

# CF Plus

# Motýlik

číslo **5**  
ročník 2010

## **8. SLOVENSKÁ CF KONFERENCIA**

Podujatie je konané pod záštitou  
ministra zdravotníctva  
*MUDr. Richarda Rašiho, MPH.*

## **ZBORNÍK PREDNÁŠOK**

**23. - 24. apríl 2010**  
**Banská Bystrica**

# O B S A H

Privítanie WOJTOWICZ Pawel, Polish CF Foundation “MATIO”	5
SACF	6
„MATIO“ Foundation for Help the Cystic Fibrosis Sufferers and their Families	7
<b>Questions and answers of V4 CF Associations</b>	12
<b>CF Europe</b> DeRIJCKE Karleen, CF Europe	20
<b>3th European CF Day</b> DeRIJCKE Karleen, CF Europe	24
<b>EuroCareCF Workpackage 1</b> <b>Standards of care for patients with CF: A European consensus – ECFS document</b> COLOMBO Carla, EuroCareCF	28
<b>Implementation of ECFS document in Poland</b> SANDS Dorota, POLAND	40
<b>Implementation of ECFS document in Slovakia</b> ŠTĚPÁNKOVÁ Katarína, SLOVAKIA	44
<b>Implementation of ECFS document in Czech rep.</b> DŘEVÍNEK Pavel, SKALICKÁ Veronika, CZECH Rep.	49
<b>Implementation of ECFS document in Hungary</b> UJHELYI Rita, HOLICS Klara, HUNGARY	52
<b>Social Welfare Services for People with Cystic Fibrosis in Hungary</b> KUTSAN Orsolya, HUNGARY	55
<b>Recent Advances in the Genetics of Cystic Fibrosis</b> ZIELENSKI Julian, CANADA	63
<b>Cystic Fibrosis Molecular Diagnosis – The Principles</b> WERTHEIM Katarzyna, Czerska Kamila, Norek Aleksandra, Sobczyńska-Tomaszewska Agnieszka, POLAND	65
<b>CFTR-related diseases rarely associated with defect in CFTR gene</b> NOREK Aleksandra, Sobczyńska-Tomaszewska Agnieszka, Czerska Kamila, Wertheim Katarzyna, Bal Jerzy, POLAND	66

<b>Molecular diagnosis of Cystic Fibrosis in Belarus</b> MOSSE Nataliya, MOSSE Konstantin, BELARUS	69
<b>Molecular diagnosis of CFTR gene in neonatal screening for cystic fibrosis</b> SOBCZYNSKA-TOMASZEWSKA A., POLAND	71
<b>CFRLD - CF Related Liver Disease</b> COLOMBO Carla, ITALY	72
<b>Burkholderia cepacia complex and CF</b> DŘEVÍNEK Pavel, CZECH REP.	86
<b>Adult CF Care</b> KÁRÁSZ Bernadett, HUNGARY	87
<b>Survival of Cystic Fibrosis patients in Latvia in regard to care and treatment</b> ZNOTINA Inese, SVABE Vija, TEIBE Uldis, LATVIA	89
<b>Medical and social aspects of Cystic Fibrosis</b> HORLENKO Olesya M., Yankovska Andriyana O., Kishko Nelli U., Packun Erica U., UKRAINE	92
<b>Importance of daily chest physiotherapy for CF patients</b> GAUCHEZ Hugues, FRANCE	98
<b>Autogenic Drainage</b> GAUCHEZ Hugues, FRANCE	101
<b>CFQ-R cultural adaptation process: a base for quality of life understanding and comparison across the world</b> NOBILI Rita, ITALY	104
<b>Situation of CF patients in Russia</b> MYASNIKOVA Irina, RUSSIA	105
<b>“LIFE CLUB CF”</b> KRZYŻANOWSKI Mikołaj, CICHY Wojciech, MIKOS Marcin, WOJTOWICZ Paweł, POLAND	107
<b>New Therapies – new chance for CF patients</b> CZERSKA Kamila, POLAND	112
<b>CF Declaration of V4 countries</b>	113





*Ladies and gentlemen,*

*I wish to welcome our honorable guests, especially:*

- *Representative of Health Minister*
- *Member of Europarliament Mr. Bogusław Sonik*
- *Member of Polish parliament Mr. Ireneusz Raś*
- *Hosts of our conference, the Chairman of Wieliczka salt mine, Chairman of Town Council*
- *The invited guests: prof. Julian Zielenski, prof. Carla Colombo, Karleen de Rijcke, Ivo Kačaba, Hugues Gauchez, prof. Wojciech Cichy, dr Dorota Sands*
- *All of you, who devoted your time to come to the conference: EURO CARE CF, CF EUROPE, CHIESSI, ROCHE, NOVARTIS, SECURA NOVA, PFIZER, SOLVAY, MILUPA.*

*First of all I would like to thank our partners from Slovakia, Czech Republic and Hungary, especially Mrs. Katarína Štěpánková who was the initiator of this conference, without her sacrifice and hard work we wouldn't be able to realize this enterprise. Last year in Bańska Bystrzyca she proposed organization of a conference about our "salty children" in the birthplace of the European salt mining in Wieliczka so the people can associate cystic fibrosis with the salt.*

*Today is a special day, a day of symbols. Salt, music by Chopin played before the entrance to the conference, the 3rd European day of Cystic Fibrosis, the hall in which we are, was also the meeting place of presidents Wyszehrad (Our) countries.*

*As you can all see it is an obliging place, therefore I would like to encourage you to fruitful work. Despite the fact that we all live in different countries and cultures, different social and economic conditions, the cystic fibrosis is the same in the whole Europe, and we are Europeans. Therefore we are determined to ensure that all our patients and person under our charge have the same conditions without the regard to country in which they live, and their only worry is a visit at the geriatrician. We represent here a lot of environments from many countries, despite the fact that many of us heard at times that we want to promote ourselves; I would like this conference, like all our actions, to promote the word - cystic fibrosis. It is only the unity of all environments which will help us achieve this purpose*

*And therefore let us work the common document out which will lead us to the desired state.*

*I would like to thank you one more time for being here and for your attendance.*

*Paweł Wojtowicz*

# JAK TO BYLO S FRYDERYKEM CHOPINEM

Věra Vávrová a kolektiv Centra cystické fibrózy, UK 2. LF a FN Motol, Praha

## Fryderyk Franciszek Chopin

se narodil 22. února (nebo 1.3.?) 1810 ve vesničce Żelazowa Wola nedaleko Varšavy. „Básník klavíru“ prožil v milovaném Polsku jen první část svého života. Od roku 1830 žil v exilu ve Francii, kde 17. října 1849 zemřel. Pochován je na nejstarším pařížském hřbitově Pere Lachaise.

Chopin bývá označován za básníka romantického klavíru. Ve své klavírní tvorbě vycházel hlavně z lidových motivů a tradic. Ačkoli žil krátce, zanechal světu 27 klavírních sonát, 25 preludií, 19 nokturen, 52 mazurek, 4 imprompty, 3 sonáty, 1 barkarolu a 2 klavírní koncerty, které napsal v 1819-1821. První skladbu - polonézu G moll - zveřejnil v sedmi letech. Robert Schumann přivítal jeho skladby slovy: „Pánové, klobouk dolů! Hle, génius!“

Na podzim 2009 vyhlásilo UNESCO a polská sněmovna Chopinův rok. Byl zahájen v Praze a v Pekingu. V katedrále sv. Víta v Praze bylo provedeno Mozartovo Requiem, které se hrálo i na Chopinově pohřbu v katedrále Madeleine v Paříži. Velký význam se přikládá tomu, že do Prahy byla na tuto příležitost zapůjčena Chopinova posmrtná maska.

Čechy navštívil skladatel celkem pětkrát, dvakrát jimi pouze projížděl při koncertní cestě do Vídně, třikrát se tu zdržel na delší dobu a tyto pobyty měly v jeho životě velký význam. V roce 1835 se tu setkal naposledy se svými rodiči a v roce 1836 s rodinou své snoubenky Marie Wodzińské. Dívka namalovala Chopinův portrét, skladatel zkomponoval během pobytu v penzionu U bílé labutě píseň Prsten. Poté, co se s Marií na příkaz dívčiny matky rozešli, věnoval jí valčík L'Adieu op. 69. Snoubenčiny dopisy si Chopin po celý život schovával, převázal je modrou stužkou a napsal na ně vlastnoručně Moja bída, což značí v češtině Moje hoře. Dopisy byly nalezeny u jeho úmrtního lože v domě na Place Vendôme v Paříži.

Tento velký skladatel a klavírista trpěl téměř po celý svůj život závažnou chronickou chorobou, na kterou zemřel ve svých 39 letech.

Jeho přání, aby byl pohřben v Polsku, bylo vzhledem k politické situaci nespílitelné. Dva dny před smrtí sdělil své sestře Ludwice přání, aby byla provedena pitva, aby alespoň jeho srdce bylo převezeno do Varšavy a aby se na jeho pohřbu hrálo Mozartovo Requiem. Pohřeb se konal 30. října za účasti více než 3 tisíc zvaných hostů. Chopinovo srdce převezla údajně do Polska tajně jeho sestra Ludwika ve sklenici naplněné koňakem a zabalené v prádle. Po třiceti letech bylo zazděno do pilíře kostela svatého Kříže ve Varšavě. Na pilíři je citát z bible (Matouš Mt 6, 21): „Vždyť kde je poklad Váš, tam bude i Vaše srdce“.

O podstatě Chopinovy nemoci se vedou spory. V době jeho života byly všechny chronické respirační choroby pokládány za tuberkulózu. Chopinův poslední lékař, dr. Cruveilhier, který také prováděl pitvu, byl proslulý odborník na tbc. Po pitvě údajně sdělil Chopinově sestře, že srdce bylo postiženo více než plíce a že se s podobným onemocněním dosud nesešel. Sekce prokázala kardiomegalii, plicní změny snad nesevěčily pro tbc. Cruveilhier řekl, že pitva sice neodhalila podstatu nemoci, že však je jisté, že s podobnými změnami nemohl Chopin přežít. Pitvění protokol se ztratil.

Chronické respirační nemoci se vyskytovaly i v Chopinově rodině. I jeho otec měl respirační problémy, žil však do 73 let. Jedna ze tří Chopinových sester zemřela na závažné od dětství trvající respirační onemocnění ve 47 letech. Nejmladší sestra byla velmi slabé dítě trvale kašlající a dušné. Zemřela ve 14 letech. Chopin sám od dětství trpěl záněty dýchacích cest s úporným - zejména ranním kašlem. V zimě mívával opakované exacerbace infekce dý-



chacích cest. Měl ztíženou průchodnost nosu (polypy?). Osmnáct let se opakovaly hemoptýzy. Byl nápadně únavný – často ho bylo třeba od piana odnést, v posledních letech života vyučoval vleže; měl problémy s chůzí do schodů. Měl soudkovitý hrudník, ale neměl paličkovité prsty!

Měl opakované průjmy, nesnášel tučná jídla a při výšce 170 cm vážil 48 kg. Údajně měl opožděnou pubertu. V roce 1837 během pobytu na Majorce prodělal šok z horka. Velmi pravděpodobně byl neplodný. Ačkoli měl 11 let trvající vztah s George Sand neměli spolu děti. V posledním roce života byl jeho stav velmi vážný, téměř neopouštěl lůžko. Měl otoky končetin, bolesti kloubů, opakované hemoptýzy. Bez opory nemohl ani sedět, byl velice dušný. Po velkém utrpení a 4 denní agonii zemřel 17.10.1849 ve 2 hodiny ráno.

Diferenciálně diagnosticky přicházejí v úvahu kromě tuberkulózy alergie, astma, alergická bronchopulmonální aspergilóza, hypogammaglobulinemie, mitrální stenosa, insuficience valvulae tricuspidalis, Churgův-Straussově syndrom (alergická granulomatosní angitida), plicní hemosiderosa a arteriovenosní plicní malformace. Proti tuberkulóze se zdá mluvit to, že neakazil ani Georgje Sandovou ani její děti, ačkoli s nimi byl mnoho let v úzkém styku. V poslední době se za nejpravděpodobnější příčinu uvádí deficit  $\alpha$ 1- antitrypsinu (O'SHEA 1987), nebo cystická fibróza (Kuzemko 1994). U obou těchto chorob se zdůrazňuje rodinná anamnéza a multiorgánové postižení. Autoři, přimlouvající se za tuberkulózu tvrdí, že gastrointestinální problémy mohou být přítomny i u chronické tbc. Proti cystické fibróze mluví hlavně to, že v době před antibiotiky žil Chopin 39 let. Měl-li skutečně insuficienci zevní sekrece pankreatu, musela by mít pozdní nástup, protože nejsou zprávy o tom, že by jako malé dítě byl nápadně slabý. Muselo by tedy jít o atypickou formu CF vyvolanou mírnými mutacemi.

Před dvěma lety zažádala skupina polských kolegů o povolení prozkoumat Chopinovo srdce, aby mohla molekulárně genetickým vyšetřením zjistit pravou příčinu skladatelovy smrti, což vyvolalo celonárodní debatu. Ukončilo ji zamítavé rozhodnutí ministerstva kultury. Jedno ze zdůvodnění znělo, že „s národní relikvií se musí zacházet patřičným způsobem“. Podstatu Chopinovy nemoci se tedy pravděpodobně nikdy nepodaří odhalit.

Literatura o Chopinově nemoci:

- Pačes V. *Úvahy o nemoci Fryderyka Chopina. Vnitř Lek. 1980; Říjen;26(10):1027-31.*
- O'Shea JG. *Was Frédéric Chopin's illness actually cystic fibrosis? Med J Aust 1987;147:5869.*
- Kuzemko J. *Chopin's illness. J. Royal Soc. Med. 1994; 87: 769.*
- Steinkamp G. *Did Frédéric Chopin actually suffer from tuberculosis? Pneumologie. 1996; 50 Suppl 3:807-11.*
- Kubba AK, Young M. *The long suffering of Frederic Chopin. Chest 1998;113:210-213*
- Majka L, Goździk J, Witt M. *Cystic fibrosis – a probable cause of Frédéric Chopin's suffering and death. J Appl Genet. 2003;44:77-84.*
- Persson H, Wikman B, Strandvik B. *Frederic Chopin – the man, his music and his illness. Przegl Lek 2005;62:321-5.*



FIGURE 2. A caricature done in 1844 shows a barrel-chested Chopin with thin limbs (courtesy of Madam M. Maurvois).

## A JAK TO JE S NAŠÍ HISTORIÍ CYSTICKÉ FIBRÓZY?

První zprávy o cystické fibróze se objevily v naší literatuře záhy po 2. světové válce. Šlo o kasuistiky ojedinělých případů. Prvním souborným referátem byla zpráva Švejcara, Benešové a Houšťka publikovaná v roce 1948, která shrnovala kasuistiky několika kojenců, diagnostikovaných na pražských dětských klinikách nebo sekčně. Diagnóza se tehdy opírala o klinický průběh a průkaz insuficience zevní sekrece pankreatu. Ten spočíval ve vyšetření duodenální šťávy, mikroskopickém vyšetření stolice a v nepřímém průkazu nedostatku pankreatických enzymů. Nedostatek lipázy se prokazoval lipodolovým testem, nedostatek proteolytických enzymů nedostatečným natrávením želatinové vrstvy fotografického filmu postupně ředěnou stolicí.

V roce 1958 strávil prof. Houštěk několik měsíců na studijním pobytu v USA. Zjistil tam, že podkladem chronických a opakovaných respiračních chorob je u velkého počtu dětí CF. Z jeho podnětu se po roce 1960 zhodnotil výskyt CF na podkladě klinických a sekčních údajů ve Středočeském kraji – 1:2 730 živě narozených. Výskyt CF na Slovensku hodnotil v roce 1979 Hruškovič a Getlík jako 1:1 730 živě narozených.

Byl zaveden potní test pilokarpinovou iontoforézou a CF se začala diagnostikovat i u starších dětí. Byly vyzkoušeny různé metody kvantitativního stanovení koncentrace chloridů v potu a stanoveny hraniční hodnoty. Motolské pracoviště má zkušenost s více než 30 000 potními testy. V současnosti provádí kolem 1800 potních testů ročně.

Postupně se diagnostika CF rozšiřovala po celé republice. Péče o nemocné s CF se koncentrovala především do fakultních a větších okresních nemocnic, jednotliví pacienti však byli léčeni i mimo tato střediska. Při České Pediatrické společnosti – součásti České lékařské společnosti J.E. Purkyně – vznikla pracovní skupina pro cystickou fibrózu, vedená prof. Houšťkem. Organizovaly se pracovní dny, přednáškové večery a řadu let se opakovala i předvánoční setkání s odborným a kulturním programem na Bertramce. Jednotliví lékaři, kteří se více cystickou fibrózou zabývali, se setkávali na celostátních i zahraničních kongresech a konferencích. V červnu 1989 se v Praze konala 16. konference Evropské pracovní skupiny pro cystickou fibrózu (European Working Group for Cystic Fibrosis – EWGCF), které se kromě četných zahraničních hostů účastnila aktivně i řada českých a slovenských kolegů. Ve sborníku konference vyšla společná práce Houšť k J, Hruškovič I, Vyhnálek M, Kayserová H, Pavluchová J, Vávrová V. Care for cystic fibrosis patients in Czechoslovakia. ([Acta Univ Carol Med \(Praha\). 1990;36\(1-4\):217-9](#)).

V roce 1992 byl založen Klub rodičů a přátel dětí nemocných cystickou fibrózou, dnes Klub nemocných CF. Kromě mnoha jiných aktivit pořádá klub pravidelná setkání rodičů a nověji i prarodičů, aukce obrázků nemocných i jejich kamarádů, šíří znalost CF v populaci a pomáhá nemocným i jejich rodinám jak materiálně tak psychologicky. Oblíbené rekondiční tábory a společné pobyty u moře byly v soulase s doporučeními Evropské společnosti CF i NACFF (North American Cystic Fibrosis Foundation) zrušeny pro nebezpečí šíření infekce. Po rozdělení republiky vyhlásilo v roce 2002 Ministerstvo zdravotnictví ČR 5 center pro CF. Bohužel nemají všechny náležitosti „centra“ a tedy ani samostatné hospodaření. Ne všichni splňují kritéria, která na centra kladou Standardy publikované Evropskou společností pro cystickou fibrózu v roce 2005. Spolupráce jednotlivých center je nesoustavná a spočívá hlavně v osobním styku jednotlivých lékařů. V současné době se snažíme o legalizaci a ekonomické zajištění center.

Za půl století se v péči o nemocné CF jsme zaznamenali některé neúspěchy, ale i nesporný pokrok jak v diagnostice tak v léčbě. K neúspěchům patří zhoršení diagnostiky v terénu. Lékaři na CF však nemyslí. Věk, v kterém jsou nemocní diagnostikováni stoupl a setkáváme se s typickými projevy u nemocných s tzv. těžkými mutacemi CFTR genu, kteří byli řadu let léčeni pod nesprávnou diagnózou.



Provedli jsme proto pilotní studii (1.2.2005 až 2.11.2006) novorozeneckého screeningu metodou IRT/DNA/IRT, která odhalila 11 nemocných CF. Medián věku při stanovení diagnózy byl 38 dní. Pět z těchto novorozenců mělo staršího sourozence a u 3 z nich byla diagnostikována rovněž CF. Do té doby se léčili pod jinými diagnózami. Od října 2009 je v ČR zaveden celoplošný ministerstvem garantovaný, Věstníkem MZD definovaný novorozenecký screening CF na principu IRT/DNA/IRT. Současně od srpna 2009 běží grantová studie IRT/PAP/DNA, která měla původně za cíl překlenout dobu, než bude národní screening spuštěn, ale nakonec se provádí paralelně. Věříme, že nám to umožní posoudit, který model je výhodnější. Metoda IRT/DNA/IRT je dražší a vygeneruje relativně hodně zdravých nosičů mutace CFTR genu. IRT/PAP/DNA oproti tomu představuje větší stress pro rodiny vzhledem k nutnosti provést vyšetření potního testu u poměrně vysokého počtu novorozenců. Od zahájení screeningu jsme odkryli již 7 novorozenců, jeden z nich opět měl staršího sourozence s CF. K úspěchům nesporně patří perfektní diagnostika molekulárně genetická. V polovině 90. let docílilo motolské genetické pracoviště >98% populačně specifický záchyt mutací CFTR genu. V současné době není v motolském pediatrickém souboru ani jeden CF nemocný s dvěma neznámými mutacemi a pouze 3 dospělí mají jednu neznámou mutaci. Podařilo se to díky novým metodám a mezinárodní spolupráci.

Výrazně se zlepšila mikrobiologická diagnostika. PCR diagnostika komplexu *Burkholderia cepacia* a *Pseudomonas aeruginosa* umožnila včasnou identifikaci mikrobů a separaci různě infikovaných nemocných, což příznivě ovlivňuje jejich zdravotní stav.

Byly zavedeny nové léčebné metody, úspěšně se provádí domácí i.v. léčba nemocných infikovaných *Pseudomonas aeruginosa*. Od roku 1998 jsou v Praze prováděny transplantace plic. Dosud bylo transplantováno 24 nemocných, z nichž 11 žije, většinou s velmi dobrou kvalitou života. Devět nemocných bohužel zemřelo na čekací listině. V roce 1999 byla provedena 1. transplantace jater u nemocného s CF, druhou podstoupila mladá žena, u které byly před tím transplantovány plíce. Oba žijí v dobrém stavu. Jeden nemocný zemřel na čekací listině, jeden je na čekací listině v současné době. V lednu 2004 byla v Institutu klinické a experimentální medicíny provedena transplantace srdce u 18letého chlapce, u kterého byla CF komplikována dilatační kardiomyopatií. Po 4 letech velmi příznivého průběhu se jeho stav zkomplikoval maligním lymfomem, kterému pacient v listopadu 2008 podlehl.

Velký pokrok udělala respirační fyzioterapie. Byly zavedeny nové metody spočívající v aktivním cyklu dechových technik, v autogenní drenáži, v užívání respiračních trenažérů i v pohybové terapii. Respirační handling kojenců velmi příznivě ovlivnil průběh nemoci, což prokázalo srovnání stavu výživy a funkce plic skupiny dětí léčených touto metodou a kontrolní skupiny.

Longitudinálně sledujeme stav výživy a funkce plic našich nemocných od roku 1985. Po roce 1990 se s otevřením hranic velmi zlepšily naše léčebné možnosti. Výrazně se zlepšila dostupnost nových antibiotik, účinné pankreatické substitute, nutričních preparátů. Od r. 1995 máme možnost podávat rhDNázu všem indikovaným nemocným. Metody fyzioterapie byly obohaceny o moderní trenažéry a výkonné inhalační přístroje.

To vše vedlo k výraznému zlepšení péče o nemocné s CF, k prodloužení jejich života i zlepšení jeho kvality. Postupně se nám daří vyrovnat zpoždění, způsobené 40 lety izolace a stav našich nemocných se blíží stavu nemocných ve vyvinutých zemích.

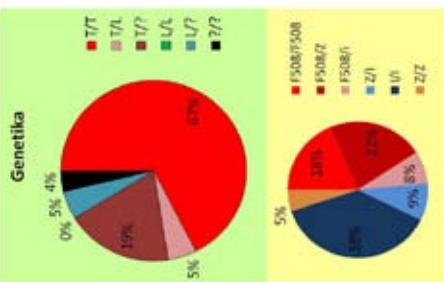
Podporováno VZ MZOFNM2005.

# REGISTER CF PACIENTOV SR - ÚDAJE Z JEDNOTLIVÝCH CENTIER - BRATISLAVA

Hana Kayserová, Ingrid Mikulášová, Branislav Remiš, Dorota Zlochová

## Register CF pacientov SR - údaje z jednotlivých centier - Bratislava

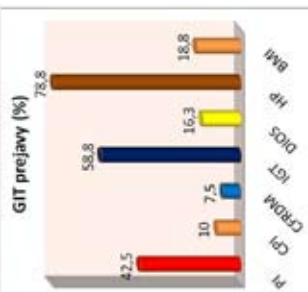
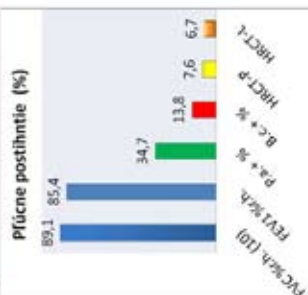
Hana Kayserová, Ingrid Mikulášová,  
Branislav Remiš, Dorota Zlochová



### Hana Kayserová

- Súbtor
  - 157 pacientov
  - 80 ČS, 77 ČR
- Vek
  - Ø 17,3 roka (2,1-34,3)
- Pohlavie
  - 45 ♂, 35 ♀
- Diagnóza
  - Ø 46,9 m. - 3,9 roka (0 - 290 m.)
- Potný test
  - Ø 94,6 mmol/l (12-279,0 mmol/l)
- Genetika
- Iné
  - Transplantácie: 0
  - Ml: 14 (8,9%)

### Niektoré klinické prejavy - HK

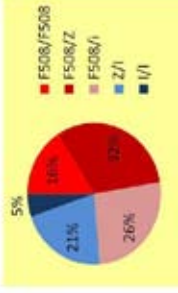


Pankreatická elastáza: Ø 136,8 (0,08-689 mmol/l)

## Ingrid Mikulašová

- Súbtor
  - 40 pacientov
  - 23 CF, 17 CFR
- Vek
  - Ø 10,3 roka (0,6 – 20,7)
- Pohlavie
  - 10 ♂, 13 ♀
- Diagnóza
  - Ø 18,9 m. – 1,6 roka (0 – 87 m.)
- Potný test
  - Ø 89,3 mmol/l (18,5-160,0 mmol/l)
- Genetika
- Iné
  - Transplantačie: 0
  - MBS: 5
  - MI: 2 (5%)

### Genetika



## Branislav Remiš

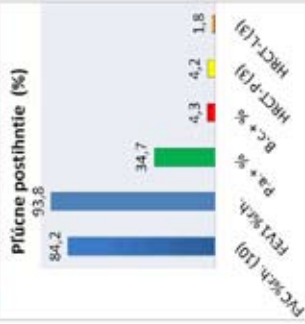
- Súbtor
  - 64 pacientov
  - 43 CF, 21 CFR
- Vek
  - Ø 34,7 roka (19,1-74,3)
- Pohlavie
  - 14 ♂, 29 ♀
- Diagnóza
  - Ø 46,9 m. – 3,9 roka (0 – 290 m.)
- Potný test
  - Ø 75,2 mmol/l (8,7-166,7 mmol/l)
- Genetika
- Iné
  - Transplantačie: 0
  - MI: 0

### Genetika

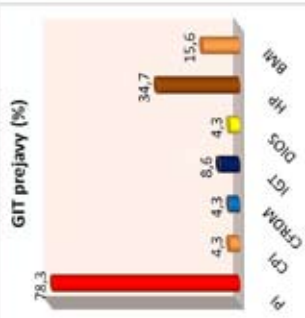


## Niektoré klinické prejavy - IM

### Plúcne postihntie (%)



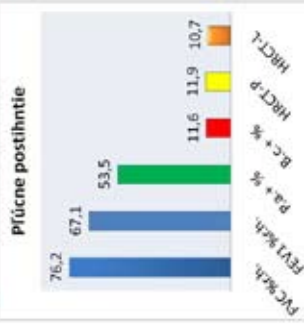
### GIT prejavy (%)



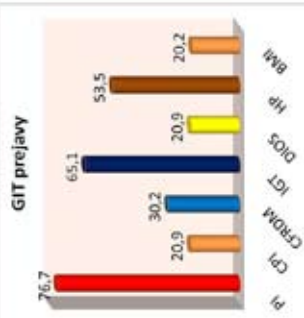
Pankreatická elastáza: Ø 239,1 (43-461 mmol/l)

## Niektoré klinické prejavy - BR

### Plúcne postihntie



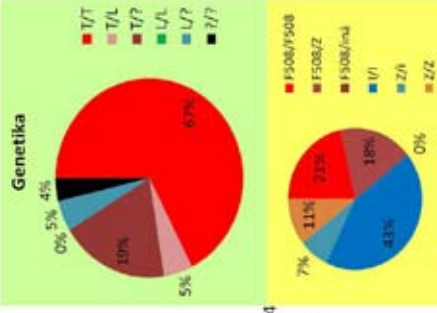
### GIT prejavy



Pankreatická elastáza: Ø 250,3 (15-520 mmol/l)

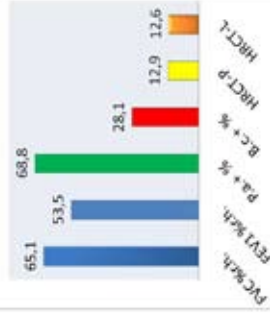
## Dorotka Zlochová

- **Súbor**
  - 32 pacientov
  - **22 CF**, 10 CFR
- **Vek**
  - $\bar{\varnothing}$  30,3 roka (21,7–51,8)
- **Pohlavie**
  - 17 ♂, 15 ♀
- **Diagnóza**
  - $\bar{\varnothing}$  140,8 m. – **11,7 roka** (1,0 – 56,4)
- **Potný test**
  - $\bar{\varnothing}$  79,1 mmol/l (8,7–124 mmol/l)
- **Genetika**
- **Iné**
  - Transplantácie: 3 (+1)

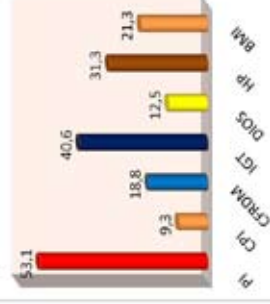


## Niektoré klinické prejavy - DZ

Pľúcne postihnutie

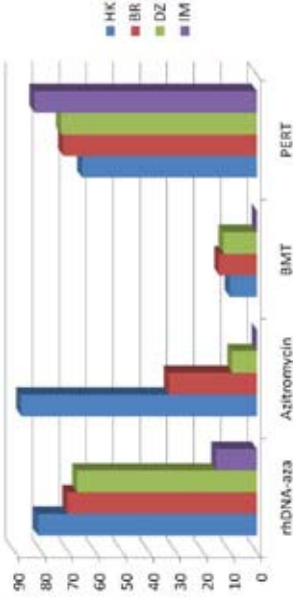


GIT prejav



Pankreatická elastáza:  $\bar{\varnothing}$  275,1 (15-560 mmol/l)

## Niektoré liečebné postupy podľa centier

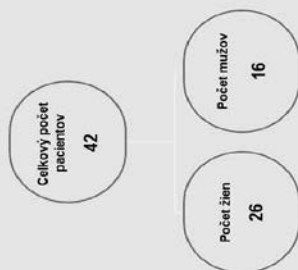


## Záver:

- Počet pacientov v CFC Bratislava
  - 293 (168 CF, 125 CFR) 64,5% SR (63,4% CF)
- Počet lekárov: 4 (6)
- Fyzioterapia
  - FRO FNŠP Ružinov
  - FRO NŠP Podunajské Biskupice
- Komplexná starostlivosť
  - Diétna sestra
  - Psychológ?
  - Gynecologicko-pôrodné oddelenie
  - Chirurgické oddelenie + hrudníková chirurgia
  - HRCT?, FVP
  - Genetické oddelenie (Genexpress)
  - Mikrobiologické oddelenie (Hapl)
  - JIS – Ružinov, JIS – DFN
- Centrum CF?

# SLOVENSKÝ CF REGISTER SPRACOVANÝ ROK 2009

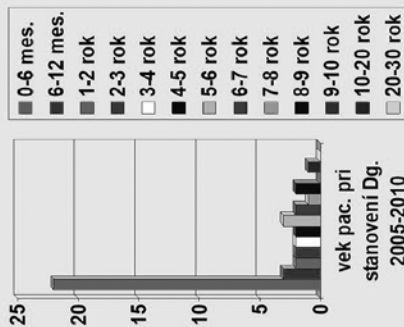
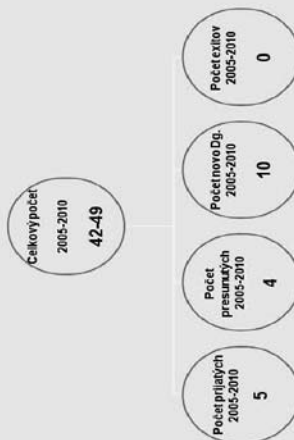
## Rozloženie pacientov

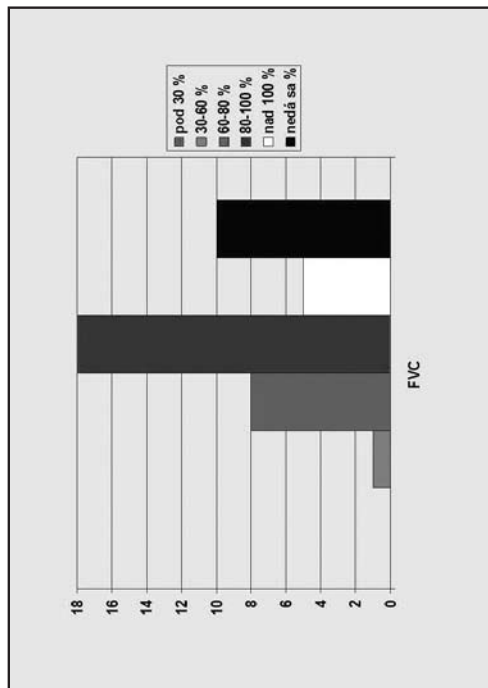
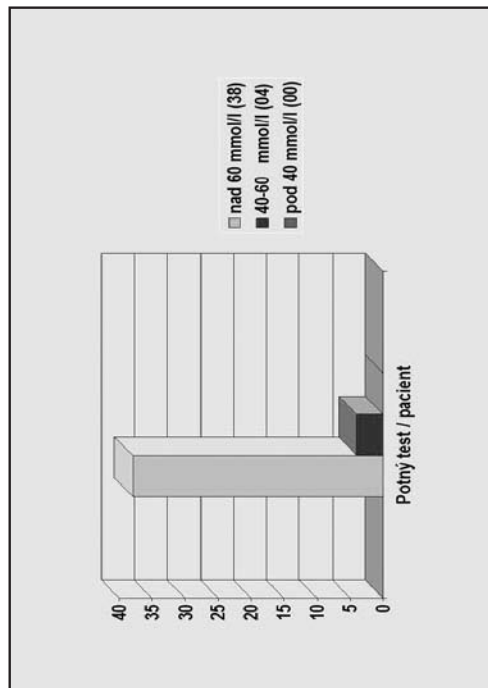
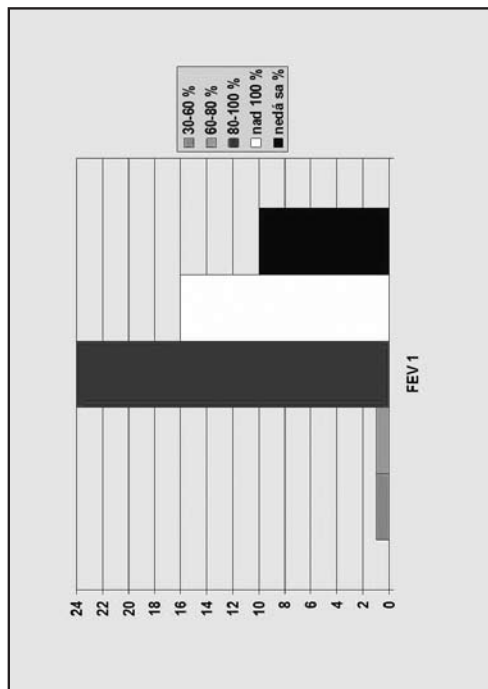
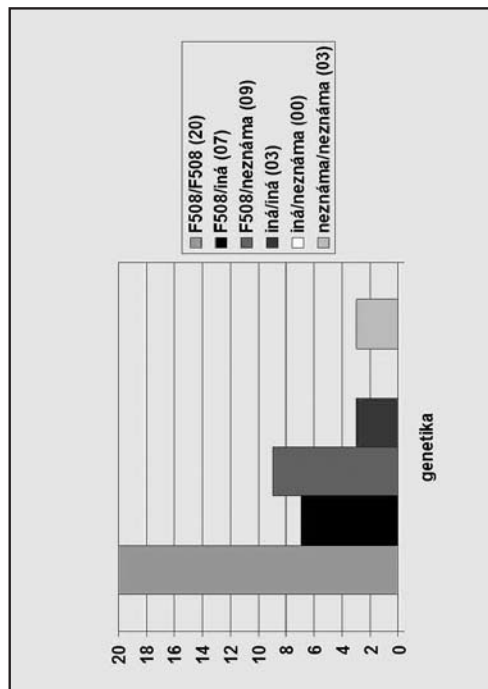


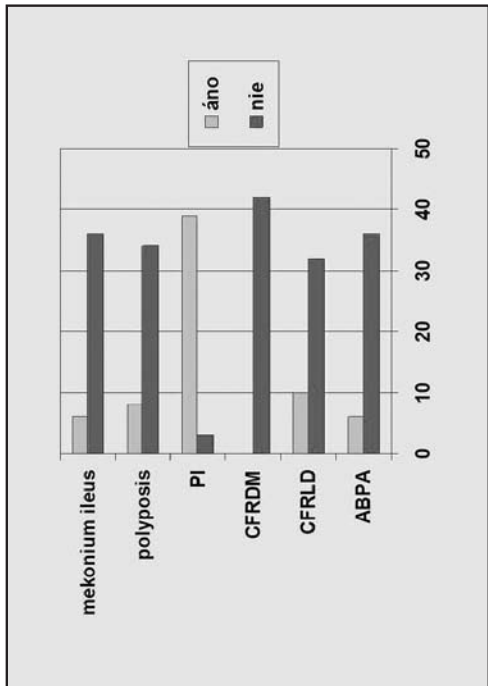
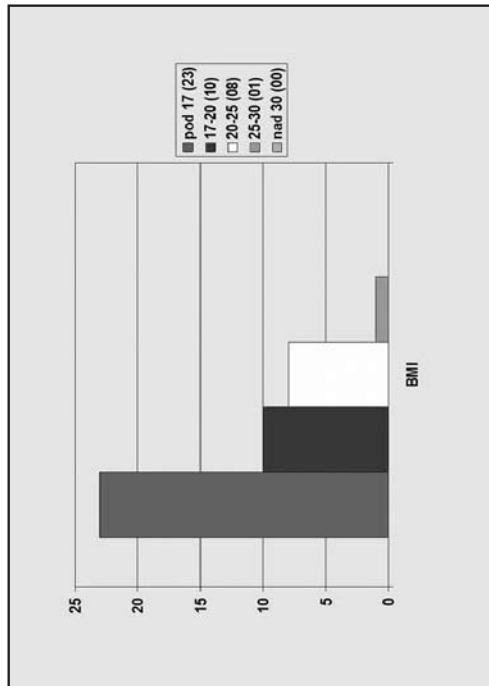
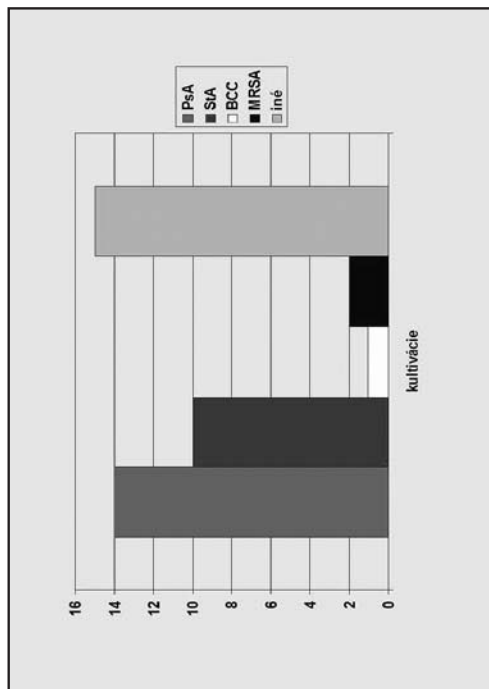
## Rozloženie pacientov jednotlivých centier

Kritérium na zaradenie do CF registra	Počet pacientov
1/ 2 potné testy nad 60 mmol/l	38
2/ 1 potný test nad 60 mmol/l + DNA analýza: 2 mutácie, ktoré spôsobujú CF	30
3/ potný test ≤ 60 mmol/l + 1/ DNA analýza- 2 CF mutácie 2/ pozit. transepitelálny potenciál 3/ klinické prejavy typické pre CF	30
4/ iné	

## Rozloženie, migrácia pacientov





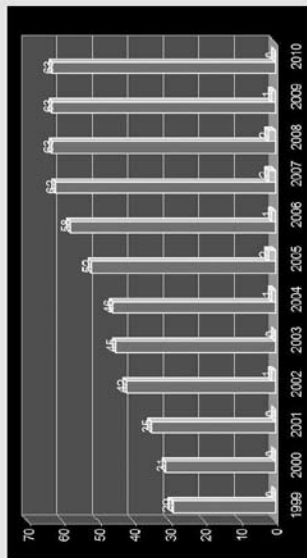


# SLOVENSKÝ CF REGISTER - SPRACOVANÝ ROK 2009

Centrum pre cystickú fibrózu Košice

MUDr. Anna Feketeová

## CF centrum Košice

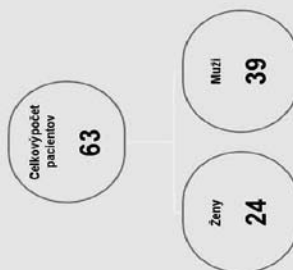


## CF centrum Košice r. 2010



- Tímová práca - pneumológ a pediater, mikrobiológ, dietetik, fyzioterapeut, psychológ, Klub cystickej fibrózy, špecializovaná CF sestra
- Medzinárodná spolupráca
- Klinické štúdie
- Webové stránky
- Genetické vyšetrenia a genetické poradenstvo
- Predĺženie dĺžky života, výrazné zlepšenie kvality života

## Rozloženie pacientov KE

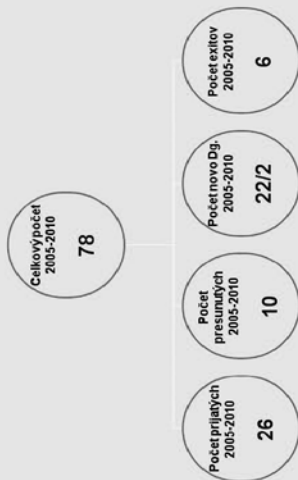


## Rozloženie pacientov v centre KE

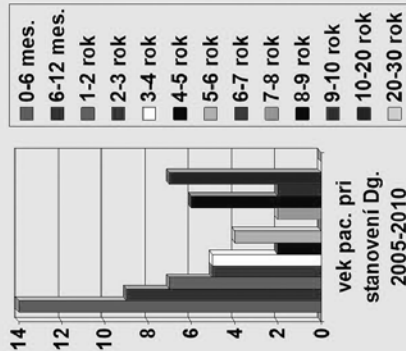
Kritérium na zaradenie do CF registra	Počet pacientov
1/ 2 potné testy nad 60 mmol/l + DNA analýza: 2 mutácie, ktoré spôsobujú CF	22
2/ 1 potný test nad 60 mmol/l + DNA analýza: 2 mutácie, ktoré spôsobujú CF	2
3/ potný test $\leq$ 60 mmol/l + 1/ DNA analýza- 2 CF mutácie 2/ pozit. transepitelálny potenciál 3/ klinické prejavy typické pre CF	2
4/ Iné - potný test nad 60 mmol/l + DNA analýza 1 mutácia, ktorá spôsobuje CF + klinické prejavy	38



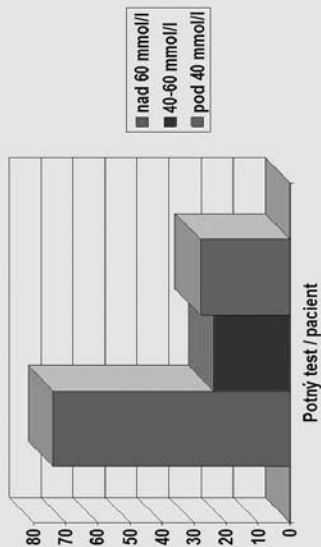
## Rozloženie, migrácia pacientov KE



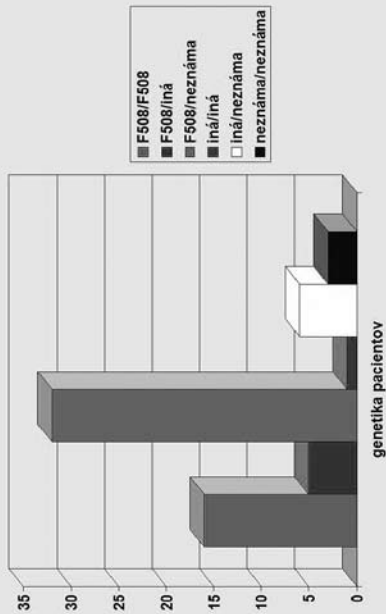
## CF centrum KE



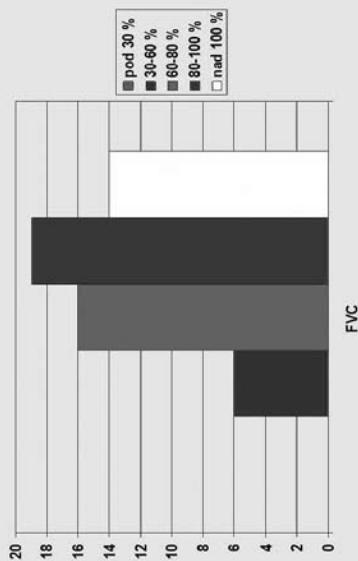
## CF centrum KE



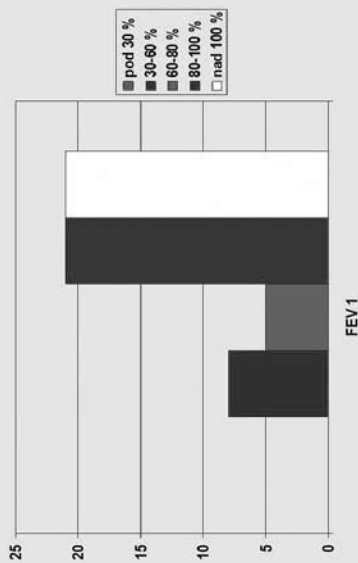
## CF centrum KE



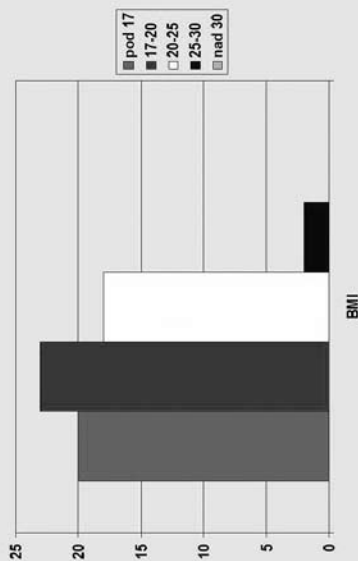
### CF centrum KE



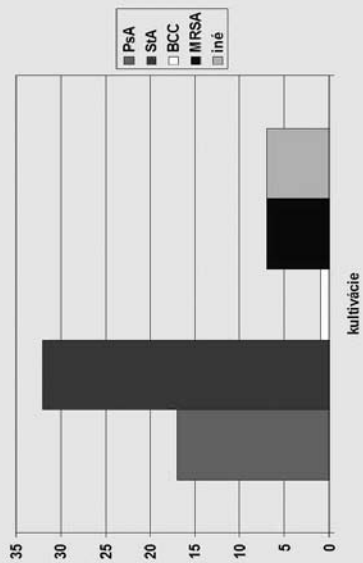
### CF centrum KE



### CF centrum KE



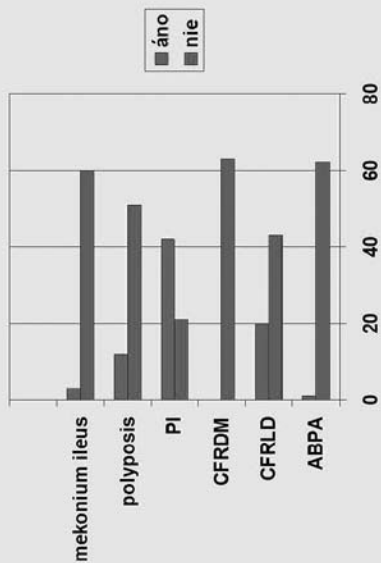
### CF centrum KE



## Ďakujem za pozornosť



CF centrum KE



# SLOVENSKÝ CF REGISTER - SPRACOVANÝ ROK 2009

Centrum CF pre dospelých FnSP FDR Banská Bystrica  
MUDr. Eva Bérešová

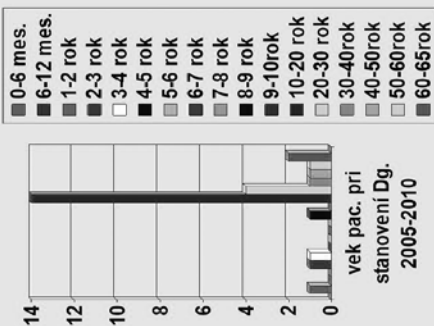
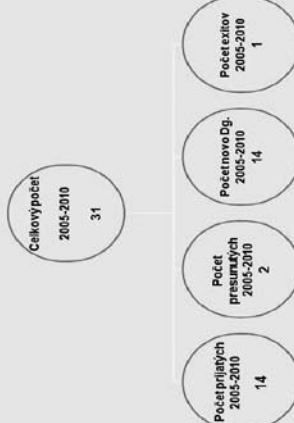
## Rozloženie pacientov jednotlivých centier

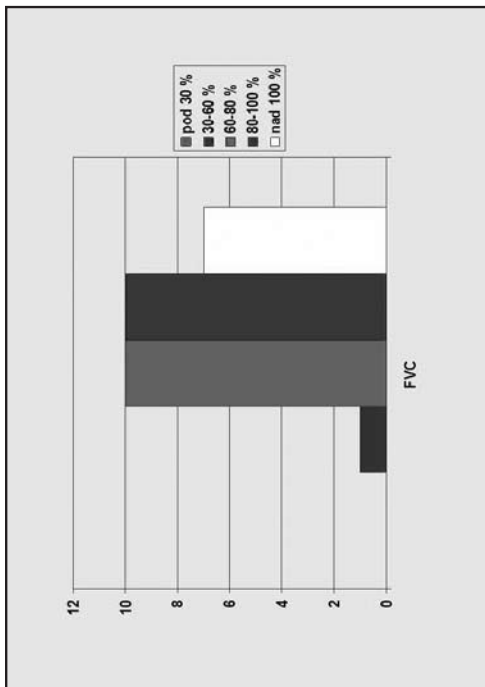
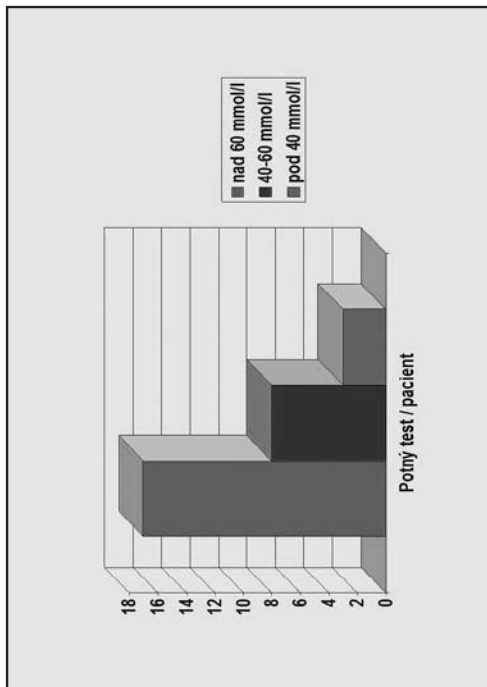
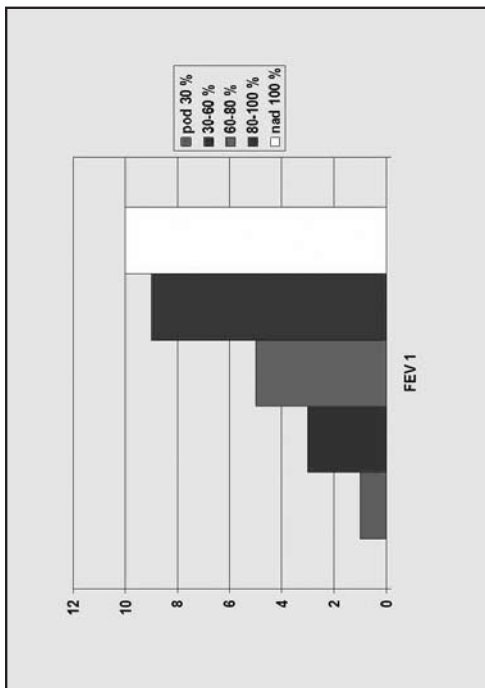
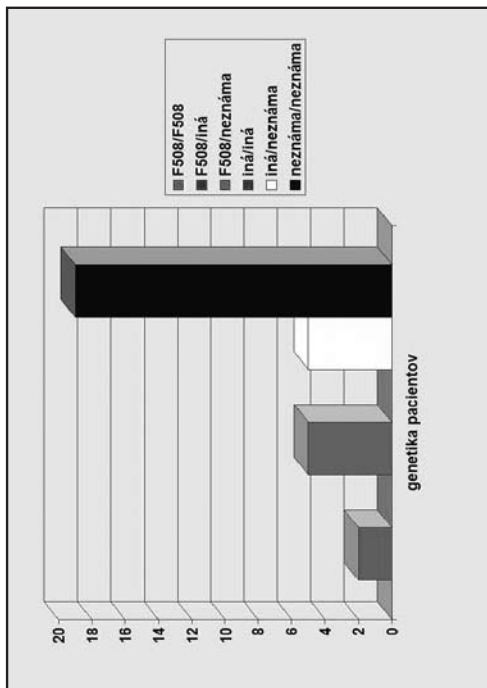
Kritérium na zaradenie do CF registra	Počet pacientov
1/ 2 potné testy nad 60 mmol/l	16
2/ 1 potný test nad 60 mmol/l + DNA analýza: 2 mutácie, ktoré spôsobujú CF	2
3/ potný test ≤ 60 mmol/l + 1/ DNA analýza- 2 CF mutácie 2/ pozit. transepitelálny potenciál 3/ klinické prejavy typické pre CF	5
4/ iné	5

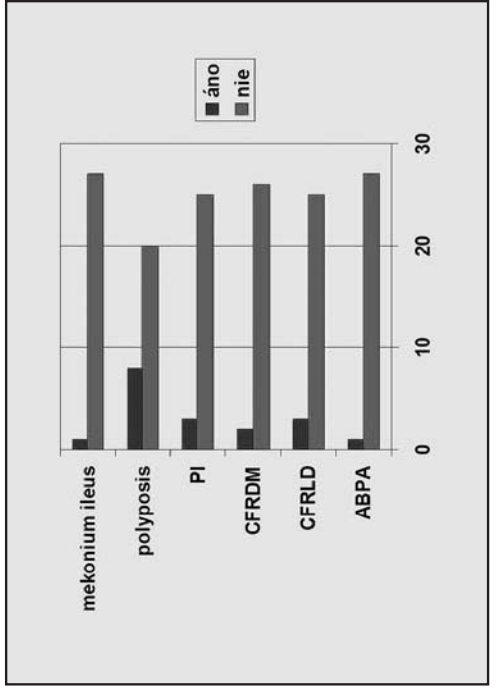
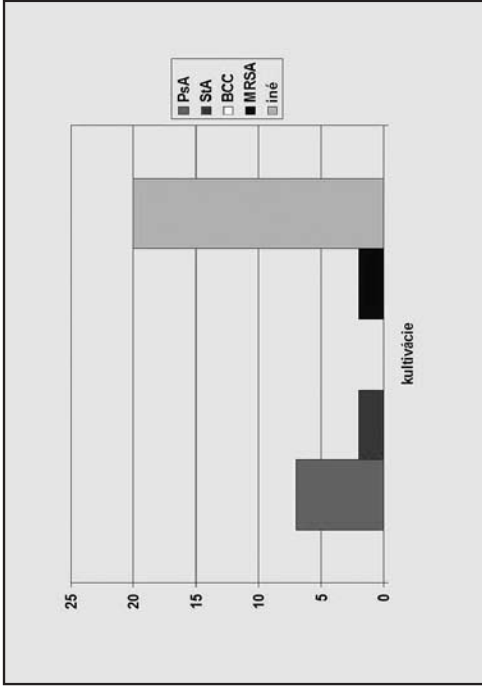
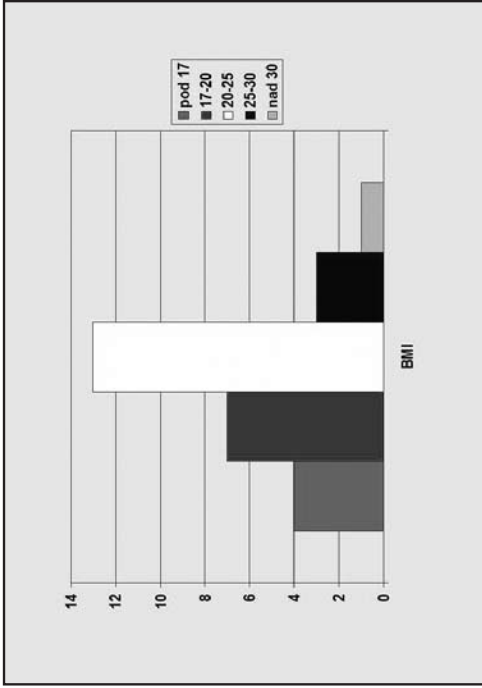
## Rozloženie pacientov



## Rozloženie, migrácia pacientov







**Ďakujem za pozornosť.**

# SLOVENSKÝ CF REGISTER - SPRACOVANÝ ROK 2009

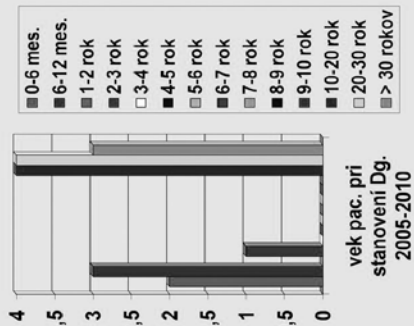
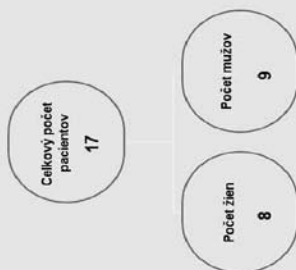
Klinika Pneumológie a Ftizeológie FNLK Košice

MUDr. Kopčová Lenka ; MUDr. Somoš Andrej

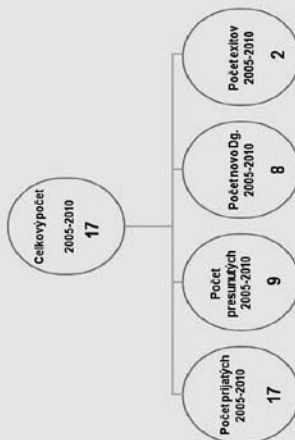
## Rozloženie pacientov jednotlivých centier

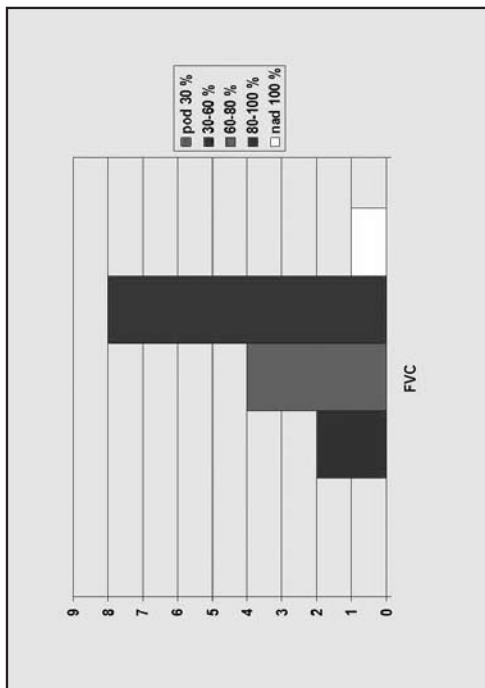
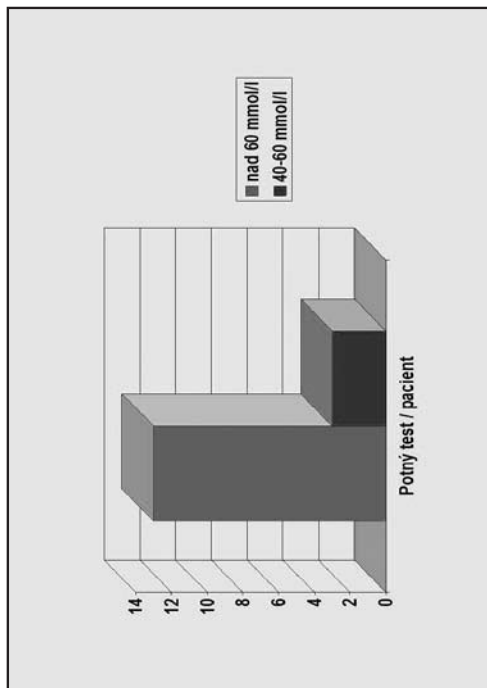
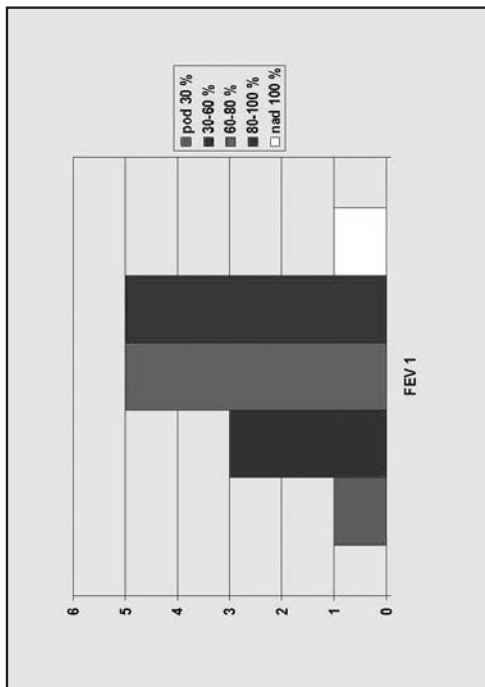
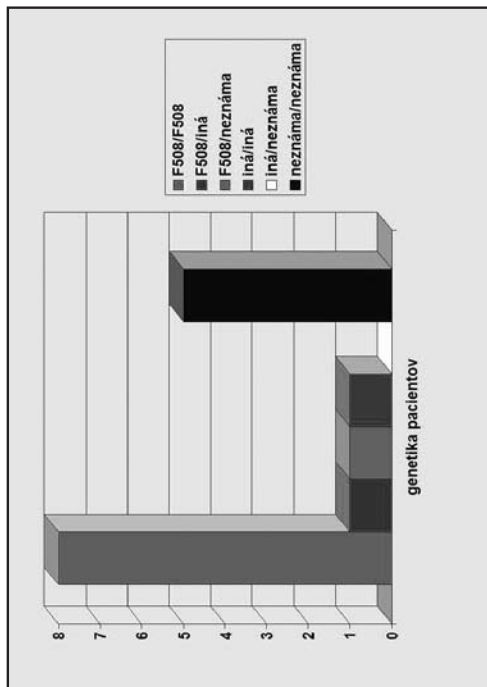
Kritérium na zaradenie do CF registra	Počet pacientov
1/ 2 potné testy nad 60 mmol/l	4
2/ 1 potný test nad 60 mmol/l + DNA analýza: 2 mutácie, ktoré spôsobujú CF	9
3/ potný test ≤ 60 mmol/l + 1/ DNA analýza- 2 CF mutácie 2/ pozit. transepitelálny potenciál 3/ klinické prejavy typické pre CF	1
4/ iné	3

## Rozloženie pacientov

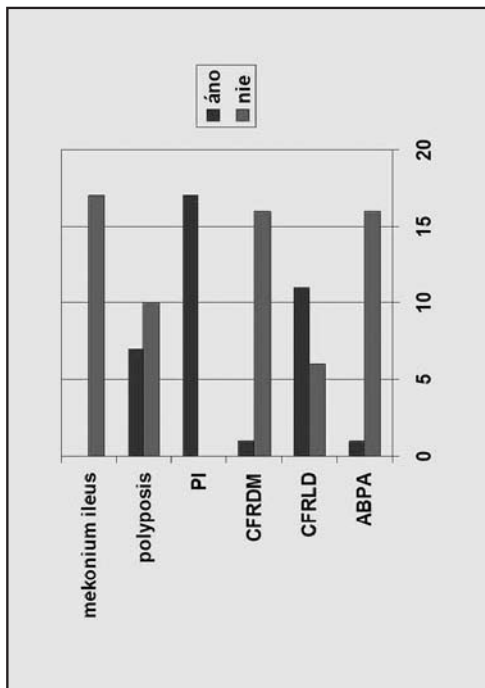
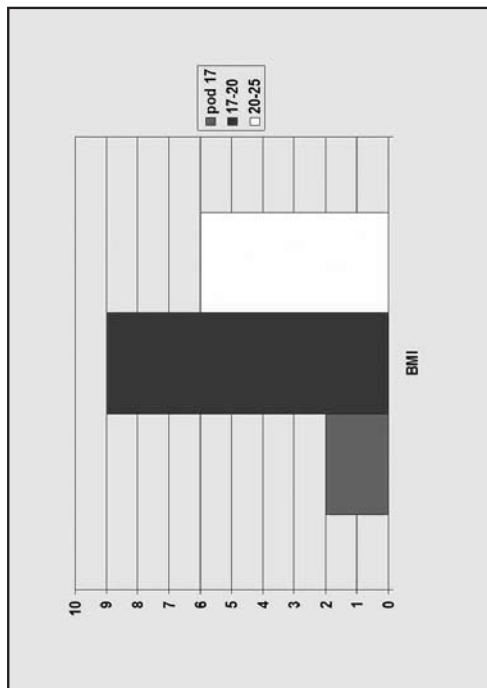
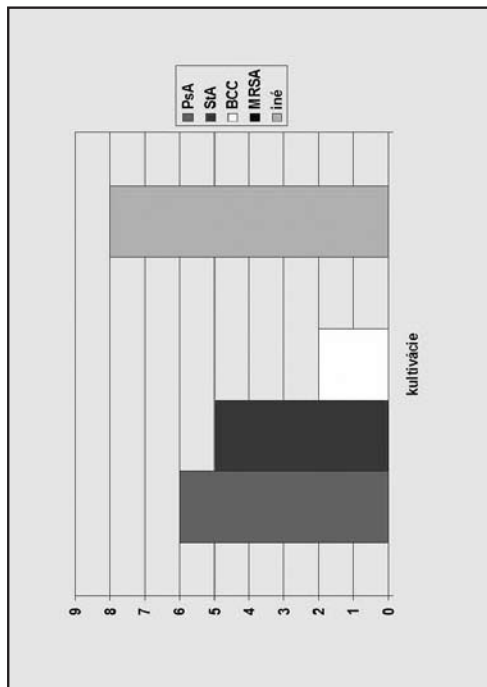


## Rozloženie, migrácia pacientov









## ZKUŠENOSTI S REGISTREM CYSTICKÉ FIBRÓZY V ČESKÉ REPUBLICE

V. Vávrová, D. Zemková, V. Skalická, J. Bartošová, M. Balaščíková, T. Piskáčková, T. Kučerová, L. Fila, L. Smolíková, M. Turnovec, P. Dřevínek, M. Macek Jr  
Centrum Cystické fibrózy, UK 2. LF a FN Motol, Praha

Registr pacientů je organizovaný systém sběru dat pro účely vědecké, klinické a administrativní. Slouží k zjištění demografických údajů, stavu nemocných, účinnosti diagnostických metod, kvality léčebné péče, mortality, přežívání, výskytu infekcí i komplikací.

Podle doporučení Evropské společnosti pro cystickou fibrózu i Nadace pro CF Spojených států by každá země měla mít svůj národní registr. Kromě toho je snaha vytvořit nadnárodní registry, které měří a porovnávají různé aspekty péče o CF v jednotlivých zemích při různé strategii léčby. To umožňuje optimalizaci léčebných schémat. Zároveň poskytují tyto registry data pro epidemiologický výzkum i pro vyhledávání pacientů pro multicentrické studie.

Data shromážděná v národním registru umožní získat přehled o demografických údajích, o stavu pacientů a jejich léčbě. Registrují věk diagnózy, příznaky vedoucí k diagnóze, genotyp, koncentraci chloridů v potu, frekvenci pankreatické insuficience. Na jejich podkladě se lze informovat o výskytu mikrobů v sekretu dýchacích cest, o exacerbacích infekce, o funkci plic i stavu výživy, o výskytu komplikací a způsobu léčení. Pomohou nám odpovědět si na řadu otázek. Umožňují vyhledávat vztahy mezi jednotlivými veličinami a tím i hledat prognostické faktory, dovolují porovnávat stav pacientů v různém období, provádět srovnání funkce plic u pacientů s různým léčebným režimem, srovnávat klinický stav v různých zemích.

Předpokladem pro zařazení do registru je informovaný souhlas pacienta nebo jeho rodičů. Podle evropských pravidel registrujeme výhradně pacienty s prokázanou CF, tj. ty, u kterých pro CF svědčí klinický obraz a jsou prokázány dvě mutace, o kterých je známo, že působí CF a/nebo kteří mají nejméně 2 x spolehlivě prokázaný pozitivní potní test.

Pacienty kteří mají pouze 1 mutaci a hraniční hodnoty potního testu do registru nezařazujeme. Dispenzarizujeme je jako možnou CFRD (CF related disease) a pátráme podrobným molekulárně genetickým vyšetřením po druhé mutaci. Sledujeme u nich klinické projevy a možné komplikace, přítomnost infekce *Pseudomonas aeruginosa*, RTG nález sinusitidy, u dospělých mužů průkaz azoospermie.

To, že ne každé podezření na CF se potvrdí, ukazuje kasuistika dnes 73letého muže. Od dětství měl zahalené dýchací cesty s bělavou sekrecí z nosu a expektorací bělavého sputa. Od 1951 inzulinodependentní diabetes mellitus. Měl sklon k nižšímu TK s opakovanými kolapsovými stavy. V letech 1988 – 1998 byl opakovaně operován na ORL pro chronickou pansinusitidu. V roce 1989 diagnostikována bronchitis chronica, resp. CHOPN. 1995 provedena antirefluxní operace pro GER, byl léčen Helicidem. V roce 1992 (v 61 letech) slyšel rozhlasovou relaci o CF a dospěl k názoru, že má tuto diagnózu. Opakovaně mu byla vyšetřena koncentrace chloridů v potu, s hodnotami mezi 47,4 a 93,2 mmol/l, 4x >60 mmol/l. Negativní výsledek analýzy panelu 38 mutací CFTR snížil pravděpodobnost CF na 1:286 (zjištěna pouze potenciálně patogenní varianta IVS8-5T/7T). Byl dále sledován v CF centru. V letech



2003-2004 FEV1 57% náležitě. hodnoty, sputum kultivačně negativní, elastáza 1: 570 µg/g. Vzhledem k tápání o správné diagnóze byl odeslán na vyšetření transepiteliálního rozdílu potenciálů nosní sliznice do laboratoře molekulární patologie CF v Hannoveru. Vyšetření provedla dr. Mekus. Vyšetření potvrdilo diagnózu systémového pseudohypoaldosteronizmu (ENaC disease). Je to autozomálně recesivně dědičná choroba daná mutací epiteliálního natriového kanálu se systémovou manifestací (renální forma spočívá v mutaci receptoru pro aldosteron). V případě postižení dýchacích cest chybí reabsorpce natria (a vody), nemocný se doslova „topí v sekretech“, stejně jako u CF stoupá koncentrace NaCl v potu. Maximum obtíží bývá v časném dětství (užší dýchací cesty).

Do klinickém obrazu patří sklon k hypotenzi, popisuje se i GER, nebývají však sinusitidy. Od počátku soustavné péče o nemocné s CF jsme se snažili mít přehled o tom, kolik nemocných bylo na klinice hospitalizováno od roku 1946. Chyběly nám však podrobnější údaje, protože ne všechny chorobopisy byly dostupné a uchovávaní a sledování dat nebylo v předelektronické době snadné.

Proto jsme se v roce 1996 rozhodli založit elektronickou databázi, pro kterou jsme vyhledali data všech nemocných, kteří žili 1.1.1985 a později. Zařadili jsme tam i některé nemocné sledované na jiných pracovištích, longitudinálně však byli sledováni pouze nemocní léčení ve FN Motol. Zaměřili jsme se na: hodnocení stavu výživy, funkce plic, mikrobiologie sekretů a na některé komplikace. I když byl tento „registr“ amatérský a nedokonalý, umožnil nám dobrou orientaci o stavu nemocných a především o longitudinálním vývoji. Bylo nám všem ovšem jasné, že potřebujeme celostátní registr, který by odpovídal všem právním požadavkům.

Po dořešení právních náležitostí s ochranou dat a přístupem k registru jsme v roce 2003 přistoupili k založení celostátního registru, o němž se zásadně zasloužil MUDr. O. Cinek, PhD.

Co možná největší záchyt v populaci jsme zajistili tím, že jsme po nemocných s CF pátrali i u odborných lékařů i praktických lékařů pro děti a dorost.

Kromě demografických údajů a prvních příznaků sledujeme antropometrické parametry včetně paličkovitých prstů a Tannerova skóre, funkci plic, výsledky zobrazovacích metod a respirační komplikace. Podrobně hodnotíme mikrobiologii sekretů dýchacích cest včetně počtu vyšetření, vyšetření na NTB a anaeroby. Z mimoplicních komplikací sledujeme CFRD – provedení oGTT, jaterní komplikace, osteoporózu a další.

K dnešnímu dni jsme shromáždili data o 566 pacientech, u kterých můžeme hodnotit demografická data. Je to 276 mužů a 290 žen ve věku od 0 do 55 let. Z nich žije 512 (247 mužů, 265 žen), 49 nemocných zemřelo, o 5 se nám nepodařilo získat zprávu. 41 % nemocných je starších než 18 let, medián věku k dnešnímu datu je 15,65 roku. Do registru přispívala jednotlivá pracoviště různými počty nemocných: Praha 331 pacientů, Brno 76, Hradec 60, Olomouc 43, Plzeň 31, Ostrava 14, Most 11.

47 % registrovaných nemocných jsou homozygotními nosiči mutace F508del. Dalších 36,7 % jsou složení heterozygoti této mutace s jinou a necelá 3,18 % mají druhou mutaci neznámou. U 10,6 % jsme zjistili dvě jiné mutace a 0,7 % má jinou mutaci, aniž by byla druhá známá. U necelých dvou procent (1,8 %) nemocných jsme dosud nenašli ani jednu mutaci. Do této skupiny nepatří žádný z nemocných sledovaných v Praze a domníváme se, že doplněním vyšetření na specializovaném pracovišti toto procento ještě snížíme.

Mutace je F508del je v našem souboru nejčastější a byla prokázána u 66,75 % nemocných. Na druhém místě je slovanská mutace CFTRdele2,3 (21kb) v 5,02 %, a na třetím místě „keltská“ mutace G551D (2,73 %). Srovnáme-li tyto údaje s frekvencí slovenských mutací jak ji uváděla Kayserová v roce 2008, je zřejmé, že se lišíme jak v uvedených prvních třech v České Republice nejčastějších mutacích tak v tom, že na Slovensku je častější G542X, což ukazuje větší středomořský vliv.

Základní klinické údaje můžeme hodnotit pouze u souboru 471 nemocných, o kterých máme údaje z roku 2007. Šlo o 291 dětí a 180 dospělých, z nichž 415 (88,5 %) bylo pankreaticky insuficietních, 54 (11,5 %) mělo mekoniový ileus, 21 (45,7 %) bylo infikováno *Pseudomonas aeruginosa* a 88 (18,7 %) *Burkholderia cepacia* komplexem. Procento dětí infikovaných *B. cepacia* komplexem bylo podstatně nižší (7,6 %) než procento infikovaných dospělých (37,2 %). Hapatopatii mělo 2,3 % nemocných, na CF vázaný diabetes 13,6 %. Opět je výrazný rozdíl mezi dětskými pacienty, kteří mají CFRD jen v 3,8 %, zatím co u dospělých se vyskytuje v 29,4 %. Osteoporózu jsme mohli hodnotit pouze u části dospělých z pražského centra, kde byla přítomna u 30 % nemocných a souboru pacientů z Hradce Králové, kde ji prokázali až u 18 % dětských pacientů.

Pro hodnocení funkce plic jsme užívali medián procenta náležitých hodnot FEV1; (populačně specifické normy byly užity pro všechny parametry). Zjistili jsme, že u dětí je medián 88 % (rozmezí 32 – 128 %), u dospělých 62 % (rozmezí 17 – 144 %).

Stav výživy jsme hodnotili pomocí tělesné výšky, hmotnosti k výšce, BMI, dále sledujeme i obvod paže a tloušťku kožních řas.

Potvrdili jsme, že funkce plic závisí na stavu výživy a zhoršuje se, je-li nemocný infikován *Bcc*. Z registru dále vyplynulo, že ve srovnání s rokem 1998 přibýlo dospělých nemocných především nad 24 let. V dětské populaci se proti roku 1998 zlepšila funkce plic, ubylo dětí s nízkými hodnotami FEV1 a naopak přibýlo těch, kteří mají hodnoty nad 86 % nál. h. a dokonce i vyšších než 100 %.

Nepříznivý trend se ukázal ve věku stanovení diagnózy. Zatím co do roku 1998 byl medián věku při stanovení dg 0,56 roku, v roce 1999 stoupl dokonce na 2 roky a nad touto hodnotou se pohyboval i v 4 dalších letech. Nelze to vykládat pouze tím, že se stanovuje diagnóza u netypických a mírných forem, mezi pozdě diagnostikovanými dětmi je většina s dvěma „těžkými“ mutacemi a typickým průběhem.

Srovnali jsme též hodnoty našich nemocných z roku 2007 s nemocnými z registru USA z roku 2006. S výjimkou věkové kategorie 10,1 – 17 let mají američtí nemocní poněkud vyšší hodnoty FEV1, ale rozdíl není velký. Soudíme, že se nám úspěšně daří dohonit handicap, který pro nás znamenalo 40 let totalitního režimu.

Velký význam spatřujeme v moderních metodách fyzioterapie. Prokázali jsme, že metoda respiračního handlingu příznivě ovlivnila všechny parametry funkce plic, především hodnoty průtoku na nízkých objemech VC ve 12ti letech. Soustavné zavádění respiračního handlingu u všech novorozenců pokládáme za velký přínos a příslib do budoucna, zejména nyní, když diagnostikujeme screeningem děti v prvních týdnech života.

Cíl registru vidíme v tom, že musí sloužit každému lékaři, který nemocné s CF léčí, nejen skupině, která zpracovává celostátní výsledky. Proto pokládáme za nejvýhodnější německý registr, který kombinuje statistické zpracování dat i individuální sledování každého pacienta. V roce 2009 jsme se s německými autory spojili a v současné době dokončujeme převzetí jejich systému. Věříme, že zisk z této nové formy registru předčí naše – byť pozitivní – zkušenosti s dosavadní formou.

Závěrem zdůrazňujeme, že informace ukládané v registru musejí být spolehlivé a co nejúplnější. Jen tak skýtají důležité údaje o výskytu CF, o přežívání jak obecně tak ve vztahu ke genotypu, o klinickém stavu nemocných, o mikrobiologii v jejich respiračních sekretech a o způsobu léčby. Nejdůležitějšími produkty dobře fungujícího registru jsou pak údaje o mortalitě a přežívání, spojené s identifikací prognostických faktorů.

Podporováno VZ MZOFNM2005.

# SKÚSENOSTI S REGISTROM CF NA SLOVENSKU

Kayserová Hana

Feketeová A., Zlochová D., Remiš B., Takáč B., Mikulášová I., Bérešová E.

## VÝZNAM DATABÁZ

- Výskyt
- Incidencia, prevalencia
- Zmena výskytu v závislosti od
  - zavedenia skriningu, prenatalnej diagnostiky,
  - kvality prostredia (exhaláty, syndróm chorých budov...)
  - zmeny životného štýlu (šport, PC...)
- Demografické údaje
- Pohlavie
- Vekové rozloženie
- Klimické prejavy, komplikácie

## VÝZNAM DATABÁZ

- Terapia
- Štandardná liečba (odporúčané liečebné postupy)
- Nové liečebné postupy (klinické štúdie)
- Medzinárodná spolupráca
- Diagnostické a terapeutické odporúčania
- Nadnárodné registre (EU, USA, Ázia)
- Spolupráca s ZP, MZ
- odhad nákladov: potreba materiálo-technického

vyhavenia

## SLEDOVANÉ PARAMETRE V SR REGISTRI CF – OD 1995

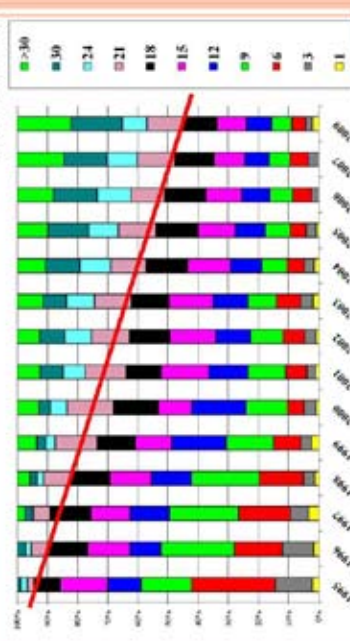
- Diagnóza (vek, genotyp, potný test, klinické prejavy)
- Funkcia pankreasu (PI, PS), pankreatitída (CPI), rektálny prolaps, PE
- Mekónový ileus, DIOS
- Tolerancia glukózy (IGT, CFEDM)
- Pľúčne postihnutie (FVP, HECT), exacerbiácie, hemoptýza, pneumotórax
- Imunologické parametre (Ig, MBL, a1-AT, TH-17)
- Mikrobiologické vyšetrenie (F a, B, c, S, m, S p, a, MRSA, Asperg...)
- Nosálna polypóza, sinusitída, stopa, ABPA
- Pečeňové postihnutie (cirhóza, portálna hypertenzia), hypalbuminémia
- Hypochloremická alkalóza
- Antropometrické parametre (WL, BMI, TL, výška a hmotnosť, obvodové miery končatín)
- Iné: karbonylovosťana/CEGG, USGG, osteoporóza/DENVA, D20-ii

## SLEDOVANÉ PARAMETRE V SR REGISTRI CF OD 1995

- Liečebné postupy
- Malsolytá (imh., p.o.), rh-DNÁza, fyzioterapia
- Bvonehošlitancii: SABA, LABA, xantíny
- Hepatoprotektívna liečba: UDCA, ...
- Protizápalová liečba: KS, IKS, NKS, AZI, ALTR, m-Ab
- Antinfekčná liečba: imh.-ATB, p.o./iv.-ATB, antimykotiká (APAT/Hosp.)
- PERT, enterálna výživa
- Transplantácia (pľúca, pečeň)
- Iné: očkovaní, DDOT
- Demografické údaje:
- Vzdelanie
- Zamestnanosť

**VEKOVÁ DISTRIBÚCIA CF PACIENTOV  
V ROKOCH 1995 (N = 142 213) - 2009 (N=454 563)**

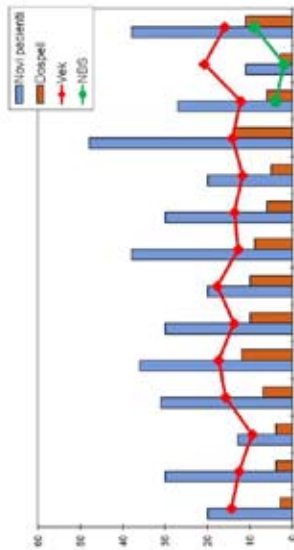
30-40 rokov: 49 pts  
40-50 rokov: 14 pts  
50-60 rokov: 9 pts  
Nad 60 rokov: 5 pts



**NOVODIAGNOSTIKOVANÍ PACIENTI ZA POSLEDNÝCH 15 ROKOV**

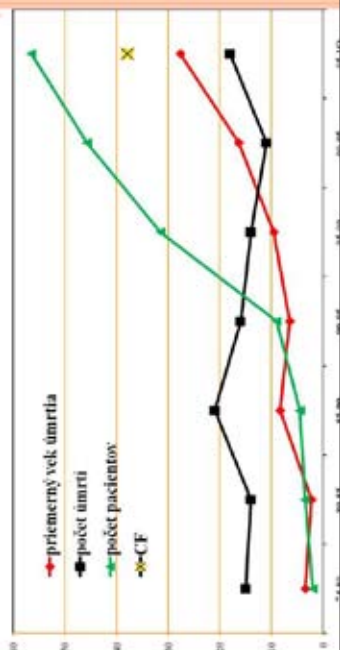
302 PACIENTOV S KLASICKOU A/ ATYPICKOU FORMOU CF (28 PACIENTOV/ROK)

VEK V CASE DIAGNÓZY: PRIEMERNÝ VEK: 14,1 ROKA (0-73 ROBOV)

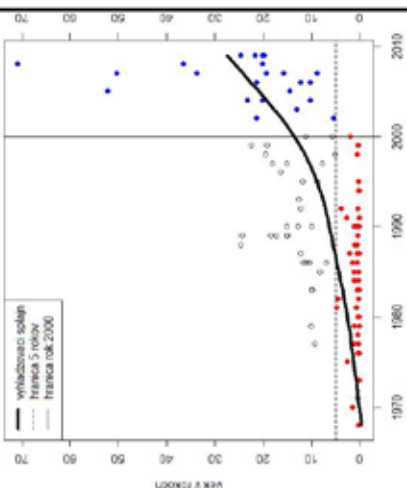


**POČET ŤMRTÍ A PRIEMERNÝ VEK V ROKOCH 1977 - 2009**

SPOLU: 112 P., POBLAŽE: 61 M, 51 Ž. PRIEMERNÝ VEK: 9,4R. (0 -70,8 ROKA)



**Rozptyľový graf s vyhladzovací spľajň: typická forma CF**

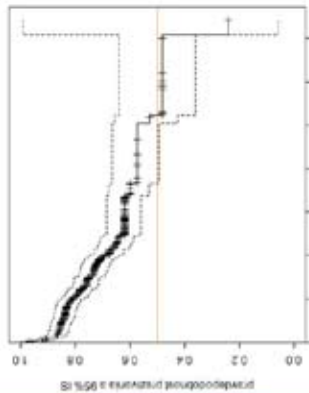


**TRENDOVÁ  
KRIVKA VEKU  
ŤMRTIA**

### KATINA S., 2010: ANALÝZA PREŽÍVANIA PACIENTOV S CF

Центр науки и Инноваций Медицинского Университета имени П.Д. Бачишвили, Тбилиси, Грузия  
 Department of Applied Mathematics and Statistics, Faculty of Mathematics, Physics and Informatics  
 University of Economics, Muziris College, 52<sup>nd</sup> Bachelava, Bangalore  
 School of Postgraduate Studies, University of Glasgow, University Gardens, Glasgow G12 8QQ, Scotland, UK

#### Analýza prežívania: typická forma CF

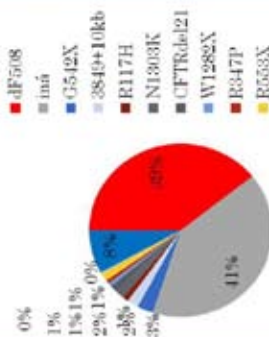


Median prežívania  
2009:

52,56 roka

Priemerný vek prežívania  
45,05 roka

### Mutácie CFTR zistené u CF pacientov v SR

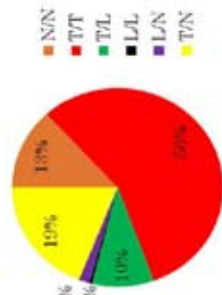


Mutácia	n	Mutácia	n
1342-11G>T	13	R31C	1
3272-26-A>G	6	G601N	1
2184insA	0	Q147X	1
2142delT	4	R501X	1
1898+16-A	3	H1375N (n)	1
IVS8-3T	3	3600+2insT	1
711+1G>T	3	419-2A>C	1
R334V	2	419-2T>C	1
2634insT	2	M162L	1
712-1G>T	2	4186delT	1
G82E	2	G487D	1
M1191R	2	R873M	1
S1169F	2	3639delC	1
E831X	2	R334H	1
R954P	2	V754M	1
IVS821+1G>T	2	L1227S	1
3666insA	2	G578A	1
I148T	2	2834insT	1
R764X	1	R1066L	1

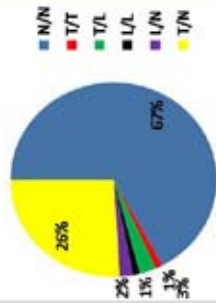
### VÝSKYT ŤAŽKÝCH A LAHKÝCH MUTÁCIÍ U CF PACIENTOV V REGISTRI

266 pacientov s klasickou CF

#### Genotyp

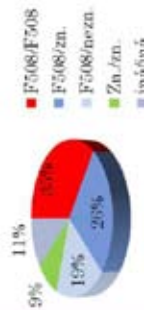


#### Genotyp

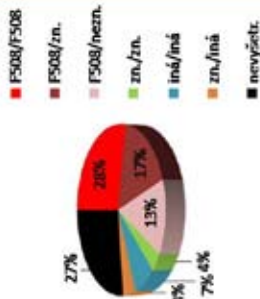


### PRÍTOMNOSŤ DF508 MUTÁCIE U PACIENTOV S KLASICKOU FORMOU CF V REGISTRI

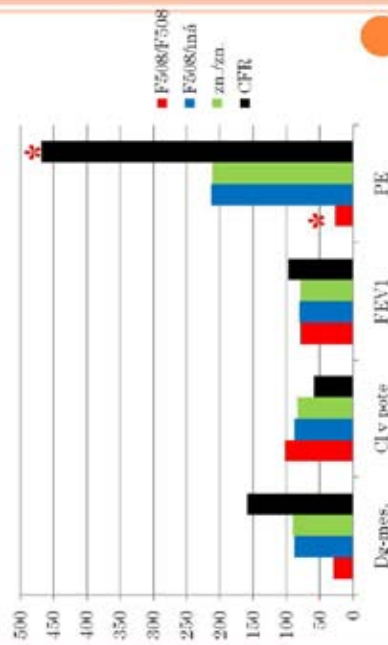
#### Dispenzár



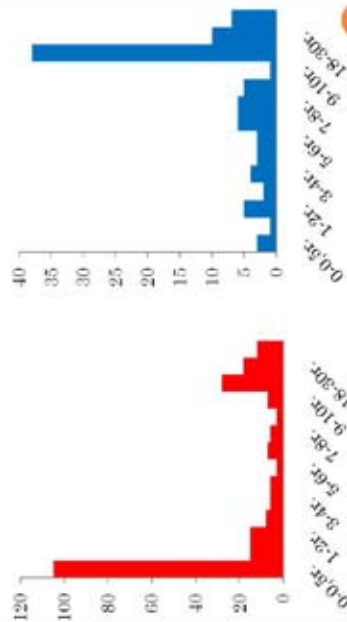
#### Exitovani



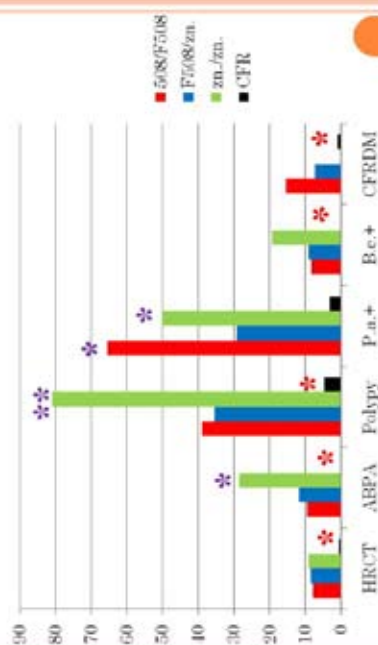
### KLINICKÉ PREJAVY PODLA GENOTYPU



### VEK PRI STANOVENÍ DIAGNÓZY U KLASICKEJ A ATYPICKEJ CF



### KLINICKÉ PREJAVY PODLA GENOTYPU



Incidenca CF: 1: 2560 až 1: 7800 živorodených detí v jednotlivých rokoch





	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
1										
2										
3										
4										
5										
6										
7										
8										
9										
10										
11										
12										
13										
14										
15										
16										
17										
18										
19										
20										
21										
22										
23										
24										
25										
26										
27										
28										
29										
30										
31										
32										
33										
34										
35										
36										
37										
38										
39										
40										
41										
42										
43										
44										
45										
46										
47										
48										
49										
50										
51										
52										
53										
54										
55										
56										
57										
58										
59										
60										
61										
62										
63										
64										
65										
66										
67										
68										
69										
70										
71										
72										
73										
74										
75										
76										
77										
78										
79										
80										

## ZÁVER:

- Register CF pacientov
  - „dohovorný“
  - Časovo náročný
  - Bezplatný
- Zlepšenie komunikácie
  - Včasné a úplné údaje z jednotlivých centier
- Súčasť ERCF (kódovaná forma)
- Význam
  - Spolupráca so ZF
  - Demografia CF
  - Implementácia štandardných postupov

# MOLEKULÁRNA DIAGNOSTIKA CYSTICKEJ FIBRÓZY NA SLOVENSKU: JEJ STAV A PERSPEKTÍVNE SMEROVANIE

A. Šoltýsová, A. Ficek, M. Baldovič, P. Kolesár, H. Poláková, G. Minárik, H. Kayserová, L. Kádaši

Molekulárna diagnostika cystickej fibrózy je nesmierne dôležitá v diferenciálnej a prenatálnej diagnostike tohto závažného ochorenia. Priama DNA diagnostika, spočívajúca v identifikácii kauzatívnych mutácií, je však do značnej miery komplikovaná existenciou viac ako 1600 rôznych mutácií rozptýlených po celom CFTR géne. Zoznam doteraz identifikovaných mutácií je neustále aktualizovaný v databáze mutácií cystickej fibrózy <http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/app>. Spomedzi všetkých známych mutácií je približne tridsať najčastejšie vyskytujúcich sa mutácií zahrnutých vo viacerých komerčných diagnostických kitoch, ktorými sú rutinne analyzované DNA vzorky aj slovenských pacientov. Rutinné testovanie na tieto mutácie bolo odporúčané ACMG a ACOG (Tab.1)



Tab. 1 Odporúčané mutácie pre rutínny skrining CF

dF508	1898+1GA	R560T	I507V
N1303K	R117H	G551D	I506V
3849+10kb	R553X	2184delA	621+1G>T
G542X	3120+1G	2789+5G>A	711+1G>T
W1282X	V754M	R1162X	R334W
R347P	dI507	5/7/9T	A455E
3659delC	G85E	F508C	1717-1G>A

Vzhľadom k tomu, že typizáciou týchto mutácií je u slovenských pacientov zachytených len približne 50% všetkých kauzatívnych mutácií, bolo pre zlepšenie diagnostiky tohto závažného ochorenia potrebné zaviesť nové metódy analýzy DNA schopné efektívne detegovať zvyšné, neznáme mutácie. Do projektu určenia spektra mutácií v slovenskej populácii bolo zaradených 428 pacientov so suspektnou diagnózou cystickej fibrózy. Všetci pacienti boli v prvej fáze vyšetrení pomocou komerčného kitu ELUCIGENETM. Následne boli pomocou dvoch metód, HRM a DHPLC, založených na princípe analýzy heteroduplexov DNA, analyzované DNA vzorky 300 pacientov, u ktorých nebola pomocou kitu diagnostikovaná žiadna alebo len jedna mutácia v CFTR géne. Danými metódami boli analyzované oblasti všetkých 27-ich exónov CFTR génu s následnou sekvenačnou analýzou a charakterizáciou všetkých detegovaných heteroduplexných profilov.

Metóda DHPLC (Denaturing High Performance Liquid Chromatography) sa ukázala ako veľmi účinný nástroj pre vyhľadávanie mutácií. Tento prístup je založený na rozdielnom čase elúcie DNA heteroduplexov a homoduplexov z chromatografickej kolóny za čiastočne denaturačných podmienok. Analýza DHPLC prebehla na systéme WAVE 3500 (Transgenomic, Inc.) s kolónou DNASep® (Transgenomic, Inc.). Optimálnu teplotu kolóny pre mutačnú analýzu

zu každého amplikónu (exónu) sme stanovili na základe simulovanej parciálnej denaturácie referenčnej sekvencie príslušného amplikónu pomocou softvéru Navigator® software. Amplikóny ktoré obsahovali viac teplotných domén sme analyzovali pri dvoch maximálne troch rôznych teplotách pre dosiahnutie rovnakej miery denaturácie v teplotných doménach a 100%-nej senzitivity pre analyzovanú časť (exón). Výsledné chromatogramy sme vyhodnocovali v programe Navigator® software (Transgenomic). PCR produkty, ktoré vykazovali v elučnom profile prítomnosť heteroduplexov sme následne sekvenovali.

Kratšie amplikóny (maximum 250-300 bp) sme analyzovali rýchlejšou metódou high resolution melting (HRM) na prístroji LighScanner®. Tento prístup je založený na analýze teplotnej krivky pri postupnej teplotnej denaturácii PCR ampifikátu v prítomnosti dsDNA viažucej farbičky. Pri vysokom rozlíšení zaznamenávania fluorescencie sa prítomnosť heteroduplexov alebo sekvenčných variantov (mutantných homozygotov) prejavuje ako zmena priebehu teplotnej krivky. Pre samotnú analýzu ako aj na vyhodnotenie teplotných kriviek sme použili LightScanner software® v2.0. PCR produkty, ktoré vykazovali zmenu priebehu teplotnej krivky sme následne sekvenovali.

Týmto postupmi sme identifikovali 19 kausatívnych mutácií pomocou komerčného kytu a 38 mutácií pomocou HRM a DHPLC metódy z čoho 4 mutácie neboli doteraz v žiadnej inej populácii popísané. Tiež bolo identifikovaných 31 polymorfizmov z čoho 3 sú literatúrami opísané ako možné varianty spôsobujúce vznik defektného proteínu v dôsledku chybného zostrihu prekursorovej mRNA (Tab. 2). Spomedzi všetkých sledovaných pacientov bola u 174 identifikáciou dvoch kausatívnych mutácií molekulárnou analýzou potvrdená diagnóza cystickej fibrózy. Jedna mutácia bola detegovaná u 94 suspektných pacientov a u 160 suspektných pacientov nebola nájdená žiadna mutácia. Najčastejšie sa vyskytujúca mutácia je dF508, ktorá predstavuje 66,8 % spomedzi všetkých identifikovaných mutácií. Ďalšími často zastúpenými mutáciami v slovenskej populácii sú 3849+10kb, G542X, CFTRdel21kb, N1303K, 2184insA, ktoré sa vyskytujú vo frekvencii 4,28%, 4,06%, 2,26%, 2,03% a 1,58%. Menej častými mutáciami vo frekvencii 1,1% sú R117H, 2143delT, R347P a vo frekvencii 0,9% R553X a IVS8-5T. Ostatné mutácie sa vyskytujú vo frekvencii menšej ako 0,5%, čo znamenalo prítomnosť mutácie na menej ako troch chromozómoch.

Tab. 2 Spektrum mutácií v slovenskej populácii.

Rutiný skríning		Skríning pomocou metód HRM a DHPLC				Pravdepodobne alternatívny zostrih
dF508	2143delT	L1227S	1898+1G/A	R1066L	I148T	3120+33G→T
N1303K	2133AA/G	G576A	1898+1G/C	R764X	A1225V	3272-26A→G
3849+10kb	3659delC	2634insT	4175-2A/C	R31C	G437D	1342-11 G>T
G542X	1898+1G/A	2184insA	4405-1T/C	G551D	H954P	
CFTRdel21kb	R117H	4108delT	IVS621+1G/T	G85E	H1375N	
E217G	R553X	306insA	IVS8-5T	F1052V	S1159F	
ins 605T	R555X	3600+2insT	D1152H	Q1476X	S1235R	
W1282X	3120+1G/A	711+1G/T	D651N	F508C	V562L	
R347P	V754M	712-1G/T	R851X	M1101R		
		1717-1G/A	E831X	M1162L		

Výsledky predkladanej štúdie poukazujú na fakt, že rutinne používané komerčné kity slúžiace na diagnostiku cystickej fibrózy nie sú v našej populácii postačujúce pre molekulárne stanovenie diagnózy u mnohých pacientov a preto by bolo vhodné uvažovať o zavedení ďalších metód do rutínnej praxe. Tieto metódy by však mali byť rýchle, spoľahlivé a relatívne

finančne nenáročné, aby umožnili identifikáciu čo možno najväčšieho počtu mutácií za krátky čas. V tejto štúdii používané metódy DHPLC a HRM sa ukázali síce ako spoľahlivé ale časovo relatívne nevýhodné. V najbližšom čase by sme sa preto na základe výsledkov tohto projektu chceli pokúsiť navrhnuť a otestovať populačne špecifický diagnostický čip, ktorý by obsahoval doteraz známe mutácie nájdené u slovenských pacientov s možnosťou ľubovoľného rozšírenia v budúcnosti. Pre identifikáciu väčších prestavieb, ktoré nie je možné identifikovať sekvenovaním a ktoré preto môžu byť kauzativnými aj u časti 94 suspektných pacientov s nami detegovanou jednou mutáciou, by sme chceli zaviesť metódu MLPA. Zavedením týchto metód by sme radi prispeli k zjednodušeniu a urýchleniu diagnostiky cystickej fibrózy na Slovensku.

# POLYMORFIZMY MBL2 GÉNU A ICH MODIFIKUJÚCI ÚČINOK U PACIENTOV S CYSTICKOU FIBRÓZOU

Tarová E.<sup>1</sup>, Poláková H.<sup>2</sup>, Kayserová H.<sup>3</sup>, Celec P.<sup>1,4</sup>, Zuzulová M.<sup>5</sup>, Neščáková E.<sup>6</sup>, Kádaši L.<sup>1,2</sup>  
tarova@fns.uniba.sk

<sup>1</sup>Katedra molekulárnej biológie, Prírodovedecká fakulta Univerzity Komenského v Bratislave,

<sup>2</sup>Ústav molekulárnej fyziológie a genetiky, Slovenská akadémia vied, Bratislava,

<sup>3</sup>Centrum cystickej fibrózy, Fakultná nemocnica s poliklinickou Bratislava,

<sup>4</sup>Ústav patologickej fyziológie Lekárskej fakulty Univerzity Komenského v Bratislave

<sup>5</sup>Ústav laboratórnych a vyšetrovacích metód LFUK a OUSA, Onkologický ústav sv. Alžbety, Bratislava

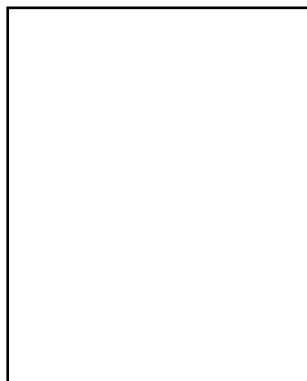
<sup>6</sup>Katedra antropológie, Prírodovedecká fakulta Univerzity Komenského v Bratislave

Cystická fibróza je najčastejšie letálne autozomálne recesívne ochorenie u kaukazoidnej rasy. Príčinou smrti v 90 % prípadov je respiračná nedostatočnosť, spôsobená hustým hlienom a chronickým zápalom, vyvolaným bakteriálnou infekciou dýchacej sústavy (1). Dôležitými patogénmi, ktoré vyvolávajú bakteriálnu infekciu, sú *Pseudomonas aeruginosa* a *Burckholderia cepacia*. Pľúcne symptómy sú veľmi variabilné aj medzi pacientmi aj v rámci rodín, čo je spôsobené aj veľkým množstvom mutácií v CFTR géne (1717) (2, 3, 4).

Predpokladá sa, že závažnosť pľúcneho ochorenia pri CF je modifikovaná pomocou sekundárnych genetických faktorov, tzv. modifikujúcich génov. Jeden z prvých identifikovaných modifikujúcich génov, ktorý preukázal vplyv na pľúcnu funkciu pri CF bol manózu viažuci lektín 2 (MBL2) gén (5). MBL proteín je dôležitý komponent vrodeného imunitného systému, ktorý má 2 funkcie: opsonizačnú a aktiváciu komplementu. MBL je syntetizovaný v pečeni pomocou hepatocytov a vylučovaný do krvi (2).

Ľudský MBL gén je lokalizovaný na chromozóme 10q11.2-q21. Ukázalo sa, že MBL alelové varianty spôsobujú nízke hladiny MBL séra, ktoré sú asociované so zvýšeným rizikom rôznych typov infekcií, ktoré sa vyskytujú väčšinou u detí, ale aj u dospelých. Navyše, MBL deficiencia pravdepodobne hrá úlohu aj pri autoimunných ochoreniach. (6). Tri jednonukleotidové polymorfizmy sú známe v MBL2 géne, ktoré sú spôsobené zámennou nukleotidov v exóne 1: v kodóne 52 (arginín na cysteín, alela D), kodóne 54 (glycín na kyselinu asparágovú, alela B) a v kodóne 57 (glycín na kyselinu glutámovú, alela C). Zámenny týchto aminokyselín zmenia zmysel terciárnej štruktúry kolagénových regiónov MBL proteínu. Heterozygotita alebo homozygotita týchto mutácií spôsobuje málo funkčný alebo vôbec nefunkčný MBL proteín, a preto tieto alely sa nazývajú 0 (nula). Všeobecné označenie ktorejkoľvek mutantnej alely je 0, kým normálna alela sa nazýva A. Okrem toho dôležitá jednonukleotidová substitúcia je aj v promótorovom regióne MBL2 génu, ktorá tiež ovplyvňuje hladinu MBL proteínu. Tento polymorfizmus sa nachádza v kodóne -221 a označuje sa ako YX, kde Y je normálna alela a X je heterozygotná alebo homozygotná varianta, ktorá spôsobuje nízku hladinu MBL proteínu. (1, 2, 3, 5, 6)

V práci sme sa zamerali na skúmanie prítomnosti štruktúrálnych variant MBL2 génu a promótorových variant, ktoré spôsobia nízku hladinu MBL proteínu a tým ovplyvnia priebeh pľúcneho ochorenia a prežitia pacientov s CF. (2, 6)



## Materiál a metódy

Do analýzy identifikácie polymorfizmov MBL2 génu sme zahrnuli 91 slovenských jedincov s cystickou fibrózou. Z 91 pacientov 68 bolo homozygotných pre mutáciu  $\Delta F508$ , 23 pacientov mal kombináciu mutácií  $\Delta F508$  s inou závažnou mutáciou: CFTR2,3del (5), G542X (5), N1303K (3), 2184insA (2), R553X (2), 3659delC (1), 1898+1G>A (1), W1282X (1), ins605T (1), 4108delT (1), E831X+R851X (1). Kontrolný súbor pozostával zo 100 náhodne vybraných DNA vzoriek od zdravých jedincov.

Pri vyhodnotení výsledkov sme hľadali asociáciu medzi spirometrickými údajmi a MBL2 genotypmi. FEV1 (%) hodnota predstavuje objem vzduchu usilovne vydychnutý za prvú sekundu po začiatku výdychu, určuje pľúcnu funkciu a koreluje aj s prognózou ochorenia.

Z 91 pacientov bolo 65 infikovaných baktériou *Pseudomonas aeruginosa*, z toho 53 ešte v mladšom veku (do 18 rokov) a 12 pacientov bolo infikovaných v dospelom veku (nad 18 rokov). V prípade infekcie s baktériou *Burkholderia cepacia* bolo z 91 pacientov infikovaných iba 26, z toho 17 v mladšom veku a 9 v dospelosti.

Na analýzu polymorfizmov MBL2 génu sme použili metódu SNaPshot, ktorá je multiplex PCR reakcia, tzv. minisekvenovanie. SNaPshot metóda je založená na jednonukleotidovej elongácii neznáčeného špecifického primeru, kombinujúcu špecificitu dideoxynukleotidovej inkorporácie DNA polymerázou a senzitivitu fluorescencie. Priame DNA sekvenovanie môže slúžiť na overenie správnosti výsledkov získaných pomocou SNaPshot metódy. Metóda pozostáva z niekoľkých krokov: amplifikácia cieľovej genómovej oblasti pomocou PCR reakcie, purifikácia PCR produktu pred extenznou reakciou, SNaPshot extenzná reakcia, purifikácia PCR produktu po extenznej reakcii, kapilárna gélová elektroforéza, analýza získaných údajov.

Koncentrácia MBL proteínu bola stanovená metódou ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) na mikrotitračných platničkách pokrytými monoklonálnymi anti-MBL protilátkami.

## Výsledky a diskusia

Pri vyhodnotení získaných výsledkov sme rozdelili pacientov podľa jednotlivých polymorfizmov do viacerých skupín genotypov, pričom zvlášť sme hodnotili 3 polymorfizmy v exóne 1 (A/B, A/C, A/D) pod spoločným názvom A/O, kde A je normálny variant a O označuje alelu B, alebo C, alebo D. AA bol homozygot pre všetky 3 polymorfizmy, AO bol heterozygot pre jeden z 3 polymorfizmov, OO bol heterozygot v 2 alebo 3 polymorfizmoch alebo homozygot pre neštandardnú variantu. Zvlášť sme hodnotili polymorfizmus v promótorovej oblasti Y/X: YY bol homozygot pre štandardnú variantu, YX bol heterozygot a XX homozygot pre neštandardnú alelu (tab.1.).

Frekvencie alieli a genotypov exónu 1 u pacientov a u kontrol neboli významné ( $P=0.18$ ), tak ako ani pri promótorových genotypoch ( $P=0.42$ ). Na základe genotypov v exóne 1 a promótorovej oblasti sme zostavili jednotlivé varianty spoločných genotypov: AA-YY, AA-YX, AA-XX, AO-YY, AO-YX, OO-YY, OO-YX. V porovnaní pacientov s kontrolou sme nepozorovali významné rozdiely vo frekvenciách jednotlivých genotypov a polymorfizmov, čo sa zhoduje už skôr popísanou literatúrou.

Tab.1.: Frekvencia genotypov u pacientov aj u kontrol v exóne 1: A/A, A/O (zahrňuje A/B, A/C, A/D polymorfizmy aj samostatne) a O/O (B/B, B/C, B/D, C/D).

Genotypy	Jednotlivé polymorfizmy	Pacienti s CF		Kontrola	
		Počet	Percentá (%)	Počet	Percentá (%)
A/A		58	63.7	66	66
A/O		28	30.8	32	32
	A/B	17	18.7	18	18
	A/C	4	4.4	5	5
	A/D	7	7.7	9	9
0/0		5	5.5	2	2
	B/B	0	-	1	1
	B/C	1	1.1	0	-
	B/D	2	2.2	1	1
	C/D	2	2.2	0	-
Y/Y		62	68.1	62	62
Y/X		27	29.7	34	34
X/X		2	2.2	4	4
<b>Celkom</b>		<b>91</b>		<b>100</b>	

Plúcna funkcia podľa FEV1 hodnoty bola stanovená u 73 pacientov s CF. Priemerný vek pacientov pri stanovovaní spirometrických meraní bol 14 a priemerná hodnota FEV1 bola 77.9%. Pacientov sme rozdelili do 4 skupín podľa FEV1 hodnoty: 1. normálna hodnota  $\geq 80\%$ , 2. ľahký typ 60-79%, 3. stredne ťažký typ 45-59%, 4. ťažký typ  $<45\%$ . Zvlášť boli hodnotení pacienti s AA genotypom, 2. skupinu tvorili AO a OO genotypoví jedinci. Z tabuľky vidno, že lepšia plúcna funkcia podľa FEV1 hodnoty je u AA genotypu, pričom najhoršia plúcna funkcia (FEV1 pod 45%) je spätá s AO alebo OO variantami. Takýto úkaz sme nepozorovali u promotorového polymorfizmu (tab.2.).

Tab.2.: Pacienti zaradení do 4 skupín podľa FEV1 hodnoty a genotypov A/O, Y/X a podľa vysokých a nízkych producentov.

N=73	FEV1 $\geq 80$ (%)	%	FEV1 60-79 (%)	%	FEV1 45- 59 (%)	%	FEV1 $\leq$ 45 (%)	%	P hodnota
A/A	27	37	11	15.1	8	11	3	4.1	
A/O-0/0	9	12.3	9	12.3	2	2.7	4	5.5	
Y/Y	23	31.5	14	19.1	5	6.9	5	6.9	
Y/X-X/X	13	17.8	6	8.2	5	6.9	2	2.7	
<b>Vysokí producenti</b>	27	37	10	13.7	7	9.6	3	4.1	
<b>Nízky producenti</b>	9	12.3	10	13.7	3	4.1	4	5.5	

Nakoľko sme nenašli signifikantné rozdiely v súvislosti s genotypmi A/O a Y/X a medzi 4 skupinami podľa hodnoty FEV1%, sme rozdelili genotypy na 2 skupiny (vysokí a nížky producenti) podľa toho, či sú schopné produkovať MBL2 proteín a v akom množstve. Medzi vysokých producentov patria genotypy AA-YY a AA-YX a medzi nízkych producentov patria všetky ostatné genotypy AA-XX, AO-YY, AO-YX, OO-YY a OO-YX. Naše výsledky ukázali, že vysokí producenti boli spojení s lepšou plúcnou funkciou, kým nížky producenti boli spojení s hor-

šou pľúcnou funkciou podľa FEV1 hodnôt, avšak tieto výsledky neboli štatisticky významné (P=0.18). (tab.2.)

Podľa FEV1 hodnoty (FEV1<80%) u AA genotypu sme našli menšie percentuálne zastúpenie ohľadom pľúcnych funkcií, čiže u AA genotypu to bolo 37.9% pacientov s horšou pľúcnou funkciou, kým u A0, 00 genotypu to bolo 45.5% pacientov.

Namerané hodnoty hladiny MBL proteínu u sére sme mali u 32 pacientov (tab.3.). Z týchto hodnôt si môžeme posúdiť, že vysoká hladina MBL proteínu (nad 1000 µg/l) je spojená s genotypom AA alebo AA-YY, AA-YX, kým nízke hladiny (pod 1000 µg/l) sú spojené s genotypmi A0 alebo A0-YY a A0-YX, ako to opisuje aj odborná literatúra. Priemer hodnoty MBL u pacientov s AA genotypom bol 2880.7 ng/ml, kým u pacientov s genotypom A0 bol 426.5 ng/ml. Hladinu proteínu sme porovnávali aj u promotorového polymorfizmu, ale výsledky boli rovnaké (pri YY bola priemerná hodnota 2028.6 ng/ml, u YX polymorfizmu 2058.6 ng/ml).

Tab.3.: Množstvo MBL proteínu u jednotlivých genotypov.

MBL proteín (µg/l)	Genotypy			
	AA-YY	AA-YX	A0-YY	A0-YX
≤100	2	0	4	2
100-1000	1	0	3	2
≥ 1000	13	5	0	0

MBL proteín je často spomínaný v súvislosti s bakteriálnou infekciou, konkrétne u CF s infekciou baktériami *P. aeruginosa* a *B. cepacia*. U jedincov s genotypom AA, ktorí boli infikovaní s *P. aeruginosa* sa vyskytovali lepšie hodnoty FEV1 (priemerná hodnota 74.5%), kým u pacientov s genotypmi A0 a 00 bola pozorovaná horšia pľúcna funkcia (priemer FEV1=70.7%). Tieto výsledky neboli signifikantné, ani sme nenašli žiadnu súvislosť medzi počtom infikovaných jedincov s *P. aeruginosa* a genotypmi A/0, navyše sme našli väčší počet pacientov s AA genotypom (72.4%), ktorí boli infikovaní už spomenutou baktériou, ako pacientov s A0 a 00 genotypom (69.7%). Podobné výsledky sme zaznamenali aj pri porovnávaní genotypov v súvislosti s bakteriálnou infekciou *Burckholderia cepacia*.

Rozdiel sme našli pri porovnaní hladiny MBL proteínu u infikovaných pacientov. Pacienti s AA genotypom infikovaní s *P. aeruginosa* mali hladinu MBL 2948.9 ng/ml, kým pacienti s A0 a 00 genotypmi mali hodnotu MBL 447 ng/ml. Pacienti infikovaní baktériou *B. cepacia* s genotypom AA mali MBL hodnotu 1778.8 ng/ml, avšak pacienti s A0 mali nižšiu hodnotu 403 ng/ml.

Zvýšená hladina imunoglobulínovG, ktoré sa viažu na vírusy, baktérie, huby a spoločne s komplementom ju dokážu zničiť, bola spojená s A0 a 00 genotypmi (48.5%), pričom u AA to predstavovalo menšie percento (36.2%). Atopia predstavuje sklon k alergii so schopnosťou tvoriť protilátky IgE vo zvýšenom množstve, s čím reagujú na alergény vonkajšieho prostredia. Atopia v našom súbore bola spojená s A0 a 00 genotypmi (24.2% pacientov), kým u AA genotypu sa vyskytovala v menšom percentuálnom zastúpení (8.6%).

Preukázala sa veľká variabilita v rámci genotypov a pľúcnych funkcií. Túto variabilitu spôsobujú rôzne faktory, nakoľko pľúcne ochorenie, ktoré je najčastejšou príčinou mortality u pacientov s CF, málo koreluje s mutáciami v CFTR géne. Viacero štúdií preukázalo multifaktoriálnu modifikáciu závažnosti pľúcneho postihnutia, ktorá zahrňuje genetické, environmen-



tálne a náhodné faktory. Počet pľúcnych modifikátorov je neznámy, ale predpokladá sa, že existuje viacero kandidátnych génov, ktoré môžu pôsobiť ako modifikátory pľúcneho ochorenia u CF.

#### Referencie

1. **Carlsson, M., Sjöholm, A.G., Eriksson, L., Thiel S., Jensenius, J.C., Segelmark, M., Truedsson, L.** Deficiency of the mannan-binding lectin pathway of complement and poor outcome in cystic fibrosis: bacterial colonization may be decisive for a relationship. *Clinical and Experimental Immunology* 2004; 139:306-313.
2. **Yarden J, Radojkovic D, De Boeck C, et al.** Polymorphisms in mannose-binding lectin affect the CF pulmonary phenotype. *J Med Genet* 2004; 41:629-633.
3. **Gabolde M, Guilloud-Bataille M, Feingold J, Besmond C.** Association of variant alleles of man nose binding lectin with severity of pulmonary disease in cystic fibrosis: cohort study *Brit Med J* 1999; 319:1166-1167.
4. <http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/StatisticsPage.html>
5. **Dorfman, R., Sandford, A., Taylor, C., Huang, B., Frangolias, D., Wang, Y., Sang, R., Pereira, L., Sun, L., Berthiaume, Y., Tsui, L.C., Paré, P.D., Durie, P., Corey, M., Zielenski, J.** Complex two-gene modulation of lung disease severity in children with cystic fibrosis. *The Journal of Clinical Investigation* 2008; 118:1040-1049.
6. **Garred P, Pressler T, Madsen HO.** Association of mannose-binding lectin gene heterogeneity with severity of lung disease and survival in cystic fibrosis. *J Clin Invest* 1999; 104:431-437.

# NOVORODENECKÝ SKRÍNING CYSTICKEJ FIBRÓZY NA SLOVENSKU.

*Skríningové centrum novorodencov SR pri DFNSP Banská Bystrica  
Mária Knapková, Svetozár Dluholucký*

## Úvod.

Skríningové centrum novorodencov SR (SCN SR) pri Detskej fakultnej nemocnici s poliklinikou v Banskej Bystrici je centrálné laboratórium pre novorodenecký skríning Slovenskej republiky. Denne vyšetří 300 – 500 suchých krvných vzoriek novorodencov. Vzorky sú odoberané na neonatologických oddeleniach Slovenskej republiky v 72. – 96. hodine života novorodenca. Každý novorodenec na Slovensku je vyšetrený na kongenitálnu hypotyreózu (KH), fenylketonúriu (FKU), kongenitálnu adrenálnu hyperpláziu (CAH) a cystickú fibrózu (CF). Odborné usmernenie MZ SR z 29.12.2008 ku skríningu KH, FKU, CAH a CF je záväzným právny podkladom pre všetky zložky novorodeneckého skríningu.

Od 1. 2. 2009 sú všetci novorodenci na Slovensku vyšetrovaní už aj na cystickú fibrózu.

Kritériá novorodeneckého skríningu boli definované v roku 1968 dokumentom Principles and practice of screening for disease autormi Wilsonom a Jungerom v Ženeve, WHO. V roku 2008 boli vypracované General Guidelines for Neonatal screening spoločnosťou International society for neonatal screening, ktoré zohľadňujú najnovšie poznatky a trendy medicíny v novorodeneckom skríningu. Základné ciele a kritériá pre ochorenia sú nasledovné:

- priamy benefit z novorodeneckej detekcie ochorenia
- celkový benefit je vyvážený oproti ostatným druhom nákladov
- existuje všeobecne uznaný a akceptovaný laboratórny test
- existuje následný systém krokov: skríningový test, diagnostický test, následná starostlivosť o pacientov zachytených testom

## Metodika.

V skríningu cystickej fibrozy je všeobecne uznaný marker imunoreaktívny trypsín (IRT). Je syntetizovaný a sekreovaný acinárnymi bunkami pankreasu ako proenzým trypsinogén. Na aktívny trypsín je konvertovaný duodenálnou enterokinázou. U novorodencov s cystickou fibrózou je prechodne zvýšená koncentrácia IRT z dôvodu blokovania ductov pankreasu hlienom. Tranzientné zvýšenie IRT pretrváva u dieťaťa približne do troch mesiacov veku. Novorodenecký skríning je v súčasnosti realizovaný v 12 štátoch Európy, v ďalších krajinách prebiehajú prípravné štúdie skríningu CF. V roku 2007 bolo v Európe vyšetrených 3 157 806 novorodencov na skríning cystickej fibrózy a zachytených 482 prípadov ochorenia. (European neonatal survey. J. Gerard Loeber). V skríningu cystickej fibrózy sú používané viaceré skríningové protokoly a algoritmy. IRT/IRT algoritmus je definovaný ako meranie IRT v dvoch patientských vzorkách. Pozitivita v druhej vzorke je potvrdená, alebo vylúčená testom pilokarpínovej iontoforézy – stanovením hladiny chloridov v pote a genetickým testom mutácie génu pre cystickú fibrózu. IRT/DNA algoritmus je definovaný ako meranie IRT a mutácie CFTR génu v jednej z tej istej suchej krvnej vzorke. Počet a typ mutácií je rôzny a je prispôbený výskytu najčastejších mutácií v danej populácii. Overovací test je znova potný test. Algoritmus IRT/PAP meria koncentráciu IRT a pankreatického stresového proteínu v tej istej vzorke pacienta, nasleduje overenie stanovením chloridov v pote. Meranie IRT je vždy prvým krokom skríningu cystickej fibrózy a stanovenie chloridov v pote je zlatým štandardom pre potvrdenie alebo vylúčenie ochorenia. Klinická validita skríningového testu závisí na vhodne zvolenej hodnote rozhodujúceho limitu (cut off) v analýze IRT. Všeobecne je udávaná senzitivita skríningového testu cystickej fibrozy v rozpätí 95% - 98%. Je teda možná 2% - 5% falošná negatívita ochore-

nia. Zvlášť niektoré mierne formy ochorenia nie je možné týmto testom zachytiť. Mekóniový ileus sa vyskytuje približne u 15% – 20 % prípadov pacientov s cystickou fibrózou. U týchto pacientov je popisovaná falošná negativita v meraní IRT skriningovom teste. V takom prípade je potrebné vždy urobiť kompletnú diagnostiku cystickej fibrózy, bez ohľadu na výsledok novorodeneckého skriningu.

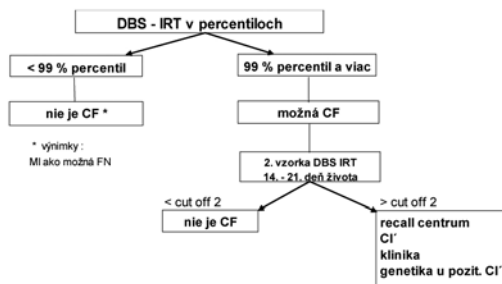
### Výsledky.

Prvé testovanie skriningu cystickej fibrózy v SCN SR prebehlo v máji 2007. Za obdobie 13 mesiacov sme v SCN SR vyšetrili 27 974 vzoriek kitom neo IRT ILMA od firmy Immunotech. Je to mikroplatničková imunochemická metóda, určená na stanovenie IRT v suchých krvných vzorkách. Na stene mikroplatničky je použitá špecifická polyklonálna králičia protilátka, špecifická pre ľudský kationický trypsin. Emitovaný svetelný signál je meraný luminometrom a výsledky sú udávané v nanogramoch na mililiter. Zvolil sme algoritmus IRT/IRT a bolo zachytených 5 prípadov ochorenia cystická fibróza. Algoritmus IRT/IRT sa v pilotnej štúdii osvedčil. Bol zvolený z viacerých dôvodov:

- genetická heterogenita slovenskej populácie
- osvedčený systém opakovaných odberov suchej kvapky prostredníctvom všeobecných lekárov detí a dorastu ( používaný v skriningu CAH).
- idea skriningu, ako vyhľadávacieho testu v jednom centre ako predpoklad pre kvalitnú laboratórnu diagnostiku spolu so znížením finančných nákladov.

Výsledky pilotnej štúdie nám umožnili stanoviť Algoritmus skriningového testu CF u novorodencov vo veku 72. -96. hodine života.

## Algoritmus skriningového testu CF novorodencov na 3. – 4. deň života



99 % percentil s denným vyhodnocovaním, minimalizácia FN a sezónnej variability.  
Zohľadniť pokles IRT v čase !

99% percentil IRT sa pohybuje okolo 60 ng/mL pre 3. – 4. dňových novorodencov, 50 ng/mL pre 14. – 21. dňových novorodencov. Musia byť zohľadnené faktory možnej falošnej negativity pri mekóniovom ileu.

V roku 2009 sme v skriningu cystickej fibrózy v období od 1.2.2009 – 31.12.2009 vyšetrili 53 143 novorodencov a zachytili 7 prípadov ochorenia. Incidencia 1 : 7592 živorodených. Výsledky sú uvedené v nasledujúcej tabuľke, podľa regiónov Slovenska.

## Výsledky nov. skríningu CF 2009

Región	Počet nov.	Recall	%	Záchyt
Západ	20 300	41	0,19	4
Stred	14 693	26	0,17	2
Východ	18 150	91	0,47	1
<b>Spolu</b>	<b>53 143</b>	<b>158</b>	<b>0,27</b>	<b>7</b>

**V roku 2009 bolo vyšetrených 53 143 novorodencov a zachytených 7 prípadov cystickej fibrózy**

**Incidenca 1 : 7592 živorodených**

Priemerná koncentrácia IRT u pozitívnych pacientov bola 135, 92 ng/mL v prvej vzorke a 147,42 ng/mL v druhej vzorke. Dva prípady ochorenia boli potvrdené u novorodencov s prítomným mekóniovým ileom, koncentrácie IRT 88,50ng/mL a 146,43 ng/mL. Jedno dieťa zo zachytených prípadov exitovalo. Geneticky boli potvrdené nasledovné mutácie: F508del/F508del u troch prípadov, G542X/ neznáma mutácia u dvoch prípadov, F508del/W1282X u jedného prípadu a G542X/W1282X u jedného prípadu. Senzitivita nášho testu je zatiaľ 100%, nebol hlásený falošne negatívny prípad. Špecifickosť testu je 99,71 %, percento akceptované v novorodeneckom skríningu. Pozitívne prediktívna hodnota nášho testu je zatiaľ 4,43%. Všetky údaje, vrátane incidence, sú zatiaľ poznačené chybou malých čísel.

### Diskusia.

Model IRT/IRT/CI splnil očakávanie úspešného fungovania skríningu CF. Zaznamenali sme nižšiu incidenciu, ako bola očakávaná, zatiaľ je málo výsledkov na stanovenie incidence, už spomínaná chyba malých čísel. Zaznamenali sme evidentne vysoký recall rate rómskeho etnika. Centrum CF v Košiciach potvrdilo 57,3% detí rómskeho etnika zo všetkých jemu hlásených prípadov - bez predbežného potvrdenia CF u detí rómskeho etnika.

Bude potrebné vytvoriť súbor koncentrácií IRT u rómskeho etnika v skríningu CF a po nazbieraní dostatočného počtu výsledkov ho vyhodnotiť. Je vysoký predpoklad zavedenia cut off limitu u rómskeho etnika. Bude potrebné uplatniť pravidlá skríningu CF ako v multietnickej populácii.

### Záver.

SCN SR v súčasnosti vykonáva plošný skríning na štyri závažné ochorenia, kde včasné nasadenie dostupnej liečby zásadne mení prognózu a kvalitu života postihnutých jedincov.

V prípade CF je požiadavkou stanovenie diagnózy a komplexnej liečby v prvých dvoch – troch mesiacoch života . V takom prípade zásadne zlepšuje prognózu a priebeh ochorenia. Tento relatívne dlhší interval dovoľuje realizovať definitívnu diagnostiku stanovením chloridov v pote, ktorá je jej zlatým štandardom. Algoritmus IRT/IRT/CI takto spĺňa požiadavku jeho ekonomickej efektivity a konfirmácia genotypu CF sa vykonáva až u potvrdených prípadov.

# DRUG DEVELOPMENT AND CLINICAL TRIALS

Ingrid Klingmann  
EFGCP

## History of Drug Development

Over thousands of years herbals were the basis of treatments. Their effects were observed and described by physicians, monks and interested lay people and the knowledge passed on from generation to generation.

Only at the end of the 19th century biologically-active organic molecules began to be isolated in relatively pure form for medicinal use (e.g. salicylic acid, morphine, codeine, quinine).

The first (semi-)synthetic drugs were antibiotics in the 1930ies and 1940ies followed by vitamins, vaccines, oral contraceptives, and tranquilizers (Valium®)

Only as of the 1950ies drugs started to be developed for molecular targets

Drug approval processes were introduced based on proof of safety

As a result of the Thalidomide tragedy, the FDA amended the US drug approval legislation in 1962 by requesting stronger safety demonstration but also proof of efficacy. National European legislation followed some years later.

However, there was no methodology available to reliably prove efficacy. "Clinical Research" emerged as a scientific discipline to generate reliable information on new drugs.

"Clinical Research" became a more and more sophisticated, very important part of the overall drug development process.

Based on information from the pre-clinical/toxicological disciplines the conditions were defined for when it was possible to do the first testing in men, mostly in healthy volunteers.

Clinical development was divided in different phases.

## Phases of Clinical Drug Development

Phase I: First administration of a new drug in humans, usually in healthy volunteers

Phase II: First evaluation of efficacy and safety in patients, dose finding

Phase III: Large trials to confirm efficacy and safety under normal clinical conditions

Phase IV: Evaluation of benefit/risk, cost/effectiveness, efficacy, safety and interactions in clinical practice after marketing authorisation

## Essential Questions in Drug Development

Drug development has the problem that it is not only necessary to find a molecule that is able to achieve the expected cure of the disease but this molecule needs to be applied in such a way that it enters the blood stream and arrives at the location where it should act.

It is necessary to find the dose(s) in which the new drug acts without making (major) side effects. Many other questions need to be investigated like

- How does the drug work in elderly people or in children of different ages?
- Does the drug show any interaction with other medications given to the same patient?
- How good is the drug in comparison to standard treatment?
- Does the drug have any negative long-term effects? Looses efficacy? Creates resistance? Causes side effects?

## Clinical Trial

All these question cannot be reliably answered by animal tests. It requires to test the new treatment in patients under controlled and standardised conditions: in a clinical trial.

As a clinical trial is an experiment in humans it is necessary to regulate the conditions under which a clinical trial can be performed. There is an internationally accepted standard for the performance of clinical trials: Good Clinical Practice = GCP. There is extensive legislation from the European Union, transposed also in Slovakian law, to regulate the performance of clinical trials. Every country had to establish a competent authority responsible for clinical trials and one or several independent ethics committees. Every clinical trial must be defined in much detail in a "protocol". Every clinical trial must have a "Patient Information Sheet" and "Informed Consent Form". A clinical trial can only be started by a "Sponsor" (this can be a pharmaceutical company or a physician), if the protocol and a specially prepared compilation of other documents have been approved by the competent authority and if the ethics committee has given a favourable opinion. The performance of a clinical trial requires physicians who are willing to organise the trial in their hospital or practice and to enrol patients into the clinical trial. A pharma company identifies physicians mostly in several countries in parallel to get results faster and agrees in a contract on the conditions and responsibilities. Physicians (then called "Investigator") ask patients who fulfil the inclusion and exclusion criteria of the protocol whether they would be prepared to participate in the clinical trial. The Investigator can only enrol a patient in a clinical trial after he/she has informed the patient orally and with the Patient Information Sheet about all benefits and risks of participation. And only if the patient has agreed to participate and has given his consent in writing by signing the Informed Consent Form. A patient can withdraw his consent at any time without getting any problems or disadvantages. There is particular legislation for the performance of clinical trials in children: children can only be included in clinical trials when they have been informed about the clinical trial by the investigator as far as they are already able to understand and if they have given their "Assent" to participate. Physician and parents are requested to accept if a child intensively refuses to accept the trial conditions and thus its participation.

### **Study Design**

As "gold standard" in this new science the concept of the controlled, randomized, double-blind clinical trial was developed.

It is necessary to objectively prove efficacy of a drug because history is full of treatments NOW known to be of no value or even harmful (e.g. Blood-letting)

A new treatment should be compared against an established standard: CONTROL

"Randomisation" means: neither physician nor patient can choose which treatment the patient will receive but assignment to a treatment is done by hazard in form of a computer-generated treatment assignment list.

"Double-blind" means: neither the physician nor the patient know which treatment the patient receives: test drug or standard treatment. This helps to avoid bias in judging the efficacy and tolerability of the treatments.

### **Regulatory Requirements**

Once all required information on the drug has been generated and the effect of the drug has been demonstrated convincingly in at least two very large trials the pharmaceutical company compiles all available data in a strictly structured way and submits this dossier either to a national competent authority or to the European Medicines Agency for review and approval.

The Regulatory Authority performs a very thorough review of all data submitted, often performs an inspection of the pharma company and/or investigational sites.

If the outcome of the review is positive the pharma company receives a marketing authorisation for a particular indication.

If the company wants the drug to be administered in other indications as well they need to perform clinical trials to prove efficacy and submit the data as basis for additional marketing authorisation in that new indication.

There are special data requirements for drugs for rare diseases and faster approval processes for drugs with special medical need (e.g. Flu vaccines)

### **Responsibility for Drug Development**

Nowadays, the overall responsibility for the performance of a clinical trial lies with the “sponsor”. This can be a pharma company or an academic institution.

While drug discovery continued to happen at the universities, clinical development moved more and more to pharmaceutical companies with multi-functional dedicated resources, financial means and international reach to generate the data for marketing authorisation.

### **Changes in Drug Development**

The development of “blockbusters” was the aim, the same drug for as many patients as possible. Today “personalized treatments” become more and more important.

More and more legislation and regulatory framework was implemented to ensure the quality of methodology and data, set the standards for marketing authorisation and to protect the participants in clinical trials.

Thus, more and more expertise, resources and focus on management efficiency was required from the clinical researchers.

### **Patients in Drug Development**

“Unfortunately” this new science “Clinical Research” needs human beings to be able to generate the required information and thus was faced from the beginning with an ever increasing level of ethical dilemmas.

As of the late 1970ies and in the 1980ies patients started to organise themselves in patient organisations with the aim to help each other, share information and identify clinical trials as a tool for access to new treatments – but not to change their role in clinical research.

### **Current Situation in Drug Development**

Despite all scientific and managerial efforts productivity in new drug development decreased and development costs exploded in the 1990ies.

New concepts are required to enhance drug discovery and clinical development.

“New concepts” often means “new partners,“ e.g. Biotech companies, CROs – and patient organisations.

Patient organisations, especially in HIV and cancer indications, started to develop their organisations to partnership level.

### **Who Would Benefit from Partnership With POs?**

Pharma companies could develop their drugs faster and at lower costs through improved patient recruitment and retention:

- faster, more reliable access to patients
- better understandable patient information sheets
- protocols better adapted to clinical practice and patient needs
- better compliance with protocol requirements
- more reliable safety information
- improved image of clinical trials

Pharma companies could strengthen their drug selection and development strategies:

- identification of relevant indications
- identification of relevant drug features
- identification of most suitable patient populations for CTs
- identification of the most suitable countries for CTs
- more practice-relevant risk/benefit judgment
- more reliable safety information

Pharma companies could improve their image:

- through patients' better understanding of methodological issues
- through patients' better understanding of risks and benefits of drugs
- through provision of understandable, relevant information on disease and treatment options
- through regular meeting opportunities to enable asking questions and to give development updates, information on access to planned and ongoing trials

Patient organisations could better serve their members:

- more understandable information on the disease and treatment options
- opportunities to meet experts and ask questions
- more competent consulting by PO staff trained in CT methodology
- more professional organisation/dedicated staff to handle the PO tasks and increase awareness of existence due to stable financial conditions

Patient organisations could better serve their members:

- more information on clinical trial access opportunities
- selection of the most suitable trial for each patient
- reduction of risks in participating in a trial by patients' better understanding of the relevance of compliance

Patient organisations could better serve their members:

- "lobbying" for development of treatments in rare diseases
- enhanced availability of new treatments
- well trained PO staff representing their members' interests and needs in ethics committees, DSMBs, regulatory authorities, etc.

Investigators could increase patient enrolment and retention:

- faster, more reliable access to suitable patients
- better understandable patient information sheets
- shorter, more focused information process
- protocols better adapted to patient needs

Investigators could improve the quality of their data:

- more reliable safety information
- better compliance with protocol requirements



## **Conclusions**

Partnership will make all 3 partners more successful in fulfilling their respective tasks

Selection of indications will be more relevant

Drug development will be faster and cheaper

Reliability of the data will increase

Confidence in drug development will increase

Access to new treatments will be more transparent and fair

Patients' interests will be represented more strongly in the whole clinical development process The new and so far mostly unknown challenges in the methodology of development of personalised medicines will require the concerted efforts of all 3 partners, willing to develop these treatment options together as quickly and successfully as possible

# KLINICKÉ ŠTÚDIE NA SLOVENSKU

MUDr. Anna Feketeová

I. KDD DFN Košice

## Klinické štúdie

- vykonávajú sa s cieľom overiť bezpečnosť a účinnosť novej liečby
- ich vykonávanie určuje Zákon 140/1998 Z.z. 3. apríla 1998 o liekoch a zdravotníckych pomôckach s následnými úpravami



## Skúšanie liekov

- skúmanie hodnotenej látky, či má vlastnosti liečiva
- skúšaním je aj hodnotenie kvality, bezpečnosti a účinnosti
- zahŕňa farmaceutické skúšanie, toxikologicko-farmakologické skúšanie a **klinické skúšanie**
- výsledky sú podkladom na vydanie rozhodnutia o registrácii lieku



## Klinické skúšanie

- je každý výskum, ktorým sa určujú alebo potvrdzujú klinické, farmakologické účinky
  - preukazuje sa akýkoľvek nežiaduci účinok
  - zisťuje sa distribúcia, metabolizmus a vylučovanie skúšaného produktu
- cieľom je zistiť účinnosť a neškodnosť
- hodnotí sa biologická dostupnosť a biologická rovnocennosť skúšaného produktu



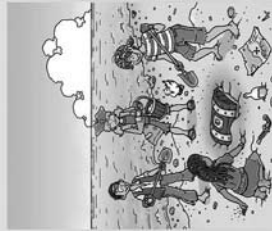
## Správna klinická prax

- je súbor medzinárodne uznávaných kvalitatívnych požiadaviek z etickej oblasti a vedeckej oblasti
- musia sa dodržať pri navrhovaní a vykonávaní klinického skúšania, pri vedení dokumentácie a pri spracúvaní správ a hlásení
- dodržiavaním správnej klinickej praxe sa zabezpečuje a zaručuje ochrana práv, bezpečnosť a zdravie osoby zúčastňujúcej sa na klinickom skúšaní, ktorej sa podáva skúšaný liek a zaručuje sa dôveryhodnosť výsledkov klinického skúšania



## Klinické štúdie

- pomáhajú nájsť odpovede týkajúce sa nových liekov alebo nových spôsobov v používaní už známej liečby
- pomáhajú overiť či sú nové lieky bezpečné a účinné
- správne realizované klinické štúdie sú rýchlymi a bezpečným spôsobom ako nájsť účinný liek



## Klinické štúdie

- *náklady na výskum nového lieku dosahujú až pol miliardy USD*
- „Pipeline“ (výskumný proces) má vždy niekoľko desiatok až stoviek potenciálne úspešných liekov, ktoré ešte musia prejsť množstvom skúšaní, než budú slúžiť pacientom

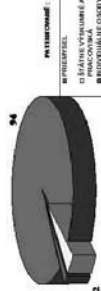


## Klinické štúdie

- 10-12 rokov trvá výskum nového lieku
- len 1 z 10 000 liekov sa stane novým liekom
- 1 z 23 liekov je úspešným

### INOVÁCIE PO FARMACEUTICKOM PRIEMERE

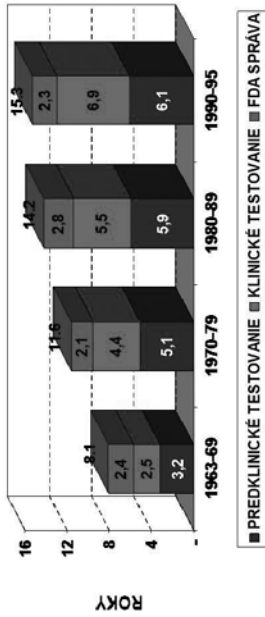
ZDROJE 100 NAJLAC  
PREDPISOVANÝCH LIEKOV V USA V 1992



Adapted from: *Statistical Center for the Study of Drug Development*, Mark D. Thompson (1999)

## ČASOVÉ TRVANIE VÝVOJA NOVÉHO LIEKU

CELKOVÝ ČAS OD OBJAVENIA AŽ PO REGISTRÁCIU



Zdroj: TAMR, CSMD, NICE, Databank, 1995

## Klinické štúdie

### Rozdelenie

- Otvorená klinická štúdia – bez kontroly
- Kontrolovaná – kontrolná skupina - placebom kontrolovaná - štandardný liek
- 1. dvojito zaslepené štúdie
- 2. zaslepené klinické štúdie
- 3. nezaslepené
- Randomizované – náhodný výber
- Nerandomizované
- Zlatý štandard – randomizované dvojito placebom zaslepené kontrolované klinické štúdie



## Klinické skúšanie

### 4 fázy

- I.- stanovenie bezpečnosti lieku
- II.- stanovenie účinnosti látky
- III.a.- potvrdenie bezpečnosti a účinnosti na veľkej skupine pacientov (2500-5000)
- IV.- testovanie už registrovaného lieku s cieľom získať informácie pri dlhodobom užívaní - postmarketingové



## Klinické štúdie

### Najčastejšie otázky pacientov

- Prečo sa mám zúčastniť klinickej štúdie?
- aby si bol aktívny v starostlivosti o svoje zdravie
  - pomohol vývoji nového lieku, vyliečeniu pacientov
- Aké mám výhody pri mojej účasti?
- možnosť užívať a mať výhodu z užívania nového lieku, podrobné kontroly, presné vyšetrenia, užšia spolupráca s lekármi
  - pomoc pri klinickom výskume lieku
- Aké sú možné nevýhody pri účasti v štúdií?
- nový liek môže mať nečakané účinky alebo môže byť menej účinný než doterajšia liečba
  - môže sa stať, že u niekoho nebude mať nový liek taký účinnok ako u ostatných účastníkov štúdie



## Klinické štúdie

### Je účať v štúdiu dobrovoľná?

- Jednoznačne áno. Prípadné odmietnutie účasti nijako neovplyvní vašu liečbu a starostlivosť.
- Ako sa môžem zúčastniť štúdie?
- Najčastejšie vám ju ponúkne lekár na základe znalostí vášho ochorenia a protokolu štúdie. Rovnako sa môžete aj sami informovať o plánovaných štúdiách.
  - Pred svojím zaradením do štúdie si nechajte jasne vysvetliť, čo je jej cieľom.
- Môžem z klinickej štúdie vystúpiť?
- Áno, keďkoľvek môžete vystúpiť bez udania dôvodov, bez toho aby to ovplyvnilo vašu ďalšiu liečebnú starostlivosť.



## Výskumný proces „Pipeline“

PRE-CLINICAL	PHASE 1	PHASE 2	PHASE 3	PHASE 4
Gene Therapy	Completed DNA			
CFTR Modulator	Corvictor VX-809	Prekator VX-279	Atalapha	
Restore Surface Liquid	MPA311	MPA311	MPA311	
Mucus Alteration	GBA411	GBA411	GBA411	
Anti-inflammatory	CFR-890	CFR-890	CFR-890	
Anti-infective	ATM-101	ATM-101	ATM-101	
Transplantation	TR (Transplant Induced Protein)	TR (Transplant Induced Protein)	TR (Transplant Induced Protein)	
Nutrition	ATM-101	ATM-101	ATM-101	

V súčasnosti viac ako 30 potenciálnych liekov je vo vývoji pre liečbu cystickej fibrózy

## ClinicalTrials.gov.

- 147 studies : Open Studies | "Cystic Fibrosis",

Ghrelin in Cystic Fibrosis

Condition: Cystic Fibrosis, Intervention: Biological: ghrelin

Status: To Treat Adult Cystic Fibrosis

Conditions: Cystic Fibrosis; Systemic Inflammation Interventions:

Drug: Simvastatin; Drug: placebo

Exercise-Induced Bronchospasm in Cystic Fibrosis

Conditions: Cystic Fibrosis; Bronchospasm, Intervention:

Behavioral & Nutritional Treatment to Help CF Preschoolers Grow

Conditions: Cystic Fibrosis; Pancreatic Cystic Fibrosis

Interventions:

Behavioral: Behavioral plus Nutrition Treatment; Behavioral: Attention

Control Treatment

## Nazáňne podávanie Pulmozyme pri sinusitíde pri cystickej fibróze

This study is currently recruiting participants.

Verified by University of Vermont, December 2006

First Received: December 28, 2006 Last Updated: December 28, 2006 History of Changes

Sponsor: University of Vermont

Information provided by: University of Vermont

ClinicalTrials.gov Identifier: NCT00416182

Phase I

Phase II

Phase III

Phase IV

Phase V

Phase VI

Phase VII

Phase VIII

Phase IX

Phase X

Phase XI

Phase XII

Phase XIII

Phase XIV

Phase XV

Phase XVI

Phase XVII

Phase XVIII

Phase XIX

### Clef Study

Chronická sinusitída je častou komplikáciou cystickej fibrózy. Prímo som tejto štúdie je zistiť, či podávanie Pulmozyme (domase alfa) dokáže vyjediť sinusitídu (v porovnaní s placebom) u pacientov s cystickou fibrózou, ktorí boli doteraz liečení chirurgicky.

Condition	Intervention	Phase
Sinusitis	Drug: Pulmozyme (domase alfa)	Phase II
Cystic Fibrosis	Drug: Pulmozyme (domase alfa)	Phase II

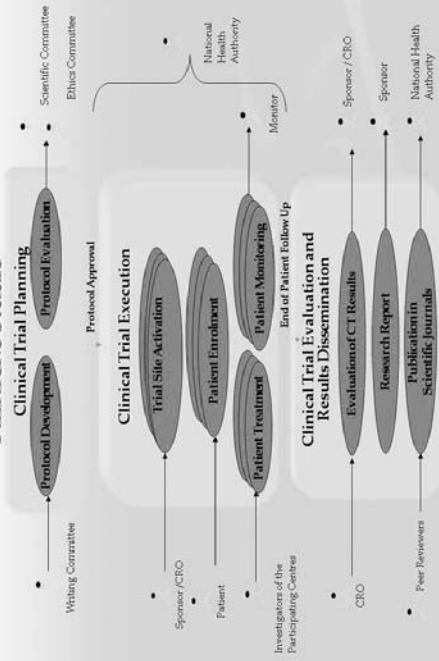
### Study Type:

Interventional

### Study Design:

Allocation: Randomized  
Control: Placebo Control  
Endpoint Classification: Safety/Efficacy Study  
Intervention Model: Single Group Assignment  
Masking: Double-Blind  
Primary Purpose: Treatment

## Klinické štúdie



## Klinické štúdie Centrum pre cystickú fibrózu Košice

- 4 štúdie (2, 3 fázy)
- 21 pacientov
- 2 štúdie - nové pankreatické enzýmy
- 2 štúdie – nové inhalačné antibiotiká
- súčasnosť - štúdia s inhalačným ATB



## Ďakujem za pozornosť



# INTRAVENÓZNY PRÍSTUP Z POHLADU INTENZIVISTU

J.Čutora a kol.

II.KPAIM SZU DFNsP v BB

**Periférny i.v. prístup** má mnohé výhody ale aj nevýhody . Medzi výhody patrí - pomerne jednoduchá technika zavedenia, cenovo dostupný materiál, takmer neobmedzené množstvo pokusov a nízke riziko bezprostredných komplikácií. Medzi nevýhody patrí pomerne krátka trvácnosť / priemerná doba zavedenia 35-50 hod / , rýchle opotrebovanie periférnych ciev , zvýšené riziko lokálnych kožných komplikácií – infekcia, flebitída , v prípade aplikácie hyperosmotických alebo výrazne kyslých alebo zásaditých látok vážne poškodenie tkaniva až nekróza ,opakovaná traumatizácia pacienta – bolesť, psychická trauma a pri opakovaných zavedeniach aj zvýšené pracovné zaťaženie personálu .

**Strednodobé a dlhodobé** centrálné prístupy majú takisto mnohé výhody - doba zavedenia pri štandardnej starostlivosti týždne, mesiace až roky, možnosť podávania hyperosmotických aj kyslých a zásaditých roztokov, možnosť podávať veľké objemy, podávanie nutričnej liečby a liekov bez rizika škodlivých účinkov- hypoxémia, hypoglykémia, kolísanie tlaku , možnosť opakovaných odberov krvi, redukcia procedurálneho stresu pre pacienta – menej bolesti, menšia trauma, štandardne neobmedzuje mobilitu pacienta, menšie pracovné zaťaženie pre personál. Medzi nevýhody patrí - vyššia cena použitých materiálov, vyššie riziko závažnejších bezprostredných aj neskorých komplikácií pri zavádzaní, technika zavedenia náročnejšia na skill – iba zaškolený a trénovaný personál, vyššie nároky na starostlivosť – aj najmenší prehrešok proti sterilnému ošetrovaniu sa prejaví infekciou, u detí zavedenie v CA alebo v analgosedácii.

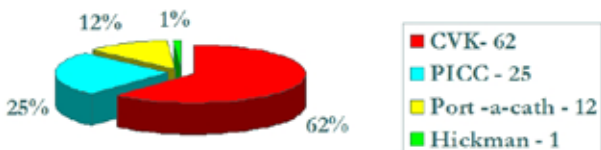
**PICC – periférne inzerovaný centrálny katéter** je „ najjemnejší „ centrálny katéter . Doporučená priemerná doba zavedenia sú 3-4 týždne, môže byť aj mesiace a vyznačuje sa dobrou bio aj hemokompatibilitou . Je určený na podávanie TPN, CHT, agresívnej ATB terapie, ostatnej liečby . Zavádza sa technikou „ cez ihlu „ cestou periférnej cievy – v .cephalica, v. basilica, brachiálne cievy ale aj v.saphena magna a v jugularis ext. prípadne iná periférna cieva , koniec katétra býva väčšinou umiestnený do v.cava superior, inferior alebo kavo-atriálnej junkcie . Zavedenie nevyžaduje op. sál- možnosť bedside zavedenia v analgosedácii za sterilných podmienok .RTG kontrola príp. USG kontrola umiestnenia . Komplikácie inzercie sú : oklúzia, flebitída, trombóza, arytmie , krvácanie a infekcia raritné - srdcová tamponáda, zavedenie do alveolu, nekróza ciev a paravenózne podanie látky, vzduchová embólia .Väčšinou 1-lumen- treba dať pozor na vzájomnú interakciu liekov . Extirpácia PICC je jednoduchý nebolestivý úkon, ktorý nevyžaduje analgosedáciu .

**Port-a-cath** je komôrka krytá silikónovou membránou, uložená v podkožnej kapse umiestnenej v hornej časti hrudníka v subklavikulárnej oblasti spojená s katétrom vo v. jugularis int, alebo v. subclavia končiacim vo v.cava superior najčastejšie v oblasti kavoatriálnej junkcie Zavedenie aj extrakcia – chirurgickou cestou v CA na op. sále pod RTG kontrolou. Na našom pracovisku ho zavádza intenzivista . Princíp zavedenia – Seldingerovou technikou – punkcia vény – chirurgickou cestou vypreparovaná podkožná kapsa, do ktorej sa umiestni komôrka a spojí sa s katétrom .Na napichnutie komôrky sa používa špeciálna , ktorá sa prepichuje sa á 7 dní, príp. sa komôrka uzavrie heparínovým roztokom a preplachuje sa á 21 dní . Silikónová membrána umožňuje napichnutie komôrky niekoľkokrát bez obmedzenia funkčnosti a kožný kryt a membrána výrazne znižujú riziko infekcie. Zvyčajne je používaná za účelom po-

dávania TPN, CHT, dlhodobej ATB terapie, hemokoagulačných faktorov . Komplikácie – pri zavedení – punkcia artérie, pneumothorax, hemothorax, tamponáda srdca, arytmie, porananie nervu. Komplikácie neskoré – infekcia / s ťažkým septickým priebehom / , trombóza , oklúzia ,perforácia cievy, mechanické zlyhanie komôrky . U detí rastom môže dôjsť k dislokácii alebo roztrhnutiu katétra , preto je pri nefunkčnosti ihneď nutná RTG alebo USG kontrola .Doba zavedenia aj niekoľko rokov / výrobca udáva 3-5 rokov/

**Hickmanov katéter** je dlhodobý centrálny cievny vstup s podkožným tunelom a manžetou vyvedený v hornej časti hrudníka a zavedený vo v. jugularis int, alebo v. subclavia končiacim vo v. cava superior najčastejšie v oblasti kavoatriálnej junkcie . Zavedenie aj extrakcia – chirurgickou cestou v CA na op. sále pod RTG kontrolou . Na našom pracovisku ho zavádza intenzivista . Princíp zavedenia – Seldingerova technika – punkcia vény – chirurgickou cestou vypreparovaný podkožný tunel, ktorým je vyvedený katéter na povrch . Podkožný tunel a manžeta výrazne znižujú riziko infekcie . Indikácie zavedenia, komplikácie skoré aj neskoré takmer identické s Port-a- cathom . Výhodou je , že je väčšinou 2 alebo 3 lumen , preto nehrozí riziko vzájomnej interakcie liekov .

### Naše skúsenosti -





## **MOŽNOSTI OXYGENÁCIE A VENTILÁCIE PRI RESPIRAČNOM ZLYHÁVANÍ**

*Demeterová, A., Petřík, O., Takáč, B., Laho, L., II. KPAIM DFNSP, Banská Bystrica*

Cystická fibróza je multiorgánové ochorenie s pľúcnyim postihnutím, ktoré môže vyústiť do chronického respiračného zlyhania. Chronické respiračné zlyhanie vznikne, ak respiračná záťaž v zmysle nárokov organizmu prevýši schopnosť adekvátnej respirácie a ventilácie a príčina, ktorá viedla k tomuto nepomeru je ireverzibilná a pacient si vyžaduje chronickú ventilačnú resp. oxygenačnú podporu. Manifestuje sa hypoxiou bez retencie alebo s retenciou CO<sub>2</sub>. Terapeuticky ho môžeme ovplyvniť medikamentózne, fyzioterapiou, oxygenoterapiou, invazívnou a neinvazívnou umelou pľúcnou ventiláciou, transplantáciou pľúc. Okrem transplantácie pľúc sú všetky spomenuté liečebné metódy realizovateľné v domácom prostredí. Cieľom oxygenoterapie je upraviť akútnu hypoxémiu, pričom súčasne prebieha kauzálna terapia chorobného stavu, ktorý hypoxémiu vyvolal a pri chronických stabilizovaných ochoreniach predchádza komplikáciám vyplývajúcim z chronickej hypoxémie, predlžuje a skvalitňuje život pacientov s chronickou respiračnou insuficienciou. V prípadoch, keď je jednoduchá oxygenoterapia nepostačujúca je potrebné zahájiť umelú pľúcnu ventiláciu (UPV) invazívnym alebo neinvazívnym spôsobom. Pacienti s pokročilou cystickou fibrózou môžu profitovať z neinvazívnej pľúcnej ventilácie. Pri epizódach akútnej respiračnej insuficiencie a zlyhaní alebo prítomnosti kontraindikácie pre neinvazívnu UPV uplatňujeme UPV invazívnym spôsobom. Transplantácia pľúc je v súčasnosti najefektívnejší spôsob zlepšenia prežívania a kvality života pacientov v terminálnom štádiu cystickej fibrózy. Neinvazívna UPV zlepšuje respiračný status pacientov s cystickou fibrózou v štádiu chronickej respiračnej insuficiencie a pomáha preklenúť obdobie po transplantáciu pľúc.

**Kľúčové slová:** chronické respiračné zlyhanie, oxygenoterapia, umelá pľúcna ventilácia



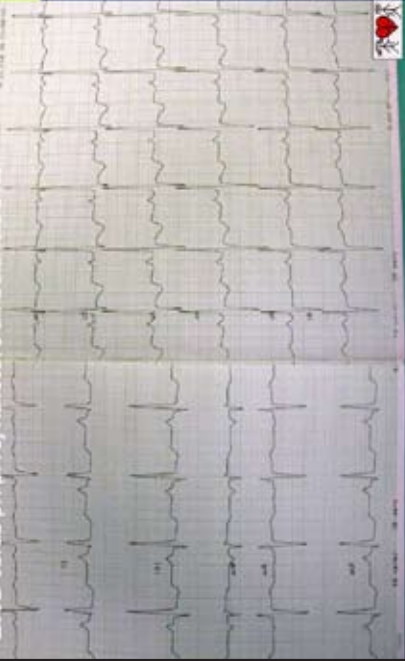
### Súbor pacientov na špecifickej farmakoterapii v DKC



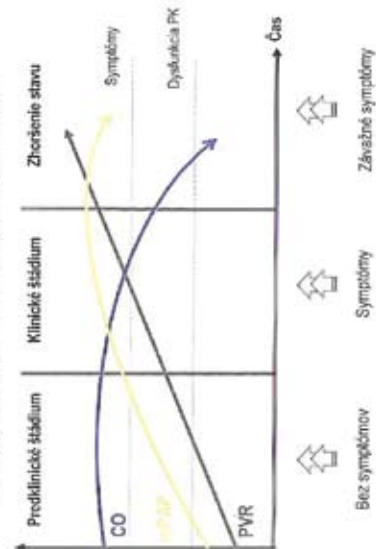
### IDIOPATICKÁ PAH (IPAH) / HEREDITÁRNA PAH (HPAH)

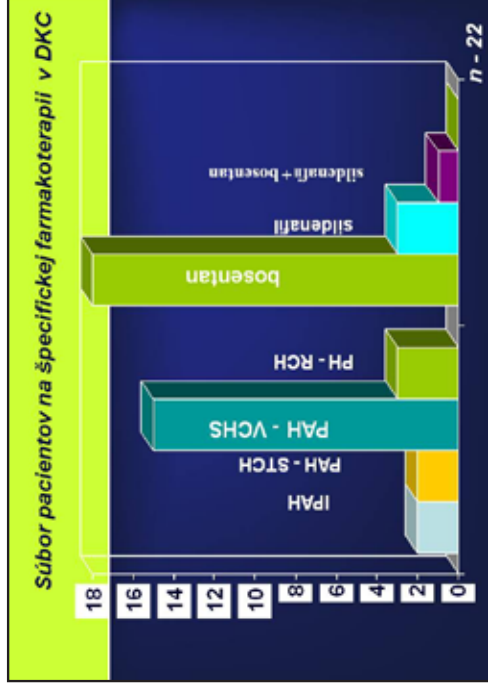
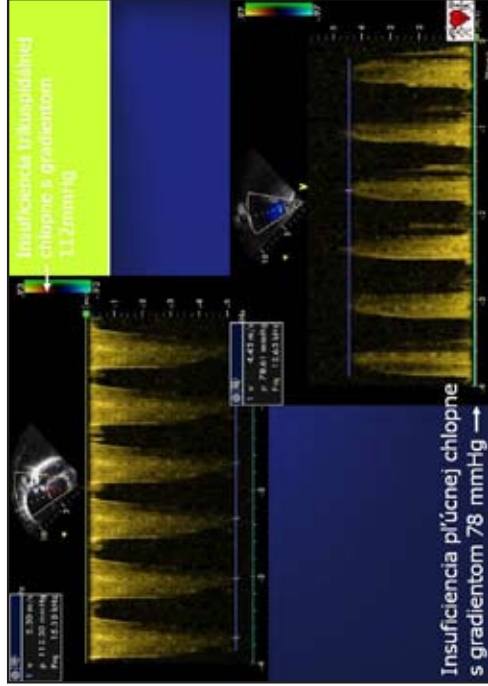
- Incidencia 1 – 2 ( 15 ) / 1 mil. obyvateľov
- častejšie u dievčat (1,8 : 1), / dospelý 1,7 : 1 /
- medián prežívania 10 mesiacov, / dospelý 2,8 roka /
- klinický obraz je v závislosti od veku
- malé deti : nešpecifické prejavy /nechutenstvo, neprospevanie, podráždenosť, tachykardia, plač, premodrávanie /
- väčšie deti : únava, synkopy, dýšpnoe, bolesti na hrudníku
- prognóza : v NYHA III. / IV. a IV. zlá

### EKG obraz pri prvej návšteve ambulancie DKC



### Klinické symptómy v závislosti od hemodynamických parametrov





## PAH asociovaná s VCHS

- u 6 - 10 (30)% pacientov s VCHS sa vyvinie PAH
- vznik PAH závisí od typu VCHS, od jej závažnosti a od časového faktora
- vývoj PAH je kontinuálny proces – od miernych po reverzibilné zmeny v príčnom riečisku
- PAH pri VCHS je jediný „preventabilný“ typ PH
- 4 – 6 % dospelých s VCHS má PH v krajných s dobrou úrovňou starostlivosti
- Eisenmengerov syndróm – extrémna forma PH
- u 1,1 – 4 % všetkých dospelých s VCHS ( 25 – 60 % zo všetkých s PH )

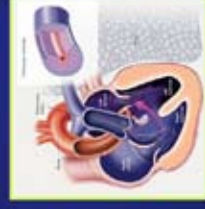
## Eisenmengerov syndróm



ASD, VSD, PDA, AVSD  
zvyšuje sa prítok krvi cez AP  
v dôsledku L - P širaku



anula PAH,  
biatriálny škrat



P - L škrat →  
Eisenmengerov syndróm

Súbor pacientov na špecifickej farmakoterapii v DKC



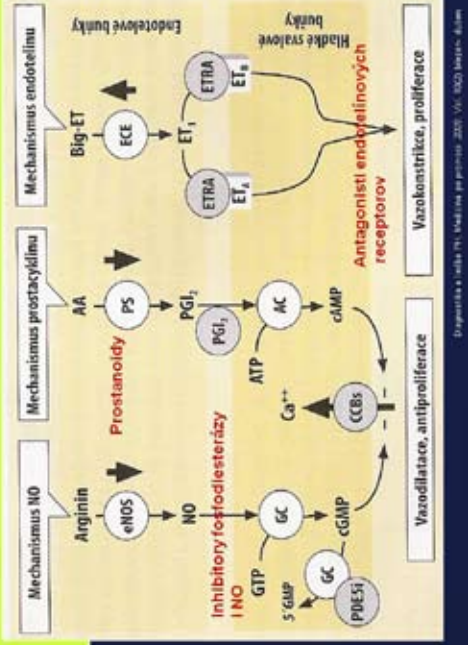
## Liečba PAH

1. Režimové opatrenia
2. Farmakoterapia konvenčná
3. Farmakoterapia špecifická
4. Invazívne liečebné postupy

- **prostanoidy** (epoprostenol, treprostinil, iloprost)
- **antagonisti endotelinových receptorov** (bosentan, sitaxsentan, ambrisentan)
- **inhibitory fosfodiesterázy** (sildenafil)
- **NO**

## Patofyziológia PAH

### Špecifická farmakoterapia



Súbor pacientov na špecifickej farmakoterapii v DKC



## Antagonisty endotelinových receptorov

## Bosentan (Tracleer)

- duálny antagonist receptorov  $ET_A$  a  $ET_B$  pre endotelin-1

- účinkuje vazodilatačne a antiproliferatívne
- zlepšuje výkonnosť organizmu
- zlepšuje kvalitu života
- zlepšuje hemodynamické parametre
- zlepšuje prežívanie
- aplikuje sa per os



Slide: SKOPNETH, SKOPNETH, BEHNETS, EARLY

Zlie sa jej zbytočne, je unavenejšia,  
a narušujúce to, čo prežívam.

ZÁVER

Antagonisty endotelinových receptorov

... už je možné pomôcť!

A čo pľúcna hypertenzia?

... už je možné pomôcť!



Uně kardiologické ochorenie s CHSH

www.cckp.sk

ĎAKUJEME  
ZA POZORNOSŤ

Marian Hrebík, Mgr. Jrsanská, Monika Kalararová

NÜSCH a.s. DETSKÉ KARDIOCENTRUM, Bratislava

## Eisenmengerov syndróm

- v 1897 Viktor Eisenmenger opísal prípad 32-ročného pacienta s VCHS a s progredujúcou cyanózou
- v 1960 Paul Wood označil vývoj ťažkej PAH asociovanej so skratovými VCHS ako **Eisenmengerov syndróm**
- Eisenmengerov syndróm je charakterizovaný :
  - prítomnosťou veľkého spojenia medzi systémovou a pľúcnou cirkuláciou
  - s **obráteným pravo - ľavým** alebo bidirekčným skratom
  - **ireverzibilnou ťažkou PH** dosahujúcu systémovú úroveň ( resp. 2/3 systémového tlaku ) s vysokou pľúcnou cievnou rezistenciou

Eisenmenger, O. W. *Archives of Internal Medicine* 1897; 2: 164-170.  
Wood, P. *British Medical Journal* 1960; 1: 111-115.

## Súbor pacientov (n=10) s Eisenmengerovým syndrómom

(NUSCH ET AL.)

### Spirometrické vyšetrenie

- Počet pacientov : 10
- Počet vyšetrených : 8 pac.
- Naspolupráca : 4 pac.



# MANAGEMENT GRAVIDITY U ŽIEN S CF- GUIDELINES.

MUDr. Eva Bérešová  
Centrum CF dospelých , FNŠP FDR Banská Bystrica

V súčasnosti sa deti s CF bežne dožívajú dospelosti často takmer s normálnou hmotnosťou a pľúcnymi funkciami, preto tehotenstvo u dievčat s CF je časté.

Aj pacientky s pokročilým ochorením pľúc môžu úspešne zvládnuť graviditu.

Taktiež ženy po transplantácii pľúc majú druhú šancu porodiť dieťa.

Tehotenstvo by malo byť naplánované vzhľadom na genetické problémy .

Management žien s nutričnými problémami, diabetom, zlou funkciou pľúc môže byť veľmi ťažký.

## História

- Prvý údaj o matke s dg CF bol publikovaný v r. 1960, v r. 1966 popisovaných 10 gravidít u žien s CF, v r. 1980 publikovaná štúdia 129 gravidít v CF centrách v Kanade a USA
- V súčasnosti asi 140 gravidít ročne v US Cystic Fibrosis Foundation Registry
- Doteraz neboli realizované žiadne komplexné štúdie o všetkých aspektoch tehotenstva a managementu CF
- Väčšina literatúry o tehotenstve u CF je vo forme kazuistík

Úvod do guidelines sa venuje doporučeniam pre lieky užívané v tehotenstve

Každý liek je zaradený do 5 kategórií bezpečnosti v tehotenstve /FDA klasifikácia/

Klinik musí zvážiť riziko účinku lieku na plod oproti riziku pre matku a plod ak sa jej stav zhoršuje

## Žena s CF a plánovanie gravidity

- Koordinácia starostlivosti o CF pacientky
- Ošetrovateľské problémy a podpora žien
- Poradenstvo- genetické, prenatalná genetická diagnostika, psychosociálne poradenstvo
- Optimalizácia zdravia- funkcie pľúc, potlačenie chron.infekcie, liečba akútnej infekcie, mukolýza, fyzioterapia, inhalačná terapia, optimalizácia výživy

## Optimalizácia výživy

- Výživa matiek najvýznamnejšie ovplyvňuje tehotenstvo a stav dieťaťa
- Kyselina listová v dávke 400ug denne prekonceptčne a počas 1.trimestra na prevenciu defektov neurálnej trubice, 4tisíc až 5 tisíc ug/deň pri vysoko rizikovej gravidite
- Vitamin A- nedostatok alebo nadmerný príjem sú teratogénne- maximálna dávka 10 tisíc IU/deň
- Vitamin D- príjem 10ug/deň /400IU/-merať hladinu
- Informovanosť o bezpečnosti potravín, zabrániť konzumácii alkoholu, obmedziť spotrebu kofeínu- menej ako 300mg/deň

## Optimalizácia diabetickej starostlivosti

- Diabetes u CF je spojený s horšou prognózou, či je dg pred tehotenstvom alebo ako gestačný diabetes



- Pravidelné sledovanie glykémii pri každej kontrole, počas infektu, oGTT v 20. a 28. týždni
- Ak je prítomný DM alebo gestačný diabetes, inzulín je liekom prvej voľby
- Ak sú užívané PAD, majú sa prerušiť 48 hodín pred pôrodom, alikácia INZ- minimalizácia vzniku novorodeneckej hypoglykémie
- Zachovať vysoký príjem kalórií, pravidelné sledovanie diabetologom

### Ukončenie tehotenstva

- Dôvody zo strany matky/neplánovaná gravidita, psychosociálne indikácie, zo zdrav. dôvodov/
- Lekárske indikácie:

**Absolútne kontraindikácie gravidity : pľúcna hypertenzia, cor pulmonale chronicum hyperkapnia, kľudová hypoxia**

**Relatívne kontraindikácie gravidity: FEV1 , FVC menej ako 50%,zlá výživa -BMI menej ako 18, CFRD, kolonizácia Burkholderia cepacia, ochorenie pečene ,rýchly pokles pľúcnych funkcií**

- Pôrodnické indikácie: závažná fetálna anomália

### Management výživy v gravidite

- V normálnom tehotenstve nárast hmotnosti 12,5kg, u CF doporučené najmenej o 11kg
- Nízke prekoncepčné BMI je spojené s vysokým rizikom nízkej pôrodnej hmotnosti
- Odporúčaný príjem pri CF má byť vyšší o 200-300 kcal/deň, proteiny 6g/deň, saturácia FeS dôležitá
- Enterálna sondová výživa, parenterálna výživa

### Gravidita

- Koordinácia starostlivosti a poradenstvo
- Psychologická intervencia, motivačné rozhovory
- Optimalizácia zdravia- ATB liečba /beta-laktámy, aminoglykozidy,TOBI v 2. a 3. trimestri/,intenzívna dychová RHB, cvičenia na spevnenie panvového dna, svalstva DK, udržiavanie nosovej priechodnosti, bronchodilanciá
- Zápcha/progesteron -spomaľuje činnosť čriev, zvýšené vstrebávanie solí a vody, dietne zmeny, znížená aktivita/-DIOS
- GERD/znížená motilita, zvýšený žalúdočný tlak/-antagonisti H2
- Management diabetu,ochorenia pečene
- Frekvencia kontrol 1x mesačne , v 3. trimestri 2x mesačne alebo p.p.
- Doporučené zvýšenie hmotnosti v 1. trimestri o 0-2,5kg, v 2. a 3. trimestri 0,5kg za týždeň
- Anesteziologická starostlivosť- dohovoriť typ anestézie, naplánovať pôrod
- Zaisťovanie venózneho prístupu

### Pôrod

- Väčšina gravidít u CF končí spontánnym pôrodom, pri zhoršení stavu matky alebo plodu cisárskym rezom
- Pri indikácii na predčasný pôrod pred 37t / 26%-46% u CF/podávať steroidy pred 34t

Indikácie zo strany plodu: obmedzenie rastu plodu alebo akútne zhoršenie  
Indikácie zo strany matky: preeklampsia, fetálne obmedzenie rastu, pôrodná cholestáza

### **Tehotenstvo po transplantácii**

- Vysoko rizikové tehotenstvá, majú byť naplánované, nie sú časté, ideálne viac ako 2roky po transplantácii
- Častý vznik hypertenzie a renálnej dysfunkcie pri imunosupresívach, preeklampsia častá
- 50% detí predčasne narodených, 20% vnútromaternicové obmedzenie rastu, úmrtia novorodencov, dlhodobá chorobnosť, nízke intelektuálne kvocienty
- Udáva sa zvýšené riziko akútnej a chronickej rejeckie počas tehotenstva a po pôrode
- Pravidelná kontrola hladiny imunosupresív
- Optimalizácia výživy, vitamínoterapie, stavu diabetu

### **Postnatálne obdobie**

- Pomoc a podpora zo strany rodiny, nutnosť dodržiavať liečebné režimy
- Odsledovanie a riešenie postnatálnej depresie/ všeobecne 10-20% výskyt v gravidite/
- Čo najskôr začať s kompletnou liečbou, ATB liečba skoro v popôrodnom období, fyzioterapia ,zvážiť potravinové doplnky, antikoncepcia

### **Výživa a dojčenie**

- Dojčenie zvyšuje nutričné požiadavky na energiu, Ca, minerálne látky, vitamíny
- Nie je kontraindikované u CF, ale nutnosť individuálneho zváženia
- Materské mlieko CF žien má normálnu hladinu elektrolytov a bielkovín, nízku hladinu esenciálnych MK a cholesterolu
- U zdravej matky je nutný dodatočný príjem 500kcal/deň, požiadavka proteínov 11g/deň prvých 6 mesiacov
- Strata Ca pri laktácii 210mg/deň, doporučený príjem Ca 1250- 1500mg deň – formou mliečnych výrobkov alebo doplnkov
- Vitamín D- príjem 10ug/deň, pri dojčení potreba tekutín asi 2l navyše okrem normálneho príjmu-prevenia syndromu DIOS

### **Dieťa**

- Najčastejšia komplikácia u CF je predčasný pôrod- 25%
- Deti náchylné na syndróm dychovej tiesne, sepsu, mozgové krvácanie, hypoglykémie, často rastová retardácia
- U žien s CFRD a gestačným diabetom u detí môže vzniknúť hypoglykémia, hyperglykémia, náchylnosť k respiračným infekciám

### **Prognóza pre matku**

- Funkcia pľúc je najvýznamnejší prediktor, u žien so zlou funkciou pľúc vedie tehotenstvo k ďalšiemu poklesu pľúcnych funkcií, má vplyv na dlhodobú prognózu
- Ženy s dobrou funkciou pľúc neboli ovplyvnené tehotenstvom
- Každé tehotenstvo u CF je potenciálne vysoko rizikové, horšia prognóza u žien s pokročilým alebo zle kontrolovaným ochorením a nízkym BMI