



MUDr. Andrea Hladíková, PhD ^{1,2, 3}
RNDr. Sylwia Rečková ^{1,2}
MUDr. Andrea Gřegořová ^{1,2}
MUDr. Dagmar Grečmalová ^{1,2}
Monika Kudrejová

Cystická fibróza (z hlediska klinické genetiky)

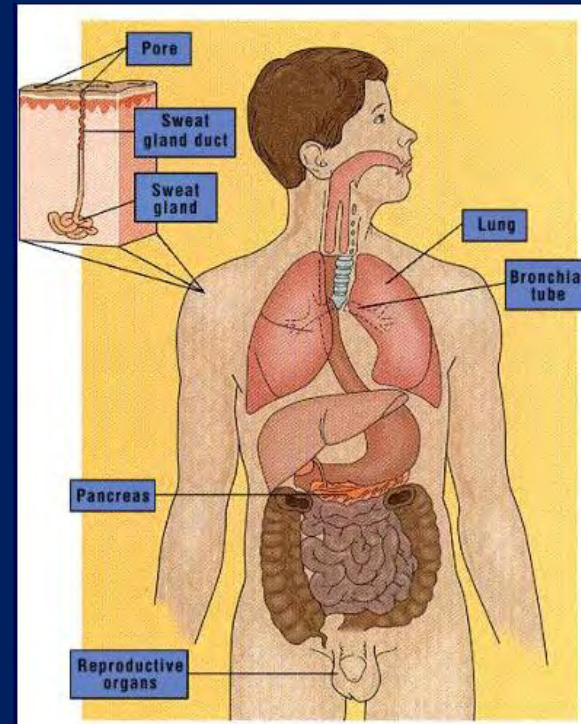
¹ Oddělení lékařské genetiky FNO

² Katedra biomedicínských oborů

³ Katedra pediatrie a neonatologie, Lékařská fakulta OU

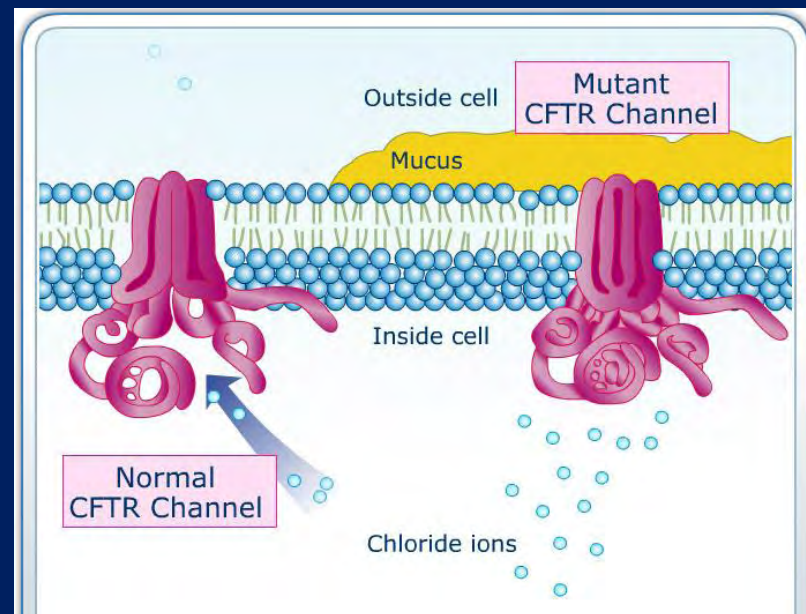
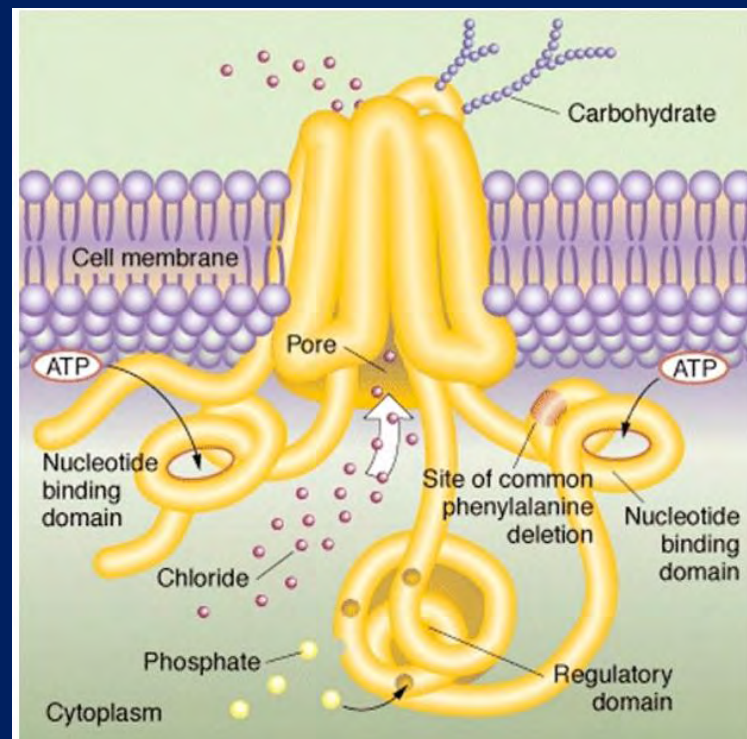
Co je cystická fibróza?

- chronické progredující onemocnění s poruchou tvorby **hleny** – abnormálně viskózní, hustý, hromadí se ve tkáních **plic, jater a slinivky**, postupně je ucpává a destruuje, orgánové komplikace
- monogenní, autozomálně **recesivně** dědičné onemocnění s multiorgánovým postižením
- **nejčastější nevléčitelná, smrtelná geneticky** podmíněná choroba

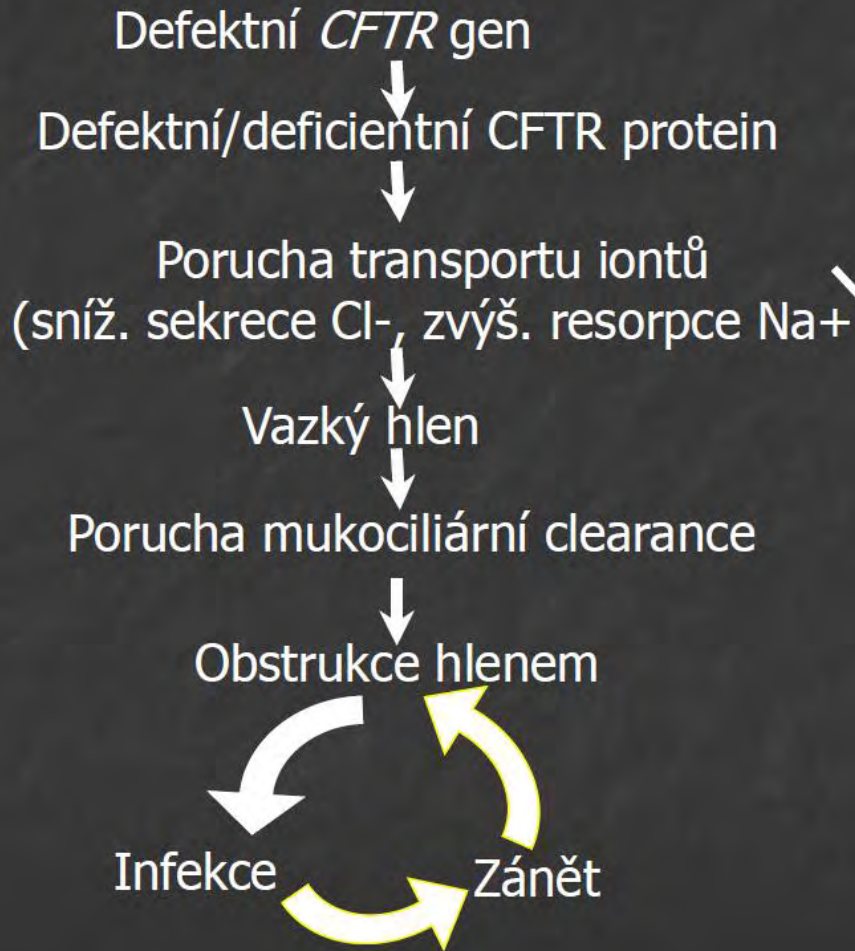


cystická fibróza – podstata onemocnění

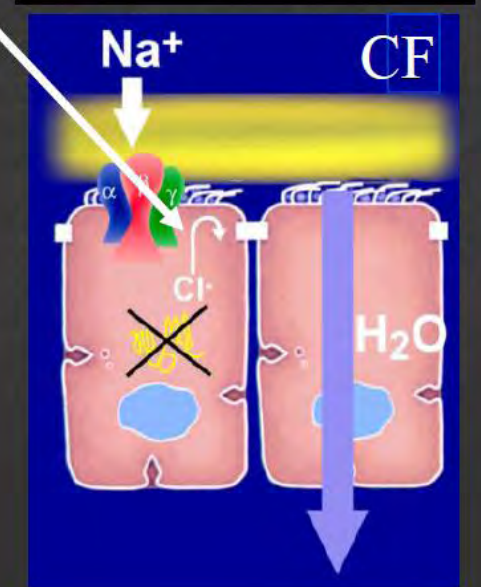
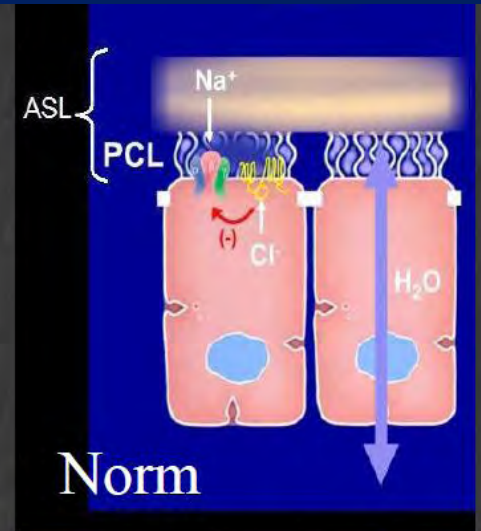
- porucha **transmembránového regulátoru vodivosti (CFTR – cystic fibrosis transmembrane conductance regulator)** – vytváří v membránách buněk výstelky dýchacích cest, slinivky, potních žláz, střeva a dalších orgánů
- **iontové kanály** regulují průchod solí (chloridový kanál) a **vody** ven z těchto buněk.
- **Mutantní CFTR** u CF: dochází k **nedostatečnému vnitrobuněčnému vstřebávání chloridových** iontů a zároveň k nadměrnému vstřebávání sodíkových iontů do buněk, na povrchu buněk **vazký hlen**



Konsekvence mutace genu CFTR...

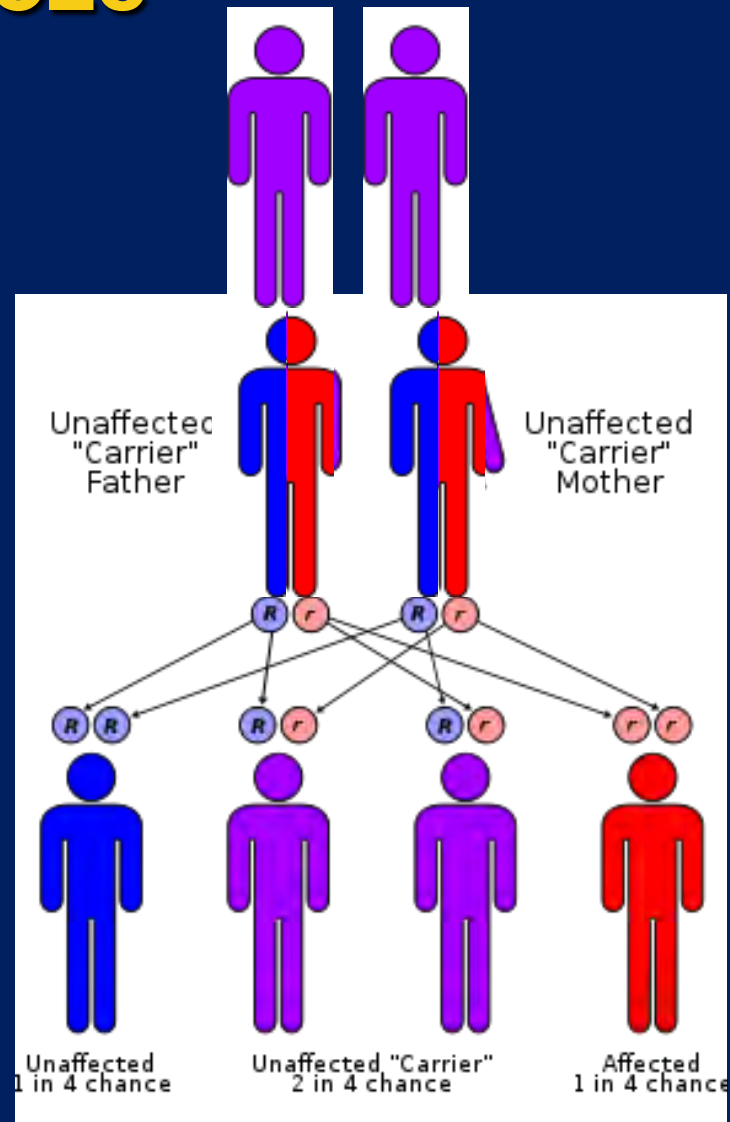


Rozvíjí se bludný kruh destrukce plicní tkáně

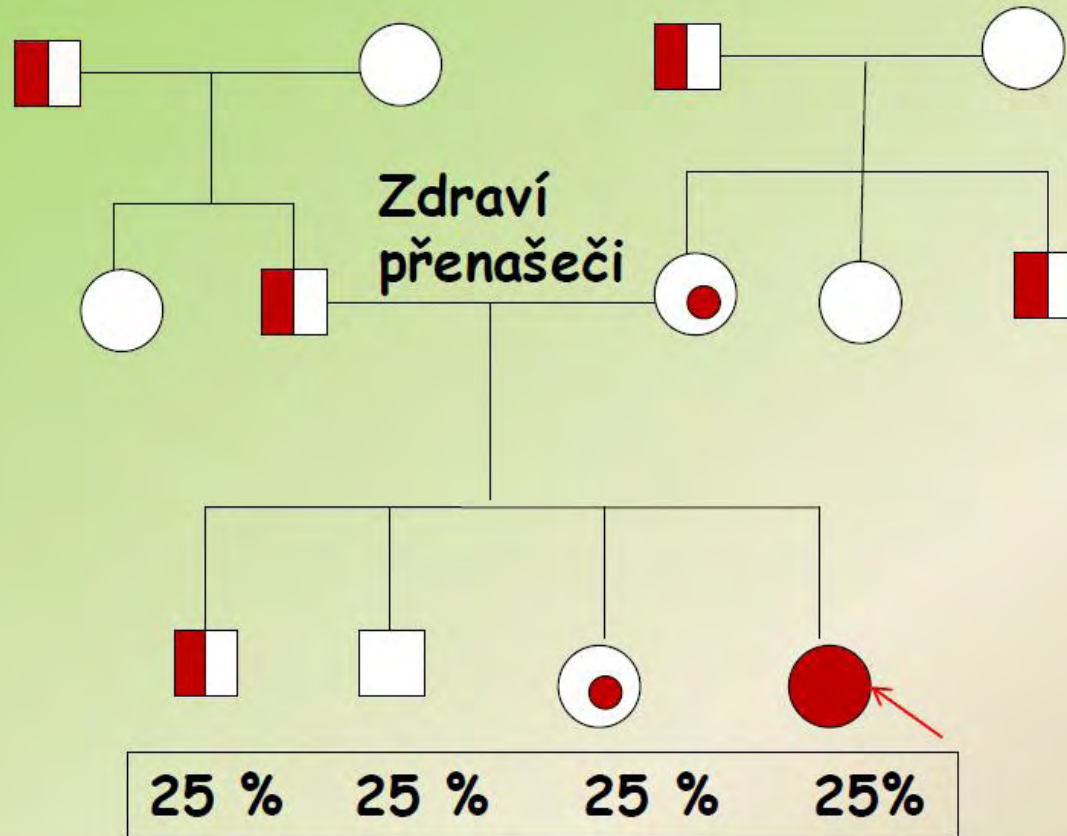


Ještě důležité informace o cystické fibróze

- onemocní pouze jedinec **se 2 mutovanými alelami, AR dědičnost**
- rodiče jsou zdraví přenašeči (jedna mutovaná alela, druhá zdravá, funkční)
- 2 přenašeči mají **25 % riziko narození dítěte s CF**
- frekvence přenašečů v populaci **1:27**, každé 676. manželství může být partnerstvím dvou nosičů
- incidence v ČR cca **1 : 2600** narozených dětí
- každý rok se narodí **35-45 nových** dětí s CF
- v ČR žije s dg. **632 pacientů s CF**, 45% je již dospělých



Autosomálně recesivní dědičnost



A ještě jedna velmi důležitá informace o cystické fibróze!

- Indoevropské národy – 3-4 % heterozygoté, Ázie a Afrika jen 0,001 % heterozygotů



Ještě další důležité informace o cystické fibróze...

- průměrná délka života pacienta s CF v ČR je nyní **38let-41let** (byla 28-30)
- Příznaky CF se **nejčastěji objevují už u dětí**, ale u 10% se mohou objevit kdykoli v průběhu života, někdy až v dospělosti
- Správná diagnóza CF u 2/3 pacientů, **1/3 nemocných pod jinými dg.** (chronická bronchitida, sinobronchiální syndrom, nosní polypóza, celiakie, opakované pankreatitidy, biliární cirhóza, mužská neplodnost...)
Negativní novorozenecký screening neznamena, že dítě nemůže mít CF....



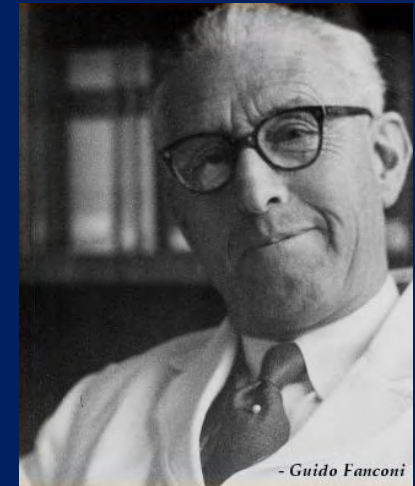
Historie CF- naši předkové a CF...

- První záznamy o CF pochází ze **středověku**, Dr. Busch z Rostocku se věnoval pověrám a lidovým písním, které vyprávěly o začarovaných dětech a jejich slaném potu, **očarované dítě brzy zemře...**
- **Slanost dětí** se vysvětlovala nadměrným pocením a špatnou hygienou
- Z toho tradice a rady matkám, aby svým dětem **olizovaly čelo, zda nejsou slané**



Historie CF...

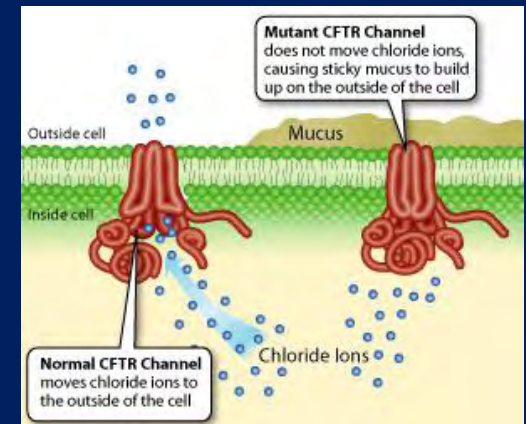
- Český patolog **Karel von Rokitansky** první klinický popis novorozence s CF zmírajícího **na mekoinový ileus**
- Švýcarský pediatr G. Fanconi v r. 1934 jako první popsal jasnou asociaci mezi bronchiektáziemi, pankreatem a střevní malabsorpcí, pojem **cystická pankreatofibróza**
- americká lékařka Dorothy Andersen první v r. 1938 popsala uceleně problematiku CF
- r. 1945 dr. S. Farber první pojmenoval tuto nemoc jako **mukoviscidózu** (v plicích a slinivce u pacienta s CF je přítomen **hlen**)



Historie CF...



- r. 1952 USA: výzkum dětí s CF v období veder, které **upadaly kvůli horku do šoku**, děti ztrácí potem soli a začali pot vyšetřovat.
- Zjistili, že **pot dětí s CF obsahuje 5x více solí** než pot zdravého jedince
- **r. 1989** byl odhalen původce vzniku onemocnění, kterým jsou mutace v genu pro cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (dále jen **CFTR**).
- r. 2009 – šance na **kauzální genovou terapii**



Historie CF – proč si příroda „vymyslela“ mutaci v genu CFTR ?

mutace v genu CFTR jako ochranný faktor u heterozygotů během epidemií cholery –
intestinální buňky jsou u mutace F508del (DF_{508}) rezistentní k sekretorickému efektu cholerového toxinu...



Příznaky a projevy CF

Horní i

dolní cesty dýchací

Chronické sinopulmonální onemocnění

Pankreas

Insuficience zevní sekrece, malnutrice, recidivující pankreatitidy na CF vázaný diabetes

Ostatní části zažívacího ústrojí

Obstrukce střeva, Mekoniový ileus, prolaps rekta

Další projevy:

paličkovité prsty, osteoporóza, kardiomyopatie



Potní žlázy

Vysoká koncentrace elektrolytů v potu, riziko hypoelektrolytémického šoku

Játra

Jaterní léze, fokální biliární cirhóza

Mužské pohlavní ústrojí

Absence vas deferens, sterilita u 98 % mužů

Respirační komplikace u CF

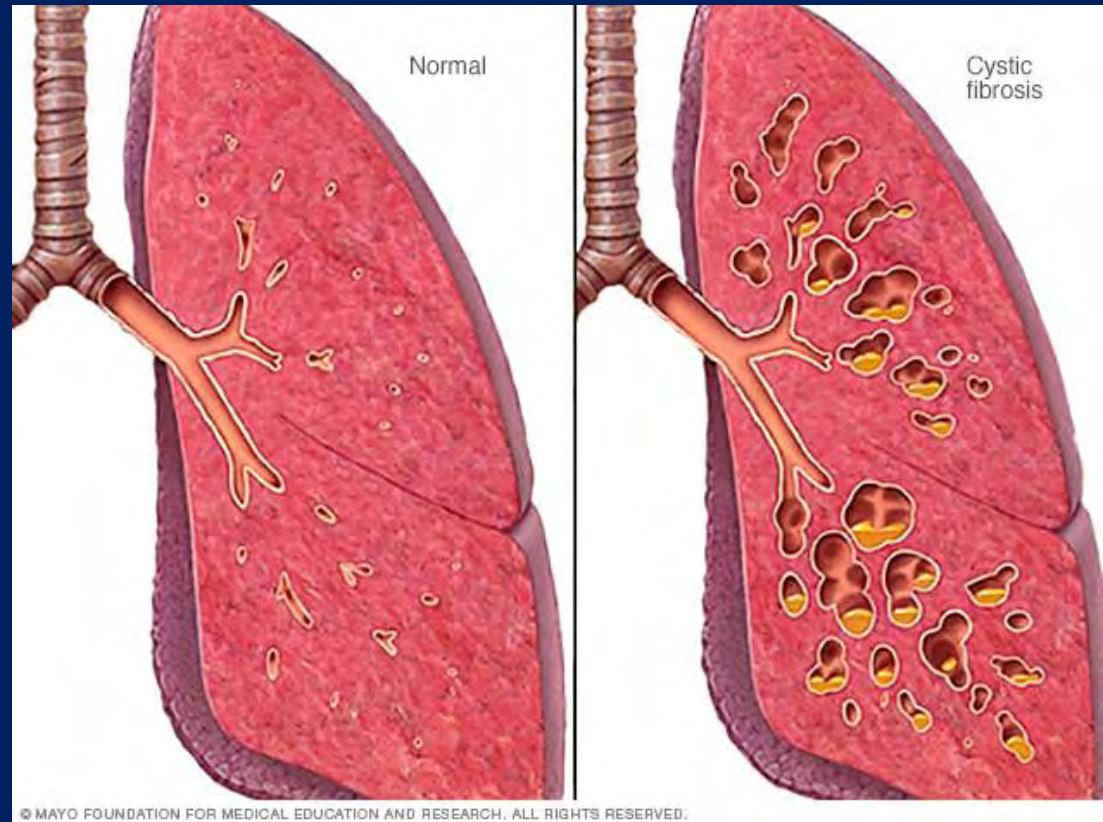
ucpává se dýchací trubice a snižuje kapacita dýchacího stromu



#218381345

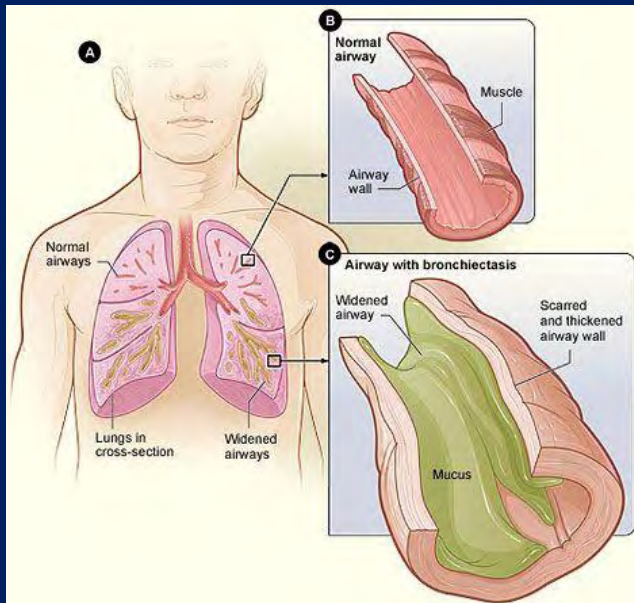


© Can Stock Photo



© MAYO FOUNDATION FOR MEDICAL EDUCATION AND RESEARCH. ALL RIGHTS RESERVED.

Respirační komplikace u CF

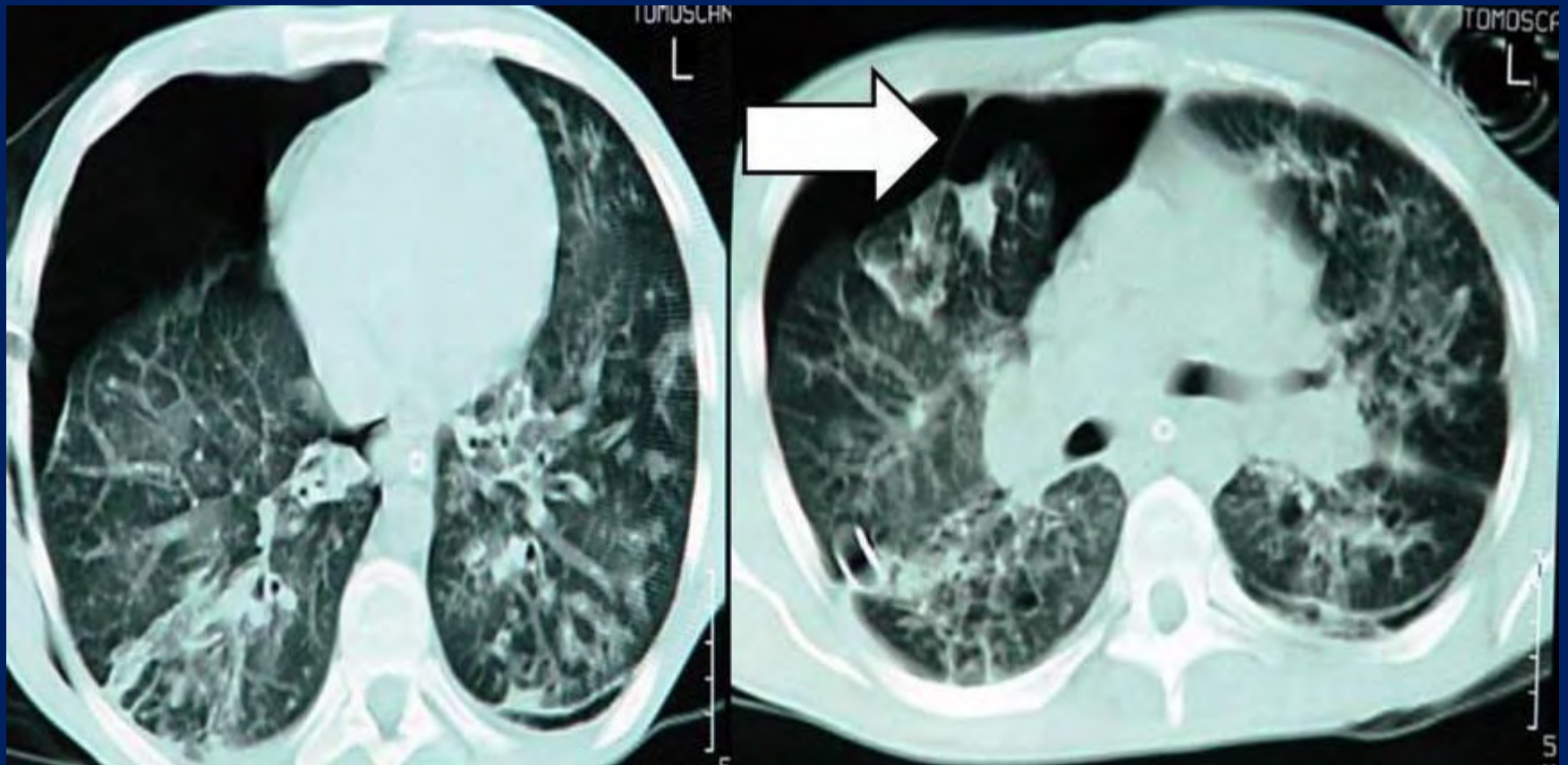


Bronchiektázie je rozšíření bronchů, které je výsledkem opakovaných **zánětů** vyhojených **jizvou**, čím se množí vazivo/**fibróza**, pleura se lepí k sobě/**adheze**, až může dojít k úplnému slepení/uzavření a vzniká **atelektáza**, následkem prasknutí plíce pak **pneumothorax**



Hustý hlen ucpává plíce až dojde k jejich kolapsu/**atelektáza**/, hustý hlen představuje živnou půdu pro uchycení bakteriálních patogenů/opakované záněty bronchů/plíc/**bronchitidy/ bronchiolitidy/ pneumonie/bronchopneumonie**

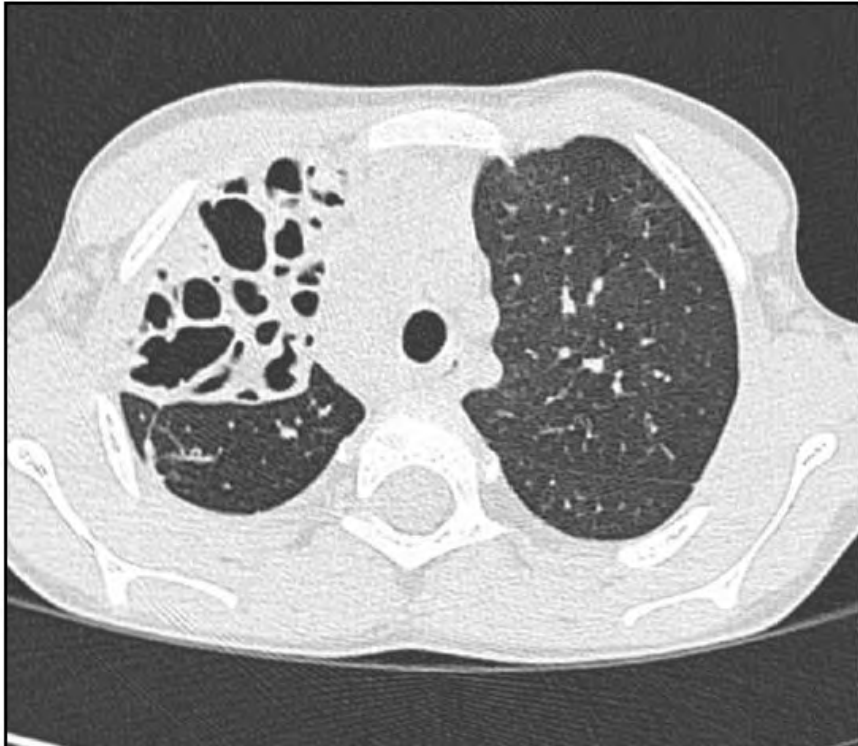
Respirační komplikace u CF pneumothorax/pleurální adheze



Respirační komplikace u CF

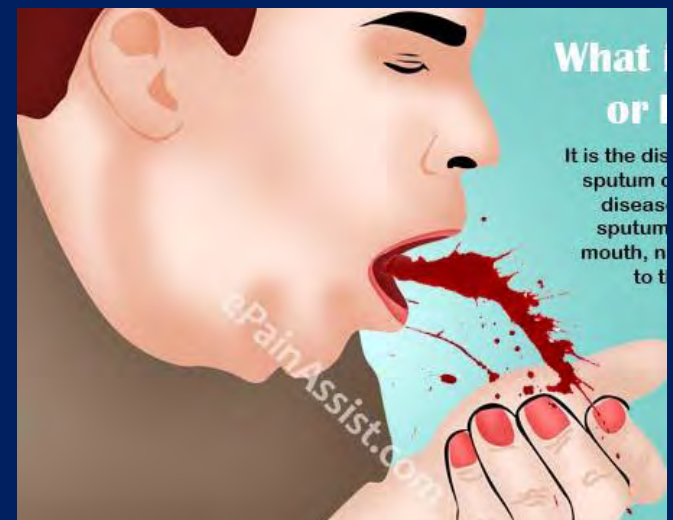
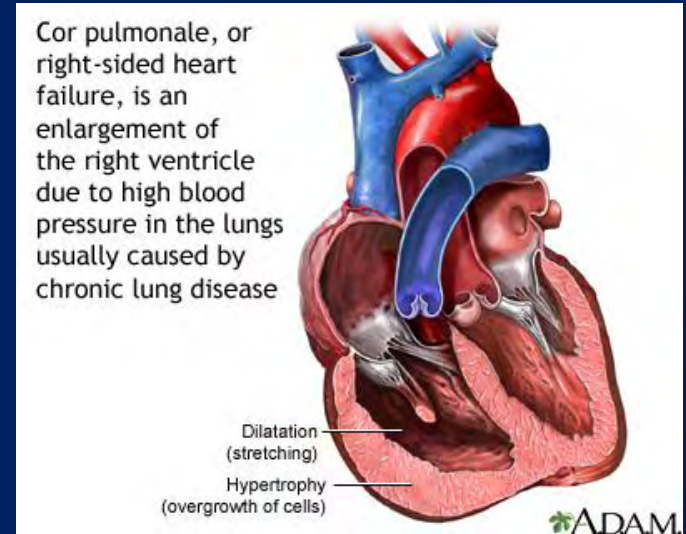
HRCT plic

vpravo vakovité až cystické bronchiektazie , stěna bronchů zesílená , nepravidelná. Výraznější zesílení peribronchiálního intersticia. Vpravo v S6 a vlevo v S5 cylindrické bronchiektazie.



Respirační a kardiální komplikace u CF

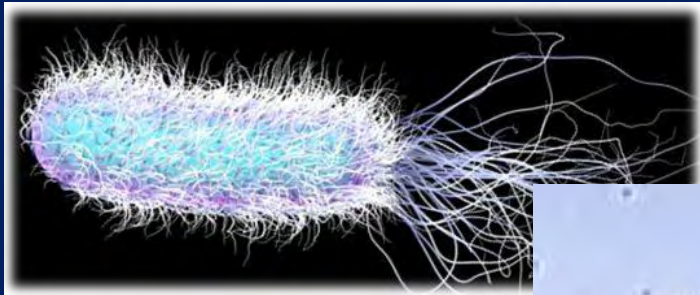
- **Nejzávažnější projevy CF**, v 90% příčinou úmrtí
- recidivující **pneumonie, infekty HCD**
- **chronický zánět s exacerbacemi a tvorbou bronchiektazií, kolonizace patogeny**
- **Kašel! Po ránu, později dušnost**
- Zánět přechází na okolní tkáň – následná **fibrotizace** jemného plicního parenchymu a tvorba emfyzematických bul
- Detsrukce plicního parenchymu s hypoxickou plicní vazokonstrikcí vede **k plicní hypertenzi a rozvoji cor pulmonale**
- Komplikace – atelektázy, pneumothorax, **hemoptýza**
- Chronické **sinusitidy**, nosní **polypy**, obstrukce nosových průduchů



Respirační komplikace CF

Tvorba hustého sekretu → parazité → záněty

- Kolonizace dýchacích cest bakteriálními patogeny –
- *Staphylococcus aureus*,
- *Pseudomonas aeruginosa*,
- *Burkholderia cepacia*,
- netuberkulózní mykobakteria



Burkholderia cepacia

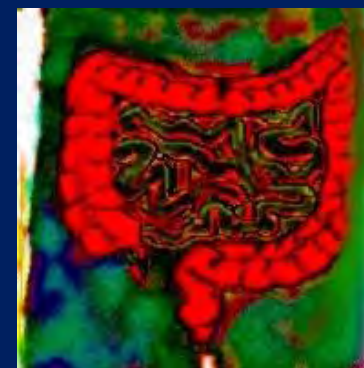
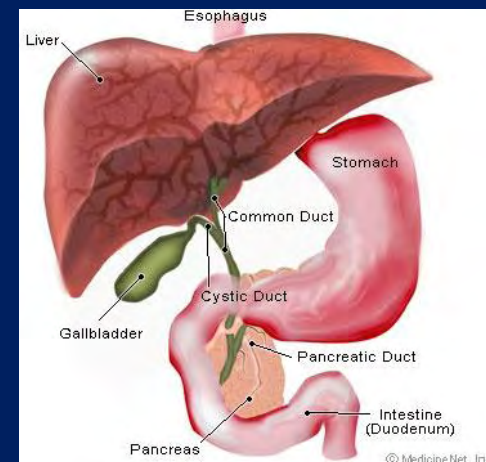


Aspergillus fumigatus



Trávicí systém – pankreas

- ucpané vývody slinivky břišní a žlučníku
- **insuficience zevní sekrece pankreatu**
je přítomna u 85% nemocných s CF
nemusí být trvalá, u některých i pozdní nástup
- **recidivující pankreatitida** je častá hlavně u nemocných s mutací R117H
- na **CF vázaný diabetes** (CFRD)
- **GIT: malabsorbce**, chronická biliární **cirhóza jater**
- potíže se vstřebáváním vitamínů A, D, E a K
- průkaz insuficience zevně sekretorické funkce pankreatu – **elastáza ve stolici**, pod 200ucg/g, naměřená hodnota není zkreslena podávanou substitucí, dobrý monitoring záchyty nastupující insuficience



Důsledky pankreatické insuficience

- **Hypoproteinemie s edémy**
 - může být prvním projevem nemoci
 - bývá pokládána za **nefrotický syndrom**
- **Komplikace z deficitu vitaminů nebo stopových prvků** event. s kožními projevy (acrodermatitis enteropathica)
- **Anémie**



Adéla →

původní dg. susp acrodermatitis enteropathica z nedostatku zinku.
Cl v potu 80 mmol/l a genotyp F508del/F508del prokazují CF

Trávicí systém – další gastrointestinální postižení

- **Mekoniový ileus** – mekoniová zátka, náhlá příhoda břišní v novorozeneckém období
- **Syndrom obstrukce distálního střeva** (ekvivalent mekoniového ileu u starších dětí, koliky), často při nedostatečné pankreatické substituci nebo při nedostatečném příjmu tekutin
- **Prolaps rekta**
- **Zapáchající „kopiózní“ stolice, steatorea**, kapičky tuku na stolici, nejde „vymýt“ nočník, musí se saponáty!

Obrázek 2. Peroperační nález – mekoniová zátka (délka 14 cm)



Trávicí systém – neprospívání, porucha stavu výživy, porucha růstu

Typický habitus – velké břicho,
hůlkovité končetiny

Kromě insuficience zevní sekrece pankreatu se na poruše stavu výživy podílí:

- Nechutenství při exacerbaci respiračních infekcí
- Nedostatečná substituce pankreatických enzymů
- Špatné stravovací návyky
- Jaterní porucha

Může být provázena **poruchou růstu**.

**Nemusí však být přítomna ani u neléčených dětí,
pokud nadměrným příjmem potravy
pankreatickou insuficienci kompenzují.**



Postižení potních žláz

- Nemocný ztrácí potem 5 x víc solí než zdravý
- Hypoelektrolytémie s chronickou metabolickou alkalózou může být prvním projevem nemoci
- Akutní ztráta solí může nemocného ohrozit na životě nebo vést k závažným následkům

(Vospělová, J, Zapletalová, J, Kolek, A: Hypotonická dehydratace jako první příznak cystické fibrózy. Čs. Pediat. 2002,57: 631-5)

- Matky často spontánně upozorňují na slanou chuť potu při políbení čelíčka novorozence nebo kojence
- Na čele dětí se mohou tvořit krystaly soli
- Nemocný s CF nesmí do sauny

MUDr. Skalická, FN a 2.LFUK Praha Motol



Osteoporóza/ metabolická kostní nemoc

po řadu let asymptomatická

- příčina: **malabsorbce**, hypogonadismus, inaktivita, vysoká hladina osteoklasty aktivujících cytokinů **v důsledku chronického zánětu**, léčba kortikoidy
 - U mírného průběhu CF ↓ TVORBA KOSTI v důsledku zhoršeného vstřebávání při pankreatické insuficienci
 - Při zhoršení klinického stavu ↑ ODBOURÁVÁNÍ KOSTI jako důsledek zánětu, inaktivity nebo kortikoterapie
- osteoporotické fraktury

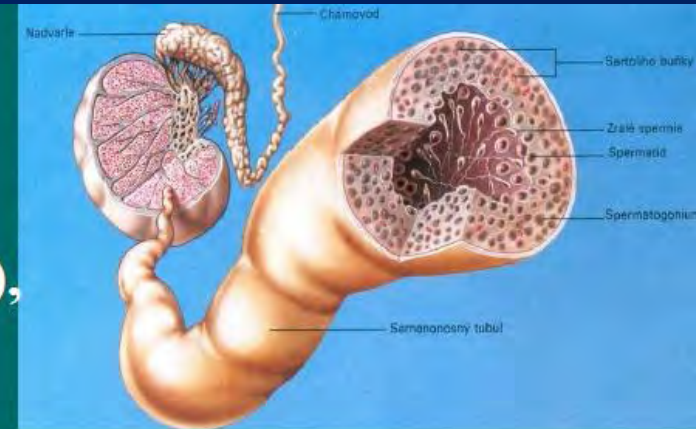




Reprodukční systém

Muži

- Sterilní v 95%
- Porucha vývoje vas differentia (CBVAD), epididymis a vesiculi seminalis



Obstruktivní azoospermie může být zcela izolovaným příznakem

Nejčastější mutace asociované s CBVAD:

5T varianta v intronu 8
R117H

Ženy

- Plodnost snížena pro viskozitu cervikálního hlenu
- Častá primární nebo sekundární amenorrhea v důsledku poruch výživy a plicních změn

Další příznaky CF

- **paličkovité prsty – digiti Hippocrati** – zduření konečků prstů na rukou a nohou. Nehtové ploténky ve tvaru „hodinového sklíčka“
- relativně častá komplikace nad 10 let hemoptýza (ze slizničních cévních plexů v bronchiektaziích)
- v terminálních stadiích dyspnoe, tachypnoe, auxiliární dýchání, cyanoza a symptomy cor pulmonale s pravostranným selháním srdce

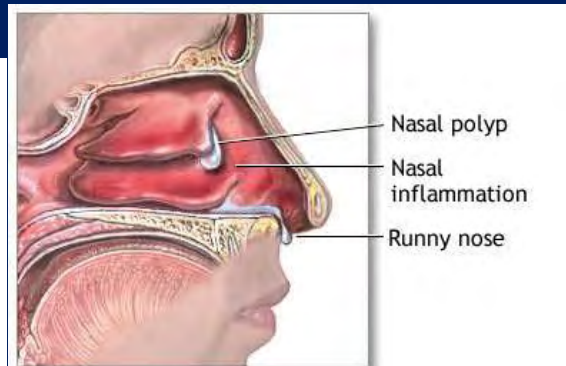
Kašel a infekce DC nejsou pro zdravé jedince infekční

Nosní polypóza, sinusitidy

Starší a dospívající děti

Nutná operace

Sinusitis maxilaris bilat.



Klinické příznaky CF v jednotlivých obdobích

Novorozenecké období:

- typickým příznakem je **mekoniový ileus** nebo sy mekoniové zátky, jedna z nejčastějších příčin kongenitální obstrukce střeva, riziko perforace i intrauterinně, inspisované mekonium obturuje distální ileum, vzniká u 10-20 % dětí s CF
- protrahovaná novorozenecká **žloutenka**, cholestáza,

Kojenci: neprospívání, hypoproteinemie a hypoalbuminemie při malnutrici, **edémy**

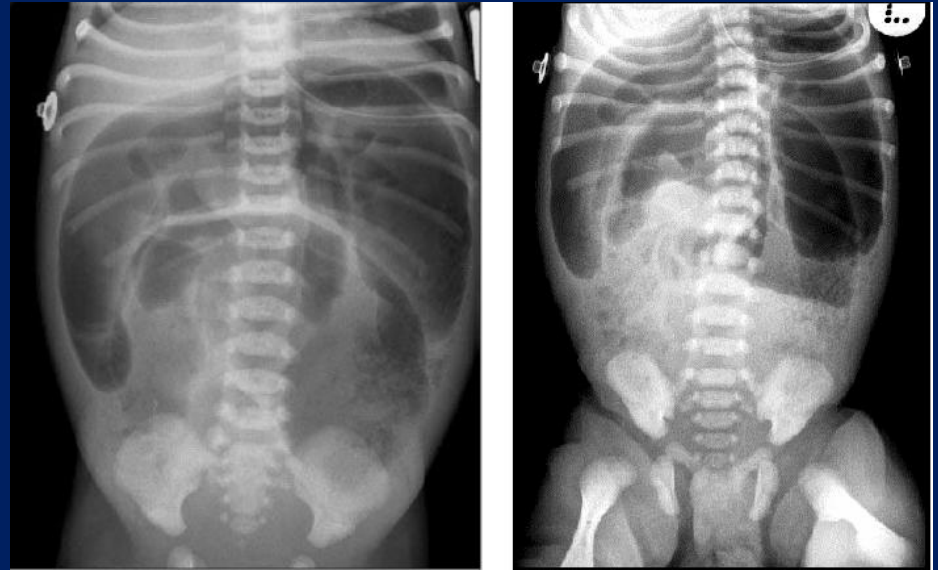
- **Hepatomegalie, poruchy růstu**
- Anémie, někdy dermatitida
- ~~respirační příznaky se většinou nevyskytují~~



Novorozenecké období – mekoniový ileus

Mekoniový ileus

RTG obraz - mnohočetné distendované kličky vlásenkovitě s malým množstvím hladinek vzhledem k viskozitě. V oblasti ilea v pravém dolním kvadrantu obraz mýdlových bublin, pěnovitých hmot



Irrigografie - mikrokolon

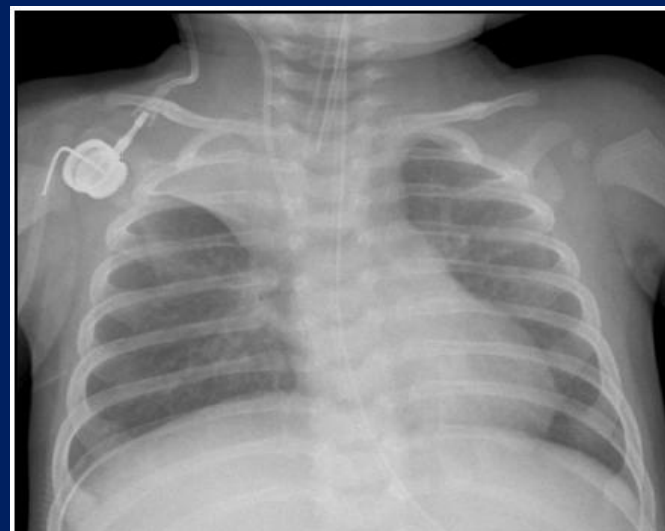
U každého novorozence se střevní obstrukcí nutno vyšetřit potní test !!!

MUDr. Masaříková, FN a LF MU Brno



Kojenecké/batolecí období

- **Především respirační příznaky!** (tachypnoe, hvízdání, hyperinflace, kašel, často se zvyrazňují po virovém infektu, mylně považovány za chronické bronchitidy/bronchiolitidy...)
- Porucha exokrinní funkce pankreatu – porucha trávení tuků, bílkovin, sacharidů, - **malabsorpční syndrom, neprospívání/porucha růstu**
- Mastné (steatorea) objemné **zapáchající stolice!**
- Stetatóza jater, prolaps rekta



Nález emfyzemu či atelektázy na RTG u kojence či batolete – vždy podezření na CF !!!

Kazuistika – chlapec (2roky, dif.dg. neprospívání, malabsorpční syndrom/opakované respirační infekty)

Opakované infekty DC

MUDr. Masaříková, FN a LF MU Brno

RTG 2 roky



3 roky



Diagnostika

klinické podezření – chronické sinobronchiální onemocnění, GIT postižení , malnutrice , obstruktivní azospermie, syndrom ztráty solí

- **laboratorní vyšetření** – potní test
molekulárně genetické vyšetření
testy pankreatické insuficience
- **pomocná vyšetření** – kultivace sputa, funkční vyšetření plic , antropometrické vyšetření, UZ , RTG , CT

Podezření na CF při UZ vyšetření v 17.-20. týdnu gravidity – nález zvýšené echogenity plodu jako známky mekoniového ileu .

Nejjednodušší metoda je „kiss your baby test“- otázka pediatra matce , jak chutná pot dítěte.

Atypická forma CF - koncentrace chloridů v potu jen hraniční.Klinicky bývá jen respirační , nebo jen GIT postižení , jen nosní polypozaNelze vyloučit , že s postupujícím věkem přejde do typické formy CF

Screening



CF - novorozenecký screening:

* imunoreaktivní trypsinogen v suché krevní kapce.



■ Zahájen v ČR 1. 10. 2009

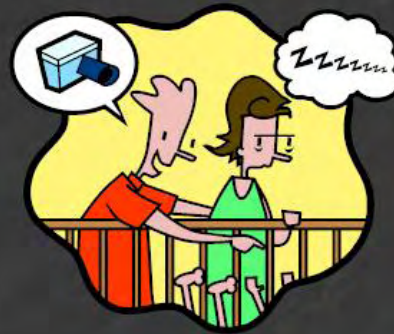
Věstník MZd ČR 2009, částka 6, vyd. 12. srpna 2009, str. 7-14: Metodický návod k zajištění celoplošného novorozeneckého laboratorního screeningu a následné péče.

■ Jeho význam:

- **včasná léčba významně prodlužuje a zkvalitňuje život pacientů** (zlepšení stavu nutrice, růstu, lepší prevence plicního postižení)
- prevence úmrtí z nedignostikované choroby (metabolický solný rozvrat kojených dětí)
- optimalizuje genetický postup v rodinách s prvorozeným dítětem s CF (diagnostika, včasné genetické poradenství, informovaná reprodukce)
- soustředění pacientů do klinických center poskytujících speciální optimalizovanou celoživotní komplexní léčbu a tím odstranění nerovnoměrné úrovně péče

MUDr. Skalická, FN a 2.LFUK Praha Motol

**Provádět potní testy dětem,
které se narodily po zavedení
NSCF a prošly jako negativní?**



ANO !

MUDr. Skalická, FN a 2.LFUK Praha Motol

Nelze vyloučit falešnou negativitu !!!!!

Laboratorní potvrzení diagnózy/**potní test**/indikace k vyšetření

Potní test: pilokarpinová iontoforéza, Cl v potu > 60 mmol/l.



Indikace: pozitivní RA, sono prenatálně intraabdominální masa, mekoniový ileus, chronický kašel, rec. bronchopneumonie, bronchitidy, bronchiolitidy, atelektáza, Pseudomonas ve sputu, NEPROSPÍVÁNÍ, „slané dítě“, hypochloremická alkalóza, azoospermie, rektální prolaps, MALABSORPCE, deficit vitaminů ADEK, rec. sinusitis, rec. nosní polypy ...



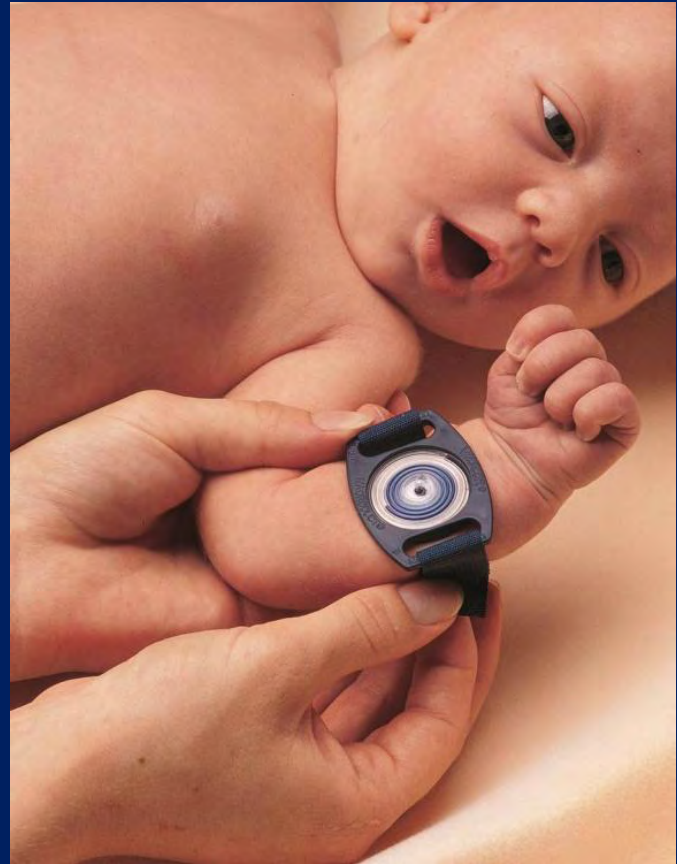
*Klinika dětí a dorostu FN a 3.LFUK Praha,
Královské Vinohrady*

Laboratorní potvrzení diagnózy/**potní test**

- FNO: **Makroduct sweet** collection system – nejmodernější metodika

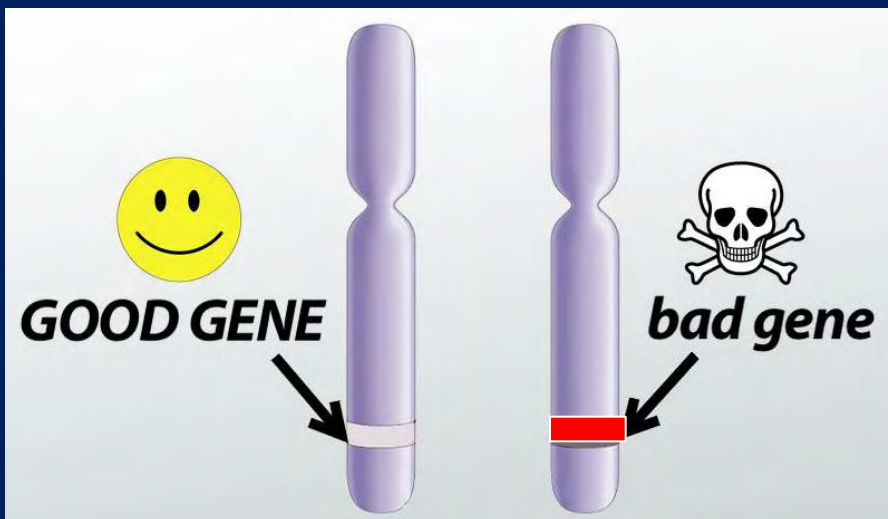
Patologické hodnoty jsou ≥ 60 mmol/l, hraniční 30–59 mmol/l a normální < 30 mmol/l.

Hraniční hodnoty mohou mít nemocní s atypickou formou CF, nositelé jen jedné mutace genu *CFTR*, dále osoby s jinými onemocněními (insuficience nadledvin, hypotyreóza, nefrotický syndrom, mentální anorexie, těžká malnutrice, celiakie, hypogamaglobulinemie a další) a rovněž osoby zdravé

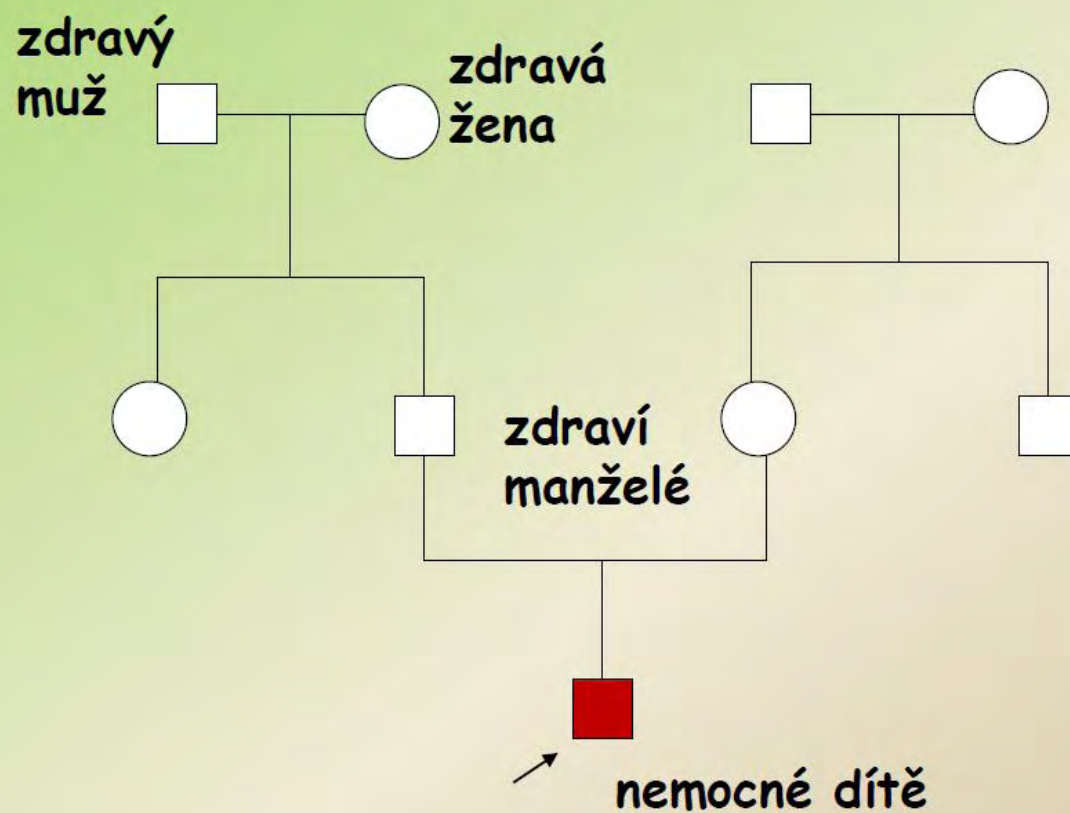


Genetické potvrzení diagnózy CF

- Průkaz **dvou mutací**, o kterých se ví, že zodpovídají za CF – molekulárně-genetické vyšetření
 - 2 stejné mutace (patogenní sekvenční varianty) – **homozygot**
 - Na každé alele jiná mutace – **složený heterozygot „compound“**
 - Rodiče – zdraví, ale přenašeči (stejně mutace/každý jiné mutace)



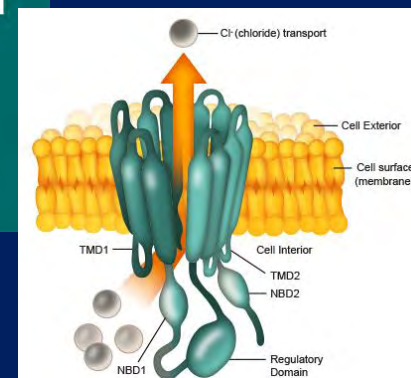
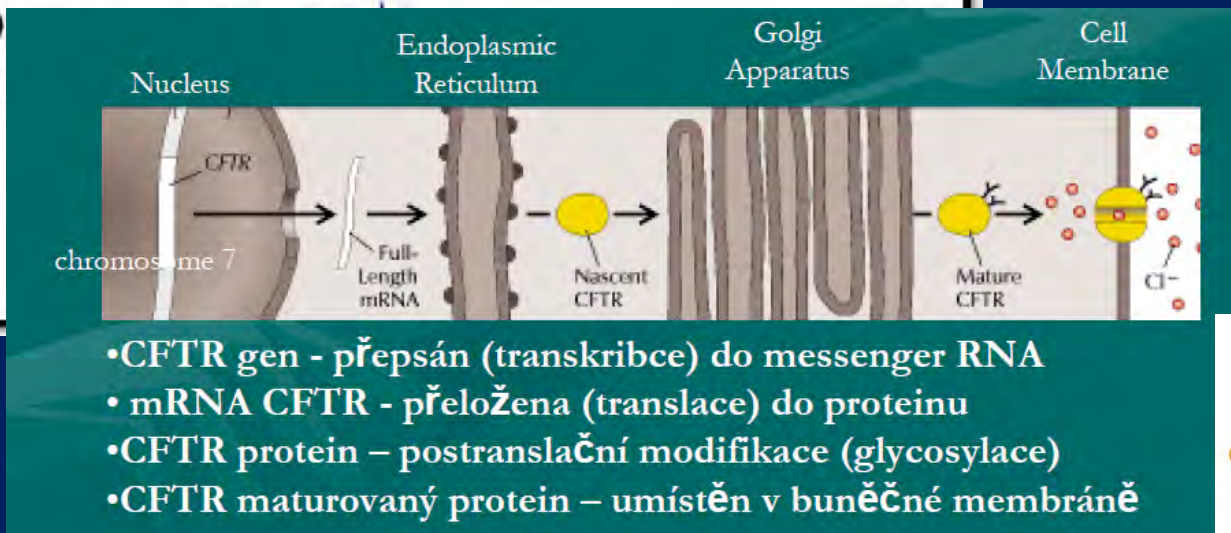
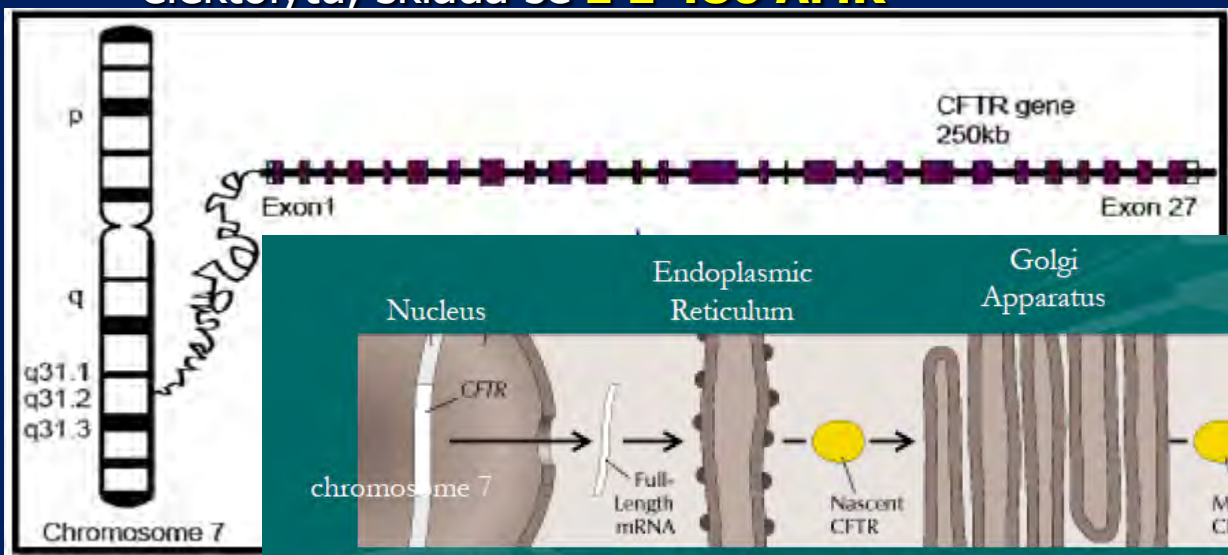
Rodokmen - obvyklá situace



CFTR gen

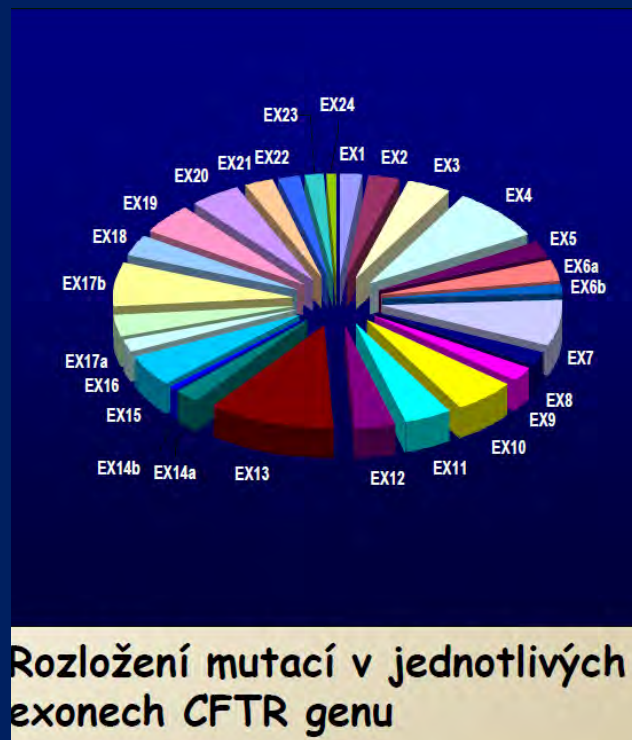
CFTR gen: na dlouhém raménku 7. chromozomu

- Z více jak 250 000 nukleotidů
- **Gen má 27 exonů**, informace pro syntézu proteinu CFTR– membránový chloridový kanál zodpovědný na apikální membráně buněk za transport vody a elektolytů, skládá se **z 1 480 AMK**



Mutace v genu CFTR

- Mutace genu *CFTR* vedou k poruše tvorby a/nebo funkce CFTR proteinu
- V aktuální databázi CFTR2 (<http://www.cftr2.org>) je zaznamenáno **přes 1900 různých** mutací, ze kterých **300 mutací patogenních/potenciálně patogenních**, 281 mutací vyvolávajících CF („CF-causing“) a 21 mutací s variabilním klinickým dopadem („varying clinical consequence“)



(Prim. MUDr. Gaillyová, OLG FN Brno)

Cystic Fibrosis Mutation Database

[Home](#) [Search](#) [CFTR Gene](#) [History](#) [Team](#) [Statistics](#) [Links](#) [Submit](#) [Help](#)

CFMDB Statistics

There are currently **1903** mutations listed in this CFTR mutation database.

Statistics by mutation type:

Mutation Type	Count	Frequency %
Missense	768	40.36
Frameshift	303	15.92
Splicing	226	11.88
Nonsense	161	8.46
In frame in/del	37	1.94
Large in/del	49	2.57
Promoter	15	0.79
Sequence variation	269	14.14
Unknown	75	3.94

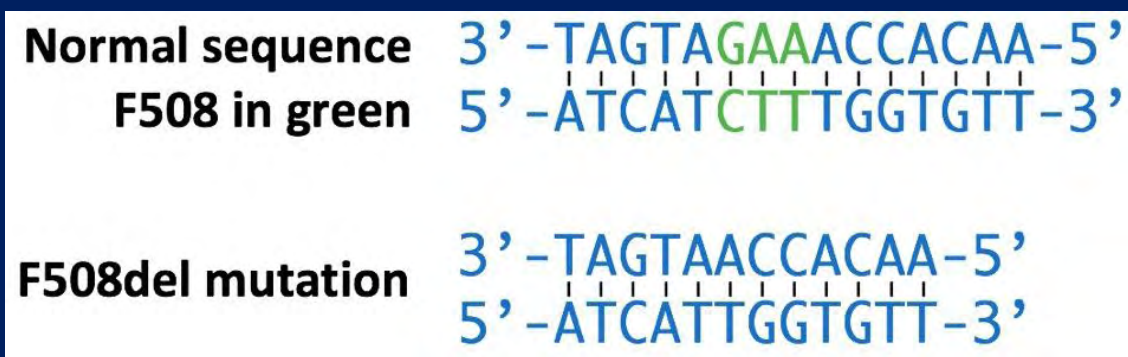
Mutace v genu CFTR

Nejčastější mutace ve světě i v ČR - F508del (71,6 %)

•**USA:** 33 000 pacientů s CF, z nich 86% má mutaci Phe508del

Nejčastější mutace F508del: → ztráta 3 nukleotidů → ztráta AK fenylalanin → nemůže vázat cAMP, u této mutace → neopustí ER → nedojde k transportu k buněčné membráně

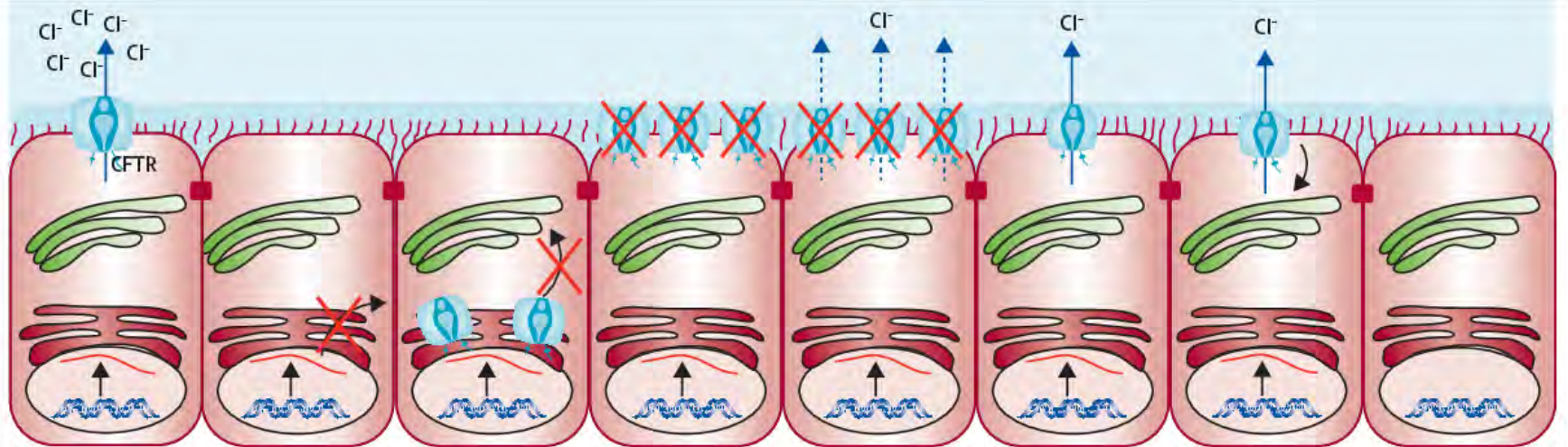
Zápis na úrovni DNA: c.1521_1523delCTT, na úrovni proteinu: p.Phe508del



Dle povahy dysfunkce CFTR proteinu lze mutace genu CFTR rozdělit do 7 tříd:

- třídy I–III zahrnují mutace spojené s těžkým průběhem onemocnění
- třídy IV–VI mutace s mírnějším fenotypem (atypické formy CF):

Klasifikace mutací CFTR



Wild-type CFTR

	Class I	Class II	Class III	Class IV	Class V	Class VI	Class VII
CFTR defect	Žádný protein, mRNA ano	Chyba vycestování proteinu	Nedostatečné otevírání kanálu	Narušené vedení kanálem	Méně proteinu v membráně	Nestabilita proteinu v membráně	Žádný protein, mRNA ne
Příklady mutací	Gly542X, Trp1282X	Phe508del, Asn1303Lys, Ala561Glu	Gly551Asp, Ser549Arg, Gly1349Asp	Arg117His, Arg334Trp, Ala455Glu	Ala455Glu, 3272-26A→G, 3849+10 kg C→T	c. 120del23, rPhe508del	dele2,3(21 kb), 1717-1G→A

Mutace v CFTR

Ve světě

Prim. MUDr. Gaillyová
OLG FN Brno):

Mutace	Frekvence v ČR v %
F508del	70,7
CFTRdele2,3(21kb)	6,4
G551D	3,7
N1303K	2,8
G542X	2,1
1898+1 GtoA	2,0
2143delT	1,1
R347P	0,74
W1282X	0,6

Mutation	Estimated percentage of CF sufferers who have a mutation on at least one Allele	CFTR protein channel defect
F508del	90% (highest rates in people of Northern European descent)	Reduced Quantity No Protein
G542X	5% (increased prevalence in Ashkenazi Jews)	Reduced Quantity No Protein
G551D	4%	Reduced Function Gating
W1282X	4% (increased prevalence in Ashkenazi Jews)	Reduced Quantity No Protein
N1303K	2.5%	Reduced Quantity No Protein
R553X	2.5%	Reduced Quantity No Protein
R117H	1%	Reduced Function Conductance

F508del – nejčastější (v ČR asi 70 %)

rozdíly i v rámci Evropy

ČR: CFTRdele2,3(21kb), G551D, N1303K,
G542X, 2143delT

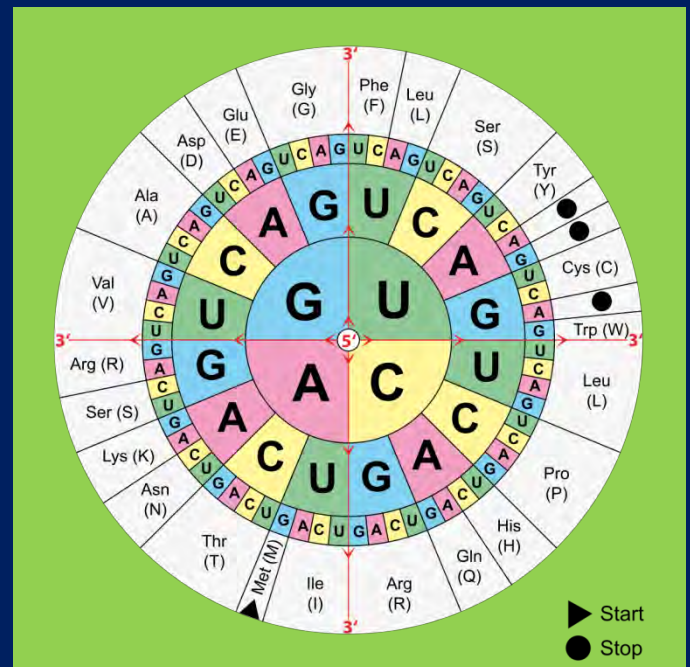
mutace specifické pro jednotlivá etnika:

„slovanské“ mutace: CFTRdele2,3(21kb), 2143delT,
4374+1 G>A

„keltská“ mutace: G551D

Anglosasové: R117H, I507del

středomoří: N1303K Židé Aškenazi: G542X, W1282X



Keltský původ je pro Jakuba prokletím i požehnáním!

Keltové mu nezanechali příjemné dědictví.

Aha!

www.aha.cz



Předky Čechů jsou Slované, Germáni a Kelti, jsme jejich genetický mix. A právě Keltové nám zanechali **genovou mutaci G551D**, která je zodpovědná za jeden z typů cystické fibrózy. Trpí jí i Jakub. Jako dítě byl často nemocný, kašlal a zadýchával se.

Jeho keltské dědictví se však ukázalo být nejen prokletím, ale i požehnáním. Výzkumníci vyvinuli lék, který dokáže chorobu potlačit. Ale pouze pokud jde o její »keltskou« variantu, Jakub se dostal do klinické studie, která mu změnila život.

Cystic Fibrosis Mutation Database

<http://www.cftr2.org>

cDNA Name c.1652G>A

Protein Name p.Gly551Asp

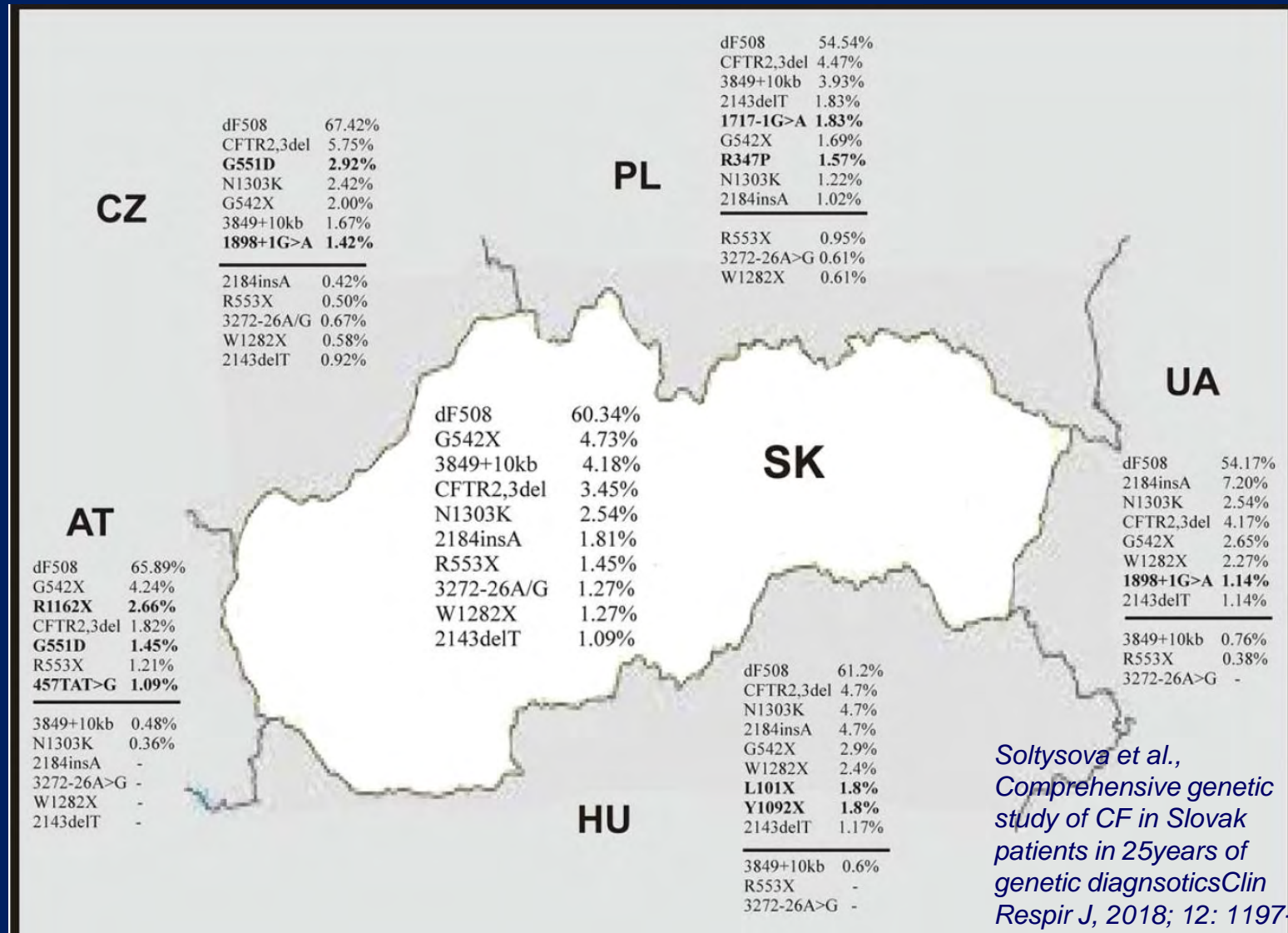
Exon or Intron exon 12

Legacy Exon or Intron exon 11

Legacy Name G551D

Other Details This mutation has been found in six Caucasian CF chromosomes out of 155 examined for a frequency of 4 %. It has not been found on any Black CF chromosomes. This mutation appears to be associated with a particular ten site haplotype shown on the following pages. We have not detected this mutation on any normal Caucasian chromosomes with similar haplotypes or other haplotypes.

Spektrum mutací v genu CFTR střední Evropa



Soltysova et al.,
Comprehensive genetic
study of CF in Slovak
patients in 25 years of
genetic diagnostics Clin
Respir J, 2018; 12: 1197-

DNA analýza CFTR genu

- Nejčastější mutace v populaci
- Soubor mutací představující vysoké procento mutací v populaci
- Sekvenování celého genu - vyhledávání vzácných mutací
- Vyhledávání rozsáhlých delecí metodou MLPA

Sekvenátor Applied Biosystems®, série 3130



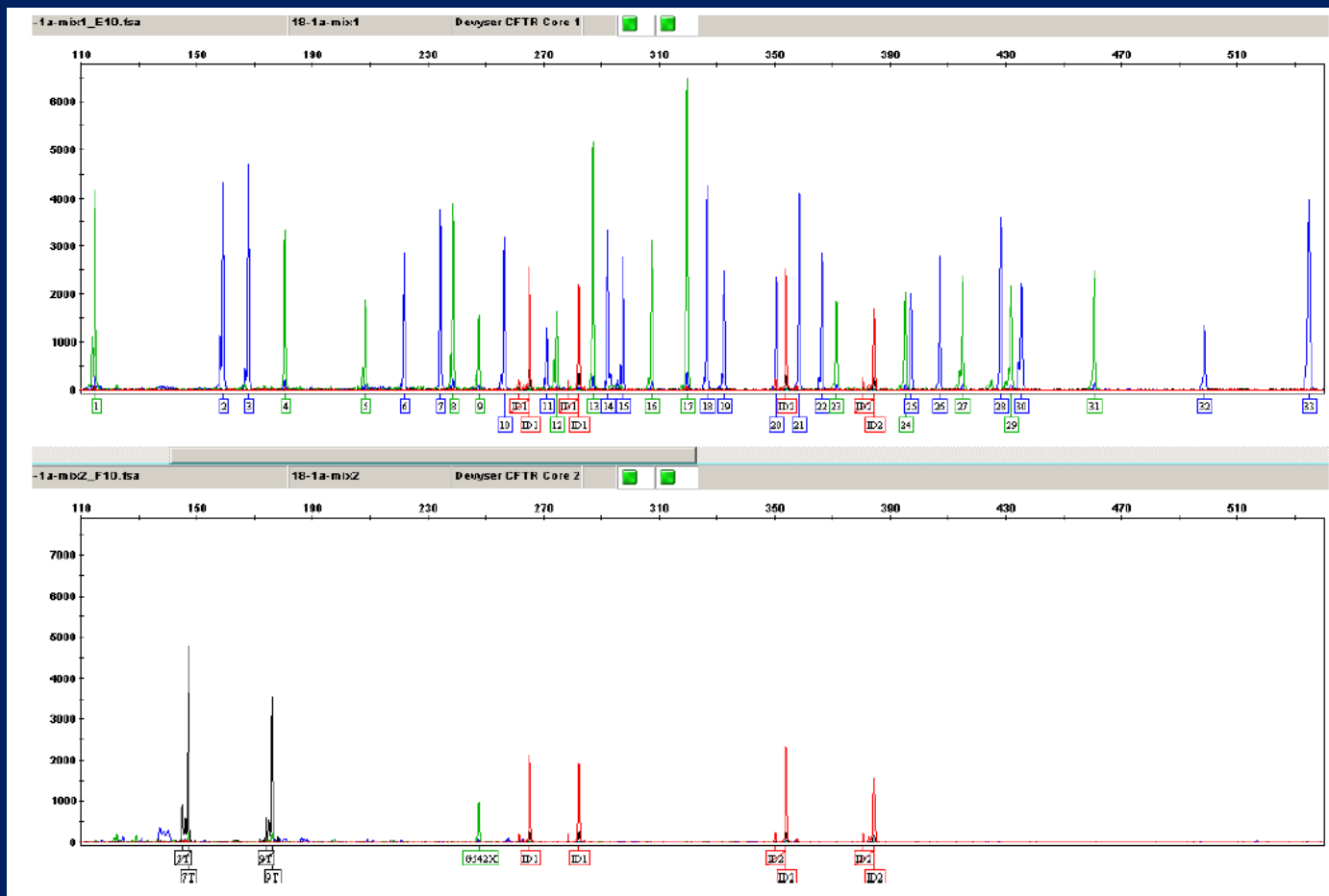
DNA laboratoř OLG FNO

fragmentační analýza

Postup vyšetření: indikace k ověření dg. CF/přenašečství, DNA pacienta + mix sond na nejčastějších 36 mutací, sondy délkově rozlišeny (sondy jsou navrženy ke zdravé WT sekvenci CFTR i k nemocné sekvenci – řádek pod ní). Fragmenty se vloží do přístroje Sekvenátor, rozlišení v sekvenátoru podle jejich délky. Přítomnost píku podle kterého řádku – v horním zdravý, v dolním pokud je přítomnost, tak homozygot nemocný, a když v obou – přenašeč (heterozygot).

DNA laboratoř OLG FNO

Výstupy z fragmentační analýzy, kterou aktuálně používáme pro detekci patog. variant v genu *CFTR* (souprava f. Devyser: Devyser *CFTR* Core, Švédsko), skládá se ze 2 mixů, proto k jednomu vzorku jsou "2 řádky píků" - horní je pro wild type sekvenace a spodní pro mutované (mutantní var. ve vzorku se označí sama) + varianty v intronu 8 (poly T trakt).



Výsledek –molekulárně genetické vyšetření na přenašečství/dg. CF: 36 variant , OLG FN Ostrava

Izolace DNA z periferní krve byla provedena s použitím soupravy MagNA Pure Compact NA Isolation Kit (f. Roche). Patogenní sekvenční varianty v genu *CFTR* (ref. sekvence cDNA NM 000492.3): 3120+1G>A, 711+1G>T, 621+1G>T, 1717-1G>A, CFTRdele2,3(21kb), 3849+10kbC>T, 2789+5G>A, 1898+1G>A, Gly542X, Gly85Glu, Tyr1092X(C>A), Gly551Asp, Arg553X, 3659delC, Asn1303Lys, Arg560Thr, Arg117His, Arg1162X, Leu1077Pro, Arg117Cys, Arg1066Cys, Leu1065Pro, Trp1282X, Arg347His, Arg347Pro, Ile507del, Thr338Ile, Phe508del, Ile336Lys, 1677delTA, Arg334Trp, 3272-26A>G, 1078delT, 2183AA>G, 2184insA, 2143delT, 5T (9-13TG), 7T, 9T byly detekovány pomocí soupravy Devyser CFTR Core (f. Devyser AB, Švédsko).

ÚROVEŇ PROTEINU*

p.[=];[=]

ÚROVEŇ cDNA*

c.[=];[=]

Mutační analýzou rozšířeného spektra **36 mutací v genu *CFTR* (7q31.1)** nebyla v DNA probandky nalezena žádná z vyšetřených sekvenčních variant (c.[=];[=] IVS-8: 5T/7T). K potvrzení diagnózy cystické fibrózy na molekulární úrovni je tedy nutný nález mutace na obou alelách genu. V případě mužské neplodnosti v důsledku kongenitální absence vas deferens a chronické idiopatické pankreatitidy lze za kauzální příčinu považovat nález jedné mutace v genu *CFTR* (zejména p.Phe508del nebo Arg117His), která se nachází na intragenovém pozadí varianty v IVS-8: 5T (místo sestřihu exonu 9). **Patologický význam samostatného výskytu variant IVS-8: 5T a IVS-8: 7T není dosud jednoznačně vysvětlen.** V naší laboratoři běžně vyšetřujeme 8 nejčastějších mutací, které představují asi 84,9 % mutací vyskytujících se u nemocných cystickou fibrózou v ČR. Vyšetření je možné rozšířit o 28 dalších mutací, kde je zahrnuto více než 97% dosud známých populačně specifických alel. Vyšetření by však mělo být podloženo abnormálním výsledkem v potním testu nebo jinou zásadní indikací.

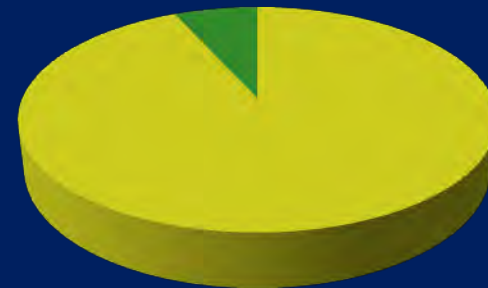
Naše zkušenosti s diagnostikou CF DNA laboratoř OLG FN Ostrava

Celkem bylo na **CF vyšetřeno 3745 vzorků,**

Z toho **3492 vzorků negativních** pro vyšetřované sekvenční varianty.

U 236 vzorků byla nalezena patogenní sekvenční varianta v heterozygotním stavu:

169 (71%) vzorků s variantou p.Phe508del;
15 (6,3%) p.Arg117His (R117H) -anglosaská
11 (4,6%) CFTRdele2,3(21kb); slovanská
8 (3,3%) p.Arg1162Ter (R1162X) rakouská
7 (2,9%) p.Gly542Ter (G542X) židovská
6 (2,5%) p. Asn1303Lys (N1303K) středomoří
6 (2,5%) c.3849+10kbC>T slovenská
4 (2,5%) p.Trp2198Ter (W1282X) izraelská
1 (0,04%) p.Gly551Asp (G551D) keltská
1 p.Arg553Ter (R553X) –slovenská/polská
1 c.1717-1G>A polská
1 c.2184insA ukrajinská/madžarská/PL/SR
1 p.Leu1070Pro
1 (0,04%) c.1766+1G>A (1898+1G>A)



Mutace	Frekvence	
	v ČR v %	OLG
F508del	70,7	71
CFTRdele2,3(21kb)	6,4	4,6
G551D	3,7	0,04
N1303K	2,8	2,5
G542X	2,1	2,9
1898+1 GtoA	2,0	0,04
2143delT	1,1	
R347P	0,74	
W1282X	0,6	2,5
		R117H 6,3
		c.3849+10kbC>T 2,5
		R1162X 3,3

Naše zkušenosti s diagnostikou CF DNA laboratoř OLG FN Ostrava, potvrzena dg. CF

U 17 vzorků byly nalezeny 2 patogenní varianty potvrzující dg. cystické fibrózy:

11 vzorků p.Phe508del v homozygotním stavu na obou alelách genu

6 složených heterozygotů:

c.1717-1G>A a p.Phe508del

c.3849+10kbC>T a p.Phe508del

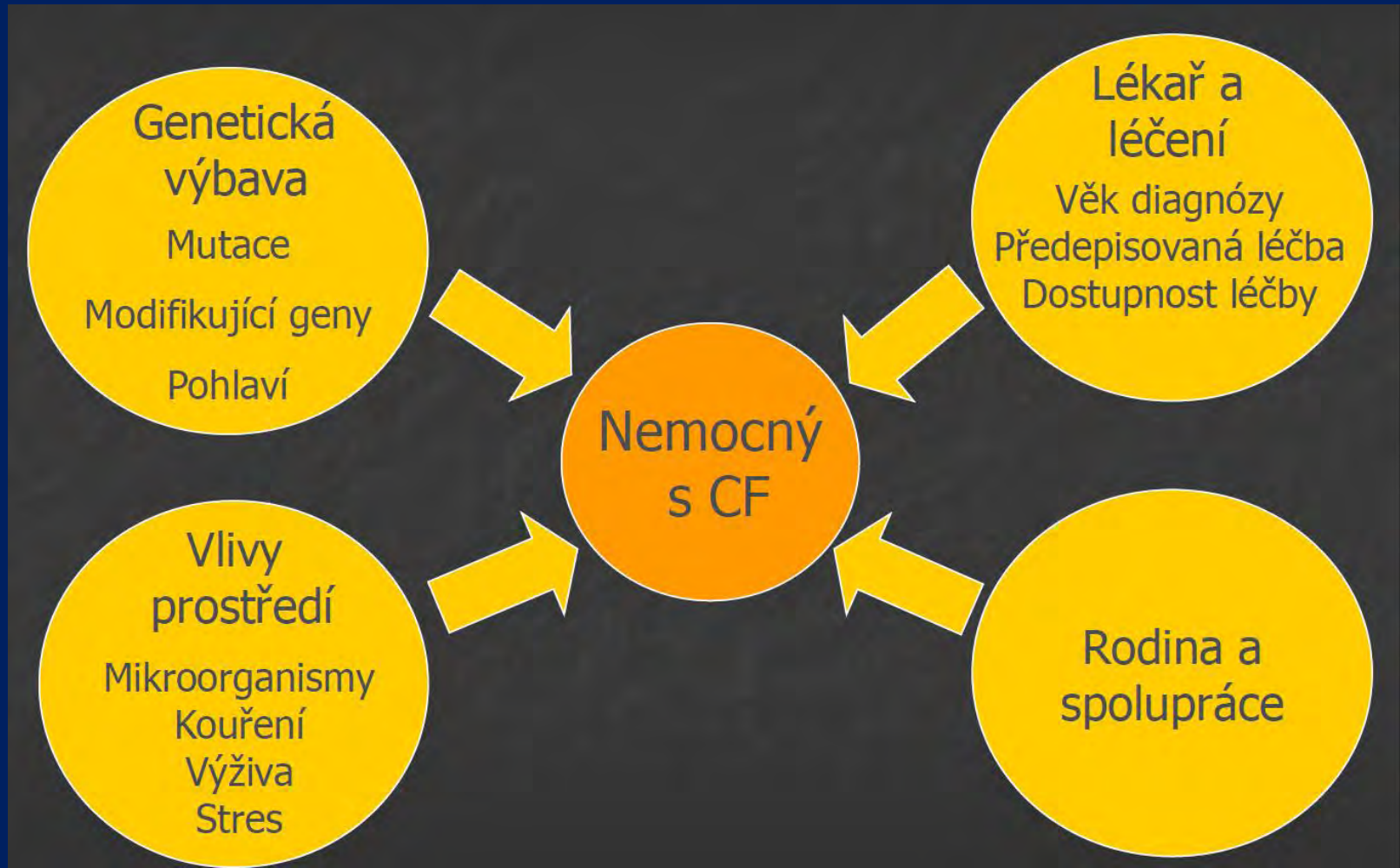
p.Arg542Ter a p.Phe508del

p.Arg1162Ter a p.Phe508del

p.Gly551Asp a p.Phe508del

Asn1303Lys a c.3849+10kbC>T

Vlivy působící na průběh CF



- Různé mutace genu ovlivňují fyziologickou funkci tohoto proteinu různou měrou a projevují se rozdílnou expresivitou

3 PILÍŘE LÉČBY CF

Postural drainage is a technique for loosening mucus in the airway so that it may be coughed out



Péče
o stav
výživy

Průchodnost
dýchacích
cest

Kontrola
infekce

PROGNÓZA CF

- V roce 1938, kdy prof. D.H. Andersen CF popsala, umíralo 70% nemocných v 1. roce života.

Před 40 lety pacienti umírali většinou v prvních letech života.

Dnes 90% 20 let, 50% 40 let.



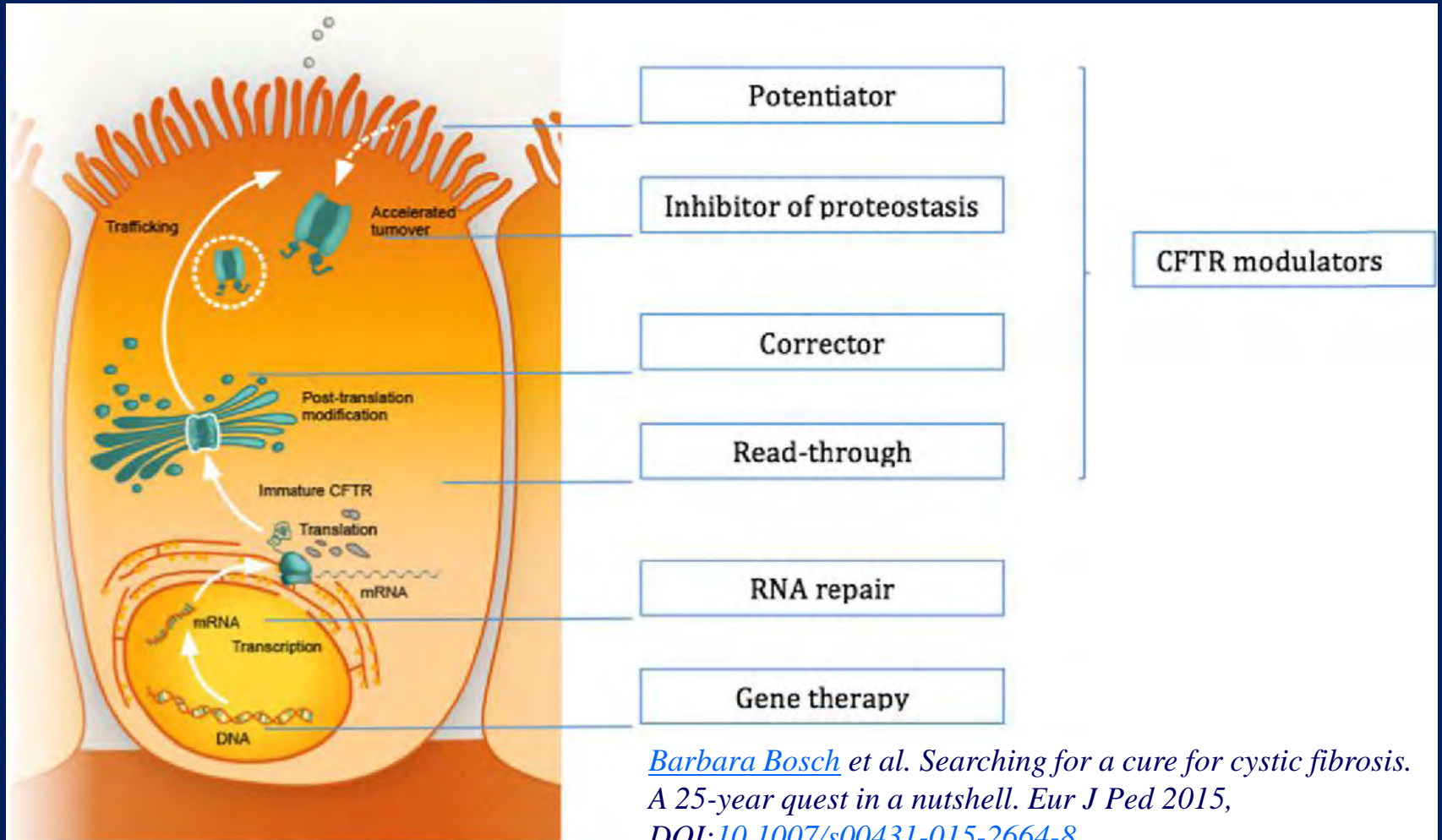
1901 - 1963

- **50% nemocných přežívá 37,6 let**
- Polovina nemocných ve světě jsou dnes dospělí, i **u nás je dnes je 40 % nemocných s CF v dospělém věku**
- CF je nemoc závažná, v **současnosti nevléčitelná, ale léčitelná**
- **Včas stanovená diagnóza**, zavedení **adekvátní léčby**, monitorování infekce dýchacích cest, péče o jejich hygienu a péče o dobrý stav výživy jsou pro prognózu zásadní
- **Spolupráce nemocného**

Jaké jsou vyhlídky pacientů s CF dnes?

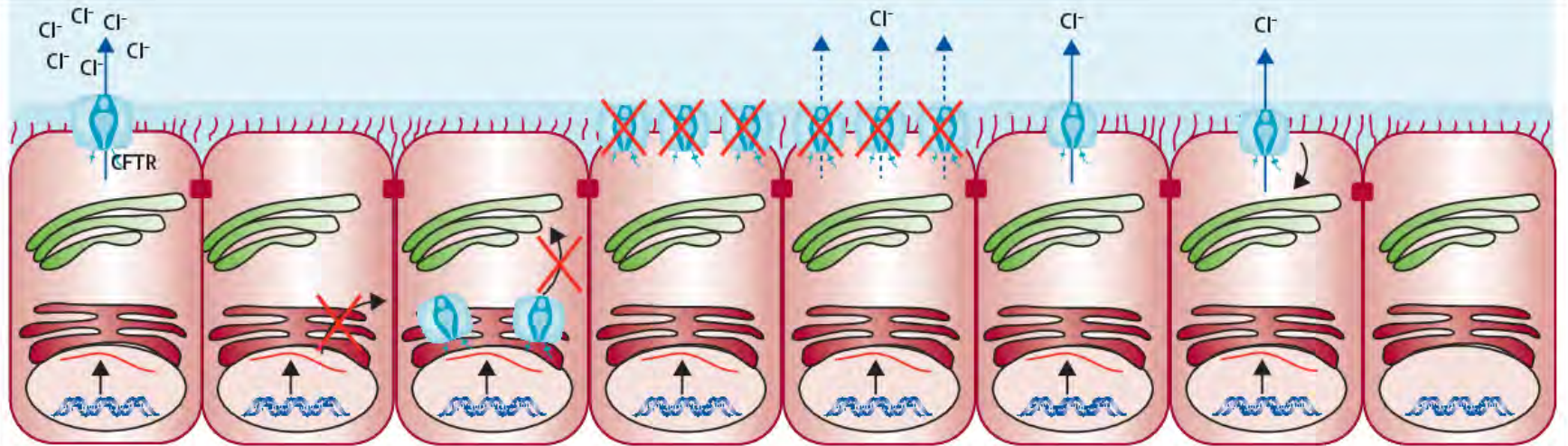
- z diagnostikovaných pacientů se **dožívá polovina pacientů 38 let**
- V Kanadě je to nyní už **50.9 let** (např. v roce 1980 to bylo jen 12 let)
- v USA nyní více než **41 let** (v roce 2000 to bylo 32 let)
- ve Velké Británii více než 43 let (např. v roce 2008 to bylo 38.8 roků)
- Z těchto dat je vidět, že se předpokládaný věk přežití CF pacientů neustále rok od roku výrazně zvyšuje.
Můžeme jen hádat, jak vysoká budou ta čísla za dalších 5-10 let?
- ČR nově narozený novorozenec s CF - šance na dožití je 50let

Jak opravit/posílit/změnit chybný CFTR protein?



Barbara Bosch et al. Searching for a cure for cystic fibrosis. A 25-year quest in a nutshell. Eur J Ped 2015, DOI: [10.1007/s00431-015-2664-8](https://doi.org/10.1007/s00431-015-2664-8)

CF – novinky v léčbě



Wild-type CFTR

	Class I	Class II	Class III	Class IV	Class V	Class VI	Class VII
CFTR defect	Žádný protein, mRNA ano	Chyba vycestování proteinu	Nedostatečné otevření kanálu	Narušené vedení kanálem	Méně proteinu v membráně	Nestabilita proteinu v membráně	Žádný protein, mRNA ne
Příklady mutací	Gly542X, Trp1282X	Phe508del, Asn1303Lys, Ala561Glu	Gly551Asp, Ser549Arg, Gly1349Asp	Arg117His, Arg334Trp, Ala455Glu	Ala455Glu, 3272-26A→G, 3849+10 kg C→T	c. 120del23, rPhe508del	dele2,3(21 kb), 1717-1G→A
Způsob terapie	Obnova syntézy proteinu	Záchrana vycestování k membráně	Obnova otevření kanálu	Zvýšení vedení kanálem	Zvýšení vedení kanálem	Zlepšení stability	Bez možnosti záchrany
Lék (klinické použití v praxi)	Supresory (ne)	CFTR korektory (ano)	CFTR potenciátory (ano)	CFTR potenciátory (ano)	CFTR potenciátory (ano)	CFTR stabilizátory (ne)	Genová terapie (ne)

CF – novinky v léčbě

Preclinical stage
 Phase I, Phase II, Phase III
 Available to patients
 (*in combination with Ivacaftor)

Potentiator
 Ivacaftor
 CTP-656
 QBW251
 GLPG1837/ABBV-974
 FDL-176

Combitherapy
 Ivacaftor/lumacaftor
 Ivacaftor/lumacaftor/N91115
 Ivacaftor/N91115
 Cysteamine/EGCG

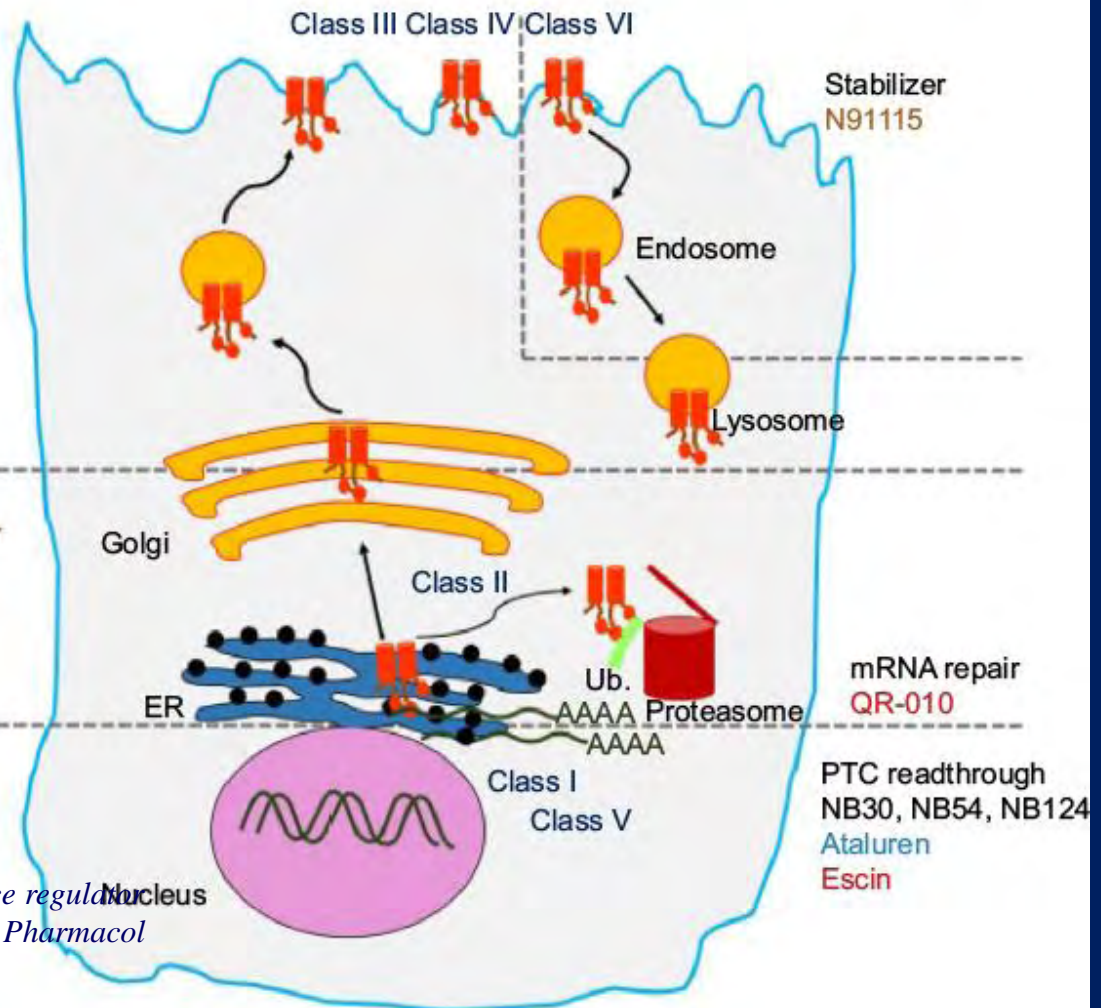
Corrector
 Lumacaftor*, tezacaftor
 VX-152, VX-440
 Sildenafil, riociguat
 FDL-169
 PTI-C1811

Amplifier
 PTI-428

Stabilizer
 N91115

mRNA repair
 QR-010

PTC readthrough
 NB30, NB54, NB124
 Ataluren
 Escin



Schmidt et al.: Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator modulators in cystic fibrosis: current perspectives, *J Clin Pharmacol* 2016, <https://doi.org/10.2147/CPAA.S100759>

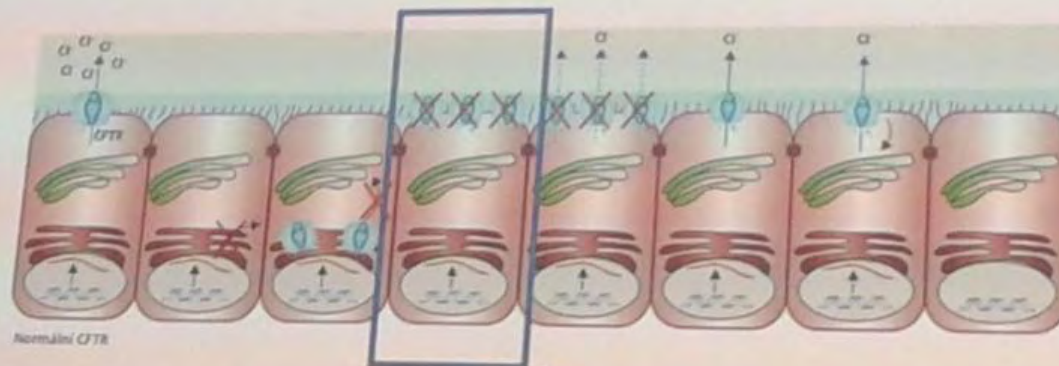
Jak opravit/posílit/změnit chybný CFTR protein? Cílená léčba podle typu mutace

- Od r. 2012 je ve světě (v ČR v současnosti jen omezeně) dostupný **první kauzální lék na CF**, a to **ivakaftor (Kalydeco)**; dávka 2krát 150 mg), potenciátor CFTR proteinu u mutace G551D a dalších mutací III. a IV. třídy. Jeho zavedení do praxe je událostí srovnatelnou s objevem genu *CFTR*.
- v r. 2015 byl registrován další kauzální lék, a to **kombinace ivakaftoru s lumakaftorem (Orkambi)**; dávka 2krát 400/250 mg; lumakaftor patří mezi **korektory** CFTR proteinu) pro homozygoty F508del.
- Obecně tuto skupinu léků označujeme jako **modulátory CFTR** proteinu
- přičemž **korektory** zvyšují množství CFTR proteinu v buněčné membráně, kdežto **potenciátory zlepšují jeho funkci**

(AR) Cystická fibróza –tzv. keltská mutace/Ivacaftor

Kauzální terapie: korekce molekulárního defektu CFTR

Ivacaftor (Kalydeco™) – potenciátor funkce CFTR



III. třída

G551D (od 2012) + 8 dalších mutací (od 2015)
celkem 5% všech pacientů s CF

Ramsey et al.; N Engl J Med 2011; 365: 1663–72.
De Boeck et al.; J Cyst Fibros 2014; 13: 674–80.

- **Ivacaftor/KALYDECO:**
- pacienti od 6 let věku: užívá t.č. (září 2018) 18 pacientů v ČR
- Od 2 do 6 let věku: 1 pacient

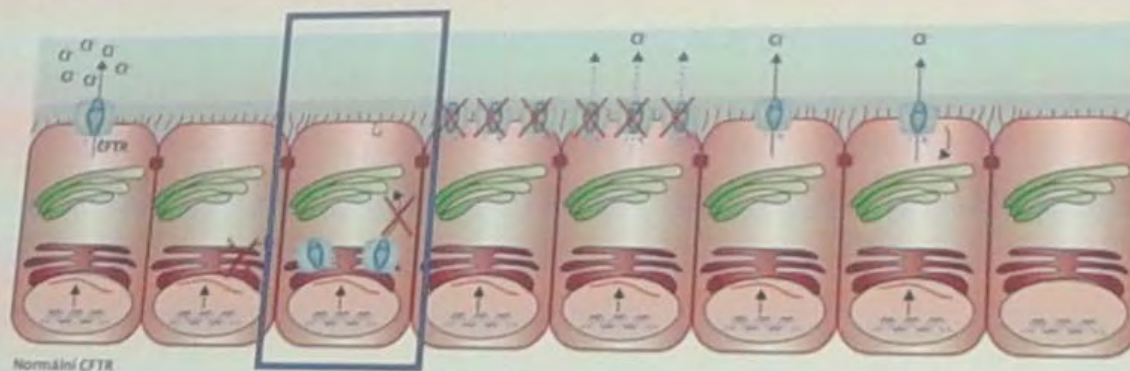
MUDr. Doušová FN a 2.LFUK Praha Motol

(AR) Cystická fibróza – novinky v léčbě/Lumacaftor

Kauzální terapie: korekce molekulárního defektu CFTR

Lumacaftor (korektor vycestování CFTR proteinu k membráně)

+ Ivacaftor (potenciátor funkce CFTR): **Orkambi™**



II. třída

F508del v homozygotním stavu (od 2015)
celkem 40 – 45% s CF

Wainwright et al, TRAFFIC Study Group, TRANSPORT Study Group. *N Engl J Med* 2015; 373: 220–31.
Dekkers et al., *Journal of Cystic Fibrosis* 2012;7:S32

Lumacaftor+Ivacaftor=ORKAMBI:

- pacienti od 12 let věku: užívá t.č. (září 2018) 20 pacientů v ČR
- Schváleno od 6 let věku, ale žádný mladší 12 let v ČR neužívá

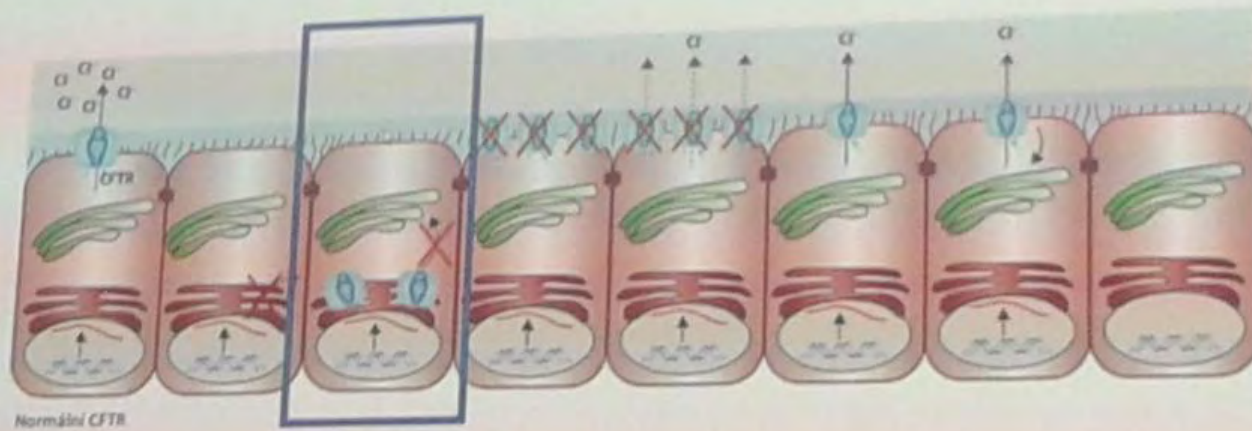
(AR) Cystická fibróza –novinky v léčbě ohledně nejčastější F508del mutace, proč je to tak složité?

Na mutaci F508del lze současně demonstrovat složitost problematiky léčby **modulátory CFTR proteinu**. Tato mutace je řazena do **II. třídy**. Pokud však po „záchraně“ **pomocí korektoru** (lumakaftor) dosáhne CFTR protein buněčné membrány, nabývá vlastností mutací **třídy III** a **vyžaduje podání potenciátoru (ivakaftor)**. Současně se zrychluje obrat „zachráněného“ F508del-CFTR proteinu v buněčné membráně, který tím nabývá vlastnosti mutací **třídy VI**. Logickým krokem je zde vývoj léků schopných prodloužit dobu, po kterou je CFTR protein v buněčné membráně aktivní („**stabilizátory**“ **CFTR proteinu**).

(AR) Cystická fibróza – novinky v léčbě/Tezacaftor

Kauzální terapie: korekce molekulárního defektu CFTR

Tezacaftor (korektor vycestování) + Ivacaftor (potenciátor funkce): Symdeko™, Symkevi™



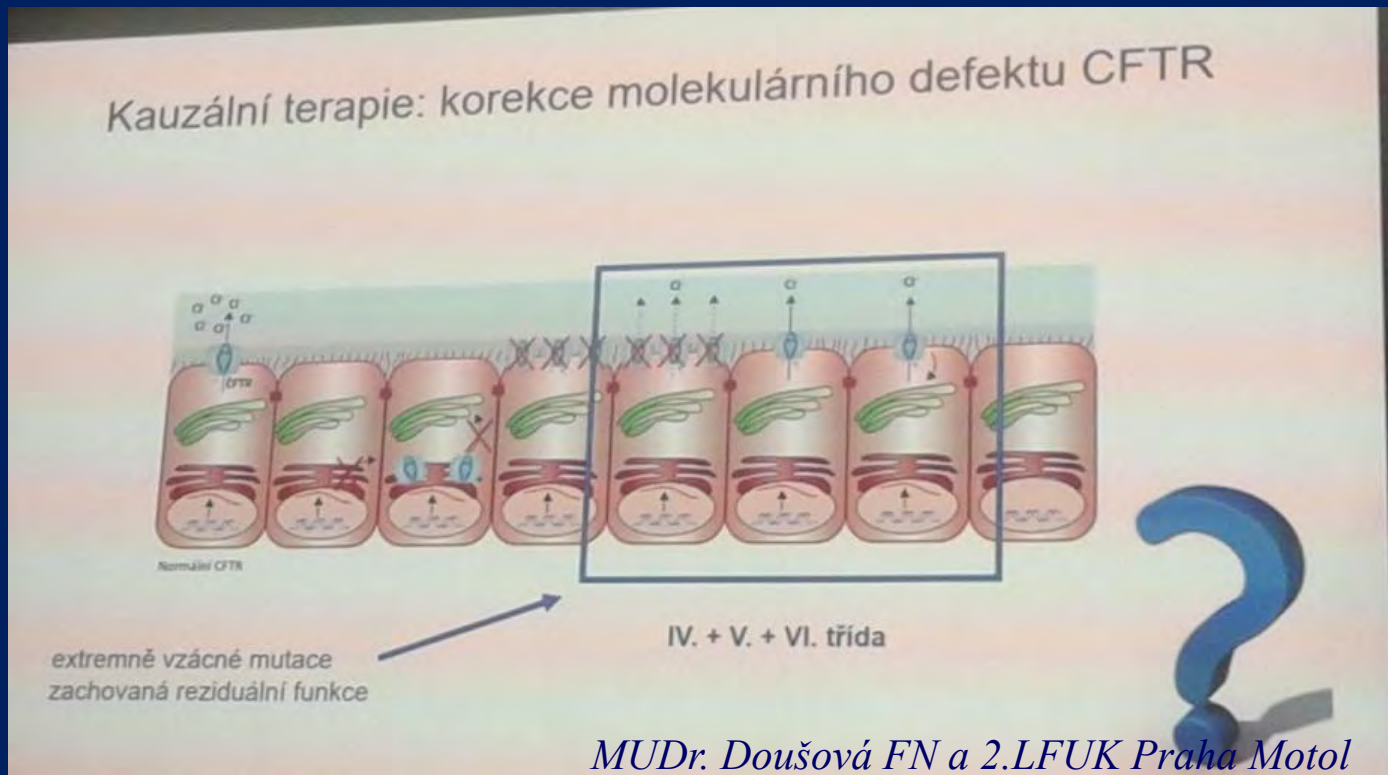
II. třída

F508del v homozygotním stavu (od 2018),
celkem 40 – 45%

Cousar J. et al, EVOLVE Study Group. N Engl J Med 2017; 377: 2013–23.

Tezacaftor+Ivacaftor=SYMDEKO: v ČR zatím nikdo

(AR) Cystická fibróza –výhledy do budoucna



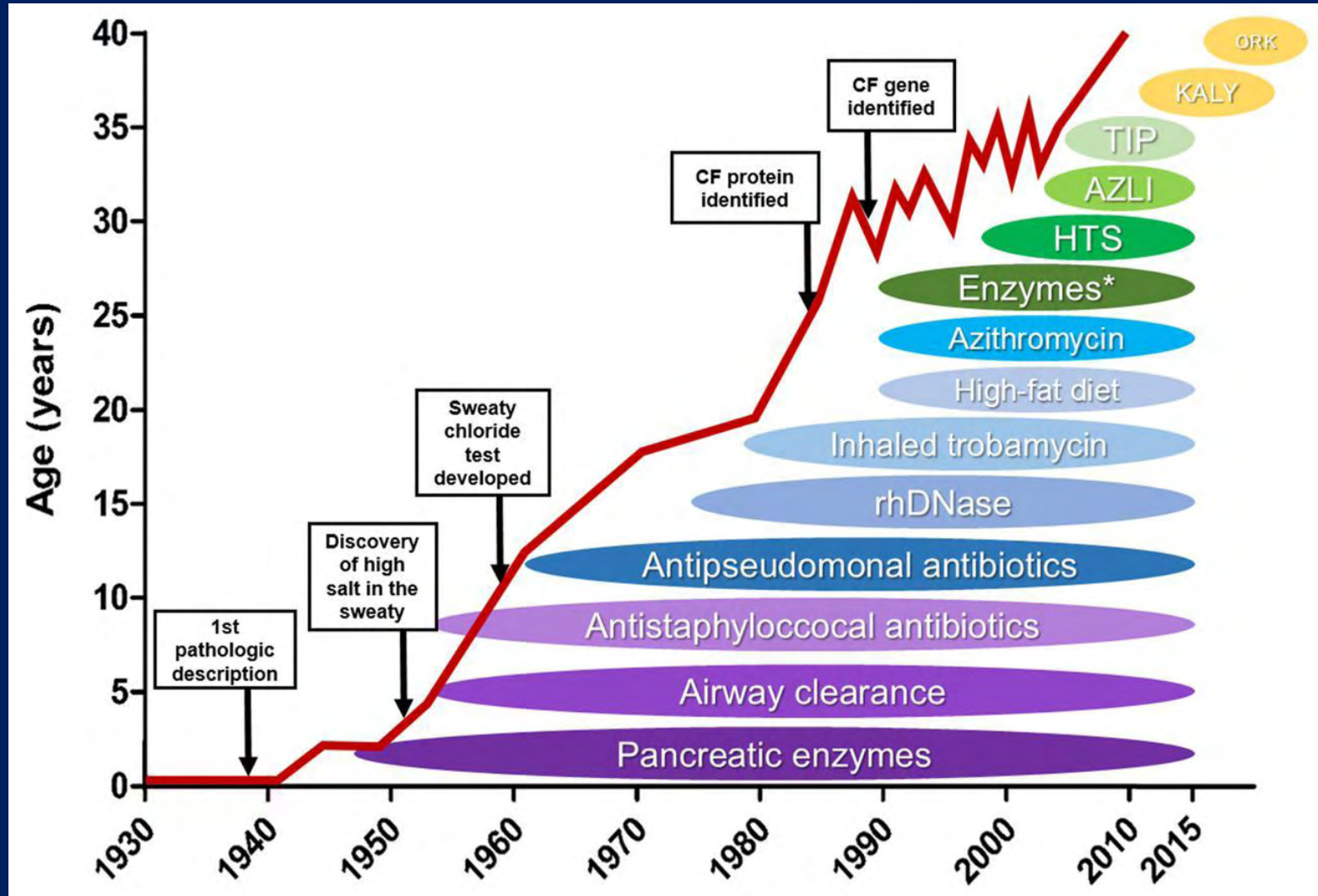
Potní test



=

Marker účinnosti nejmodernější terapie na klinické úrovni, podle výsledků responder/nonresponder...

Jak se měnila léčba CF během dějin



Problém: budoucnost genové léčby?



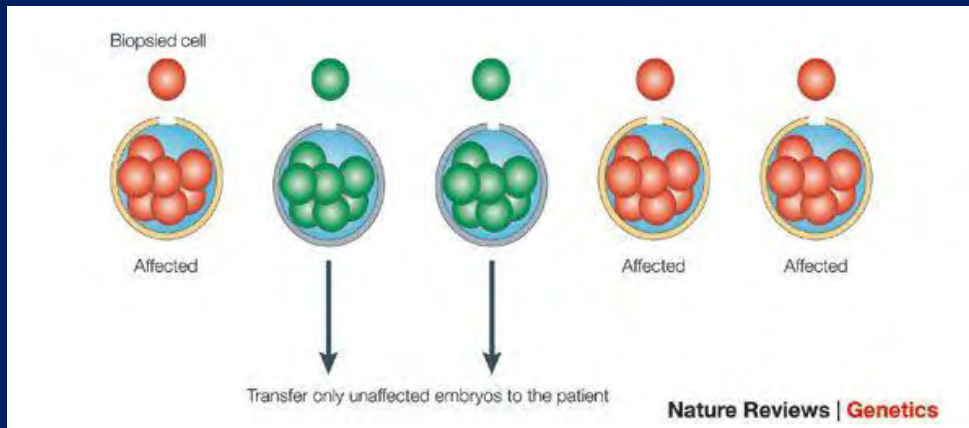
Genová terapie/ale i enzymová substituční terapie u vzácných nemocí: celospolečenský/hospodářský problém/cena!!!!!!

- Kalydeco (ivacaftor) stojí 500 tisíc Kč/měsíc/ **6 mil Kč/rok**
- Orkambi (lumacaftor/ivacaftor) i **Symdeco (tezacaftor+ivacaftor):**
: pro americký trh 259 000 dolarů/rok, ČR: **5mil Kč/rok**
- V ČR nyní 632 lidí s CF
- Úhrada pojišťovnou v indikovaných případech zatím jen na 2 roky
- Problém: komu a komu ne?
- Kdo to rozhodne?



Kalydeco/ prodejní cena	500 059,70 Kč
Orientační doplatek	34 265,4 Kč

Prevence přenosu CF do další generace – u známé dg. CF v rodině



**Možnosti ovlivnění
přenosu do další
generace -
předimplantační
diagnostika a
zavedení „zdravého“
embrya zpět do
dělohy matky**

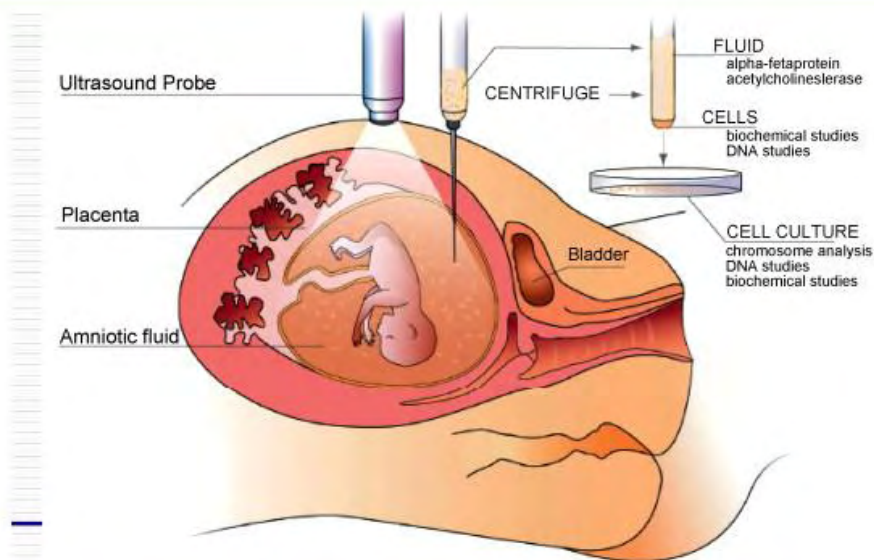
U známé podstaty dědičné nemoci
v rodině – PGD – prevent genetic
disease;
**předimplantační genetické
poradenství** (Repromeda,
Gennet)



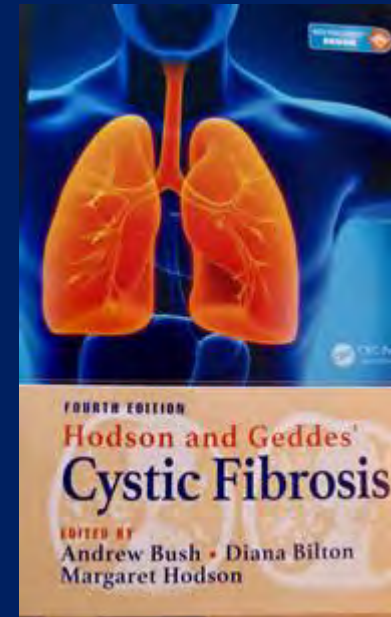
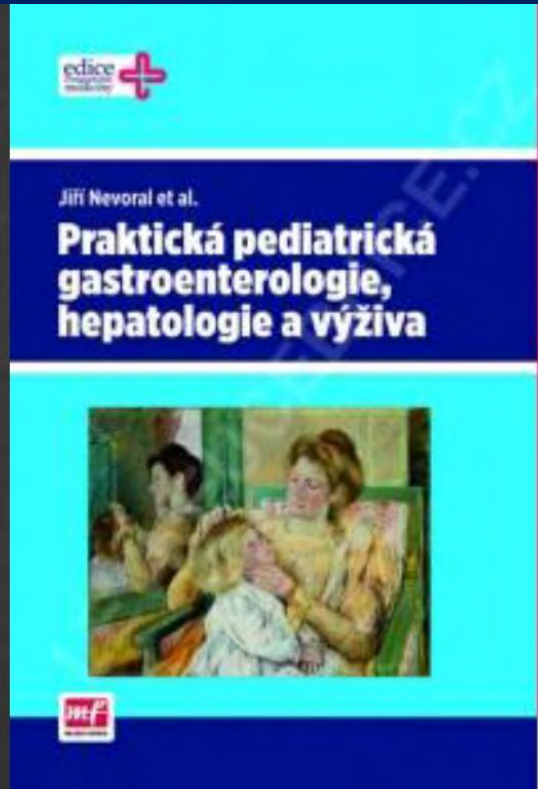
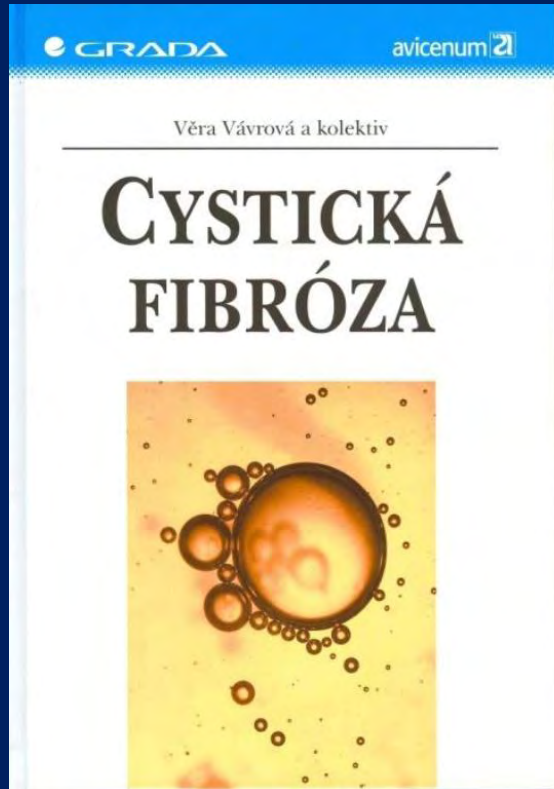
Prenatání diagnostika – u neznámé CF v rodině, podezření na CF

Intraabdominální masa, hyperechogenita střevních kliček...- podezření na CF, odběr plodové vody (AMC)- molekulárně genetické vyšetření CF

Prenatal Genetic Screening



Užitečná Literatura a odkazy



Alena má „slané děti“. Zákeřnou chorobu dýchacích cest trpí oba její synové



Několikahodinová léčba je pro pacienty s cystickou fibrózou nedílnou součástí každého dne. Nemocní musejí čistit své plíce, aby se v nich neusazoval vazký hlen, ve kterém se pak mohou množit bakterie. To dělají s pomocí inhalací, dechové fyzioterapie a rehabilitace, berou velké množství léků a musí dodržovat přísný hygienický režim. Léčba je pro pacienty velmi omezující, ale neexistuje jiná možnost. „Marek a Jirka inhalují třikrát denně po 20 minutách, poté musí rehabilitovat, berou spousty léků a vitaminů,“ popsala jejich matka Alena. Inhalátory, léky a speciální strava vyjde rodinu na osm tisíc měsíčně.

Alena má „slané děti“....

Žádný bazén ani školy v přírodě

„Pacienti nemohou přijít do styku se stojatou vodou, hlínou či nedezinfikovanými prostory.

Nesmí **utírat tabuli** houbou...

Marek (14) a Jirka (17) nemohou jezdit **hromadnou dopravou**, nesmí chodit **do kina** nebo do **divadla**, nemohou se spolužáky vyrazit na školu v přírodě a nikdy si nezaplavou ve veřejném **bazénu**. Pacienti by se neměli ani vzájemně setkávat, aby nedošlo k přenosu nebezpečných bakterií.

Pacienti s CF nejsou schopni běžně trávit potravu, **musí stravu doplňovat** nutričními drinky a vysoce kalorickou výživou.

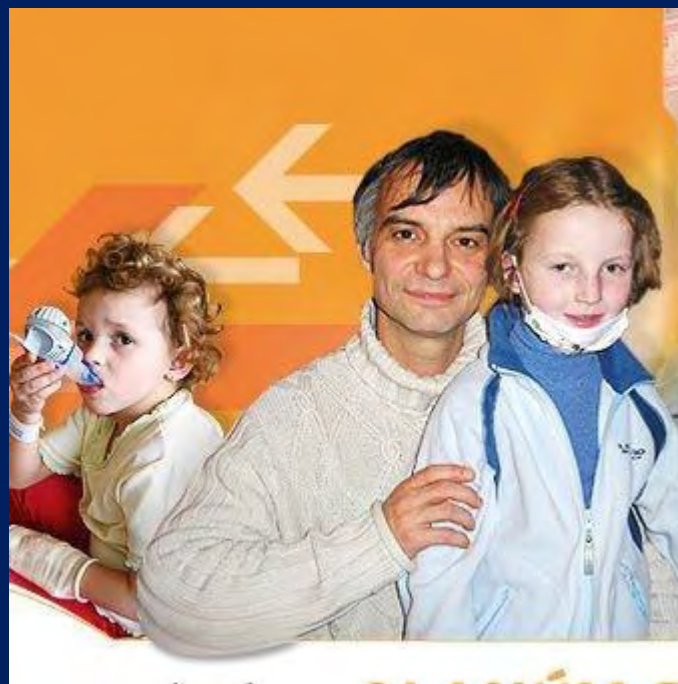
Musí polykají prášky před každým jídlem, inhalovat 3x denně po 20minut...



Centra léčby cystické fibrózy v ČR



Pro děti: Centrum cystické fibrózy II. LFUK a FN Praha Motol



Pro dospělé CF: při plicních klinikách fakultních nemocnic v Praze-Motole, Brně-Bohunicích, Hradci Králové, Olomouci a Plzni.

Klinika dětí a dorostu FNO – pulmologická ambulance MUDr. Veronika Mohylová

- **V péči 7 pacientů s CF**, nejstarší 18let, nejmladší 2,5 měsíce
- **Dif.dg. dětí s podezřením na CF**
- **Potní test – Macroduct ambulantně**
- **molekulárně – genetická diagnostika CF ve spolupráci s OLG**





<https://www.cff.org/>

Cystic fibrosis
foundation

Pacientské, rodičovské a pomocné organizace

Pacientské organizace:

Klub nemocných cystickou fibrózou (www.cfklub.cz)

Spolek Solnička (<http://os-solnicka.cz>).

Nedílnou součástí péče o pacienty je psychosociální podpora. <http://www.cystickafibroza.cz/>

BEZ VÁS JIM DOJDE DECH...

Prodlužte život lidem s cystickou fibrózou.

Váš dar jim umožní bojovat s jejich nemocí déle a účinněji.
Každou darovanou korunu Nadace Vodafone zdvojnásobí.

Chci přispět

CF Hero

Klub cystické fibrózy

Nadace Vodafone Česká republika

Pečujte o zdraví zubů

I Váš nákup může
pomoci potřebným!

TESCO **elmex** **meridol** **Colgate**



**poskytnou 2 % z prodejů na pomoc
nemocným cystickou fibrózou ***

*částka odpovídá 2% z celkových prodejů (bez DPH) značek Colgate, elmex a meridol v období 13. 9. 2017 až 10. 10. 2017 v rámci všech prodejů společností Tesco Stores ČR a.s. V České republice bude společností Colgate - PALMOLIVE Česká republika spol. s r.o. a Tesco Stores ČR a.s. poskytnuta Klubu nemocných cystickou fibrózou, z.s.

Pomoc nemocným s CF





Věra Vávrová, Jana Bartošová
a kolektiv CF centra FN Motol

CYSTICKÁ FIBRÓZA

příručka pro nemocné a jejich rodiče

3. doplněné vydání



KLUB NEMOCNÝCH CYSTICKOU FIBRÓZOU

Darujme rok života

Na světě neexistuje lepší dárek
než je **budoucnost**

Veřejná sbírka:

Pomáháme slaným dětem

KLUB NEMOCNÝCH CYSTICKOU FIBRÓZOU Z.S.



#SlaneVanoce

Život s CF...



JEDEN CELÝ ROK, 92 DOSPĚLÝCH, PŘES 9500 KILOMETRŮ
25 MĚST VE DVOU STÁTECH,...**KONEČNĚ HOTOVO!**

Nyní na prodej!

DOSPĚLÍ NEMOCNÍ S CYSTICKOU FIBRÓZOU



Salty girls projekt JUST BREATHE, www.cystickafibroza.cz



slané ženy
2015

foto: Tomáš Třeštík

Thank you for following me!



#adrian.com