Patient-Reported Outcome (PRO) Instrument." Patient.
- Kelly, T. and J. Buxbaum (2015). "Gastrointestinal Manifestations of Cystic Fibrosis." Dig Dis Sci **60**(7): 1903-1913.
- Keyzer, C., C. Knoop, M. Van Wette, M. Dehu, N. Gosset, V. De Maertelaer and P. A. Gevenois (2014). "Cystic fibrosis: unenhanced CT description of the appendix in asymptomatic adults." AJR Am J Roentgenol **202**(4): 759-764.
- Koh, J. L., D. Harrison, T. M. Palermo, H. Turner and T. McGraw (2005). "Assessment of acute and chronic pain symptoms in children with cystic fibrosis." Pediatr Pulmonol **40**(4): 330-335.
- Koletzko, S. (2001). Pankreasmanifestation. Cystische Fibrose. D. Reinhardt, M. Götz, R. Kraemer and M. H. Schöni. Berlin, Heidelberg, Springer Berlin Heidelberg: 367-380.
- Lardenoye, S. W., J. B. Puylaert, M. J. Smit and H. C. Holscher (2004). "Appendix in children with cystic fibrosis: US features." Radiology **232**(1): 187-189.
- Lee, A. L., S. Rawlings, K. A. Bennett and D. Armstrong (2016). "Pain and its clinical associations in individuals with cystic fibrosis: A systematic review." Chron Respir Dis **13**(2): 102-117.
- Li, L. and S. Somerset (2014). "The clinical significance of the gut microbiota in cystic fibrosis and the potential for dietary therapies." Clin Nutr **33**(4): 571-580.
- Menten, R., P. Lebecque, C. Saint-Martin and P. Clapuyt (2005). "Outer diameter of the vermiform appendix: not a valid sonographic criterion for acute appendicitis in patients with cystic fibrosis." AJR Am J Roentgenol **184**(6): 1901-1903.
- Modi, A. C., C. S. Lim, N. Yu, D. Geller, M. H. Wagner and A. L. Quittner (2006). "A multi-method assessment of treatment adherence for children with cystic fibrosis." J Cyst Fibros **5**(3): 177-185.
- Munck, A. (2014). "Cystic fibrosis: evidence for gut inflammation." Int J Biochem Cell Biol **52**: 180-183.
- Munck, A., A. Pesle, C. Cunin-Roy, M. Gerardin, I. Ignace, B. Delaisi and C. Wood (2012). "Recurrent abdominal pain in children with cystic fibrosis: a pilot prospective longitudinal evaluation of characteristics and management." J Cyst Fibros **11**(1): 46-48.
- Nährlich, L., M. Burkhart and J. Wosniok (2018). Deutsches Mukoviszidose-Register Berichtsband 2017. Hrsg., Mukoviszidose e.V.
- O'Sullivan, B. P. and S. D. Freedman (2009). "Cystic fibrosis." The Lancet **373**(9678): 1891-1904.
- Parad, R. B. (1996). "Heterogeneity of phenotype in two cystic fibrosis patients homozygous for the CFTR exon 11 mutation G551D." J Med Genet **33**(8): 711-713.
- Perquin, C. W., A. A. Hazebroek-Kampschreur, J. A. Hunfeld, A. M. Bohnen, L. W. van Suijlekom-Smit, J. Passchier and J. C. van der Wouden (2000). "Pain in children and adolescents: a common experience." Pain **87**(1): 51-58.

- Potthoff, A. (2016). Zystische Fibrose. Praxis der Hepatologie. M. P. Manns and S. Schneidewind. Berlin, Heidelberg, Springer Berlin Heidelberg: 147-154.
- Ratjen, F. (2006). "Restoring airway surface liquid in cystic fibrosis." N Engl J Med **354**(3): 291-293.
- Ratjen, F. and G. Doring (2003). "Cystic fibrosis." Lancet **361**(9358): 681-689.
- Roth, P. L. (1994). "Missing Data: A Conceptual Review for Applied Psychologists." Personnel Psychology **47**(3): 537-560.
- Rowe, S. M., S. Miller and E. J. Sorscher (2005). "Cystic fibrosis." N Engl J Med **352**(19): 1992-2001.
- Schaap, F. G., M. Trauner and P. L. Jansen (2014). "Bile acid receptors as targets for drug development." Nat Rev Gastroenterol Hepatol **11**(1): 55-67.
- Schmidt, A., K. Wenninger, N. Niemann, U. Wahn and D. Staab (2009). "Health-related quality of life in children with cystic fibrosis: validation of the German CFQ-R." Health Qual Life Outcomes **7**(1): 97.
- Sens, B. and M. Stern (2012). Berichtsband Qualitätssicherung Mukoviszidose 2012. Hrsg., Mukoviszidose e.V.
- Sermet-Gaudelus, I., P. De Villartay, P. de Dreuzy, M. Clairicia, S. Vrielynck, P. Canoui, M. Kirzsenbaum, I. Singh-Mali, L. Agrario, M. Salort, B. Charron, D. Dusser, G. Lenoir and D. Hubert (2009). "Pain in children and adults with cystic fibrosis: a comparative study." J Pain Symptom Manage **38**(2): 281-290.
- Shields, M. D., H. Levison, J. J. Reisman, P. R. Durie and G. J. Canny (1991). "Appendicitis in cystic fibrosis." Arch Dis Child **66**(3): 307-310.
- Simanski, C., R. Lefering, T. Paffrath, P. Riess, N. Yucel, M. Maegele, C. Thusing and E. Neugebauer (2006). "[Postoperative pain relief is an important factor for the patients' selection of a clinic. Results of an anonymous survey]." Schmerz **20**(4): 327-333.
- St-Pierre, D. H. and F. Broglio (2010). "Secretin: Should we revisit its metabolic outcomes?" Journal of Endocrinological Investigation **33**(4): 266-275.
- Staufer, K., E. Halilbasic, M. Trauner and L. Kazemi-Shirazi (2014). "Cystic fibrosis related liver disease--another black box in hepatology." Int J Mol Sci **15**(8): 13529-13549.
- Steinkamp, G. and B. Wiedemann (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**(7): 596-601.
- Stern, M. (2013). Zystische Fibrose. Pädiatrische Gastroenterologie, Hepatologie und Ernährung. B. Rodeck and K.-P. Zimmer. Berlin, Heidelberg, Springer Berlin Heidelberg: 575-583.
- Sullivan, A., C. Edlund and C. E. Nord (2001). "Effect of antimicrobial agents on the ecological balance of human microflora." Lancet Infect Dis **1**(2): 101-114.
- Tabori, H., C. Arnold, A. Jaudszus, H.-J. Mentzel, D. M. Renz, S. Reinsch, M. Lorenz, R. Michl, A. Gerber, T. Lehmann and J. G. Mainz (2017). "Abdominal symptoms in cystic fibrosis and their relation to genotype, history, clinical and laboratory findings." PLoS ONE **12**(5): e0174463.
- Treem, W. R. and C. A. Stanley (1989). "Massive hepatomegaly, steatosis, and secondary plasma carnitine deficiency in an infant with cystic fibrosis." Pediatrics **83**(6): 993-997.

Tummler, B. (2013). "Mutation-specific therapy in cystic fibrosis: the earlier, the better." Lancet Respir Med **1**(8): 591-592.

Uusijarvi, A., A. Bergstrom, M. Simren, J. F. Ludvigsson, I. Kull, M. Wickman, J. Alm and O. Olen (2014). "Use of antibiotics in infancy and childhood and risk of recurrent abdominal pain--a Swedish birth cohort study." Neurogastroenterol Motil **26**(6): 841-850.

Vaupel, P. (2011). Funktionen des Magen-Darm-Trakts. Physiologie des Menschen: mit Pathophysiologie. R. F. Schmidt, F. Lang and M. Heckmann. Berlin, Heidelberg, Springer Berlin Heidelberg: 792-833.

Wainwright, C. E., J. S. Elborn, B. W. Ramsey, G. Marigowda, X. Huang, M. Cipolli, C. Colombo, J. C. Davies, K. De Boeck, P. A. Flume, M. W. Konstan, S. A. McColley, K. McCoy, E. F. McKone, A. Munck, F. Ratjen, S. M. Rowe, D. Waltz, M. P. Boyle, T. S. Group and T. S. Group (2015). "Lumacaftor-Ivacaftor in Patients with Cystic Fibrosis Homozygous for Phe508del CFTR." N Engl J Med **373**(3): 220-231.

Werlin, S. L., I. Benuri-Silbiger, E. Kerem, S. N. Adler, E. Goldin, J. Zimmerman, N. Malka, L. Cohen, S. Armoni, Y. Yatzkan-Israelit, A. Bergwerk, M. Aviram, L. Bentur, H. Mussaffi, I. Bjarnasson and M. Wilschanski (2010). "Evidence of intestinal inflammation in patients with cystic fibrosis." J Pediatr Gastroenterol Nutr **51**(3): 304-308.

Wistrom, J., L. O. Gentry, A. C. Palmgren, M. Price, C. E. Nord, A. Ljungh and S. R. Norrby (1992). "Ecological effects of short-term ciprofloxacin treatment of travellers' diarrhoea." J Antimicrob Chemother **30**(5): 693-706.

10 Anhang

10.1 Lebenslauf

Aus datenschutzrechtlichen Gründen wird der Lebenslauf in dieser elektronischen Form nicht veröffentlicht.

10.2 Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben:

- PD Dr. med. habil. Jochen G. Mainz
- Dr. rer. nat. Christin Arnold
- Dr. rer. nat. Anke Jaudszus,

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Ort, Datum

Unterschrift des Verfassers

10.3 Danksagung

Allen, die zur Entstehung dieser Arbeit beigetragen haben und mich während dieser Zeit unterstützt und begleitet haben, möchte ich an dieser Stelle danken.

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Herrn PD Dr. med. habil. Jochen G. Mainz für dessen grandiose Betreuung während der gesamten Promotionszeit. Mit viel Engagement hat er die vorliegende Arbeit stets durch zielführende Diskussionen und anhaltende Hilfestellung begleitet und unterstützt. Ohne seine konstruktive Anregungen hätte das Gelingen dieser Arbeit nicht realisiert werden können.

Bei Frau Dr. rer. nat. Anke Jaudszus möchte ich mich ganz besonders für ihre immerwährende Bereitschaft, die inhaltliche Ausrichtung dieser Arbeit und die Fortführung unseres gemeinsamen CF-Abdomen-Projektes bedanken.

Bei Frau Dr. rer. nat. Christin Arnold möchte ich mich ganz besonders für die konstruktiven und wertvollen inhaltlichen Anmerkungen während der Planung und Vorbereitung der vorliegenden Arbeit danken.

Herrn Dr. rer. pol Thomas Lehmann danke ich für die vielen wertvollen Ratschläge zur statistischen Auswertung.

Mein Dank gilt darüber hinaus dem DAAD für die finanzielle Unterstützung.

Ein ganz besonderer Dank gilt meinen Eltern und Freunden, die mir während der gesamten Zeit durch ihren Rückhalt und ihre Unterstützung Kraft und Motivation gegeben haben.