

CISTINĖS FIBROZĖS PROGNOZEI ĮTAKOS TURINTYS VEIKSNIAI

Dr. Iveta Skurvydienė

Tauragės apskrities ligoninė

REIKŠMINIAI ŽODŽIAI: cistinė fibrozė, CFTR geno mutacijos, atrankinė naujagimių patikra, imunoreaktyvusis tripsinogenas, diagnozė, prognozė.

SANTRAUKA. Cistinė fibrozė – dažniausia paveldima baltosios rasės žmonių liga, kuriai būdingas nuolatinis progresavimas ir didelis mirštamumas nuo plaučių ir kasos funkcijos nepakankamumo. Šiuo metu žinoma daugiau kaip 1300 cistinės fibrozės transmembraninio laidumo reguliatoriaus geno mutacijų. Straipsnyje aptariami 2000–2007 m. paskelbti ilgalaikės pacientų, sergančių cistine fibroze, stebėsenos duomenys ir nustatyti veiksniai, turintys įtakos ligos eigai ir prognozei. Plačiau aptariama naujagimių atrankinės patikros ir ligos genotipo įtaka ligos progresavimui ir gyvenimo trukmei.

CISTINĖ FIBROZĖS PATOGENEZĖ IR EPIDEMIOLOGIJA

Cistinė fibrozė – dažniausia paveldima baltosios rasės žmonių liga. Paveldėjimo būdas – autosominis recesyvinis. Vaiko liga paprastai būna didelis netikėtumas sveikiems tėvams. CFTR (cistinės fibrozės transmembraninio laidumo reguliatoriaus) geno mutacijos turėtojai yra abu sergančio vaiko sveiki tėvai. Kiekvieno jų 7-oje chromosomoje yra bent viena geno mutacija. Cistinę fibrozę paveldėjęs vaikas savo 7-oje chromosomoje turi bent dvi iš abiejų tėvų gautas geno mutacijas. CFTR geno mutacijų turėtojų šeimoje gali gimti sveiki vaikai – jie bus arba CFTR geno mutacijų turėtojai (50 proc.), arba CFTR mutacijų neturintys vaikai (25 proc.). JAV, Kanadoje, Australijoje, kai kuriose Europos ir Azijos šalyse, kuriose vykdomas CFTR geno mutacijų turėtojų atrankinis tyrimas, dar iki planuojamo nėštumo tiriama abiejų būsimų tėvų seilių ar burnos epitelio ląstelių DNR. Išsirtinti CFTR geno mutacijas raginami tie žmonės, kurių broliams, seserims, kitiems giminaičiams buvo diagnozuota cistinė fibrozė.

CFTR geno mutacijų turėtojų atrankinis tyrimas Lietuvoje neatliekamas, pacientų kraujo ląstelių DNR tiriama tais atvejais, kai jiems reikia patvirtinti cistinės fibrozės diagnozę.

Šiuo metu žinoma daugiau kaip 1300 CFTR geno mutacijų [1]. Jos yra suskirstytos į 5 klases pagal poveikį CFTR baltymo sintezei. „Sunkios“ mutacijos sukelia ryškius CFTR baltymo ilgio ar struktūros pokyčius, dėl kurių CFTR baltymas nepatenka į savo „darbo vietą“ – kvėpavimo takų, kasos ir sėklinių latakėlių epitelio ląsteles (1, 2, 3 klasės). Vadinamosios lengvos mutacijos (4 ir 5 klasės) dažniausiai lemia nedidelius CFTR baltymo struktūros pokyčius, todėl nesutrikdo jo sintezės ir pernašos į „darbo vietą“ [1]. CFTR baltymas yra svarbus natrio, chloro jonų ir vandens judėjimui per epitelio ląstelės membraną. Jei CFTR baltymo nėra ten, kur jo turėtų būti, arba jis negali tinkamai funkcionuoti, epitelio ląstelėse sutrinka

natrio ir chloro jonų pernaša. Epitelio gaminamose gleivėse sumažėjus vandens, jos tampa klampios ir užkemša smulkiuosius kvėpavimo takus, kasos, sėklinius latakėlius. Dėl to pasireiškia ligos klinikiniai požymiai. Sergant cistine fibroze būdingas varginantis, nepraeinantis sausas kosulys, vėliau – ūminės kvėpavimo takų infekcinės ligos. Kartojantis kvėpavimo takų infekcijoms, juos kolonizuoja tipiški šios ligai patogeniniai mikroorganizmai: *S. aureus*, *H. influenzae*, *Ps. aeruginosa*. Jie palaiko nuolatinį uždegimą plaučiuose ir ančiuose, sukelia plaučių struktūros pokyčius: bronhektazes, emfizemą ir plaučių fibrozę, dėl kurių sutrinka kvėpavimo funkcija. Gleivėms užkimšus kasos latakėlius, kasos gaminami fermentai nepasiekia plonųjų žarnų, todėl sutrinka maisto medžiagų virškinimas, kliniškai pasireiškiantis viduriavimu riebiomis išmatomis (steatorėja), blogu svorio ir ūgio augimu, riebaluose tirpių vitaminų A, D, E ir K stygiaus požymiais. Lytiškai subrendę vyrai, sergantys cistine fibroze, būna nevaisingi dėl sėklinių latakėlių obstrukcijos ir degeneracijos.

CFTR genotipas susiformuoja intrauteriniui laikotarpiu, todėl ligos požymių gali atsirasti dar vaisiui. Apie 15–20 proc. pirmųjų parų naujagimių pasireiškia žarnų nepraeinamumas dėl tiršto mekonijaus. Šis kliniškas ligos požymis siejamas su ankstyvu mirštamumu ir blogesne operuotų ligonių gyvenimo prognoze [1].

Daug gyventojų turinčiose šalyse, tokiose kaip JAV, kur kasmet gimsta apie 1 000 cistine fibroze sergančių vaikų, gyvena apie 30 tūkst. ja sergančių ligonių [1]. Lietuvoje kasmet gimsta vidutiniškai 5 cistine fibroze sergantys vaikai. Šiuo metu Lietuvoje gyvena apie 30 vaikų ir apie 10 suaugusiųjų, sergančių cistine fibroze. JAV cistine fibroze sergantys ligoniai vidutiniškai išgyvena apie 32 metus [1, 3], Lietuvoje – apie 16 metų.

Cistinė fibrozė dabar diagnozuojama anksti – iki 6 mėn. amžiaus, tačiau apie 10 proc. atvejų liga gali būti diagnozuojama suaugusiesiems [2]. JAV, Kanadoje, Australijoje, kai kuriose Europos ir Azijos šalyse cistinės fibrozės diagnozė nustatoma iki pasireiškiant klinikiniams požy-

miams. Ten, kur nevykdoma atrankinė įgimtų ligų patikra naujagimiams, cistinės fibrozės diagnozė nustatoma vaikui susirgus, dažniausiai iki 3 metų [1]. Kadangi cistinė fibrozė yra progresuojanti lėtinė liga, gydoma visą gyvenimą, manoma, kad ankstyva ligos diagnostika ir tinkamo gydymo parinkimas gali sulėtinti ligos progresavimą bei atitolinti komplikacijas, o tai palanku socialiniu ir ekonominiu požiūriu.

CISTINĖS FIBROZĖS DIAGNOZĖS PATVIRTINIMAS

Cistinės fibrozės populiacinė diagnostika pradedama naujagimių atrankinės patikros metu tiriant imunoreaktyviojo tripsinogeno koncentraciją kraujo serume. Padidėjusią koncentraciją turintys pirmosios gyvenimo savaitės naujagimiai atrenkami tirti CFTR genotipą ir prakaitą. Cistinės fibrozės diagnozė iki klinikinių ligos požymių atsiradimo gali būti patvirtinta tik nustatius dvi CFTR geno mutacijas. Tuo tikslu tiriama seilių, burnos gleivinės epitelio ląstelių ar kraujo ląstelių DNR (Lietuvoje – tik kraujo ląstelių DNR). Prakaito tyrimas atliekamas visiems naujagimiams, kuriems nustatoma padidėjusi imunoreaktyviojo tripsinogeno koncentracija kraujyje. Cistinės fibrozės diagnozė patvirtinama dviem tyrimais iš eilės (pertrauka tarp jų ne ilgesnė kaip 1 mėn.) nustatius didesnę nei 60 mmol/l chloro jonų koncentraciją, naujagimiams ir kūdikiams iki 4 mėn. – didesnę nei 40 mmol/l. Ribinės chloro jonų koncentracijos praktiškai siejamos su „lengvesnėmis“ CFTR geno mutacijomis [4, 5, 6].

Atsitiktinių imčių kontroliuojamųjų tyrimų duomenimis, naujagimių atrankinė patikra turėjo įtakos pacientų plaučių ligos eigai. Po naujagimių atrankinio tyrimo nustatytos „sunkios“ mutacijos, kasos egzokrininės funkcijos nepakankamumas ir ankstyvas apsikrėtimas *Ps. aeruginosa* lėmė ilgalaikę plaučių ligos prognozę [7]. Išlaidos cistinei fibrozei diagnozuoti atrankinio naujagimių tyrimo metu buvo mažesnės nei diagnozuojant ligą pagal klinikinius požymius [7].

DIAGNOZĖS IR FENOTIPO RYŠYS

Didžiosios Britanijos mokslininkai atliko 26 Europos šalių naujagimių atrankinės patikros programų analizę. Tyrimų centrums buvo išsiųsti klausimynai, po to išanalizuoti gauti atsakymai. Paaiškėjo, kad 26 Europos šalių cistinės fibrozės centruose kasmet buvo ištiriama apie 1 mln. 600 tūkst. naujagimių, o cistinė fibrozė diagnozuojama daugiau kaip 400 naujagimių [8].

Praėjusio tūkstantmečio pabaigoje, netrukus po CFTR geno atradimo, buvo stengiamasi susieti ankstyvą cistinės fibrozės diagnozavimą su ilgesnio gyvenimo prognoze. 1995 m. olandų mokslininkai [9] atliko tris naujagimių kohortų tyrimus (n = 19, n = 30, n = 31). Vaikai, kuriems diagnozuota cistinė fibrozė, buvo stebimi 12 metų. Paaiškėjo, kad cistine fibroze sergančių vaikų, kurie pateko į atrankinės patikros programas, ilgesnio gyvenimo tikimybė buvo didesnė, palyginti su bendraamžių, kuriems naujagimių patikros tyrimas netaikytas, o ligos diagnozė nustatyta tik atsiradus klinikinių požymių [9].

Šio tūkstantmečio pradžioje jau paskelbta nemažai didelės apimties ilgalaikių pacientų stebėjimo tyrimų duomenų. Italų mokslininkai atliko 16 m. ir 26 m. trukmės 475 pacientų stebėjimo tyrimus. Jie nustatė, kad pacientai, kuriems cistinė fibrozė buvo diagnozuota naujagimių patikros metu, gyveno ilgiau ir buvo geresnės mitybos būklės nei pacientai, kuriems ligos diagnozė nustatyta atsiradus mekonijinio žarnų nepraeinamumo ar kasos nepakankamumo požymių [10].

JAV Viskonsino valstijoje atliktais klinikiniais tyrimais [11, 12] buvo patikslintas cistinės fibrozės dažnumas. Ištyrus 650 341 naujagimį paaiškėjo, kad klasikine cistine fibroze serga vienas iš 4189 naujagimių (Cl jonų koncentracija prakaito didesnė nei 60 mmol/l), o po skaičiavimų – kad vienas iš 3938. Tyrėjų grupė padarė išvadą, kad ligos diagnozės nustatymas atrankinės naujagimių patikros metu lėmė geresnį vaikų augimą ir mitybos būklę po 13 stebėjimo metų, palyginti su pacientais, kuriems liga diagnozuota tik atsiradus klinikinių požymių. Tyrėjų nuomone, naujagimių patikra ir „agresyvi“ dietoterapija, pradėta tik nustatius ligą, padeda išvengti sunkių ir nepataisomų mitybos sutrikimų, kylančių pavėluotai diagnozavus cistinę fibrozę.

Šiuos duomenis patvirtina ir Didžiojoje Britanijoje 2005 m. atliktas tyrimas [3]. Jo metu buvo lyginamos vaikų, sergančių cistine fibroze, duomenų bazės. Nustatyta, kad vaikai, kuriems cistinė fibrozė buvo diagnozuota per naujagimių atrankinę patikrą, sulaukę 6 metų, buvo aukštesni nei kontrolinės grupės vaikai, kuriems cistinė fibrozė diagnozuota atsiradus ligos klinikinių požymių per pirmuosius trejus gyvenimo metus. Kontrolinėje grupėje (n = 950) Northern ir Schwachman-Kulczytzky rodikliai buvo blogesni, o *Ps. aeruginosa* sukeltos plaučių infekcijos atvejų skaičius didesnis nei tiriamojame (n = 184).

Olandų mokslininkų atlikto retrospektyviojo tyrimo duomenimis [13], cistinės fibrozės ankstyvas diagnozavimas naujagimių patikros metu siejasi su geresnės plaučių funkcijos išsilaikymu ilgesnį laiką, o gydymas specializuotose centruose – su ilgesne pacientų gyvenimo trukme. Tyrėjai rėmėsi 17 m. trukmės stebėjimo duomenimis: 24-ųjų pacientų, kuriems cistinė fibrozė diagnozuota per naujagimių atrankinę patikrą (1973–1979 m.), duomenis lygino su 68-ųjų pacientų, kuriems ligos diagnozė nustatyta tais pačiais metais, bet jau atsiradus ligos klinikinių požymių, duomenimis.

GENOTIPAS IR LIGOS RAIŠKA

Pirmieji mokslo darbai, gilinęsi į ligos genotipo ir fenotipo ryšį, buvo išspausdinti paskutiniame praėjusio amžiaus dešimtmetyje. Didžiumai pacientų anksti išryškėja kvėpavimo funkcijos sutrikimas. Manoma, kad kasos funkciją išsaugoti padeda viena lengvoji CFTR geno mutacija [14]. 1, 2, 3 CFTR geno mutacijos siejamos su labai silpna chloro jonų kanalų funkcija ir kasos nepakankamumu, o 4 ir 5 klasės mutacijos – su lengvesne ligos eiga ir pakankama kasos funkcija. Yra duomenų apie modifikuojančiųjų genų vaidmenį, formuojantis ligos fenotipui [15]. CFTR genas kartu su dviem ar daugiau modifikuojančiųjų genų yra žarnų obstrukciją lemiantys veiksniai naujagimiams,

sergantiems cistine fibroze (lokalizacija – chromosomose 4q35.1, 8p23.1, 11q25). Modifikuojantieji genai, esantys chromosomose 20p11.22 ir 21q22.3, apsaugo cistine fibroze sergančius naujagimius nuo žarnų obstrukcijos mekonijumi. Vyresniame amžiuje pasireiškianti žarnų obstrukcija dažniausiai įvyksta ne dėl genetinių priežasčių.

Du paskutinius dešimtmečius mokslininkai tyrinėja cistinės fibrozės genotipo prognozinę reikšmę. Žinoma, kad kai kurių CFTR geno mutacijų atvejais būna mažesnis mirštamumas.

JAV 1993–2002 m. buvo ištirtas 15 651 paciento, sergančio cistine fibroze, genotipas [16]. Pacientai buvo suskirstyti į didelės ir mažos rizikos CFTR genotipų grupes pagal ryškius gyvenimo trukmės ir vidutinio amžiaus skirtumus mirties metu. Didelę mirštamumo riziką lemiantys CFTR genotipai buvo siejami su kasos nepakankamumu, *Ps. aeruginosa* kolonija kvėpavimo takuose, blogesne plaučių funkcija ir bloga mitybos būkle. Išanalizavus 1672 mirusių pacientų duomenis, paaiškėjo, kad didesnės mirštamumo rizikos CFTR genotipo grupėje vidutinis mirusiųjų amžius buvo 24,2 m., o mažos mirštamumo rizikos CFTR genotipo grupėje – 37,6 m. ($p < 0,001$). Prancūzų mokslininkų duomenimis [17], įvairiuose šalies regionuose nustatyti skirtingi vyraujantys CFTR genotipai. Tyrėjai siūlo kaupti duomenis apie retų CFTR geno mutacijų paplitimą regionuose, kad būtų galima geriau atpažinti tiems regionams būdingus cistinės fibrozės fenotipus ir laiku pradėti gydyti pacientus.

Europos cistinės fibrozės epidemiologinio registro duomenimis [18], gautais ištyrus 11 749 pacientus, iš kurių 8 963 genotipas buvo patvirtintas (76 proc.), 4-os klasės CFTR geno mutacijos nulemta plaučių liga buvo lengvesnė, o plaučių pažeidimas – mažesnis. Šių pacientų plaučius *Ps. aeruginosa* kolonizavo vėlai, o daugeliui kasos egzokrininė funkcija išliko, jiems rečiau diagnozuotas cukrinis diabetas ir kepenų pažeidimai.

Plaučių liga sergant cistine fibroze siejama su sunkiomis CFTR geno mutacijomis [19]. Dvi sunkios mutacijos buvo vienintelis nepriklausomas galutinės stadijos kvėpavimo nepakankamumo prognozinis rodiklis. Vokiečių mokslininkų duomenimis [20], gautais ištyrus 3 298 vyresnius nei 2 metų pacientus, tarp mitybos būklės, plaučių funkcijos ir klinikinės ligos eigos yra glaudus ryšys.

Geresnės plaučių funkcijos išsilaikymas buvo susijęs su normaliu kūno svoriu ir *Ps. aeruginosa* nebuvimu plaučiuose.

JAV atlikto epidemiologinio tyrimo duomenimis [21], gautais ištyrus 319 6–8 m. vaikų, sergančių cistine fibroze, geresnė plaučių funkcija (FEV_1) buvo tų ligonių, kurių kūno svoris ar jo prieaugis buvo didesni. Tyrėjų nuomone, mitybos pagerinimas ir subalansavimas, siekiant užtikrinti augimo poreikius, pagerina šių vaikų kvėpavimo funkcijos rodiklius (FEV_1).

JAV atlikus retrospektyvų tyrimą [22], kurio metu išanalizuoti 968 vaikų (5–8 m.), sergančių cistine fibroze, antropometriniai, kasos egzokrininės funkcijos ir FEV_1 rodikliai, paaiškėjo, kad augimas, mitybos būklė ir plaučių funkcija nėra stabilūs laikotarpiu prieš lytinį brendimą, kai kasos funkcija nepakankama. Reikšmingi augimo skirtumai, priklausomi nuo lyties, atsiranda iki lytinio brendimo pradžios. Augimas ir mitybos būklė siejami su FEV_1 pokyčiais, todėl manoma, kad mitybos pagerinimas galėtų sulėtinti plaučių funkcijos blogėjimą.

Žinoma, kad 1 ir 2 klasės CFTR geno mutacijos yra susijusios su kasos nepakankamumu, pasireiškiančiu pirmaisiais ligonio gyvenimo mėnesiais. Lenkų mokslininkai [23] siūlo kūdikių, kuriems cistinė fibrozė jau nustatyta ar tik įtariama, išmatose kuo anksčiau tirti kasos elastazės-1 koncentraciją (> 200 mcg/g).

Šiuo metu rekomenduojamos sutartinės cistinės fibrozės gydymo schemos ir taisyklės dar neteikia vilčių išgydyti ligonius – jos skirtos sulėtinti ligos progresavimą. Pasaulyje padaugėjo suaugusių pacientų ir vaikų, sergančių cistine fibroze, kuriuos gydant tenka svarstyti organų transplantacijos (kepenų, plaučių ir širdies) pasirinkimo laiką ir pagrįstumą.

Vis dėlto jau antrą dešimtmetį jungtinės genų inžinerių ir molekulinės biologijos bei farmacijos specialistų pajėgos kuria naujus medikamentus, kurių paskirtis – pakeisti „nesveiką“ geną normaliu, „pataisyti“ neveiksmingą CFTR baltymą, kad jis galėtų užtikrinti pakankamą natrio ir chloro jonų pernašą plaučiuose ir kasoje. Šie gydymo metodai ateityje bus taikomi pradinėmis ligos stadijomis, todėl labai svarbu diagnozuoti ligą kuo anksčiau, skirti daugiau dėmesio ir lėšų atrankinei naujagimių patikrai ir CFTR genotipo tyrimams.

LITERATŪRA

- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). **Newborn screening for Cystic Fibrosis** // Morbidity and Mortality Weekly Report, October 15, 2004, Vol.53; RR 13:1-36.
- Cystic Fibrosis Foundation. **Living with CF** // Bethesda, MD, 2003.
- Sims EJ, McCormick J, Mehta G, Mehta A; **Steering Committee of the UK Cystic Fibrosis Database** // J Pediatr 2005; 147(3 Suppl): S42-6.
- Farrell PM, Kosciak RE. **Sweat chloride concentrations in infants homozygous or heterozygous for F508 cystic fibrosis** // Pediatrics 1996; 97(4): 524-8.
- Desmarquest P, Feldmann D, Tamalat A, Boule M, Fauroux B, Tournier G, Clement A. **Genotype analysis and phenotypic manifestations of children with intermediate sweat chloride test results** // Chest 2000; 118(6): 1591-7.
- Feldmann D, Courdec R, Audrezet MP, Ferec C, Bienvenu T, Desgeorges M, Claustres M, Mittre H, Blayau M, Bozon D, Malinge MC, Monnier N, Bonnefont JP, Iron A, Bieth E, Dumur V, Clavel C, Cazeneuve C, Girodon E. **CFTR genotypes in patients with normal or borderline sweat chloride levels** // Hum Mutat 2003; 22(4): 340.
- Merelle ME, Nagelkerke AF, Lees CM, Dezateux C. **Newborn screening for cystic fibrosis** // The Cochrane database of Systemic Reviews 2007 Issue 1. <http://www.cochrane.org/reviews/en/ab001402.html>

Kiti literatūros šaltiniai – redakcijoje.

FACTORS INFLUENCING PROGNOSIS OF PATIENTS WITH CYSTIC FIBROSIS

Iveta Skurvydiene

Taurage district hospital

Key words: cystic fibrosis, CFTR gene mutations, newborn screening, immunoreactive trypsinogen, diagnosis, prognosis.

Summary. Cystic fibrosis is the most common autosomal recessive genetic disease in Caucasian populations. Diagnosis of cystic fibrosis is associated with marked lethality due to inherent progressive deterioration in lung function. On the other hand the vast majority of patients have pancreatic insufficiency that affects nutritional status, slows down growth velocity and contributes to the worsening of lung function. At present up to 1300 cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene mutations are described. In this article are discussed recently published data of long-term programs executable worldwide and designed for early diagnostics of cystic fibrosis. A matter of primary interest was prognostic effect of newborn screening and genotype analysis on long-term clinical outcomes and survival of patients with cystic fibrosis.