

**ΚΥΣΤΙΚΗ ΙΝΩΣΗ -
ΝΕΩΤΕΡΕΣ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΕΣ
ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ**

ΝΟΕΜΒΡΙΟΣ 2003

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΠΝΕΥΜΟΝΟΛΟΓΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ



ΔΙΟΙΚΗΤΙΚΟ ΣΥΜΒΟΥΛΙΟ 2002-2003

Πρόεδρος: Π. Μπεχράκης
Αντιπρόεδρος: Ν. Καρβουνάς
Γ. Γραμματέας: Ου. Αναγνωστοπούλου
Ειδ. Γραμματέας: Μ. Παντελάκης
Ταμίας: Π. Γιαμπουδάκης
Μέλη: Σ. Κωνσταντόπουλος
Β. Ντόβολης

Συγγραφείς

Ε. Πούλιου
Γ. Περπάτη
Β. Διονυσοπούλου
Α. Παπαμιχαλόπουλος

ΕΠΙΜΕΛΕΙΑ ΕΚΔΟΣΗΣ

Ε. Πούλιου

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

*Αλοίμονο στο παιδί που
φιλώντας το μέτωπό του
αλμυρό θα το βρεις
-τώχουν μαγέψει-
ειν'έτοιμο ν'αφήσει τον κόσμο τούτο.
(Γερμανική παροιμία)*

Η κυστική ίνωση γοητεύει ερευνητές και κλινικούς για περισσότερο από μισό αιώνα. Ιστορικά η κλινική της πολυπλοκότητα ακολουθήθηκε από αυξανόμενη γενετική πολυπλοκότητα. Όταν για πρώτη φορά περιγράφηκε η κυστική ίνωση στα τέλη της 10ετίας του 1930, οι ασθενείς κατέληγαν στην πρώιμη παιδική ηλικία από λοιμώξεις του αναπνευστικού και υποθρεψία. Σήμερα χάρις στην πρώιμη διάγνωση και στην αποτελεσματικότερη θεραπεία, η μέση επιβίωση των ασθενών με κυστική ίνωση έχει ανέβει στα 30 χρόνια.

Τις τελευταίες δεκαετίες, παρά την ταχεία πρόοδο στην έρευνα και την ανακάλυψη του υπεύθυνου γονιδίου το 1989, εξακολουθεί να παραμένει αβέβαιο με ποιο τρόπο η ανωμαλία σε μοριακό επίπεδο οδηγεί στις ποικίλες κλινικές εκδηλώσεις της νόσου. Οι απώτερες συνέπειες της γονιδιακής ανωμαλίας είναι μεγαλύτερης κλινικής σημασίας στο επίπεδο των πνευμόνων, όπου η λοίμωξη και η φλεγμονή είναι η άμεση αιτία θανάτου. Παρά τα κενά που υπάρχουν, η γνώση μας έχει σημαντικά βελτιωθεί την τελευταία δεκαετία. Ειδικότερα σε ότι αφορά την λοίμωξη και τη φλεγμονή, έχει γίνει πολύ σημαντική πρόοδος στην κατανόηση του φαύλου κύκλου, λοίμωξη-φλεγμονή-απόφραξη, και το ακόμη σημαντικότερο έχουν προταθεί διάφορες θεραπευτικές στρατηγικές για τη διακοπή αυτού του κύκλου. Τα αμέσως επόμενα χρόνια περιμένουμε ότι θα κατανοήσουμε λεπτομερέστερα τη λειτουργία του γονιδίου της κυστικής ίνωσης και ακριβέστερα την παθοφυσιολογία της νόσου, που σε συνδυασμό με τις γονιδιακές τεχνικές θα οδηγήσουν πιθανώτατα στην οριστική θεραπεία.

Η προοπτική εφαρμογής της γονιδιακής θεραπείας στην κυστική ίνωση καθιστά τη γοητεία της έρευνας της νόσου ακόμη μεγαλύτερη και η ελπίδα όλων είναι ότι πιθανόν μετά όχι πολλά χρόνια η κυστική ίνωση θα είναι ένα νόσημα με ιστορικό χαρακτήρα.

Ελένη Πούλιου

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Γενετική - Μοριακή βιολογία	5
Μικροβιολογία	6
Διάγνωση	7
Θεραπεία	12
Βιβλιογραφία	17

ΚΥΣΤΙΚΗ ΙΝΩΣΗ - ΝΕΩΤΕΡΕΣ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ

**Ε. Πούλιου, Γ. Περγάτη, Β. Διονυσοπούλου,
Α. Παπαμιχαλόπουλος**

Η κυστική ίνωση είναι η συχνότερη γενετική νόσος της λευκής φυλής. Η συχνότητά της είναι 1/2500 γεννήσεις. Ο αριθμός των υγιών φορέων ανέρχεται στο 5,2% του γενικού πληθυσμού. Υπολογίζεται ότι κάθε χρόνο στην Ελλάδα γεννιούνται 40 παιδιά με κυστική ίνωση και ο συνολικός αριθμός των ασθενών πρέπει να είναι περίπου 700. Τελευταία έχει ξεκινήσει προσπάθεια καταγραφής των ασθενών.

Γενετική – Μοριακή βιολογία

Η μετάδοση της νόσου γίνεται κατά τον υπολειπόμενο αυτόσωμο χαρακτήρα. Η ταυτοποίηση του υπεύθυνου για τη νόσο γονιδίου, που έγινε το 1989 διευκρίνισε την παθογένεια της νόσου, έκανε εφικτό τον προγεννητικό έλεγχο και έδωσε ώθηση στην έρευνα για τη γονιδιακή θεραπεία. Η θέση του γονιδίου αυτού εντοπίζεται στο μακρό σκέλος του χρωμοσώματος 7, μεταξύ των θέσεων 22 και 31 (7q22 – 7q31)¹ και ρυθμίζει την παραγωγή μιας πρωτεΐνης που συμμετέχει στη μεταφορά ιόντων δια μέσου της κυτταρικής μεμβράνης η οποία ονομάζεται CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator)².

Η πρωτεΐνη αυτή, που βρίσκεται στην κυτταροπλασματική μεμβράνη των επιθηλιακών κυττάρων διαφόρων οργάνων, αποτελείται από 1480 αμινοξέα, εμφανίζει χαρακτήρα διαύλου ιόντων και μοιάζει με τις Ρ-γλυκοπρωτεΐνες³. Η δομή της συνίσταται σε δύο τμήματα διαμεμβρανικά TMD (transmembrane domain) που αποτελούν το διάυλο και τρία τμήματα ενδοκυτταρικά (δύο υδρόφιλα που συνδέονται με τα νουκλεοτίδια ATP, τα NBF- nucleotide binding fold - και το τμήμα R που περιλαμβάνει θέσεις φωσφορυλίωσης για τις πρωτεϊνικές κινάσες A και C) (Σχήμα 1).

Έχει βρεθεί ότι υπάρχουν μεμβρανικοί υποδοχείς που δρούν μέσω των πρωτεϊνών G, από τις οποίες άλλες διεγείρουν και άλλες αναστέλλουν τη δράση της αδενικής κυκλάσης. Η τελευταία μετατρέπει το ATP σε cAMP το οποίο με τη σειρά του ενεργοποιεί τις πρωτεϊνικές κινάσες. Οι πρωτεϊνικές κινάσες φωσφορυλιώνονται στο τμήμα R της CFTR και την ενεργοποιούν ώστε να διανοιχθούν οι διάυλοι των ιόντων. Η CFTR αλληλεπιδρά με άλλους διαύλους ιόντων και πρωτεΐνες μεμβρανών με μηχανισμούς που δεν έχουν ακόμη διευκρινισθεί. Τέτοιοι διάυλοι είναι οι "εναλλακτικοί" διάυλοι Cl⁻ στην κορυφαία μεμβράνη του επιθη-

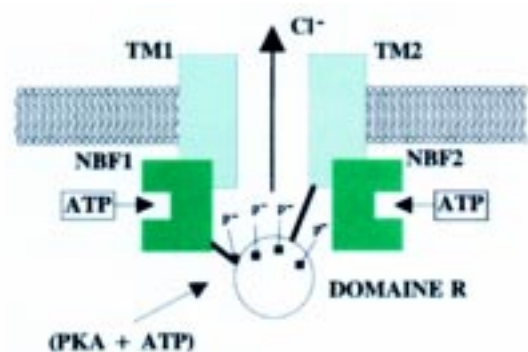
λίου των αεραγωγών (ORCC), οι οποίοι ενεργοποιούνται από την αύξηση του ενδοκυττάρου Ca²⁺ και φαίνεται να προστατεύουν τους αεραγωγούς από εκδηλώσεις παρόμοιες με αυτές της κυστικής ίνωσης (φλεγμονή, λοίμωξη, βλεννώδη έμβολα)⁴.

Η προεξάρχουσα ηλεκτροφυσιολογική ανωμαλία στους αεραγωγούς των ασθενών με κυστική ίνωση είναι η εκσεσημασμένη αύξηση της επαναπορρόφησης του Na⁺. Με τον κλωνισμό του γονιδίου της κυστικής ίνωσης είναι πιθανό, μελετώντας μεγαλύτερα τμήματα των ENaC (επιθηλιακών διαύλων Na⁺ ευαίσθητων στην αμιλοριδίη), να μελετηθεί καλύτερα η αλληλεπίδραση του διαύλου αυτού και της CFTR. Όταν τα ENaC εκφράζονται παράλληλα με τη CFTR στα ίδια κύτταρα, η ενεργότητά τους μειώνεται και η ρύθμισή τους από το cAMP ποικίλλει από ενεργοποίηση απουσία της CFTR έως απενεργοποίηση παρουσία της CFTR.

Μετάλλαξη στο εν λόγω γονίδιο έχει ως αποτέλεσμα ανωμαλία στη δομή και λειτουργία της CFTR. Περισσότερες από 1000 μεταλλάξεις έχουν ταυτοποιηθεί σε ασθενείς με κυστική ίνωση, με συχνότερη τη ΔF₅₀₈. Στους ασθενείς με τη μετάλλαξη αυτή απουσιάζει το αμινοξύ φαινυλαλανίνη που φυσιολογικά κατέχει τη θέση 508 στην πρωτεΐνη CFTR⁵. Αυτή απαντάται στο 80% των ασθενών με κυστική ίνωση στη Β.Ευρώπη και στο 45-55% στους ασθενείς της Ν. Ευρώπης⁶. Οι υπόλοιπες μεταλλάξεις παρουσιάζονται με πολύ μικρή συχνότητα και έχουν γεωγραφική κατανομή⁷.

Ανάλογα με τον τύπο της μετάλλαξης η νόσος εμφανίζεται σε κυτταρικό επίπεδο υπό 4 μορφές⁸ (Σχήμα 2).

1. Απουσία της CFTR.
2. Διαταραχή της γλυκοζυλίωσης στο επίπεδο των σωματιδίων Golgi που οδηγεί σε μηδενική ή πολύ χαμηλή μετακίνηση προς την κορυφαία μεμβράνη.
3. Διαταραχή της ενεργοποίησης και ρύθμισης της CFTR στην κυτταρική επιφάνεια.
4. Δυσλειτουργία του διαύλου με μείωση της αγωγι-

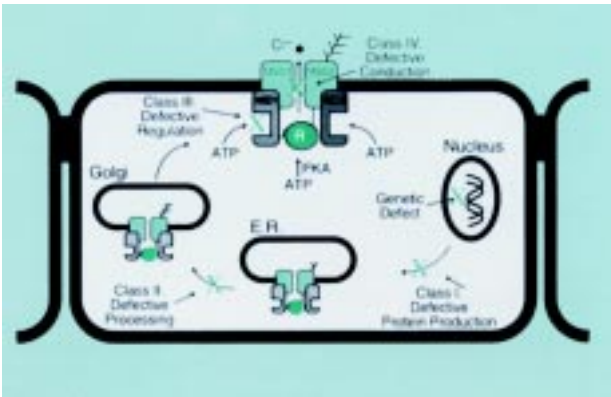


Σχήμα 1. Λειτουργικό μοντέλο της CFTR

TM = Διαμεμβρανική περιοχή,

NBF = Θέση σύνδεσης νουκλεοτιδίων

PKA = Πρωτεϊνική κινάση Α



Σχήμα 2. Σχηματική αναπαράσταση των τεσσάρων μηχανισμών μεταλλάξεων της CFTR

μότητας στο χλώριο.

5. Σφάλμα στους μηχανισμούς μεταγραφής του DNA, στο επίπεδο του mRNA, που έχει ως αποτέλεσμα κακή λειτουργία της πρωτεΐνης.
6. Κακή ρύθμιση των αλληλεπιδράσεων της CFTR με τους διαύλους ORCC και EhaC.

Οι αποκλίσεις από την τυπική κλινική εικόνα και η διαφορά στη βαρύτητα της νόσου σε διαφορετικούς ασθενείς με κυστική ίνωση αποδίδονται στη συσχέτιση γονότυπου-φαινοτύπου. Ενδεικτικά, σε μια σειρά 293 ασθενών έγινε συσχέτιση της εμφάνισης παγκρεατικής ανεπάρκειας με το γονότυπο και απεδείχθη ότι το 99% των ομοζυγώντων ΔF508 παρουσίαζαν παγκρεατική ανεπάρκεια, ενώ οι ετεροζυγώτες σε ποσοστό 28% και άλλες μεταλλάξεις σε 64%. Δεν υπάρχει όμως εμφανής συσχέτιση ανάμεσα στο γονότυπο και την πρόβολη του αναπνευστικού συστήματος⁹. Επίσης ο γονότυπος συσχετίζεται και με τις ήπιες περιπτώσεις ενηλίκων με βρογχεκτασίες ή με αμφοτερόπλευρη αγενεσία των σπερματικών πόρων¹⁰. Συχνά στους ασθενείς αυτούς η δοκιμασία ιδρώτα δείχνει φυσιολογικές τιμές χλωρίου^{11,12}.

A.4.5 Ο χαρακτήρας της φλεγμονώδους απόκρισης στον ινοκυστικό πνεύμονα και η σχέση της με τη λοίμωξη

Η φλεγμονή στην κυστική ίνωση επικεντρώνεται στους αεραγωγούς μάλλον παρά στις κυψελίδες. Οι πρώιμες βλάβες αφορούν στο επιθήλιο και συνίστανται σε απώλεια των κροσσών και πλακώδη μετάπλαση. Υπάρχει επίσης υπερπλασία των λαγνοειδών κυττάρων και υπερτροφία των βλεννογόνιων αδένων¹³. Προϊόντος του χρόνου βλενοπυώδεις εκκρίσεις αποφράσσουν τους μικρούς αεραγωγούς σε όλους σχεδόν τους ασθενείς, και συνοδεύονται από χρόνια φλεγμονώδη διήθηση του βλεννογόνου. Αυτή η φλεγμονώδης διαδικασία προκαλεί στο τοίχωμα των αεραγωγών μικροέλκη και σχηματισμό μικροαποστημάτων, που οδηγούν σε βρογχεκτασίες. Η επικράτηση της φλεγ-

μονής κυρίως εντός και πέριξ των βρόγχων και των βρογχιολίων και όχι στις κυψελίδες ή στα αγγεία είναι ενδεικτική της στενής σχέσης της με τη λοίμωξη των αεραγωγών.

Στο βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα υπερέχουν τα μακροφάγα ενώ φυσιολογικά τα ουδετερόφιλα ανέρχονται σε ποσοστό μικρότερο του 3% των ανευρισκομένων κυττάρων. Στους ασθενείς με κυστική ίνωση υπερέχουν τα ουδετερόφιλα ακόμη και σε εκείνους με κλινικώς ήπια νόσο¹⁴. Καθώς η νόσος εξελίσσεται, ο αριθμός των ουδετεροφίλων βαίνει αυξανόμενος και τα πτύελα γίνονται πυώδη.

ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑ

Αρχικά τα μικρόβια που ανευρίσκονται στα πτύελα των ασθενών με κυστική ίνωση είναι ο **χρυσίζων σταφυλόκοκκος** και ο **αιμόφιλος**¹⁵.

Καθώς η νόσος εξελίσσεται, εμφανίζεται η ***Pseudomonas aeruginosa*** η οποία αντικαθιστά τα άλλα μικρόβια ή τα συνοδεύει.

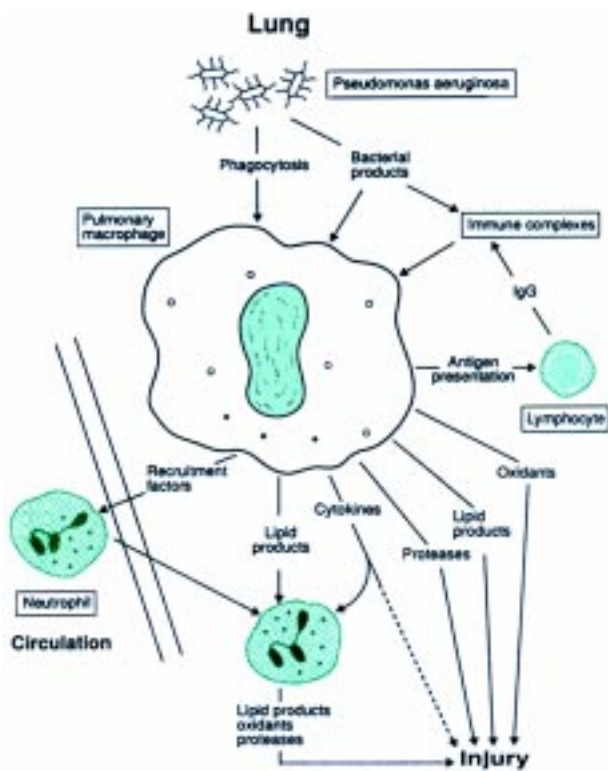
Αρχικά η εμφάνιση της ψευδομονάδας είναι διαλείπουσα, στη συνέχεια όμως γίνεται μόνιμη και το 70% των ενηλίκων ασθενών είναι αποικισμένο με ψευδομονάδα. Η εμφάνισή της είναι πιό πρώιμη στις γυναίκες σε σχέση με τους άνδρες και σχετίζεται με σημαντική κλινική επιδείνωση¹⁶.

Η χρόνια λοίμωξη με σταφυλόκοκκο είναι δυνατόν να δημιουργήσει τις προϋποθέσεις για τον αποικισμό με ψευδομονάδα. Για το λόγο αυτό προτείνεται από κάποια κέντρα η προφυλακτική θεραπεία εναντίον του σταφυλοκόκκου, ενώ άλλοι προτιμούν να γίνεται προσπάθεια εκρίζωσης του σταφυλοκόκκου κάθε φορά που ανευρίσκεται στο κατώτερο αναπνευστικό.

Η ***Pseudomonas aeruginosa*** ευκαιριακό Gram-σαπρόφυτο, εμφανίζει πολύ μεγάλη ανάπτυξη στις βρογχικές εκκρίσεις των ασθενών με κυστική ίνωση. Παράγοντες που διευκολύνουν την προσκόλληση της ψευδομονάδας στο βρογχικό επιθήλιο είναι τα ψευδοπόδια, οι πολυσακχαρίδες και πιθανώς η αιματοαγγουτινίνη¹⁷.

Το μικρόβιο συνθέτει εξωπολυσακχαρίδες οι οποίες παρουσία ασβεστίου σχηματίζουν ένα gel, το "slime", το οποίο περιβάλλει τις αποικίες και τις προστατεύει από την φαγοκυττάρωση των μακροφάγων, τα αντιβιοτικά και τα αντισώματα. Η ψευδομονάδα εκκρίνει τοξίνες (ελαστάση, εξωτοξίνη), οι οποίες είναι υπεύθυνες για την ιστική βλάβη, ενώ επίσης προκαλούν τοπικές ανοσολογικές διαταραχές που ευνοούν τη μικροβιακή λοίμωξη όπως φαίνεται στο (Σχήμα 3)¹⁸.

Το γεγονός του πολύ χαμηλού ποσοστού αποικισμού των άλλων ασθενών με βρογχεκτασίες (εκτός της κυστικής ίνωσης) και της ανεύρεσης της ψευδομονάδας σε νεογνά στα οποία δεν υπάρχει ιστική βλάβη, οδήγησε στην υπόθεση ότι, τα κύτταρα του ανα-



Σχήμα 3. Ανοσολογική απόκριση του ξενιστή στην ψευδομονάδα. Κυρίαρχος ρόλος του κυψελιδικού μακροφάγου.

πνευστικού επιθηλίου των ασθενών με κυστική ίνωση, έχουν στην επιφάνειά τους ειδικούς υποδοχείς (γλυκολιπίδια και γλυκοπρωτεΐνες) που επιτρέπουν σε ορισμένα μικρόβια (όπως η ψευδομονάδα) να προσκολληθούν. Βλάβη των κυττάρων του βρογχικού επιθηλίου, που προκαλεί η θρυψίνη και η ελαστάση των λευκοκυττάρων προκαλεί έκφραση νέων υποδοχέων για τα ψευδοπόδια και αυξάνει την προσκολλητική ικανότητα των βακτηριδίων.

Τελευταία εμφανίσθηκαν νέα στελέχη ψευδομονάδος, όπως η *Xanthomonas maltophilia* και κυρίως η *Pseudomonas (Bulkh) cepacia*, η οποία είναι πιά συχνή στις Η.Π.Α και την Μεγάλη Βρετανία και συνήθως είναι ανθεκτική στα αντιψευδομοναδικά αντιβιοτικά¹⁹.

Το στέλεχος αυτό αναγνωρίσθηκε ως παθογόνο σε ασθενείς με κυστική ίνωση πριν 20 χρόνια. Σήμερα λοιμώξεις με *cepacia* έχουν πάρει διαστάσεις ενδημίας σε κάποια κέντρα κυστικής ίνωσης. Στις Η. Π. Α. η επίπτωση ήταν περίπου 3,9% το 1992, ενώ η επίπτωση της *aeruginosa* ήταν 60,7%. Υπάρχουν 3 κλινικές μορφές αποικισμού με *p. cepacia*: α) χρόνιος ασυμπτωματικός αποικισμός β) προοδευτική επιδείνωση με υποτροπιάζοντα πυρετό, απώλεια βάρους και πολλαπλές νοσηλείες και γ) ραγδαία θανατηφόρα επιδείνωση σε ήπια προσβεβλημένους ασθενείς²⁰.

Δεν είναι γνωστή η συχνότητα εμφάνισης της στην

Ελλάδα, πιθανότατα δεν έχει ανευρεθεί στα πτύελα των ασθενών.

Είναι σκόπιμο να διαχωρίζονται οι ασθενείς που είναι αποικισμένοι με *Pseudomonas cepacia* από τους υπόλοιπους, ώστε να αποφευχθεί η μετάδοσή της.

Τέλος ο *Aspergillus fumigatus* και η *Candida albicans* συχνά αποικίζουν τους ασθενείς που πάσχουν από κυστική ίνωση.

ΔΙΑΓΝΩΣΗ

Παρά το γεγονός ότι η κυστική ίνωση είναι γενετική νόσος, η διάγνωση της βασίζεται σε κλινικά δεδομένα και η επιβεβαίωση γίνεται με την ανεύρεση υψηλής συγκέντρωσης ηλεκτρολυτών στον ιδρώτα. Η νόσος χαρακτηρίζεται από σημαντική ποικιλομορφία όσον αφορά στη συχνότητα και στη βαρύτητα των κλινικών εκδηλώσεων. Στις περισσότερες περιπτώσεις η διάγνωση της κυστικής ίνωσης γίνεται πολύ νωρίς πριν από την ηλικία του 1ου έτους. Οι ασθενείς που δεν έχουν παγκρεατική ανεπάρκεια εμφανίζουν ηπιότερη κλινική εικόνα, καλύτερη θρέψη, πιά φυσιολογική αναπνευστική λειτουργία και συνήθως η διάγνωση γίνεται σε μεγαλύτερη ηλικία. Ενώ υπάρχει συσχέτιση γονότυπου-φαινότυπου όσον αφορά την παγκρεατική λειτουργία, δεν υπάρχει αντίστοιχη συσχέτιση όσον αφορά τη πνευμονική προσβολή^{21,22}. Οι συχνότερες εκδηλώσεις της νόσου εμφανίζονται στον παρακάτω πίνακα.

Κύρια κλινικά χαρακτηριστικά νεοδιαγνωσθέντων ασθενών

Οξεία ή επιμέροντα συμπτώματα από το αναπνευστικό	45.1%
Υποθρεψία	35.9%
Στεατόρροια ή δυσασπορρόφηση	26.7%
Ειλεός εκ μηκωνίου ή εντερική απόφραξη	17.7%
Ηλεκτρολυτικές διαταραχές	6.2%
Πρόπτωση του ορθού	2.9%
Ρινικοί πολύποδες ή παραρρινοκολπίτις	2.9%
Ηπατική νόσος	0.7%

Πηγή: Αμερικανική Εταιρεία Κυστικής Ίνωσης

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΔΙΑΓΝΩΣΗΣ

1. Δοκιμασία ιδρώτα

Η δοκιμασία ιδρώτα εξακολουθεί να θεωρείται η καλύτερη μέθοδος για τη διάγνωση της κυστικής ίνωσης. Το πρώτο 24ωρο μετά τη γέννηση είναι δυνατόν οι ηλεκτρολύτες να εμφανίζουν παροδική αύξηση των επιπέδων τους στον ιδρώτα σε φυσιολογικά νεογνά. Δύο ημέρες μετά τη γέννηση παρατηρείται απότομη πτώση των ηλεκτρολυτών. Συνεπώς η δοκιμασία ιδρώτα θεωρείται αξιόπιστη μετά τη παρέλευση του πρώτου 48ωρου, αν και είναι προτιμότερο να γίνεται όταν το νεογνό είναι κλινικά σταθερό, ενυδατωμένο, χωρίς οξεία νόσο και να μη παίρνει αλατοκορτικοειδή.

Μέθοδος: Η εξέταση θα πρέπει να γίνεται από εξειδικευμένο άτομο και το εργαστήριο θα πρέπει να εκτελεί ένα ικανοποιητικό αριθμό εξετάσεων προκειμένου να εξασφαλίζει τη ποιότητα της εξέτασης. Η μόνη αποδεκτή μέθοδος για την επιβεβαίωση ή τον αποκλεισμό της κυστικής ίνωσης είναι η ποσοτική ιοντοφόρηση με πιλοκαρπίνη ή μέθοδος των Gibson & Cooke.

Οι εγκεκριμένες από την Αμερικανική Εταιρεία Κυστικής Ίνωσης μέθοδοι συλλογής του ιδρώτα είναι η μέθοδος Gibson-Cooke και η συλλογή με το σύστημα Macroduct (Wescor, Inc., Logan, UT)²³. Και με τα δύο συστήματα η έκκριση ιδρώτα γίνεται τοπικά μετά από διέγερση με πιλοκαρπίνη στο δέρμα της εσωτερικής επιφάνειας του αντιβραχίου χρησιμοποιώντας ηλεκτρικό φορτίο 5mV για 5-10 λεπτά. Παρά το γεγονός ότι και οι δύο ηλεκτρολύτες μπορούν να μετρηθούν, το κλώριο προσφέρει καλύτερο διαχωρισμό μεταξύ των ασθενών με κυστική ίνωση και υγιών και είναι η ανάλυση εκλογής. Αν η τιμή του νατρίου στον ιδρώτα είναι οριακή, χορηγούνται αλατοκορτικοειδή οπότε η συγκέντρωση του νατρίου στους ασθενείς με κυστική ίνωση δεν μειώνεται ενώ παρατηρείται μείωση στους υγιείς²⁴. Μία εναλλακτική μέθοδος δοκιμασίας ιδρώτα είναι το cystic fibrosis indicator system²⁵. Κατά τη μέθοδο αυτή γίνεται μία ημιποσοτική ανάλυση του κλωρίου αφού προκληθεί τοπικά η έκκριση ιδρώτα μετά από διέγερση με πιλοκαρπίνη. Ο ιδρώτας συλλέγεται σε ένα αυτοκόλλητο το οποίο είναι ειδικά σχεδιασμένο ώστε όταν η τιμή του κλωρίου είναι μεγαλύτερη από 45mmol/L το χαρτί αλλάζει χρώμα και η δοκιμασία θεωρείται θετική. Αυτή είναι μια απλή διαδικασία για μαζικό έλεγχο πληθυσμού, αλλά δεν θα πρέπει να χρησιμοποιείται ως βάση για τη διάγνωση της κυστικής ίνωσης.

Αποτελέσματα: Τιμές κλωρίου ή νατρίου μεγαλύτερες των 60 mmol/L παραπέμπουν στη διάγνωση της κυστικής ίνωσης. Στους ενήλικες η δοκιμασία θεωρείται θετική όταν η τιμή του κλωρίου είναι μεγαλύτερη των 70 mmol/L²⁶. Οριακές συγκεντρώσεις κλωρίου στο εύρος των 40 ως 60 mmol/L παρατηρούνται στο 4%-5% του συνόλου των εξετάσεων. Σε αυτές τις περιπτώσεις πρέπει να γίνεται επανάληψη της εξέτασης και συνήθως στην επόμενη μέτρηση τα αποτελέσματα εμπίπτουν σε φυσιολογικά ή παθολογικά όρια. Σε ασθενείς με κυστική ίνωση οι τιμές του κλωρίου είναι συνήθως μεγαλύτερες αυτών του νατρίου, ενώ στους υγιείς συμβαίνει το αντίθετο.

Διαγνωστικά κριτήρια: Τα αποτελέσματα από τις μετρήσεις των συγκεντρώσεων του κλωρίου και του νατρίου θα πρέπει να ερμηνεύονται σε συνδυασμό με την κλινική εικόνα. Από μόνα τους τα αποτελέσματα του εργαστηρίου δεν μπορούν να επιβεβαιώσουν ή να αποκλείσουν τη διάγνωση της κυστικής ίνωσης. Η διάγνωση θα πρέπει να στηριχθεί στην κλινική εικόνα, στη θετική δοκιμασία ιδρώτα και στην ταυτοποίηση των δύο μεταλλάξεων της CFTR. Στο 0.1%-1% η διάγνωση της κυστικής ίνωσης βασίζεται στη μέτρηση του ρινικού δυναμικού και στην ανάλυση του γονότυπου σε ασθενείς με οριακή ή φυσιολογική συγκέντρωση κλωρίου.

Το ποσοστό των ψευδών αποτελεσμάτων της δοκιμασίας ιδρώτα είναι της τάξης του 10%- 15%. Συνήθως τα περισσότερα λάθη αφορούν ψευδώς θετικά αποτελέσματα, αλλά και τα ψευδώς αρνητικά αποτελούν πρόβλημα. Οι τιμές των ηλεκτρολυτών του ιδρώτα ποικίλλουν ανάλογα με τη μέθοδο της πρόκλησης, την ποσότητα του ιδρώτα, την πρόσληψη άλατος, την ενυδάτωση και τη θρέψη. Πάντως είναι σπάνιο αυτοί οι παράγοντες να παρέμβουν στη διαγνωστική αξία των αποτελεσμάτων της δοκιμασίας. Τα περισσότερα λάθη οφείλονται σε κακή μέθοδο, σε ανεπαρκή ποσότητα ιδρώτα, σε τεχνικά λάθη και σε κακή ερμηνεία των αποτελεσμάτων²⁷. Τεχνικά προβλήματα που σχετίζονται με τη δοκιμασία ιδρώτα περιλαμβάνουν αποτυχία στη συλλογή επαρκούς ποσότητας, μόλυνση του δέρματος με υλικά που περιέχουν άλας, αποτυχία στο σωστό στέγνωμα του δέρματος πριν τη συλλογή ιδρώτα, εξάτμιση του ιδρώτα κατά τη συλλογή και μεταφορά, λάθη στο ζύγισμα, τη διάλυση, την ανάλυση και τον υπολογισμό των αποτελεσμάτων.

Πλήθος νοσημάτων εκτός της κυστικής ίνωσης εμφανίζουν παθολογική δοκιμασία ιδρώτα αλλά συνήθως δεν αποτελούν πρόβλημα στη διαφορική διάγνωση. Μερικά από τα νοσήματα αυτά είναι η νευρογενής ανορεξία, η ατοπική δερματίτιδα, ο οικογενής υποπαρathyρεοειδισμός, ο υποθυρεοειδισμός (χωρίς αγωγή), η βλεννοπολυσακχαρίδωση τύπου 1, η υποθρεψία, η υπογαμμασφαιριναιμία, η οικογενής χολόσταση, ο ψευδο-υπο-αλδοστερονισμός κ.ά.

Ενδείξεις για επανάληψη της δοκιμασίας ιδρώτα:

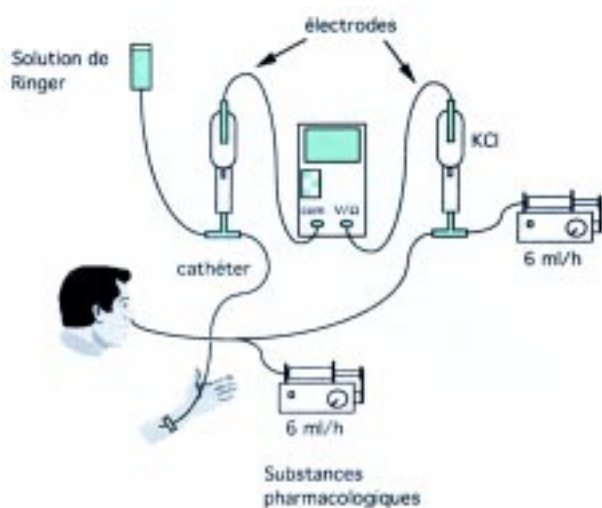
- 1) Όλες οι θετικές δοκιμασίες ιδρώτα πρέπει να επαναλαμβάνονται. Η διάγνωση της κυστικής ίνωσης ποτέ δεν πρέπει να βασίζεται σε μία μόνον θετική δοκιμασία.
- 2) Όλες οι οριακές δοκιμασίες (με συγκεντρώσεις κλωρίου 40- 60 mmol/L) πρέπει να επαναλαμβάνονται και αν εξακολουθούν να παραμένουν οριακές χρειάζονται συμπληρωματικές εξετάσεις.
- 3) Η δοκιμασία ιδρώτα πρέπει να επαναλαμβάνεται σε όλους τους ασθενείς που πιστεύεται ότι έχουν κυστική ίνωση και δεν έχουν την αναμενόμενη κλινική εικόνα.

2. Ρινικό δυναμικό³⁹

Πρόκειται για μέτρηση η οποία πρόσφατα εφαρμόζεται στους ασθενείς με κυστική ίνωση. Η διαφορά ρινικού δυναμικού εκφράζει την διαφορά δυναμικού στο αναπνευστικό επιθήλιο. Στους ασθενείς με κυστική ίνωση κατά μέσο όρο είναι -36mV ενώ στους φυσιολογικούς η διαφορά δυναμικού είναι -19mV. Σε περιπτώσεις αμφίβολης δοκιμασίας ιδρώτα η μέτρηση του ρινικού δυναμικού μπορεί να θέσει τη διάγνωση (Σχήμα. 4).

Τα συνηθέστερα λάθη στη διάγνωση της κυστικής ίνωσης είναι τα ακόλουθα:

1. Δεν υποψιάζεται κανείς τη διάγνωση διότι ο ασθενής φαίνεται πολύ υγιής για να έχει κυστική ίνωση ή



Σχήμα 4. Μέτρηση ρινικού δυναμικού

δεν έχει παγκρεατική ανεπάρκεια.

2. Χρησιμοποιείται μη αποδεκτή μέθοδος για το test ιδρώτα.
3. Κακή ερμηνεία των αποτελεσμάτων του test λόγω κακού δείγματος ή μη επανάληψης ενός οριακού ή αρνητικού test ιδρώτα
3. Ταυτοποίηση των μεταλλάξεων

Όπως είναι γνωστό, έχουν ταυτοποιηθεί ως τώρα περισσότερες από 900 μεταλλάξεις. Εξ αυτών οι 13 έχουν συχνότητα μεγαλύτερη από 1% και καλύπτουν το 87,3% των μεταλλάξεων της κυστικής ίνωσης. Η συχνότητα των μεταλλάξεων ποικίλλει από τον ένα πληθυσμό στον άλλο. Η πιο συχνή μετάλλαξη, η ΔF_{508} , εμφανίζει μεγαλύτερη συχνότητα στη Βορειοδυτική Ευρώπη και τις ΗΠΑ και η συχνότητά της μικραίνει στη Νοτιοανατολική Ευρώπη και το Ισραήλ, όπου είναι συχνότερες άλλες μεταλλάξεις.

Είναι γνωστό ότι υπάρχει συσχέτιση γονότυπου-φαινότυπου όσον αφορά την παγκρεατική λειτουργία. Υπάρχει ένας αριθμός 'ήπιων' μεταλλάξεων όπως οι R117H, R334W, R347P, P574H, G551S, A455E, T338I και η 3849+10kb C→T οι οποίες συνοδεύονται σχεδόν πάντα από παγκρεατική επάρκεια.

Παρόλο που δεν υπάρχει σαφής συσχέτιση μεταξύ γονότυπου και πνευμονικής προσβολής, κάποιες μεταλλάξεις συσχετίζονται με ήπια πνευμονική προσβολή όπως οι R117H, G551S και η 3849+10kb C→T και συχνά συνοδεύονται από φυσιολογικό ή οριακό test ιδρώτα. Ο γονότυπος δεν προβλέπει την ηπατική νόσο ή τον σακχαρώδη διαβήτη.

Η ταυτοποίηση των δύο μεταλλάξεων του γονιδίου σε ασθενή ο οποίος έχει κλινική εικόνα συμβατή με κυστική ίνωση, επιβεβαιώνει τη διάγνωση. Η ταυτοποίηση μίας μετάλλαξης δεν επιβεβαιώνει τη διάγνωση, αλλά αυξάνει τη πιθανότητα να υπάρχει κάποια άτυπη μορ-

φή κυστικής ίνωσης. Από πρακτικής απόψεως η γονοτυπική ανάλυση ενός ασθενούς με άτυπη κλινική εικόνα και οριακή δοκιμασία ιδρώτα συχνά δεν είναι ιδιαίτερα χρήσιμη, διότι οι ασθενείς αυτοί φέρουν μεταλλάξεις οι οποίες δεν υπάρχουν στα διαγνωστικές δοκιμές για μαζικό έλεγχο.

Η νόσος χαρακτηρίζεται από σημαντική ποικιλομορφία όσον αφορά τη συχνότητα και τη βαρύτητα των κλινικών εκδηλώσεων. Η διάγνωση της κυστικής ίνωσης δεν μπορεί να αποκλεισθεί ποτέ επειδή ένας ασθενής με ύποπτες κλινικές εκδηλώσεις φαίνεται αρκετά υγιής ώστε να έχει κυστική ίνωση. Στις περισσότερες περιπτώσεις η διάγνωση της κυστικής ίνωσης δεν ενέχει ιδιαίτερες δυσκολίες και γίνεται με βάση τη κλινική εικόνα και τη θετική δοκιμασία ιδρώτα. Οι περιπτώσεις με άτυπη κλινική εικόνα και αρνητική δοκιμασία ιδρώτα ανέρχονται στο 2% των συνολικών περιπτώσεων κυστικής ίνωσης. Στις περιπτώσεις αυτές η μέτρηση του ρινικού δυναμικού και η ταυτοποίηση των μεταλλάξεων μπορούν να θέσουν τη διάγνωση.

Κλινική εικόνα:

Όσον αφορά στο αναπνευστικό σύστημα, ο χρόνος έναρξης των συμπτωμάτων δεν είναι σαφώς καθορισμένος καθώς αυτά κάνουν την εμφάνισή τους είτε στην παιδική ηλικία, είτε στην εφηβεία ή τη δεύτερη δεκαετία της ζωής²⁹.

Στο 37-50% των παιδιών εμφανίζονται λοιμώξεις του αναπνευστικού κατά το πρώτο έτος της ζωής τους^{30,31}. Τα πιο συχνά συμπτώματα είναι ο βήχας, η ταχύπνοια και η δύσπνοια. Ο βήχας είναι καθημερινός, συνήθως το πρωί και σπάνια παραγωγικός. Συχνά είναι παροξυσμικός και σε μικρά παιδιά συγχέεται με εκείνον του κοκκύτη. Η ύπαρξη απόχρεμψης σχετίζεται περισσότερο με την ηλικία παρά με τον αποικισμό του κατώτερου αναπνευστικού από διάφορα παθογόνα. Στην ηλικία των 15 ετών 50% των ασθενών έχουν καθημερινή απόχρεμψη ενώ το 85% διαλείπουσα εμφάνιση βλενοπουδών πτυέλων²⁹. Μπορεί να συνυπάρχει μικρή πυρετική κίνηση, ενώ υψηλός πυρετός αφορά σε λοιμώξεις μη συνδεόμενες με την κυστική ίνωση.

Ακροαστικώς, σε ήπιες περιπτώσεις υπάρχει φυσιολογικό αναπνευστικό ψιθύρισμα, ενώ επί ύπαρξης αποφρακτικού συνδρόμου σημειώνεται παράταση εκπνοής, εκπνευστικοί μουσικοί, καθώς και παχείς μη μουσικοί ρόχοι.

Η πληκτροδακτυλία είναι ένας κλινικός δείκτης που εκτιμά την εξέλιξη της νόσου, ενώ η κυάνωση αφορά σε περιπτώσεις που ο κορεσμός της αιμοσφαιρίνης σε οξυγόνο είναι χαμηλός^{32,33}.

Η θρέψη και η ανάπτυξη σε παιδιά χωρίς παγκρεατική ανεπάρκεια μπορεί επίσης να υπολείπονται του φυσιολογικού όταν υπάρχουν χρόνιες αναπνευστικές λοιμώξεις και αυξημένο έργο αναπνοής.

Στους ενήλικες τα συμπτώματα είναι παρόμοια, αλλά

ο βήχας είναι περισσότερο παραγωγικός και η ανταπόκριση του υπάρχοντος αποφρακτικού συνδρόμου στη βρογχοδιαστολή ποικίλλει. Αρκετοί ασθενείς αναφέρουν θωρακικό άλγος που μπορεί να οφείλεται είτε στο βήχα, είτε σε επιπλοκές όπως ο πνευμοθώρακας, η υπεζωκοτική συλλογή ή η βρογχοπνευμονική ασπεργίλλωση.

Σε συνδυασμό με την ύπαρξη βρογχεκτασιών περισσότερο από το 60% των ενηλίκων παρουσιάζει αιμόφυρτα πτύελα ενώ τουλάχιστον το 10% αναφέρει επεισόδια σοβαρής αιμόπτυσης.³⁴

Όσον αφορά τις παροξύνσεις της νόσου από το αναπνευστικό απαιτούνται τουλάχιστον τρία από τα ακόλουθα κριτήρια³⁵ προκειμένου να θεωρησει ο γιατρός ότι η νόσος βρίσκεται σε παρόξυνση:

- 1) Αύξηση του βήχα
- 2) Αύξηση της ποσότητας ή μεταβολή της ποιότητας της απόχρεμψης
- 3) Πυρετός πάνω από 38°C για τουλάχιστον 4 ώρες το τελευταίο εικοσιτετράωρο ή σε περισσότερες από μία μετρήσεις την τελευταία εβδομάδα
- 4) Απώλεια βάρους πάνω από 1 Kg ή 5% του σωματικού βάρους με συνοδό ανορεξία ή καθυστέρηση στην ανάπτυξη όταν πρόκειται για παιδιά.
- 5) Απουσία από το σχολείο ή την εργασία την τελευταία εβδομάδα λόγω αδυναμίας να ανταποκριθεί στις απαιτήσεις της συνήθους εργασίας του
- 6) Αύξηση της αναπνευστικής συχνότητας ή/και του έργου της αναπνοής
- 7) Νέα ευρήματα κατά τη φυσική εξέταση
- 8) Μείωση της αντοχής στην κόπωση
- 9) Μείωση του FEV₁ ≥ 10% τους τελευταίους 3 μήνες
- 10) Μείωση του κορεσμού της αιμοσφαιρίνης ≥ 10% τους τελευταίους 3 μήνες
- 11) Νέα ακτινολογικά ευρήματα

Αρχικά τα ακτινολογικά ευρήματα περιλαμβάνουν περιβρογχικές πυκνώσεις και τμηματικές ατελεκτασικές περιοχές. Στη συνέχεια παρατηρείται αύξηση του οπισθοστερνικού χώρου με αύξηση της προσθιοπίσθιας διαμέτρου και επιπέδωση του διαφράγματος, ενώ στις πιο σοβαρές περιπτώσεις οζώδεις σκιάσεις 2 – 5 mm, πυλαία διόγκωση, τμηματική και λοβώδης ατελεκτασία, κυστικοί σχηματισμοί και τελικά βρογχεκτασίες. Δακτυλιοειδείς σκιάσεις οφείλονται σε κυστικές βρογχεκτασίες ενώ οι υπούπεζωκοτικές κύστες μπορεί να ραγούν προκαλώντας πνευμοθώρακα.

Οι δοκιμασίες της αναπνευστικής λειτουργίας δείχνουν αρχικά απόφραξη των μικρών αεραγωγών (πτώση της FEF_{25-75%}) και αύξηση του RV/TLC και στη συνέχεια μείωση του FEV₁ και της FVC. Ο FEV₁ αποτελεί δείκτη σοβαρότητας, εξέλιξης και πρόγνωσης της νόσου. Διαταραχές της ανταλλαγής των αερίων και του κορεσμού της αιμοσφαιρίνης διαπιστώνονται σε προχωρημένα στάδια της νόσου.

Από τα όργανα του πεπτικού συστήματος σημαντική προσβολή υφίσταται το πάγκρεας και σχετίζεται

με το γονότυπο. Σχεδόν όλοι όσοι είναι ομοζυγώτες για τη μετάλλαξη ΔF₅₀₈ έχουν παγκρεατική ανεπάρκεια ενώ οι άλλες μεταλλάξεις φαίνεται να συνοδεύονται από σχετική διατήρηση της λειτουργίας του παγκρέατος.^{36,37}

Η κυστική ίνωση είναι η πιο συχνή αιτία ανεπάρκειας της εξωκρινούς μοίρας του παγκρέατος στα παιδιά στη Βόρεια Αμερική και τη Δυτική Ευρώπη. Στους ασθενείς αυτούς είναι ανεπαρκής η έκκριση των παγκρεατικών λιπολυτικών ενζύμων (λιπάση), των πρωτεολυτικών ενζύμων (θρυψίνη, χυμοθρυψίνη) και των διτανθρακικών. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την εμφάνιση συνδρόμου δυσαπορρόφησης, τη μείωση των επιπέδων των λιποδιαλυτών βιταμινών (A, D, E, K) με επακόλουθη αιμολυτική αναιμία και υπολευκωματιναιμία, οι οποίες εκφράζονται με ωχρότητα και οιδήματα. Η υποθρεψία, τα κοιλιακά άλγη, οι ογκώδεις, λιπαρές και δύσοσμες διαρροϊκές κενώσεις, καθώς και η πρόπτωση του ορθού συνθέτουν την κλινική εικόνα που εκφράζει την παγκρεατική ανεπάρκεια στην ινοκυστική νόσο. Η τριάδα: μεγάλη όρεξη, ογκώδεις λιπαρές κενώσεις και υποθρεψία με καθυστέρηση στην ανάπτυξη ενός παιδιού θέτει την υπόνοια της νόσου.

Η παγκρεατίτιδα, η λιθίαση των παγκρεατικών πόρων και οι κύστες του παγκρέατος είναι σπάνιες εκδηλώσεις και δε σχετίζονται απαραίτητα με παγκρεατική ανεπάρκεια.

Ο σακχαρώδης διαβήτης εμφανίζεται ως αποτέλεσμα της προσβολής της ενδοκρινούς μοίρας του παγκρέατος και η επίπτωση στους ασθενείς με κυστική ίνωση είναι περίπου 15%, με μέση ηλικία εμφάνισης τα 20 έτη.³⁸ Τα τυπικά συμπτώματα υπάρχουν μόνο στο 1/3 των ασθενών με διαβήτη και η δοκιμασία ανοχής στη γλυκόζη εξασφαλίζει την έγκαιρη διάγνωση.^{39,40}

Η πλέον πρώιμη όμως κλινική εκδήλωση της κυστικής ίνωσης που παρατηρείται στο 10-15% των ασθενών είναι ο ειλεός εκ μηκωνίου⁴¹. Είναι επιβλαβής η διαπίστωση του υπερηχογραφικώς από το δεύτερο τρίμηνο της κύησης, συνήθως όμως εμφανίζεται τις πρώτες 48 ώρες της ζωής με αδυναμία αποβολής μηκωνίου, διάταση της κοιλίας και χαρακτηριστική ακτινολογική εικόνα "θολής υάλου" στο δεξιό κάτω τεταρτημόριο της κοιλίας απουσία υδραερικών επιπέδων.⁴²⁻⁴⁴

Ένα σύνδρομο ανάλογο του ειλεού εκ μηκωνίου στα νεογνά, που κάνει την εμφάνισή του αργότερα και η συχνότητα του αυξάνεται με την πάροδο των ετών έως και 27% για τους ασθενείς άνω των 30 ετών, είναι το DIOS (Distal Intestinal Obstruction Syndrome). Αυτό συνίσταται σε μερική ή πλήρη απόφραξη του τελικού ειλεού ή του ανιόντος κόλου από βλεννοκοπρανώδεις μάζες, που είναι ψηλαφητές και συνοδεύεται από έντονο κοιλιακό άλγος.^{45,46}

Η γαστροοισοφαγική παλινδρόμηση είναι συχνότερη στα παιδιά,⁴⁷ ενώ η πρόπτωση του ορθού αποτελεί μια επιπλοκή της νόσου. Παράγοντες που ενοχοποιούνται για την πρόπτωση του ορθού είναι οι συχνές κε-

νώσεις, η στάση των κοπράνων, η εξασθένηση του μυϊκού τοιχώματος λόγω της υποθρεψίας και η αύξηση της ενδοκοιλιακής πίεσης εξαιτίας της υπερδιάτασης του θώρακα και του επίμονου βήχα. Στο 11% των περιπτώσεων πρόπτωσης του ορθού υπεύθυνη είναι η κυστική ίνωση γι' αυτό και πρόπτωση του ορθού χωρίς εμφανή αιτία πρέπει να γίνεται δοκιμασία ιδρώτα⁴⁸.

Καίτοι η χολώδης κίρρωση είναι η πλέον χαρακτηριστική βλάβη του ήπατος στην κυστική ίνωση, υπάρχουν και άλλες εκδηλώσεις όπως η λιπώδης διήθηση του ήπατος ή η χολόσταση από απόφραξη του χοληδόχου πόρου. Σημειώνεται ότι σπανιότατα υπάρχουν κλινικές εκδηλώσεις και τα ευρήματα είναι κυρίως παθολογοανατομικά, με κάποιες ενδείξεις διαταραχών της ηπατικής λειτουργίας⁴⁹. Αύξημένη ανευρίσκεται συχνά η αλκαλική φωσφατάση⁵⁰. Η αύξηση της χολερυθρίνης δεν είναι απαραίτητη, ενώ επιπλοκές όπως ο ίκτερος, ο ασκίτης, η πυλαία υπέρταση με αιμορραγία κίρσων και η ηπατοσπληνομεγαλία με ή χωρίς υπερσπληνισμό είναι δυνατές αλλά όχι ιδιαίτερα συχνές^{51,52}.

Όσον αφορά στη θρέψη και στην ανάπτυξη των ασθενών με κυστική ίνωση βασικό ρόλο παίζουν τόσο η βαρύτητα του συνδρόμου δυσαπορρόφησης όσο και η συχνότητα των αναπνευστικών λοιμώξεων. Η καλή θρέψη και ανάπτυξη αποτελεί σίγουρα πολύ καλό προγνωστικό δείκτη και είναι άμεσα εξαρτώμενη από τη σωστή θεραπεία^{53,54}.

Άλλες συχνές εκδηλώσεις της νόσου είναι οι ρινικοί πολύποδες και οι παραρρινοκολπίτιδες^{55,56}. Η ρινική απόφραξη από τους πολύποδες είναι συχνή και αποτελεί ένδειξη χειρουργικής αντιμετώπισης η οποία όμως τις περισσότερες φορές πρέπει να επαναληφθεί λόγω συχνών υποτροπών⁵⁷. Οι παραρρίνιοι κόλποι προσβάλλονται στο 90% των ασθενών⁵⁸.

Όσον αφορά το γεννητικό σύστημα και την αναπαραγωγή, υπάρχει μία μέση καθυστέρηση 1,5 – 2 έτη στην ανάπτυξη και την εφηβεία⁵⁹. Οι άνδρες έχουν αζωοσπερμία, λόγω απουσίας ή ατροφίας των σπερματικών αγγείων, της σπερματοδόχου κύστης, του σπερματικού πόρου ή της επιδιδυμίδας^{60,61}. Στις γυναίκες αν και η ανατομική του γεννητικού συστήματος είναι φυσιολογική, η τραχηλική βλέννη είναι παχύρρευστη και αυτό εμποδίζει εν μέρει τη διείσδυση του σπέρματος⁶². Εξάλλου η έντονη υποθρεψία και η σοβαρή αναπνευστική νόσος συνυπάρχουν με δευτεροπαθή αμηνόρροια και ανωορρηκτικό εμμηνορρυσιακό κύκλο. Αυτή όμως η παθολογία δε συνεπάγεται απαραίτητα και στειρότητα. Μεγάλος αριθμός γυναικών με κυστική ίνωση τεκνοποιούν και το μεγαλύτερο ποσοστό αυτών έχουν φυσιολογική κύηση^{63,64}. Παρά τις περιγραφόμενες επιπλοκές που οδηγούν σε αυτόματη αποβολή ή σε πρόωρο τοκετό, η κλινική εμπειρία έχει δείξει ότι η εγκυμοσύνη έχει πολύ καλή έκβαση σε γυναίκες με ήπια νόσο και FEV₁ > 70% του προβλεπομένου. Απαραίτητη θεωρείται η συνεργασία του γυναικολόγου με τον πνευμονολόγο. Ο θηλασμός δεν αντενδείκνυται και το μητρικό γάλα των ασθενών με κυστική ίνωση

δεν υστερεί σε θρεπτική και θερμιδική αξία από αυτό του υπολοίπου γυναικείου πληθυσμού⁶⁵.

Με συχνότητα 2 – 9 %, η προσβολή των αρθρώσεων παρουσιάζεται είτε ως υπερτροφική πνευμονική οστεοαρθροπάθεια, είτε ως περιοδική αρθρίτιδα⁶⁶. Τα ευρήματα περιλαμβάνουν πληκτροδακτυλία στην πρώτη περίπτωση και πόνο, οίδημα, θερμότητα στη δεύτερη. Συχνά συνυπάρχει πυρετός και δερματικές βλάβες, του τύπου του οζώδους ερυθήματος ή της πορφύρας, στις κνήμες, τα σφυρά ή τη ραχιαία επιφάνεια των ποδιών^{67,68}.

Η χαμηλή οστική πυκνότητα που οδηγεί σε οστεοπόρωση και σπανιότερα σε αυτόματα κατάγματα απαντά σε ενήλικες αλλά και παιδιά με τη νόσο. Παράγοντες αυξημένου κινδύνου αποτελούν το σύνδρομο δυσαπορρόφησης (σχετίζεται με τα επίπεδα ασβεστίου και βιταμίνης D), η υποθρεψία, η μειωμένη φυσική δραστηριότητα, η καθυστέρηση στην ανάπτυξη, ο υπογοναδισμός, η αμηνόρροια, ο διαβήτης, οι χρόνιες λοιμώξεις (αύξηση των κυτταροκινών), η χρήση κορτικοστεροειδών και η μεταμόσχευση^{69,70}.

Σπανιότερες εκδηλώσεις της νόσου είναι η αμυλοείδωση, ο υποθυρεοειδισμός, οι πολυκυστικοί νεφροί και η νεφρολιθίαση⁷¹⁻⁷⁴.

Υπάρχουν διάφορες κλίμακες εκτίμησης της βαρύτητας της νόσου και παρακολούθησης της πορείας της. Η πιο διαδεδομένη απ' αυτές είναι το Schwachman score (SS)⁷⁵ Αυτό βασίζεται στις παρακάτω παραμέτρους:

- Δραστηριότητα
- Αντικειμενική εξέταση
- Θρέψη
- Ακτινογραφία θώρακα

Υψηλό SS δείχνει καλή κλινική κατάσταση, άριστη κατάσταση: 100-86, καλή 85-71 ήπια νόσος: 70-56, μέτριας σοβαρότητας: 55-40, σοβαρή: < 40.

Αν και στις σοβαρότερες περιπτώσεις η μηνιαία παρακολούθηση κρίνεται αναγκαία, συνιστάται ανά δίμηνο παρακολούθηση. Σε κάθε εξέταση είναι απαραίτητη η καλλιέργεια πτυέλων με ποσοτικό προσδιορισμό και η σπιρομέτρηση.

Η ακτινογραφία θώρακα και η ανάλυση αερίων αρτηριακού αίματος γίνονται κατ'έκτιμηση, όπως και η επανάληψη της υπολογιστικής τομογραφίας και της ακτινογραφίας κόλπων προσώπου. Ανά εξάμηνο ή ετήσια είναι χρήσιμο να γίνονται υπέρηχος κοιλίας, καρδιάς, έλεγχος για ασπέργιλλο στα πτύελα και τον ορό και αντιψευδομοναδικά αντισώματα. Στους ασθενείς με παγκρεατική ανεπάρκεια γίνεται επιπλέον μέτρηση λιποδιαλυτών βιταμινών, λιπαρών οξέων και λιπιδίων κοπράνων. Ο ποσοτικός προσδιορισμός της CRP και των ανοσοσφαιρινών σε συνδυασμό με τη γενική εξέταση αίματος χρησιμεύουν ιδιαίτερα κατά την περίοδο των παροξυσμών. Εξάλλου κατά τακτά χρονικά διαστήματα είναι αποδεκτό να γίνονται φόρτιση με γλυκόζη,

μέτρηση των φλεγμονωδών κυτταροκινών, έλεγχος του σιδήρου – φερριτίνης, ενώ μία φορά ετησίως ελέγχονται τα πτύελα για μυκοβακτηρίδιο της φυματιώσεως.

Επιπλοκές:

Ατελεκτασία μπορεί να προκληθεί λόγω απόφραξης βρόγχου από βύσματα βρογικών εκκρίσεων και πιθανόν να σχετίζεται και με την εμφάνιση αλλεργικής βρογχοπνευμονικής ασπεργίλλωσης.

Ρήξη υπούπεζωκοτικών κύστεων στην υπεζωκοτική κοιλότητα προκαλεί πνευμοθώρακα, επιπλοκή που είναι πιο συχνή στους ενήλικες και αποτελεί κακό προγνωστικό σημείο⁷⁶.

Μικρή αιμόπτυση είναι συχνή επιπλοκή στους ενήλικες, ενώ μεγάλη (>250 ml) εμφανίζεται σε περισσότερο από 7% των ενηλίκων ασθενών. Ενοχοποιούνται κυρίως οι βρογχεκτασίες με τις χρόνιες λοιμώξεις και το βήχα που προκαλούν ρήξη των αγγείων του βρογχικού βλεννογόνου, αλλά και η δράση πρωτεϊνολυτικών ενζύμων στο βρογχικό και αγγειακό τοίχωμα και σπανιότερα τα χαμηλά επίπεδα της βιταμίνης Κ εξαιτίας του συνδρόμου δυσαπορρόφησης και της ηπατικής νόσου καθώς και τοξική δράση φαρμάκων στη λειτουργία των αιμοπεταλίων ή η θρομβοπενία λόγω υπερσπληνισμού⁷⁷.

Η σχέση της κυστικής ίνωσης με τον ασπέργιλλο είναι εξαιρετικά σύνθετη. Χαμηλός αριθμός αποικιών ανευρίσκεται στα πτύελα περισσότερων του 50% των ασθενών με ινοκυστική νόσο⁷⁸. Η επίπτωση της αλλεργικής βρογχοπνευμονικής ασπεργίλλωσης σε ασθενείς με κυστική ίνωση είναι περίπου 11%⁷⁹. Συνοδεύεται από διάχυτες παροδικές διηθήσεις, ηωσινοφιλία και θετική δερματική δοκιμασία ενώ είναι δυνατή η ανεύρεση υψηλών επιπέδων IgE και θετικό RAST.

Ασθενείς στο τελικό στάδιο της αναπνευστικής νόσου με σοβαρή υποξία, οδηγούνται σε πνευμονική υπέρταση και χρόνια πνευμονική καρδιά. Εξάλλου η απόφραξη των αεραγωγών μειώνει τη ζωτική χωρητικότητα και τον αναπνεόμενο όγκο και οδηγεί σε μείωση του κυψελιδικού αερισμού. Προοδευτικά εμφανίζεται υπερκαπνία.

Η προσβολή από το μυκοβακτηρίδιο της φυματιώσεως ή άτυπα μυκοβακτηρίδια αποτελούν σπάνια επιπλοκή παίζουν όμως καθοριστικό ρόλο στην επιδείνωση της νόσου^{80,81}

ΘΕΡΑΠΕΙΑ

ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΜΕ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΑ

Στόχοι της θεραπείας με αντιβιοτικά είναι η αντιμετώπιση των παροξύνσεων και η μείωση του μικροβιακού φορτίου.

Ο ποσοτικός προσδιορισμός του βακτηριακού φορτίου, βασίζεται στην παραδοχή, ότι η πυκνότητα των βακτηριδίων είναι μεγαλύτερη κατά τη διάρκεια μιάς

παρόξυνσης παρά κατά τον απλό αποικισμό και χρησιμοποιείται ευρέως για τον καθορισμό του παθογόνου μικροοργανισμού που προκαλεί την παρόξυνση⁸².

Η πυκνότητα των βακτηριδίων στα πτύελα των ασθενών με κυστική ίνωση ανέρχεται σε 10⁵ έως 10⁷ CFU/ml, πυκνότητες που σε άλλες κλινικές καταστάσεις αντιπροσωπεύουν λοίμωξη παρά αποικισμό.

Μεγάλος αριθμός μελετών αναφέρει μείωση του μικροβιακού φορτίου μετά από επιτυχή θεραπεία, η συσχέτιση όμως μεταξύ της κλινικής κατάστασης και του μικροβιακού φορτίου παραμένει αμφιλεγόμενη.

Χρήσιμος δείκτης για την επιβεβαίωση της παρόξυνσης πέραν του προσδιορισμού του μικροβιακού φορτίου είναι και ο ποσοτικός προσδιορισμός της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP).

Δείκτες όπως ο τίτλος της IgG του ορού και ο τίτλος των αντιψευδομοναδικών αντισωμάτων θεωρούνται αφ' ενός μεν προγνωστικοί και αφ' ετέρου συνδέονται με τη χρονιότητα της φλεγμονής⁸³.

Δεδομένου ότι είναι πολύ σημαντικός ο ρόλος της λοίμωξης στην καταστροφή του πνευμονικού παρεγχύματος, η έγκαιρη και αποτελεσματική αντιμετώπιση της βελτιώνει σημαντικά την πρόγνωση της νόσου. Η θεραπεία διακρίνεται σε θεραπεία πριν από τον αποικισμό με ψευδομονάδα και θεραπεία μετά τον αποικισμό.

Πριν από τον αποικισμό συζητείται συστηματική προφύλαξη εναντίον του *χρυσίζοντος σταφυλοκόκκου* και του *αιμόφιλου influenzae*.

Η άλλη τάση είναι η χορήγηση αντιβιοτικών στις παροξύνσεις.

Φάρμακα εκλογής για τον *σταφυλόκοκκο* και τον αιμόφιλο *influenzae* είναι η οξακιλλίνη, η κλοξακιλλίνη, η αμοξυκιλλίνη συν κλαβουλανικό οξύ, δεύτερης γενιάς κεφαλοσπορίνες, τριμεθοπρίμη - σουλφαμεθοξαζόλη, μακρολίδες (κυρίως αζιθρομυκίνη και κλαριθρομυκίνη).

Η θεραπεία είναι συνήθως από τους στόματος σε μεγαλύτερες δοσολογίες λόγω της ιδιαίτερης φαρμακοκινητικής στους ασθενείς αυτούς. Όταν πρόκειται για σοβαρή λοίμωξη, δυνατόν να χρειασθεί και ενδοφλέβια αγωγή. Η θεραπεία χορηγείται για 15-30 ημέρες.

Μετά τον αποικισμό με ψευδομονάδα απαιτείται θεραπεία με αντιψευδομοναδικά αντιβιοτικά^{84,85}.

Οπωσδήποτε χορηγείται ενδοφλεβίως θεραπεία, όταν πρωτοεμφανισθεί η ψευδομονάδα, με στόχο την κατά το δυνατόν επί μακρότερον εκρίζωσή της από τα πτύελα των ασθενών.

Επίσης χορηγείται θεραπεία κατά τη διάρκεια των παροξύνσεων (η παρόξυνση χαρακτηρίζεται τουλάχιστον από 5 σημεία, όπως προαναφέρθηκαν.

Όσον αφορά στην προληπτική χορήγηση ενδοφλέβιας θεραπείας υπάρχουν σχολές που συνιστούν την προληπτική χορήγηση ανά 3μηνο ή 4μηνο ενδοφλέβιας αγωγής, ενώ άλλες συνιστούν χορήγηση αντιβιοτικών μόνο επί παροξύνσεων. Τα τελευταία έτη προτιμάται από τους περισσότερους τακτική χορήγηση ενδοφλέβιας αγωγής (ανά 3μηνο ή 4μηνο).

Η επιλογή των αντιβιοτικών γίνεται με βάση το αντιβιογράμμα. Προηγείται ταυτοποίηση και ποσοτικός προσδιορισμός του μικροβίου. Μικροβιακός πληθυσμός $>10^6$ cfu/ml είναι ένδειξη λοίμωξης.

Απαιτείται συνδυασμός δύο αντιψευδομοναδικών αντιβιοτικών σε υψηλές δόσεις λόγω της ιδιαίτερης φαρμακοκινητικής (αύξηση του χρόνου ημιζωής, του όγκου κατανομής και της νεφρικής κάθαρσης^{66,67}).

Η διάρκεια χορήγησης είναι 15-21 ημέρες. Ο γενικός κανόνας της αντιψευδομοναδικής αγωγής περιλαμβάνει το συνδυασμό ενός β-λακταμικού αντιβιοτικού και μιας αμινογλυκοσίδης. Ο στόχος της αντιμικροβιακής αγωγής είναι να επαναφέρει τον ασθενή στην προ της παρόξυνσης κατάσταση όσον αφορά την κλινική εικόνα και την πνευμονική λειτουργία. Γενικά ασθενείς με σοβαρότερη παρόξυνση ή βαρύτερη βασική νόσο, έχουν ανάγκη μακρότερης διάρκειας θεραπείας.

Από τα αντιψευδομοναδικά φάρμακα το μεγαλύτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η κεφταζιδίμη, η οποία μετά 10 χρόνια χορήγησης εμφανίζει τη μικρότερη ανάπτυξη ανθεκτικότητας.

Από τις αμινογλυκοσίδες η τομπραμυκίνη φαίνεται

να επιτυγχάνει καλύτερες συγκεντρώσεις στις βρογχικές εκκρίσεις. Οι φλουοροκινολόνες μπορούν να χορηγηθούν από το στόμα σαν εναλλακτική λύση στα ενδοφλέβια σχήματα. Συνήθως χορηγούνται σε συνδυασμό με ένα εισπνεόμενο αντιβιοτικό είτε αμινογλυκοσίδα, είτε κολιμυσίνη. Όταν απαιτείται συχνή χορήγηση φλουοροκινολόνης, είναι πολύ πιθανή η ανάγκη ενδοφλέβιας αγωγής.

Όσον αφορά στην *Burkholderia cenocepacia* και στην *Xanthomonas maltophilia*, είναι στελέχη τα οποία δεν συναντώνται συχνά, ειδικά η πρώτη, αλλά πρόκειται για πολυανθεκτικά στελέχη των οποίων η αντιμετώπιση ενέχει ιδιαίτερες δυσκολίες. Αντιβιοτικά όπως η τριμεθοπρίμη, η πιπερακιλλίνη, η κεφταζιδίμη, η μεροπενέμη φαίνεται να είναι δραστικές *in vitro* εναντίον αυτών των στελεχών.

Τα αντιβιοτικά υπό μορφή εισπνοής χρησιμοποιούνται τα τελευταία χρόνια κυρίως στα μεσοδιαστήματα των ενδοφλεβίων σχημάτων. Παραρροσιάζουν ενδιαφέρον λόγω του ότι επιτυγχάνουν καλές συγκεντρώσεις στις βρογχικές εκκρίσεις με ελάχιστες παρενέργειες. Μειονέκτημα των εισπνεόμενων αμινογλυκοσιδών είναι η ανάπτυξη ανθεκτικότητας. Συνήθως η ευαισθησία επανέρχεται μετά τη διακοπή του φαρμάκου.

Χορηγούνται 1-2 φορές την ημέρα μετά από φυσιοθεραπεία. Από διαιτίας χρησιμοποιείται η νέα μορφή εισπνεόμενης τομπραμυκίνης 300mg δις ημερησίως σε εναλλασσόμενα σχήματα των 28 ημερών. Ο ασθενής λαμβάνει 28 ημέρες το φάρμακο και 28 ημέρες είναι εκτός αγωγής. Η εισπνεόμενη τομπραμυκίνη μειώ-

Αντιψευδομοναδικά αντιβιοτικά

ΑΜΙΝΟΓΛΥΚΟΣΙΔΕΣ

Γενταμυκίνη

Τομπραμυκίνη

Αμικασίνη

ΚΕΦΑΛΟΣΠΟΡΙΝΕΣ 3ης ΓΕΝΙΑΣ

Κεφταζιδίμη

Κεφουλοδίμη

Κεφιπίμη

ΟΥΡΕΙΔΟΠΕΝΙΚΙΛΛΙΝΕΣ

Αζλοκιλλίνη

Πιπερακιλλίνη

Πιπερακιλλίνη-Ταζομπακτάμη

ΚΑΡΒΟΞΥΠΕΝΙΚΙΛΛΙΝΕΣ

Καρμπενικιλίνη

Τικαρσιλλίνη

Τικαρσιλλίνη-κλαβουλανικό οξύ

ΚΙΝΟΛΟΝΕΣ

Πεφλοξασίνη

Οφλαξασίνη

Σιπροφλοξασίνη

ΑΛΛΑ

Αζτρεονάμη

Φωσφομυκίνη

Ιμιπενέμη

15mg/kg/ημ. IV εφ' άπαξ ή σε 3 δόσεις

15mg/kg/ημ. IV εφ' άπαξ ή σε 3 δόσεις

100mg/kg/ημ. IV εφ' άπαξ ή σε 3 δόσεις

100-200mg/kg σε 2 ή 3 δόσεις

100-200mg/kg σε 2 ή 3 δόσεις

100-150mg/kg σε 2 ή 3 δόσεις

300mg/kg σε 2 ή 3 δόσεις

300mg/kg σε 2 ή 3 δόσεις

300mg/kg σε 2 ή 3 δόσεις

300-600mg/kg σε 2 ή 3 δόσεις

300-600mg/kg σε 2 ή 3 δόσεις

300-600mg/kg σε 2 ή 3 δόσεις

20mg/kg per os ή IV σε 2 δόσεις

20mg/kg per os ή IV σε 2 δόσεις

20mg/kg per os ή IV σε 2 δόσεις

150-250mg/kg IV σε 3 δόσεις

200-300mg/kg IV σε 3 δόσεις

1-2gr IV σε 3-4 δόσεις

νει το μικροβιακό φορτίο, την ανάγκη για ενδοφλέβια αγωγή και βελτιώνει την αναπνευστική λειτουργία⁸⁸⁻⁹¹.

ΦΥΣΙΚΟΘΕΡΑΠΕΙΑ⁹²

Υποβοηθητική αλλά εξ ίσου σημαντική γιά την αντιμετώπιση των λοιμώξεων στην κυστική ίνωση είναι η φυσιοθεραπεία.

Η φυσιοθεραπεία θα πρέπει να επιφέρει αποτελέσματα σε σχέση με όλο το φάσμα των πνευμονικών βλαβών (βρογχεκτασίες, διάχυτο εμφύσημα, απόφραξη των αεραγωγών, διάταση του θώρακος, δυστροφία των θωρακικών μυών).

Ο κύριος στόχος της είναι η βρογχική παροχέτευση. Πρέπει να αρχίζει αμέσως μόλις τεθεί η διάγνωση, οπότε οι βλάβες δεν έχουν προχωρήσει.

Χωρίς να έχουν πλήρως εγκαταλειφθεί οι παλαιές τεχνικές, όπως οι θέσεις παροχέτευσης (postural drainage) και οι πλήξεις (clapping), έχουν περάσει σε δεύτερη μοίρα στις περισσότερες χώρες. Η παροχέτευση θέσης είναι πολύ παλιά τεχνική. Εισήχθη το 1901 από τον Ewan και βελτιώθηκε το 1938 από τον Anderson. Σήμερα είναι γνωστό ότι μπορεί να προκαλέσει διαταραχές των αερίων αίματος και θα πρέπει να γίνεται με ταυτόχρονη οξυμετρία.

Οι πλήξεις επίσης αυξάνουν τον κίνδυνο των αιμοπτύσεων και του πνευμοθώρακα, δεδομένου ότι για να είναι αποτελεσματικές θα πρέπει να είναι αρκετά έντονες.

Οι τεχνικές που προτιμώνται σήμερα είναι εκείνη του ενεργητικού κύκλου των αναπνοών (active cycle of breathing techniques) η οποία ξεκίνησε στη Μ. Βρετανία από τον Thomson⁹³ και συνεχίζεται με την Pryor⁹⁴ και η αυτοπαροχέτευση (autogenic drainage) που ξεκίνησε στο Βέλγιο και σήμερα εφαρμόζεται σε αρκετά κέντρα κυστικής ίνωσης στην Ευρώπη.

ΑΝΑΣΥΝΔΥΑΣΜΕΝΗ ΑΝΘΡΩΠΕΙΟΣ ΔΕΞΟΞΥΡΙΒΟΝΟΥΚΛΕΑΣΗ

(rh-DNase)⁹⁵⁻⁹⁸

Η συγκέντρωση του DNA των πτυέλων στους ασθενείς με κυστική ίνωση είναι αυξημένη σε επίπεδα της τάξης των 3-12mg/ml, προκαλώντας μεγάλη αύξηση του ιξώδους.

Η rh-DNase in vitro προκαλεί θεαματική πτώση του ιξώδους της βρογχικής βλέννης από 732 cp σε 188cp.

Η χορήγηση 2.5mg rh-DNase την ημέρα με την μορφή εισπνοής βελτιώνει τον FEV₁ κατά 5.8% και μειώνει την επίπτωση των αναπνευστικών λοιμώξεων που χρειάζονται παρεντερική θεραπεία κατά 22%.

Συμπληρωματικές μελέτες έδειξαν: αύξηση του βάρους των ασθενών, μείωση του βασικού μεταβολισμού

μετρούμενη με έμμεση θερμοδομετρία μείωση του αποικισμού με *Pseudomonas aeruginosa* και *Staphylococcus aureus*, μείωση της ελαστάσης της βρογχικής βλέννης. Οι ανεπιθύμητες ενέργειες είναι ήπιες φαρυγγίτιδες και λαρυγγίτιδες. Οι πρώτες μελέτες εφαρμόστηκαν σε ασθενείς με FVC>40%.

Πρόσφατα ξεκίνησαν μελέτες σε ασθενείς με FVC<40%, όπου φαίνεται ότι η βελτίωση εμφανίζεται αργότερα σε σχέση με τους ασθενείς με FVC>40%. Η εισπνοή rhDNase προτιμάται να γίνεται το πρωί 30 - 40 λεπτά πριν τη φυσιοθεραπεία.

Η χορήγηση της μόνο στα πλαίσια των περιόδων έξαρσης δεν επιτρέπει την σημαντική βελτίωση των ασθενών. Μετά τη διακοπή της rhDNase ο ασθενής επανέρχεται στην αρχική κατάσταση.

ΝΕΩΤΕΡΕΣ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ

Οι νεώτερες φαρμακευτικές προσεγγίσεις αφορούν αφ' ενός μεν στο επίπεδο μεταφοράς ιόντων, αφ' ετέρου δε στο επίπεδο του αυξημένου ελεύθερου DNA και των φλεγμονωδών παραγόντων (ελαστάσης, λευκοτριενών, ελευθέρων ριζών)^{99,100}.

Ρύθμιση ηλεκτρολυτικών διαταραχών

Μία φαρμακολογική θεραπεία ειδική της κυστικής ίνωσης αποβλέπει στη διόρθωση των ιοντικών διαταραχών αυξάνοντας την έκκριση του κλωρίου και μειώνοντας την επανορρόφηση του νατρίου. Η χρήση της αμιλοριδης και των τριφωσφορικών νουκλεοτιδίων ATP και UTP ανοίγει νέες ελπίδες προς την κατεύθυνση αυτή¹⁰¹. Πρόσφατα οι Knowels και συν.¹⁰² δημοσίευσαν τα αποτελέσματα μιά κλινικής μελέτης που έγινε με χορήγηση UTP σε εισπνοές σε συγκέντρωση 10mm σε 12 υγιείς και 14 ασθενείς με κυστική ίνωση. Η μελέτη έδειξε αύξηση της βλενοκροσσωτής κάθαρσης στους υγιείς περίπου 3 φορές, πράγμα που διαπιστώνεται με την χορήγηση σεσημασμένου μονοξειδίου του σιδήρου. Στους ασθενείς η συγχορήγηση με την αμιλοριδή βελτιώνει την κάθαρση των μικρών αεραγωγών και προκαλεί αύξηση της συχνότητας των κινήσεων των κροσσών.

ΑΝΤΙΦΛΕΓΜΟΝΩΔΗ

Στεροειδή

Πρόσφατες μελέτες με χορήγηση πρεδνιζολόνης από το στόμα απέδειξαν βελτίωση της αναπνευστικής λειτουργίας, μείωση των εισαγωγών στο νοσοκομείο. Φαίνεται, ότι η δράση των κορτικοειδών συνδέεται με τη μείωση των υποδοχέων της IL_{1α} και IL₂ και της σύνθεσης της IgG, πράγμα που έχει σαν συνέπεια τη μικρότερη συγκέντρωση ουδετεροφίλων και μικρότερη ιστική βλάβη.

Ελάχιστα δεδομένα υπάρχουν με την χρήση εισπνεόμενων κορτικοειδών στην κυστική ίνωση.

Λόγω όμως των γνωστών παρενεργειών των κορτικοειδών και κυρίως της καθυστέρησης στην ανάπτυξη που προκαλούν, η βέβαιη χρήση τους συνδέεται με την αλλεργική βρογχοπνευμονική ασπεργίλλωση που ως γνωστό συνοδεύει σε ποσοστό περίπου 20% ασθενείς με κυστική ίνωση.

Μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη

Τα μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη έχουν επίσης μελετηθεί στην κυστική ίνωση. Χορήγηση Ibuprofen σε δόσεις >35 mg/ml προκαλεί αναστολή της μετανάστευσης των ουδετεροφίλων.

Γονιδιακή θεραπεία και θεραπεία με πρωτεΐνη

Η ταυτοποίηση και η κλωνοποίηση του γονιδίου της κυστικής ίνωσης άνοιξε το δρόμο για τη γονιδιακή θεραπεία ή τη θεραπεία με πρωτεΐνη¹⁰³. Η ιδέα είναι απλή: πρόκειται για τη χορήγηση του γονιδίου ή της πρωτεΐνης σαν να ήταν φάρμακα. Θεωρητικά αυτό θα μπορούσε να αποκαταστήσει τη φυσιολογική λειτουργία των επιθηλιακών κυττάρων και να προλάβει ή να θεραπεύσει τη νόσο. Τα πρώιμα αποτελέσματα ήσαν ενθαρρυντικά αλλά η χορήγηση του γονιδίου *in vivo* ήταν πολύ πιο δύσκολη. Το πιθανώτερο είναι ότι τα τεχνικά προβλήματα θα ξεπεραστούν αλλά είναι άγνωστο πόσο χρόνο θα διαρκέσει αυτή η διαδικασία.

Θεραπεία με πρωτεΐνη

Φυσιολογική ανθρωπείος πρωτεΐνη μπορεί να παρασκευασθεί με ανασυνδυασμένη τεχνολογία πρωτεΐνης με πολύ υψηλό κόστος και περιορισμένη φυσικά εφαρμογή. Η φυσιολογική πρωτεΐνη μπορεί να αποκαταστήσει την κίνηση των ιόντων μέσω των επιθηλιακών κυττάρων και παρόμοια δράση έχει σε ποντίκια *in vivo*¹⁰⁴. Εν τούτοις η απομάκρυνση της πρωτεΐνης CFTR είναι ταχύτερη και έτσι ο χρόνος ημίσειας ζωής της τοπικά απελευθερούμενης πρωτεΐνης είναι πολύ πιθανόν πολύ μικρός. Έτσι μόνον ένα πολύ μικρό μέρος της πρωτεΐνης ενσωματώνεται στο κύτταρο. Αν λοιπόν δεν λυθούν τα προβλήματα του υψηλού κόστους και της αποτελεσματικότητας είναι αμφίβολο αν θα προχωρήσουν σε κλινικές μελέτες.

Γονιδιακή θεραπεία

Προκειμένου για ασφαλή και αποτελεσματική θεραπεία πρέπει να υπάρχουν οι εξής τρεις προϋποθέσεις: η μεγαλύτερη δυνατή βελτίωση του θεραπευτικού γονιδίου, αποτελεσματική μεταφορά του γονιδίου *in vivo* και σωστή στόχευση των υπό διόρθωση κυττάρων. Το ιδανικό θα ήταν να μεταφέρει κανείς το σωστό γονίδιο με τα ρυθμιστικά του στοιχεία στη σωστή θέση του χρωμοσώματος 7 και το γονίδιο να λειτουργεί σωστά ως τον θάνατο του κυττάρου. Τα υπάρχοντα γονίδια δυστυχώς δεν λειτουργούν έτσι.

Η συνήθης πρακτική είναι η χρησιμοποίηση της κωδικοποιητικής περιοχής του γονιδίου η οποία συνήθως μεταφέρεται με ιό. Έτσι το γονίδιο είναι μικρότερο και

ευκολότερο να χρησιμοποιηθεί, αλλά η μεταγραφή του είναι παροδική, ή διότι εξασθενεί ο ιός φορέας, είτε διότι αποδομείται το πλασμίδιο είτε τέλος καταστρέφεται το κύτταρο.

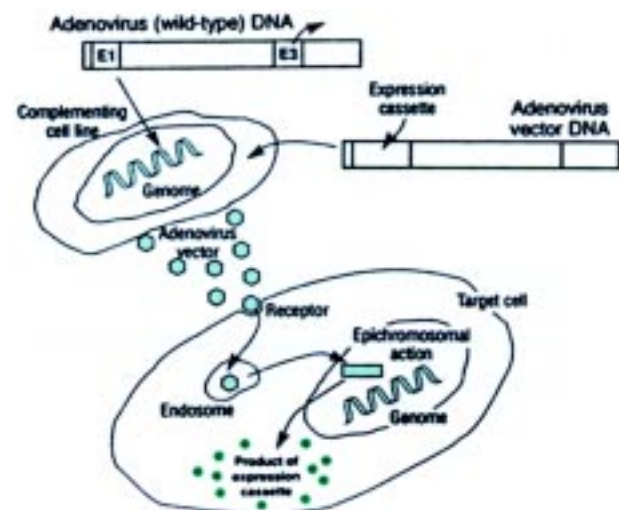
Άλλο πρόβλημα είναι η παρασκευή του γονιδίου από βακτηρίδια, δεδομένου ότι αυτά περιέχουν γονίδια ανθεκτικά στα αντιβιοτικά τα οποία ενσωματώνονται για να επιτρέψουν την επιλογή των βακτηριδίων στην καλλιέργεια. Ακόμη το DNA των βακτηριδίων μπορεί να προκαλέσει φλεγμονή στον άνθρωπο.

Αποτελεσματική μεταφορά του γονιδίου

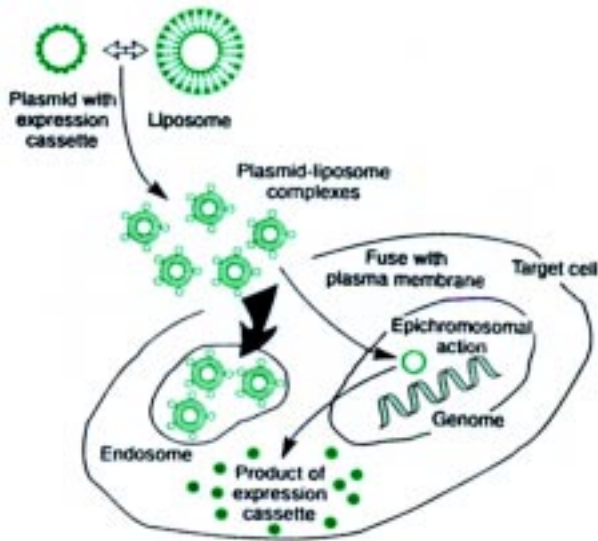
Δύο είναι οι κύριοι τρόποι για τη μεταφορά του γονιδίου (Σχήμα 5,6): μέσω ιού¹⁰⁵ και μη. Ως ιοί έχουν χρησιμοποιηθεί αδενοϊοί, ρετροϊοί, συνδεδεμένοι με αδενοϊοί ιοί και κάποιοι ακόμη ενώ η μη μική μεταφορά περιλαμβάνει τα λιποσώματα με ή χωρίς παράγοντες συμπύκνωσης DNA ή προσκολλημένα χημικά που σκοπό έχουν να συνδεθούν με τους υποδοχείς και να υποβοηθήσουν τη διαφυγή από τα ενδοσώματα. Ο κάθε τρόπος έχει πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα. Οι ιοί επιτυγχάνουν ικανοποιητική μεταφορά του γονιδίου αλλά προκαλούν φλεγμονή και ανοσολογική απάντηση. Έτσι οι ιοί είναι κυρίως αποτελεσματικοί *in vitro* παρά *in vivo*. Η σύγχρονη έρευνα στοχεύει στη διατήρηση των πλεονεκτημάτων των ιών και τη μείωση της φλεγμονώδους απάντησης. Αντίθετα τα λιποσώματα¹⁰⁶ είναι λιγότερο τοξικά αλλά και λιγότερο αποτελεσματικά. Ο στόχος είναι να τροποποιηθούν χημικά τα λιποσώματα ώστε να δεχθούν τα πλεονεκτικά μικά χαρακτηριστικά.

Κύτταρα στόχοι

Η γονιδιακή θεραπεία για την πνευμονική νόσο αυτή τη στιγμή κατευθύνεται στο αναπνευστικό επιθήλιο για



Σχήμα 5. Σχηματική απεικόνιση του αδενοϊκού και της μεταφοράς του γονιδίου



Σχήμα 6. Σχηματική απεικόνιση του λιποσώματος και της μεταφοράς του γονιδίου

τρεις κυρίως λόγους: πρώτον η CFTR υπάρχει στην κορυφαία μεμβράνη των επιθηλιακών κυττάρων, δεύτερον ένας αριθμός δυσλειτουργιών του επιθηλιακού κυττάρου συνδέεται με τη νόσο και τρίτον το επιθηλιακό κύτταρο είναι προσβάσιμο¹⁰⁷. Δεδομένου όμως ότι η CFTR εκφράζεται και στους υποβλεννογόνιους αδένες των αεραγωγών και η πλειονότητα της βλέννης παράγεται από τους υποβλεννογόνιους αδένες, είναι πολύ πιθανόν εναλλακτικό γονίδιο να χρειάζεται να στοχεύσει τους υποβλεννογόνιους αδένες.

Άλλες θέσεις του σώματος, όπως οι ιδρωτοποιοί αδένες και το πάγκρεας θα μπορούσαν ενδεχομένως να αποτελέσουν στόχο της γονιδιακής θεραπείας αλλά η πρόσβαση τους είναι δυσκολότερη και εξ άλλου η κύρια εντόπιση αφορά στο αναπνευστικό.

Πρόοδος στη γονιδιακή θεραπεία

Στο εργαστήριο οι εξελίξεις ήταν ταχείες αλλά υπήρξαν σημαντικές δυσκολίες στην κλινική πράξη.

Εργαστηριακές μελέτες

Η διόρθωση των επιθηλιακών κυττάρων της κυστικής ίνωσης μπορεί να γίνει μέσω της μεταφοράς του γονιδίου με ιούς ή λιποσώματα¹⁰⁸. In vivo τα αποτελέσματα ποικίλλουν σημαντικά. Η μεταφορά του γονιδίου σε μικρά ζώα, όπως οι ποντικοί για την περίπτωση της μεταφοράς με ιούς συνοδεύτηκε από φλεγμονώδη απάντηση, πράγμα που δεν συνέβη με τα λιποσώματα. Η έκφραση του γονιδίου in vivo είναι παροδική και διαρκεί μόνον μία εβδομάδα ανεξάρτητα του οχήματος μεταφοράς. Παρ' όλα αυτά η βελτίωση της απελευθέρωσης των νέων γονιδιακών συστημάτων φαίνεται ότι θα επιλύσει αυτά τα προβλήματα.

Κλινικές μελέτες

Ηδη έχει δημοσιευθεί ένας σημαντικός αριθμός κλινικών μελετών με εθελοντές στους οποίους έγινε μεταφορά μέσω αδενοϊού CFTR cDNA¹⁰⁹. Κάποιες πρώιμες μελέτες ανέφεραν οξεία φλεγμονώδη αντίδραση, πιθανότατα οφειλόμενη σε υψηλό ιικό φορτίο. Μόνον μία διπλή τυφλή μελέτη έδειξε περιορισμένη μεταφορά του γονιδίου αλλά δεν υπήρχαν ενδείξεις λειτουργικής διορθώσεως.

Έχουν δημοσιευθεί δύο κλινικές μελέτες όπου έχουν χρησιμοποιήσει συνδεδεμένους με αδενοϊό ιούς. Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές παρενέργειες και υπήρξε κάποια ένδειξη διόρθωσης της μεταφοράς του κλωρίου^{106,107}.

Επίσης έχουν δημοσιευθεί τουλάχιστον οκτώ μελέτες όπου έχουν χρησιμοποιηθεί συμπλέγματα λιποσωμάτων. Το γονίδιο μεταφέρθηκε στη μύτη και στους πνεύμονες. Μερική αλλά σημαντική διόρθωση της μεταφοράς του κλωρίου παρατηρήθηκε και στις δύο θέσεις. Η χορήγηση του συμπλέγματος του λιποσώματος στους πνεύμονες συνοδεύτηκε με παροδική υπερπυρεξία που πιθανόν να οφειλόταν στη βακτηριακή προέλευση του DNA. Καμία από τις μελέτες δεν έδειξε διόρθωση της μεταφοράς του νατρίου και το ειδικό του μεταφορέα mRNA είχε παροδική έκφραση¹⁰⁴.

Μελλοντικές κατευθύνσεις

Παρά το γεγονός ότι έχει γίνει πολύ σημαντική έρευνα όσον αφορά στις τεχνικές μεταφοράς του γονιδίου και στη διόρθωση του παθολογικού διαύλου ιόντων κλωρίου in vitro είμαστε ακόμη στην αρχή. Σημαντικός αριθμός από ερωτήσεις κλειδιά έχουν ανακύψει.

Πόσο συχνά χρειάζεται η μεταφορά του γονιδίου;

Σημαντικός αριθμός παρατηρήσεων έδειξαν ότι χαμηλά επίπεδα έκφρασης της CFTR είναι επαρκή προκειμένου να υπάρξει κλινική βελτίωση. Ακόμη το γεγονός ότι οι ετεροζυγώτες οι οποίοι έχουν το 50% της CFTR που έχουν οι υγιείς, συμπεριφέρονται σαν υγιείς δείχνει ότι δεν απαιτείται διόρθωση του συνολικού αριθμού των επιθηλιακών κυττάρων. Εξ άλλου μελέτες in vitro όπου αναμείχθηκαν επιθηλιακά κύτταρα κυστικής ίνωσης με φυσιολογικά έδειξαν ότι το 6-10% των κυττάρων αρκεί για την ικανοποιητική απέκκριση του κλωρίου ενώ χρειάζεται 50% φυσιολογικά λειτουργούντων κυττάρων για τη φυσιολογική επαναρρόφηση του νατρίου. Εάν λοιπόν απαιτείτο μόνον η φυσιολογική απεκρίση κλωρίου, τότε η επιτυχία θα ήταν εξασφαλισμένη.

Πόσο συχνά;

Η μόνιμη διόρθωση των κυττάρων στόχων είναι ανέφικτη και έτσι θα πρέπει να επαναλαμβάνεται η θεραπεία εβδομαδιαίως ή μηνιαίως.

Ανοσολογική απάντηση

Η επαναλαμβανόμενη χορήγηση του ιού-μεταφο-

ρέως προκαλεί την ανοσολογική απάντηση του ξενιστή. Αυτό μπορεί να προκαλέσει φλεγμονή και να βλάψει τη μεταφορά του γονιδίου σε επαναλαμβανόμενη χορήγηση. Πιθανόν η χρήση αντι-Τ- κυττάρων μονοκλωνικών αντισωμάτων να αναστείλει εκλεκτικά την ανοσολογική απάντηση¹¹⁰.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Rommens, J.M., Iannuzzi, M.C., Kerem, B.S. et al. (1989) Identification of the cystic fibrosis gene: chromosome walking and jumping. *Science*, 245, 1059-1065.
- Riordan, J.R., Rommens, J.M., Kerem, B.S. et al. (1989) Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterisation of complementary DNA. *Science*, 245, 1066-1073.
- Gregory, R.G., Cheng, S.H., Rich, D.P. et al. Expression and characterisation of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator. *Nature* 1990, 347: 382-386.
- Schwiebert, E.M., Egan, M.E., Hwang, T. et al.: CFTR regulates outwardly rectifying chloride channels through an autocrine mechanism involving ATP. *Cell* 81: 1-20, 1995.
- Stutts, M.J., Canessa, C.M., Olsen, J.C., et al: CFTR as a cAMP-dependent regulator of sodium channels. *Science* 269: 847-850, 1995.
- Riordan, J.R., Rommens, J.M., Kerem, B.S. et al. (1989) Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterisation of complementary DNA. *Science*, 245, 1066-1073.
- Cystic Fibrosis Geneetic Analysis Consortium (1990) Worldwide survey of the ΔF508 mutation: report from the cystic fibrosis genetic analysis consortium. *Am.J.Hum.Genet.*, 47, 354-359.
- Estivill, X., Baucells, C. and Ramos, C. (1997) Geographic distribution and regional origin of 272 cystic fibrosis mutations in European populations. *The Biomed CF Mutation Analysis Consortium. Human Mutat.*, 10, (2), 135-154.
- Stanley, B.Fiel. *Clinics in Chest Medicine. Cystic fibrosis-Different types of dysfunction caused by mutations.* Sep.1998, 19:3, 448-450.
- Kerem, E., Corey, M., Kerem, B.S., Rommens, J.M., Marckiewicz, D., Levison, H., Tsui, L.C. and Durie, P. (1990) The relation between genotype and phenotype in cystic fibrosis-Analysis of the most common mutation (ΔF508) *New Engl.J.Med.*, 323: 1517-1522.
- Colin, A.A., Sawyer, S.M., Mickle, J., Oates, R.D., Milunsky, A. and Amos, J. (1996) Pulmonary function and clinical observations in men with congenital bilateral absence of the vas deferens. *Chest*, 110, 440-445.
- Anguiano, A., Oates, R.D., Amos, J.A. et al. Congenital bilateral absence of the vas deferens: a primarily genital form of cystic fibrosis. *JAMA* 1992, 267: 1794-1797.
- Hollings AE, Granstrom M, Vasil ML, Wretling B, Standvik B. Prospective study of serum antibodies to *Pseudomonas aeruginosa* exoproteins in cystic fibrosis. *J Clin Microbiol* 1976;25: 1868-1874.
- Govan JRW, Nelson JW. Microbiology of cystic fibrosis lung infections: themes and issues. *J Roy Soc Med* 1993, 86 (suppl 20):11-18.
- Holby N, Koch C. *Pseudomonas aeruginosa* infection in cystic fibrosis and its management. *Thorax* 1990, 45:881-884.
- Baker NR, Svanborg-Eden C. Role of alginate in the adherence of *p. aeruginosa*. *Antibiot Chemother* 1989;42:72-9
- Elborn JS, Shale DJ. Lung injury in cystic fibrosis. *Thorax* 1990, 45:970-973.
- Thomassen MJ, Demko LA, Doershul CF et al. *Pseudomonas Cepacia*: decrease in colonization in patients with cystic fibrosis. *Am Rev Respir Dis* 1986, 134:669-674.
- N. HZiby. Microbiology of cystic fibrosis. In: *Cystic Fibrosis*. Hodson ME, Geddes DM. (eds) Chapman & Hall 1995.
- Hamosh A, Corey M, for The Cystic Fibrosis Genotype-Phenotype Consortium. Correlation between genotype and phenotype in patients with cystic fibrosis. *N Engl J med* 1993;329:1308-1313.
- Lester LA, Kraut J, Lloyd-Still J, et al.ΔF508 Genotype does not predict disease severity in an ethnically diverse cystic fibrosis population. *Pediatrics* 1994; 93:114-118.
- Webster HL, Barlow WK. New approach to cystic fibrosis diagnosis by use of an improved sweat induction/collection systems and osmometry. *Clin Chem* 1981; 27:385-387
- Hodson JM, Beldon I, Power R, Duncan FR, Bamber M, Batten JC. Sweat test to diagnose cystic fibrosis in adults. *BMJ* 1983;286:1381-1383
- Yeung WM, Palmer J, Schidlow D, Bye MR, Huang NN. Evaluation of a paper-patch test for sweat chloride determination. *Clin Pediatr* 1984;23:603-607
- Davis PB, Del Rio S, Muntz JA, Dieckman L. Sweat chloride concentration in adults with pulmonary disease. *Am Rev Respir Dis* 1983;128:34-37
- Rosenstein BJ, Langbaum TS, Gordes E, Brusilow SW. Cystic fibrosis: problems encountered with sweat testing. *JAMA* 1978;240:1987-1988
- Knowels M, Gatz J, Boucher R. Increased bioelectric potential difference across respiratory epithelia in cystic fibrosis. *N Engl J Med*, 1981, 305:1489-1495.
- NIH statement. Statement from the National Institutes of Health Workshop on population screening for the cystic fibrosis gene. *N Eng J Med* 1990;323:70-71
- Dicke JM, Crane JP. Sonographically detected hyperechoic fetal bowel: significance and implications for pregnancy management. *Obstet Gynecol* 1992;80:778-782
- Penketh, A.R., Wise, A., Mearns, M.B., Hodson, M.E. and Batten, J.C. (1987) Cystic fibrosis in adolescents and adults. *Thorax*, 42, (7), 526-532.
- Allan, J.L., Robbie, M., Phelan, P.D. and Dorks, D.M. (1980) The incidence and presentation of cystic fibrosis in Victoria 1955-1978. *Austr.Paediatr.J.* 6, 270-273.
- FitzSimmons, S. (1996) Cystic Fibrosis Foundation patient Registry. Annual Data Report.
- Waring, W.W., Wilkinson, R.W., Wiebe, R.A. et al. (1971) Quantitation of digital clubbing children. Measurements of casts of the shadowgraph. *Am.Rev.Resp.Dis.* 104, 166-174.
- Chernick, V. and Kendig, E. (eds) (1998) Disorders of the respiratory tract, (6th edn), W.B. Saunders, Philadelphia.
- Hodson M.E., Geddes D.M. Cystic fibrosis. *Respiratory system-Adults*, 218-232
- Cystic Fibrosis Foundation (1994) Consensus Conferences-Concepts in Care, Vol. V, Section 1, Cystic Fibrosis Founda-

- tion, Bethesda, Maryland.
37. Kerem, E., Reisman, ., Corey, M. et al. (1992) Prediction of mortality in pateients with cystic fibrosis. *NEJM*, 326, 1187-1191.
 38. Rosenfeld, M., Davis, R., Fitzsimmons, S., Pepe, M. and Ramsey, B. (1997) The gender gap in cystic fibrosis mortality. *Am. J. Epidemiol.*, 145, 794-803.
 39. Borgo, G., Mastella, G., Gasparini, P., Zorzanella, A., Doro, R. and Pignatti, P.F. (1990). Pancreatic function and gen deletion F508 in cystic fibrosis. *J.Med.Genet.*, 27:665-669.
 40. Kerem, E., Corey, M., Kerem, B.S., Romens, J., Marckiewicz, D., Levison, H., Tsui, L.C. and Durie, P. (1990). The relation between genotype and phenotype in cystic fibrosis-Analysis of the most common mutation ($\Delta F507$). *New Engl.J.Med.*, 323:1517-1522.
 41. Lanng, S., Thorsteinsson, B., Lund-Andersen, C., Nerup, J., Schiøtz, P.O., and Koch, C. (1994) Diabetes Mellitus in Danish cystic fibrosis patients: prevalence and late diabetic complications. *Acta Paediatr.* 83, 72-77.
 42. Lanng, S., Hansen, A. Thorsteinsson, B., Nerup, J. and Koch, C. (1995) Glucose tolerance in patients with cystic fibrosis: a five year prospective study. *BMJ*, 311, 655-658.
 43. WHO Study Group (1985) Diabetes Mellitus. WHO Techn.Rep.Ser., 727, 1-113.
 44. Park, R.W. and Grand, R.J. (1981) Gastrointestinal manifestation in cystic fibrosis: a review. *Gastroenterology*, 81, 1143-1161.
 45. Irish, M.S., Ragi, J.M., Karamanoukian, H., Borowitz, D.S., Schimidt, D. and Glick, P.L. (1997) Prenatal diagnosis of the fetus with cystic fibrosis and meconium ileus. *Paediatr.Surg.Int.*, 12, (5-6), 434-436.
 46. Agrons, G.A., Corse, W.R., Markowitz, R.I., Suarez, E.S. and Perry, D.R. (1996) Gastrointestinal manifestations of cystic fibrosis: radiologic-pathologic corralation. *Pediatr.Radiol.*, 27, 523-527.
 47. Myrshed, R., Spitz, L., Kiely, E. and Drake, D. (1997) Meconium ileus: a ten year review of thirty-six patients. *Europ.J.Paediatr.Surg.*, 7, 275-277.
 48. Park, R.W. and Grand, R.J. (1981) Gastrointestinal manifestation in cystic fibrosis: a review. *Gastroenterology*, 81, 1143-1161.
 49. Rosenstein, B.J. and Langbaum, T.S. (1983) Incidence of distal intestinal obstructive syndrome in cystic fibrosis. *J.Pediatr.Gastroenterol.Nutr.*, 2, 299-301.
 50. Vic, P., Tassin, E., Turck, D., Goffrand, F., Vaunay, V. and Farioux, J.P. (1995) Frequence du reflux gastroesophagien chez le nurrison et les jeunes enfant atteints de mucoviscidose. *Arch.Pediatr.*, 2, 742-746.
 51. Hodson, M.E. and Geddes, D.M. Cystic Fibrosis. Gastrointestinal and Pancreatic disease in cystic fibrosis-rectal prolapse. 2nd edition, p.282.
 52. Stern, R. C., Stevens, D. P., Boat, T.F., Doershuck, C.F, Izant, R.J., Jr. and Matteus, L.W. (1976b). Symptomatic hepatic disease in cystic fibrosis: Incidence, course, and outcome of portal systemic shunting. *Gastroenterology*, 70: 645-649.
 53. Schwartz, H. P., Kraemer, R., Thurnheer, U. and Rossi, E. (1978). Liver involvement in cystic fibrosis. *Helv. Paediatr. Acta*, 33: 351-364.
 54. Psacharopoulos, H.T., Howard, E.R. Portman, B., Mowat, A.P. and Williams, R. (1981). Hepatic complications of cystic fibrosis. *Lancet*, 2: 78-80.
 55. O'Brien, S., Keogan, M., Caseu, M. et al. (1992) Biliary complications of cystic fibrosis. *Gut*, 33, 387-391.
 56. Cohn, J.A., Strong, T.V., Piccioto, M.R., Nairn, A.C., Collins, F.S. and Fitz, J.G. (1993) Localisation of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator in human bile duct epithelial cells. *Gastroenterology*, 105, 1857-1864.
 57. Robb, T.A., Davidson, G.P. and Kirubakaraan, C. (1985) Conjugate bile acids in scrum and secretions in response to cholecystokinin secretin stimulation in children with cystic fibrosis. *Gut*, 26, 1246-1256.
 58. Schwahman, H., Kulczucki, L.L., Mueller, H.L. and Flake, C.G. (1962) Nasal polyposis in patients with cystic fibrosis. *Pediatrics*. 30, 389-401.
 59. Triglia, J.M. and Nicollas, R. (1997) Nasal and sinus polyposis in children. *Laryngoscope*, 107, 963-966.
 60. Jaffe, B.F., Strome, M., Khaw, K.T. and Sxchwahman, H. (1997). Nasal polypectomi and sinus surgery for cystic fibrosis-a 10 year review. *Otol.Clin.North Am.*, 10, 81-90.
 61. Gharib, R., Allen, R.P., Joos, H.A. and Bravo, L.R. (1964) Paranasal sinuses in cystic fibrosis. *Am.J.Dis.Child.*, 108, 499-502.
 62. Sawyer, S.M. (1994) Young people with cystic fibrosis: a re-evaluation of morbidity and outcome. Doctorate of medicine thesis, University of Melbourne.
 63. Landing, B.H., Wells, T.R. and Wang, C.I. (1969) Abnormality of epididymis and vas deferens in cystic fibrosis. *Arch.Pathol.*, 88, 569-580.
 64. Oppenheimer, E.H. and Esterley, J.R. (1969) Observations on cystic fibrosis of the pancreas V. Developmental changes in the male genital system. *J. Pediatr.* 75, 806-811.
 65. Kopito, L.E., Kosasky, H.J. and Schwachman, H. (1973) Water and electrolytes in cervical mucus from patients with cystic fibrosis. *Fertil.Steril.*, 24, 512-516.
 66. Cohen, L.F., di Sant 'Agnaise, P.A. and Friendlander, J. (1980) Cystic fibrosis and pregnancy. A national survey. *Lancet*, 2, 842-844.
 67. Canny, G.J., Corey, M., Livingstone, R.A. et al. (1991) Pregnancy and cystic fibrosis. *Obstret.Gynecol.*, 77, 850-853.
 68. Michel, S.H. and Mueller, D.H. (1994) Impact of lactation on women with cystic fibrosis and their infants: a review of five cases. *J.Am.Diet.Assoc.*, 95, 159-165.
 69. Johnson, S. and Knox, A.J. (1994) Arthropathy in cystic fibrosis. *Respir.Med.*, 88, 567-570.
 70. Schidlow, D.V., Goldsmith, D.P., Palmer, J. and Huang, N.N. (1984) Arthritis in cystic fibrosis. *Arch.Dis.Child.*, 59, 377-379.
 71. Fradin, M.S., Kalb, R.E. and Grossman, M.E. (1987) Reccurent cutaneous vasculitis in cystic fibrosis. *Pediatr.Dermatol.*, 4, 108-111.
 72. Gibbens, D.T., Gilsanz, V., Boechat, M.I., Duffer, D., Carlston, M.E. and Wang, C. (1988) Osteoporosis in cystic fibrosis. *J.Pediatr.*, 113, 295-300.
 73. Haworth, C.S., Selby, P.L., Webb, A.K. et al. (1999) Low bone mineral density in adults with cystic fibrosis. *Thorax*, 54, 961-967.
 74. De Luca, F., Trimarchi, F., Sferlazzas, C. et al. (1982) thyroid function in children with cystic fibrosis. *Eur. J. Pediatr.*, 138,

- 327-330.
75. Samuels, M.H., Thompson, N., Leichty, D. and Ridway, E.C. (1995) Amyloid goiter in cystic fibrosis. *Thyroid*, 5, 213-215.
76. Hanaoka, K., Devuyst, O., Schwiebert, E.M. et al. (1996) A role for CFTR in human autosomal dominant polycystic kidney disease. *Am.J.Physiol.*, 270, (Cell Physiol., 39), C389-C399.
77. Strandvik, B. and Hjelte, L. (1993) Nephrolithiasis in cystic fibrosis. *Acta Paediatr.*, 82, 306-307.
78. Schwahman, H. and Kulczycki, L.L. (1958) Long term study of 105 patients with cystic fibrosis: studies made over a 5-14 year period. *Am.J.Dis.Child.*, 96, (1), 6-15.
79. Spector, M.L. and Stern, R.C. (1989) Pneumothorax in cystic fibrosis; a 26 year experience. *Ann.Thorac.Surg.*, 47, (2), 204-207.
80. Wood, R.E. (1992) Haemoptysis in cystic fibrosis. *Pediatr.Pulmonol.suppl.*, 8, 82-84.
81. Nelson, L.A., Callerame, M.L. and Schwartz, R.H. (1979) Aspergillosis and atopy in cystic fibrosis. *Am.Rev.Respir.Dis.*, 120, (4), 863-873.
82. Brueton, M.J., Ormerod, L.P., Shah, K.I. and Anderson, C.M. (1980) Allergic bronchopulmonary aspergillosis complicating cystic fibrosis in childhood. *Arch.Dis.Child.*, 55, (5), 348-353.
83. Smith, M.J., Efthimiou, J., Hodson, M.E. and Batten, J.C. (1984) Mycobacterial isolations in young adults with cystic fibrosis. *Thorax*, 39, (5), 369-375.
84. Hjelte, K., Hoiby, N., Howitz, P. et al. (1994) The role of mycobacteria other than tuberculosis (MOTT) in patients with cystic fibrosis. *Scand.J.Infect.Dis.*, 26, 569-576.
85. Levy J. Antibiotic therapy in cystic fibrosis. *Chest* 1988 94;150-155s.
86. Kilbourn JP, Campbell RA, Crach JL, Willis MD. Quantitative bacteriology of sputum. *Am Rev Respir Dis* 1968;98:810-18.
87. Hoiby N, Koch C. *Pseudomonas aeruginosa* infection in cystic fibrosis and its management. *Thorax* 1990, 45:881-884.
88. Saiman L. New management approaches to *Pseudomonas aeruginosa* infections in cystic fibrosis. *New Insights into Cystic Fibrosis* 1994, 2: (2):6-8.
89. Sorgel F, Stephan U, Wiesemann HG. High dose treatment with antibiotics in cystic fibrosis. A reappraisal with special reference to the pharmacokinetics of betalactams and new fluoroquinolones in adults CF patients. *Infection* 1987, 15:385-396.
90. Spino M. Pharmacokinetics of drugs in cystic. *Clin Rev Allergy* 1991, 9:169-210.
91. Hodson ME. Antibiotic treatment - Aerosol therapy. *Chest* 1988, 94:1565-1615.
92. Ramsey B, Dorkin HL, Eisenberg JD et al. Efficacy of aerosolized tobramycin in patients with cystic fibrosis. *N Engl J Med* 1993, 1740-1746.
93. Weber A, Smith A, Williams-Warren J, et al. Nebulizer delivery of tobramycin to the lower respiratory tract. *Pediatr Pulmonol* 1994;17:331-339.
94. Barthe J, Delaunay JP, Dufour V, Silly C. Kinesitherapie Dans la mucoviscidose. *Cah Kinesither* 1993, 159:1, 37-48.
95. Thomson BJ. The physiotherapist's role in the rehabilitation of the asthmatic. *Nz J Physiotherapy*, 1973, 4:11-16.
96. Pryor JA, Webber BA, Hodson ME, Batten JC. Evaluation of the FET as an adjunct to postural drainage in treatment of cystic fibrosis. *Br Med J* 1979, 2:417-418.
97. Hodson ME. Aerosolized dornase alfa (rhDNase) for therapy of cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1995, 151:S70-S74.
98. Ramsey BW, Astley SJ, Aitken ML et al. Efficacy and safety of short-term administration of aerosolized recombinant human deoxyribonuclease in patients with cystic fibrosis. *Am Rev Respir Dis* 1993, 148:145-151.
99. Ranasinha C, Assoufi B, Shak S et al. Efficacy and safety of short-term administration of aerosolized recombinant human Dnase in adults with stable stage cystic fibrosis. *Lancet* 1993, 342:199-202.
100. Shak S, Capon DJ, Hellmiss R et al. Recombinant human Dnase reduces the viscosity of cystic fibrosis sputum. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990, 87:9188-9192.
101. Kerem, B.s., Rommens, J.M., Buchanan, J. A., et al. (1989) Identification of the cystic fibrosis gene: Genetic analysis *Science*.245, 1073-1080
102. Ramjeesingh, M., Huan, L-J., Li, C. et al.(1998) Assessment of the efficacy of in vivo CFTR protein replacement therapy in CF mice. *Hum. Gene Ther.*, 19, (4), 521-528
103. Haj-Ahmad, Y. and Graham, F.L.(1986) Development of a helper independent human adenovirus vector and its use in the transfer of the herpes virus thymidine kinase gene. *J. Virol.*, 57, (1), 267-274
104. Gao, X. and Huang, L. (1991) A novel cationic liposome for efficient transfection of mammalian cells. *Biochem. Biophysiol. Res. Comm.*, 179, 280-285
105. Englehardt, J.F., Zepeda, M., Cohn, J. A. et al(1994) Expression of the cystic fibrosis gene in adult human lung. *J. Clin. Invest.*,93, 737-749
106. Drumm, M.L., Popoe H.A., Cliff, W.H. et al (1990) Correction of the cystic fibrosis defect in vitro by retrovirus-mediated gene transfer. *Cell*, 62, 1227-1233
107. Crystal, R.G., McElvaney, N.G., Rosenfeld, M.A. et al (1994) Administration of an adenovirus containing the human CFTR cDNA to the respiratory tract of individuals with CF. *Nature Genetics*, 8, 42-51
108. Wagner, J.A., Reynolds T., Moran M.L. et al. (1998) Efficient and persistent transfer of AAV-CFTR in maxillary sinus. *Lancet*, 351, (9117), 1702-1703
109. Alton, E.W.F.W., Stern M., Farley, R. et al. (1999) Cationic lipid-mediated CFTR gene transfer to the lungs and nose of patients with CF: a double-blind placebo controlled trial. *Lancet*, 353, 947-954
110. Zsengeller, Z.K., Boivin, G.P., Sawchuck, S.S., Trapnell, B.C., Whitsett, J.A (1997) Anti-T cell receptor antibody prolongs transgene expression and reduces lung inflammation after adenovirus-mediated gene transfer. *Hum. Gene Ther.*, 8, 935-941