

Funktionerna kring cystisk fibros klarnar alltmer

Aktuell forskning och framtidsvisioner

Ett utmärkt samarbete mellan kliniker och forskare inom alla områden har givit patienter med cystisk fibros (CF) stora förhoppningar om framtiden. Genen är kartlagd i minsta detalj, och dess funktioner klarnar alltmer. Diagnostiken förbättras och förenklas stadigt, och nya behandlingsmetoder finns redan i kliniskt bruk.

Den förväntade livslängden för patienter med cystisk fibros (CF) har stadigt förbättrats, och för dem som föds i Sverige idag torde den vara över 40 år. Detta har skett tack vare en omfattande klinisk forskning och införandet av en mångfacetterad vård omfattande sjukdomens alla aspekter – medicinska, psykologiska, sociala och ekonomiska [1]. Vården är dock fortfarande arbetsam, tidskrävande och ekonomiskt betungande för såväl patient som samhälle.

Forskningen måste därför gå vidare för att finna nya, mer kausala vägar till en bot mot CFs grunddefekt. Den mest visionära forskningen är nu koncentrerad kring molekylärbiologi och genetik. Men den sker som en integrerad del i ett allomfattande forskningsprogram där klinik, fysiologi, kemi, immunologi, genetik, mikrobiologi, m fl discipliner deltar, och där helhetssynen på patienten med psykiska och sociala, etiska och moraliska synpunkter ständigt är med.

CELLBIOLOGI

Under en värmebölja i New York i början av 1950-talet drabbades många CF-patienter av akut hyponatremi. Detta gav Paul diSant'Agnese tanken att

Författare

HANS KOLLBERG

professor, överläkare, Uppsala Cystisk fibros center, Akademiska barnsjukhuset, Uppsala.

CF-patienter kunde förlora stora mängder salt i sin svett, vilket han också visade [2]. Med elektrofysiologiska studier kunde Paul Quinton 30 år senare påvisa att kloridjoner normalt återresorberas i svettkörtlarnas utförsgångar men inte hos CF-patienter [3].

Det stora problemet för CF-patienterna är luftvägarna. Sekretoriska celler hos CF-patienter har en starkt minskad kloridutsöndring och samtidigt mer än dubbel ökning av Na-återresorptionen. Med hjälp av mikroelektrodstudier på vävnadsodlingar har kloridutsöndringen lokaliserats till det apikala membranet av sekretoriska celler, där man också huvudsakligen finner CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator), dvs den gen som är muterad vid CF [4-6]. I mukösa körtlar är CFTR koncentrerad till de serösa celler som ligger längst ut i körtlarna. Cellerna i luftvägsepitelet är heterogena, och elektrolyt- och vattentransporten i luftvägarna är beroende av en rad svårundersökta faktorer, såsom flera olika jonkanaler med skilda riktningar och skilda verkningsmekanismer, intracellulärt pH, cellmembranernas struktur, interstitiellt hydrostatiskt tryck och kapillärkrafter [7]. En del forskningsresultat har därför varit svåra att tyda.

Den transepiteliala potentialen över nässlemhinnan är starkt hyperpolariserad hos CF-patienter (-30 mV; att jämföras med -8 mV hos referenser) [8], och den är påverkbar av amilorid i lumen. Detta tyder på en ökad Na-absorption via en amiloridsensitiv pump hos CF. Minskad sekretion av klorid och ökad återresorption av natrium medför minskad sekretion av vatten ut i lumen. Därvid försvåras utsköljningen av slem från mukösa celler.

CFTR – regulator med många funktioner i cellmetabolismen

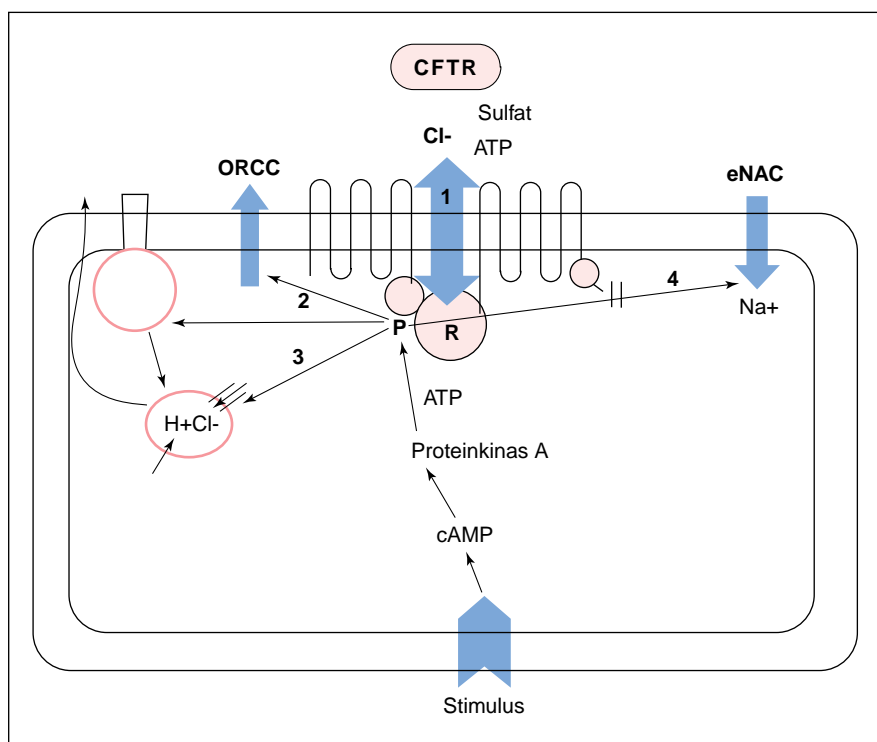
CFTR har många funktioner: framför allt transport av klorid, men också av andra små polariserade partiklar, både över apikala cellmembranet och över intracellulära membran; regulator av sin egen kanal och av ORCC (outward rectifying chloride channel) och av den amiloridkänsliga natriumkanalen (eNAC) (Figur 1). Epitelceller har såle-

des två viktiga kloridkanaler, dels CFTR, som är cAMP-beroende och induceras av beta-2-agonister [9], dels ORCC som är Ca-beroende och aktiveras bl a av ATP och UTP. Dessa kanaler har ett nära funktionellt samband. Även den Ca-beroende kloridkanalen synes vara nedreglerad vid CF – bl a påverkas CF-celler inte i lika hög grad som kontrollceller av värmestabil toxin från *E coli*, som är en induktor för ORCC. In vitro kan ORCC induceras av UTP både i CF- och i kontrollvävnad. Fas 3-studier är nu igång i USA för att undersöka om inhalation av en blandning av amilorid och UTP kan förbättra elektrolyt- och vattentransporten i luftvägarna och därmed åstadkomma en bättre mukociliär clearance hos CF-patienterna.

Okända funktioner kan förklara tidigare fynd

En förändring i CFTR, som har så många vitala funktioner inom cellmetabolismen, måste ge en rad primära och sekundära patologiska reaktioner. Mycket av tidigare fynd kan säkerligen förklaras av dessa och andra ännu okända funktioner hos CFTR:

- En ökad sulfatering av bronkiellt mucus har påvisats vid CF.
- Iakttagelser om ökad polyaminhalt i CF-patienters blod och störd RNA-metylering [10] kan kanske få sin förklaring av en minskad transport av små polariserade partiklar.
- Många förändringar i den intracellulära energiförsörjningen har påvisats: ökad pentosfosfatshunt [11], förändrad NADH-dehydrogenasaktivitet [12], ändrad glykolys [13], förändrad RNAs [13] och indicier på ökad basal energiåtgång [14]. En förklaring härtill kan vara att primära och sekundära följder av en mal fungerande CFTR måste korrigeras med elektrolyttransporter via energikrävande kanaler och pumpar.
- CFTR har också inflytande på endo- och exocytos [15]. Endocytos minskade vid forskolinbehandling, och exocytos ökade vid cAMP-stimulering av CFTR-uttryckande celler. De fynd av ökade extracellulära och minskade intracellulära lysosomala enzymer i CF-fibroblaster som Hös-



Figur 1. CFTRs funktioner: 1. Transport av framför allt klorid, men också andra små polariserade partiklar såsom sulfat och ATP över cellmembranets apikala del. 2. Regulator av sin egen kanal, av ORCC och av vesikeltrafiken. 3. Intracellulär kloridkanal som bl a reglerar endosomernas surhetsgrad. 4. Inhibitor av den amiloridkänsliga natriumkanalen (eNAC).

li och medarbetare [16] påvisade kan härvid åter bli intressanta.

- En minskad inaktivering av fosfolipas A2 har konstaterats [17]. Hur detta kan kopplas till grunddefekten i CF-genen är inte klarlagt. Birgitta Strandvik och medarbetare har grundligt studerat hur detta påverkar metabolismen av arakidonsyra och essentiella fettsyror hos CF-patienter. De har goda kliniska resultat av sin totala CF-behandling i vilken ingår högt intag av fett, framför allt i form av fleromättade fettsyror [18].
- Säkerligen kommer också många tidigare rapporterade patologiska biokemiska fynd vid CF, bl a en särskild »CF-faktor» i sekret, blod och vävnadsodlingar [19], att kunna förklaras av ändrade intracellulära elektrolyt- och pH-förhållanden med därav följande förändringar både av enzymaktiviteter och av cellmembranens strukturer.

God miljö för bakterier

CF-patienter härbärgerar så gott som alltid potentiellt patogena bakterier i sina luftvägar. Bakterierna retar till inflammation och är ett ständigt hot för uppblossande lunginfektioner. Dessa i sin tur ger ett allt segare sekret, och en

ond cirkel uppstår. Skilda teorier över skälet till att bakterier är svåra att eradikera från CF-patienternas luftvägar har framförts:

Luftvägarnas försvar mot bakterier och virus i form av peptider (defensiner, m fl) inaktiveras av en förhöjd saltkoncentration i luftvägarna [20]. Denna teori är fortfarande oklar, en del fynd talar för att luftvägsepitel, liksom svettkörtlarnas utförsångar, har en minskad kloridaterresorption [21], andra studier talar emot detta [7].

Utebliven sialysering av receptorer för *Pseudomonas aeruginosa* [22]: *P aeruginosa* har en ökad affinitet till undersialyserade receptorer i luftvägsepitelet. Vid CF fungerar inte kloridkanaler i intracellulära organeller (såsom Golgi, lysosomer, klatrintäckta vesiklar, zymogena granula och endosomer). Detta gör att klorid inte kommer in i organelerna, och sekundärt pumpas inte heller väte in. Följden blir att de får ett högre pH, vilket gör att enzymer med verkningsoptima vid lågt pH arbetar sämre. Eftersom sialyltransferas är ett sådant enzym blir glykoproteiner undersialyserade hos CF-patienter. En ökad fucos/sialinsyrekvot i urin [23] och en undersialysering av transferrin har också påvisats hos CF-patienter [24].

GENETIK OCH MOLEKYLÄRBIOLOGI

Genen för CF, »CFTR», hittades och kodades 1989 [4-6]. Beviset för att man funnit rätt gen var dels att ca 70 procent av CFTR-generna från CF-patienter

hade en deletion i ställning 508, dels att celler från CF-patienter hade en defekt kloridtransport som kunde korrigeras in vitro genom att de transfekterades med CFTR från friska celler. Upptäckten var som att släppa loss anden ur Aladdins lampa; diagnostik, behandling, forskning och förståelse för jontransporter har fått ovärderlig hjälp av den (Figur 2). CFTR har tidigare beskrivits i Läkartidningen [25]. Nio år senare har man hittat över 900 olika mutationer – de flesta privata och förekommande i mycket ringa omfattning [26]. $\Delta F508$ förekommer i ca 70 procent av CF-patienternas gener med stora variationer i olika delar av världen, högst i Danmark och mycket lägre i Sydeuropa och Turkiet. I Sverige är de tre vanligaste mutationerna $\Delta F508$, 394delTT och 3659delC, som står för respektive 68 procent, 8 procent och 7 procent av mutationerna [Charlotta Schaedel, Lund, pers medd 1999]. Förutom mutationer i exoner har man även hittat förändringar i introner, vilket genom »alternativ splitsning» kan ge förändrade mRNA som kodar för proteiner med lätt ändrade egenskaper (isoformer).

Samma CF-mutationer kan ge olika klinisk bild

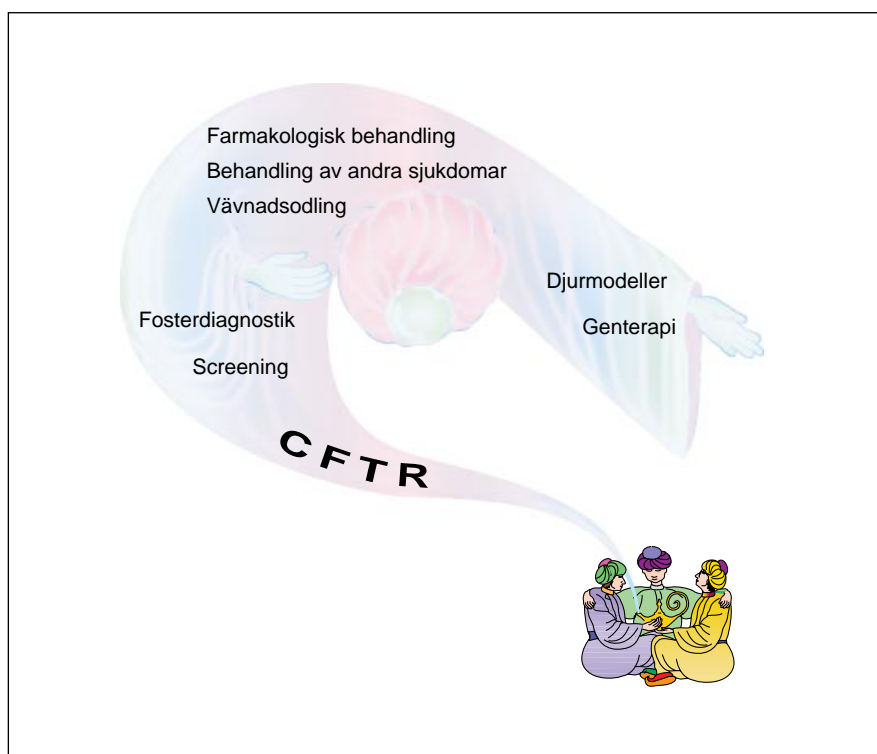
Några absoluta korrelationer mellan genotyp och fenotyp har man inte funnit, men vissa generella uttalanden kan göras. Sålunda synes homozygoti av den vanligaste mutationen, $\Delta F508$, ge en allvarlig sjukdomsbild med tidiga sjukdomstecken, pankreasinsufficiens och förhöjda svettelektrolyter. Men även inom en och samma syskonkrets, som ju har samma CF-mutationer, förekommer stora olikheter i klinisk bild. En förklaring kan vara att de har olika sekvenser framför allt i intron 8 med olika splitsning som följd. Andra och vanligare förklaringar är modifiering genom andra gener (AAT, allergi m m) och genom påverkan av yttre faktorer (infektioner, nutrition etc).

Patienter med kongenital bilateral avsaknad av vas deferens (CBAVD) har ofta en 5T-allel i intron 8, vilket ger stor effekt på CFTR-transkriptionen av exon 9 [27].

Flera mutationer är ofta förbundna med en fungerande pankreas. Enstaka mutationer utmärker sig med att sakna förhöjda svettelektrolyter [28]. En patient med stor misstanke om CF men med normalt svetttest bör genanalyseras med särskild frågeställning efter sådana sällsynta mutationer.

Studier på vävnadsodlingar och djurmodeller

Den exakta kunskapen om CFTR-genen har möjliggjort både in vitro-studier med jämförelser mellan vävnads-



Figur 2. Upptäckten av CFTR. När Tsui, Collins och Riordan gned på Alladins lampa steg anden CFTR fram och erbjöd sina tjänster: Diagnostik – inklusive screening och fosterdiagnostik; behandling medelst farmakologisk korrektion eller med genterapi; forskning i vävnadsodling och på djurmodeller; fördjupad kunskap kring jontransporten och möjlighet att förstå även andra sjukdomar.

odlingar, som haft antingen friska eller muterade CFTR-gener [29], och djurstudier på transgena möss [30]. Härvid har man kunnat studera CFTRs egenskaper, följa patofysiologin och värdera olika terapeutiska ingrepp såväl med farmaka som med genterapi. En gen (cfr) som är homolog med den mänskliga CFTR har isolerats på kromosom 6 hos mus. De flesta musmodeller har haft en starkt reducerad vikt och dött mycket unga till följd av svåra intestinala problem men med mycket obetydliga lungförändringar. En musmodell, cfr m1 HGU, skiljer sig från de övriga: den lever längre, den har normal vikt i nyföddhetsperioden, och 25 procent av den får CF-liknande lungförändringar.

DIAGNOSTIK

En hög klinisk beredskap för diagnosen CF är det viktigaste för att diagnosen inte skall försenas eller missas. Svettest är fortfarande den bästa diagnosmetoden och skall utföras på alla misstänkta patienter. Sedan genen identifierats har man dock med hjälp av mutationsanalys kunnat visa att allt fler CF-patienter har normala svetteelektrolyter (kanske ända upp till 5 procent).

Alla intrikata fall bör därför bedömas gemensamt av CF-expert och genetiker.

Alla patienter med CF och alla som är starkt misstänkta för CF skall genotypas. Genotypen har ingen större prognostisk betydelse i det enskilda fallet, men kunskapen om mutationsbilden såväl hos den enskilda individen som i populationen har stor betydelse för att kunna ge korrekt genetisk rådgivning. Den svenska CF-populationen är till stor del genetiskt kartlagd genom mutationsanalyser som genomförts av Charlotta Schaedel i Lund.

Bättre prognos för screenade

CF uppfyller de flesta kriterier för nyföddhetscreening [31]. Sjukdomen är vanlig; den är ett svårt problem både för den drabbade individen och för samhället; den har en symtomatologi som gör att diagnosen ofta fördröjs; den har ett genomtänkt behandlingsschema som kraftigt förbättrar patienternas överlevnad, och prognosen kan försämrans om behandlingen inte sätts in i tid. Nyföddhetscreening har också skett under lång tid i olika länder. Först användes albumin i mekonium [32, 33], där flera miljoner screenades och >1 000 patienter diagnostiserades. Därefter användes trypsinogen i »PKU-droppe» [34] med ännu högre siffror screenade och funna. Allt fler uppföljningsstudier visar på bättre prognos för screenade patienter än för patienter diagnostiserade senare i livet [35]. Med hjälp av genetisk analys, s k tvåstegs-IRT/DNA-test, kan såväl specificitet som sensitivitet höjas avsevärt inom po-

pulationer med känt mutationsmönster. Mutationsspektra varierar kraftigt mellan olika länder. I flera stater i USA och i flera europeiska länder är man nu alltmer benägna att starta nyföddhets-screening. I Sverige där ca 85 procent av mutationerna kan detekteras ger ett IRT/DNA-test i blod följt av svetest av patienter med en funnen mutation en teoretisk sensitivitet på mer än 97 procent. Det största problemet är hur man skall handskas med upptäckten av heterozygoter i materialet; i Sverige skulle ca 50 heterozygoter hittas per år. Varken föräldrarna eller den nyfödda är särskilt angelägna att få sådan kunskap.

Anlagsbärarscreening har också diskuterats på många håll. En svensk expertkommitté fann i början av 1990-talet att en sådan inte var aktuell för Sverige, eftersom ca 10 procent av CF-foster skulle missas. Denna ståndpunkt kan komma att revideras, eftersom man med nuvarande kunskaper endast behöver missa 3 procent av CF-foster. Anlagsbärarscreening har startats i Danmark [36], och National Institutes of Health (NH) i USA har nyligen rekommenderat det för gravida kvinnor [37]. Man har valt att först erbjuda testet till gravida och vid positivt utfall till deras partner. Om både moder och fader är positiva erbjuds paret fosterdiagnostik. Etiskt finner jag personligen att en generell anlagsbärardiagnostik är ytterst tveksam även vid hög detekteringsgrad. För det första finns det ingen absolut garanti för att inte föda ett barn med CF, eftersom endera av föräldrarna kan bära på okända mutationer. För det andra kan det inte vara riktigt att sällningsundersöka med avsikt att utföra abort av ett foster, vars förväntade livslängd är mer än 40 år med relativt god livskvalitet. Helt annorlunda ställer det sig för nära släktingar till patienter med CF, vilka redan har god kännedom om sjukdomen och dess svårigheter. För föräldrar som tidigare har ett CF-barn finns det idag så gott som alltid möjlighet till säker fosterdiagnostik. Dessa skall ges utförlig information, så att de efter noggrann eftertanke själva kan avgöra om de önskar genanalys och om de vill göra abort eller inte.

Det är skäl att varna för ett okritiskt nyttjande av mutationsanalys. Kommersiella kit finns redan, och risken är inte obetydlig att påträngande marknadsföring leder till att de sprids i vida kretsar. All mutationsanalys för CF måste förbehållas genetiker i samarbete med CF-expertis.

BEHANDLING

Ännu idag förhärskar en symtomatisk behandling. De stora framstegen inom forskningen gör dock att den snart

ANNONS

Tabell I. Adekvat behandling i förhållande till patogenesen.

Patogenes	Behandling i dag	I morgon?
<i>Lungor:</i>		
Muterad CFTR-gen		Genterapi
↓		
Translation		Gentamycin
↓		
CFTR-transport		Fenylbutyrat Dextran
↓		
CFTR-funktion		Genistein, milrinon CPX
↓		
Störd kloridtransport		UTP-analog Coli-enterotoxin
↓		
Hämmad Na-återresorption	Amilorid	Amilonidanalogs
↓		
Minskad vattensekretion	Dimtält	
↓		
Segt sekret	Hög aktivitet Andningsgymnastik Bromhexin Acetylcystein (per os; inhalation) NaC (inhalation)	
↓		
↓		
↓		
Inflammation	Humant rekombinant DNAs Inhalationssteroider Ibuprofen	Gelsolin Antiitrypsiner Cytokininhibitorer Prostaglandin Interferon
↓		
↓		
Infektion	Vaccinationer Antibiotika (per os, intravenöst, inhalation)	Pseudomonasvaccination Tobramycininhalation Pseudomonasantikroppar
↓		
Lunginsufficiens	O ₂ Transplantation	Xenotransplantation
<i>Nutrition:</i>		
Störd elektrolyttransport		
↓		
Ingen bikarbonatlösning	Syrhämmare Cisaprid	
↓		
Stagnation i körteln		
↓		
Inga enzymer	»Enteric coated» pankreasenzym Kaloririk föda Fleromättade fetter Vitaminer	Nya högdosberedningar ω3 fetter Antioxidanter Ginseng
↓		
Malabsorption		

kan förväntas övergå i en alltmer kausal behandling (Tabell I).

Genterapi en god bit på väg

Målet för somatisk genterapi är att i affekterade vävnaders celler införa en normal genskvens som syntetiserar ett normalt protein. Vid CF skall genterapi leda till korrektion av jontransporten och förhindrande av de sekundära organskador som den cellulära malfunktionen skapat.

CF uppfyller kriterierna för att vara en god kandidat till genterapi [38]. Det är en livshotande sjukdom som ännu inte har någon helt tillfredsställande behandling.

Patienterna är oftast högt motiverade och vana vid komplicerade behandlingsföreskrifter. Luftvägarna, som är det svårast angripna organet, kan lätt nås för upprepade behandlingar. CFTR-genen är klonad, och dess molekylära mekanism är noggrant studerad in vitro och in vivo. CFTR är effektiv i låg dos i normal lungvävnad, och överproduktion tycks inte vara toxisk. Enkla icke-

invasiva test kan göras på människans näsepitel.

Många vektorer har använts för att införa CF-genen [38]. Hos virus har de patogena egenskaperna och förmågan att reproducera sig eliminerats och de immunogena egenskaperna minskats. Ett försök med adenovirus/CFTR har tillfälligt fått avbrytas för att försöks-

Tabell II. Biosyntes av CFTR beskrivs i fem olika steg – därtill kommer även förändringar i introner. Mutationer från vart och ett av dessa steg har i viss mån kunnat korrigeras in vitro eller i djurförsök, ibland även hos CF-patienter, med hjälp av farmaka eller genterapi.

Syntessteg	Mutationer	Korrektion
1. Translation Ingen syntes	Stop codons	Gentamycin
2. Glykosilering Kvalitetskontroll	ΔF508	N-4-fenylbutyrat Dextran; 26°C CPX
3. Aktivering Reglering	G551D	CPX(PKA+ATP) Genistein Milrinom (β-adrenerg) Coli-enterotoxin; granylin
4. Kloridtransport	R117H	Genterapi
5. Nedsatt syntes	A455E	Genterapi
Introns: Repitering	5T→9T	In vitro-fertilisering

personen fick ett kraftigt inflammatoriskt svar.

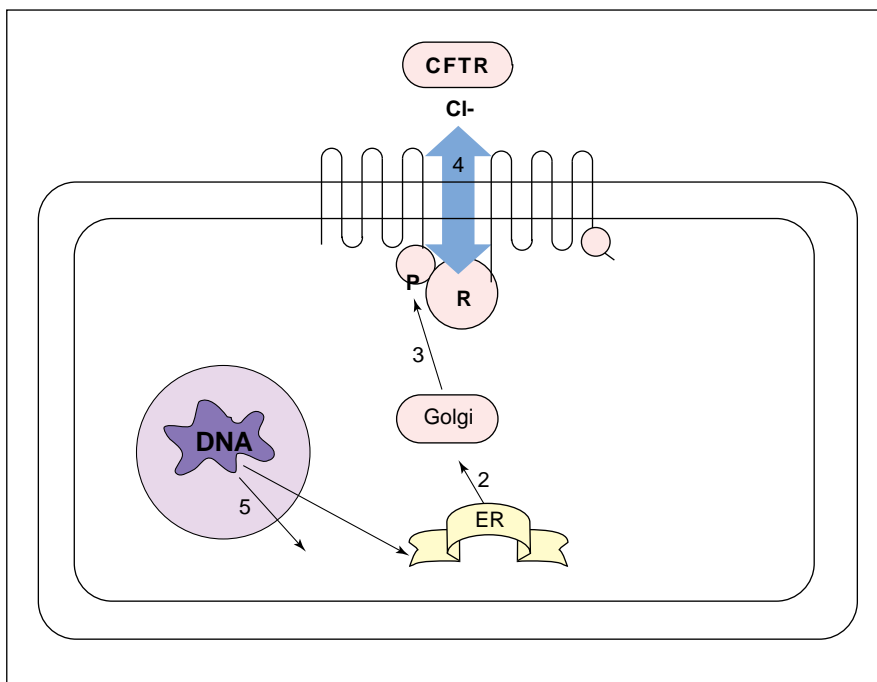
Teoretiskt finns det många vägar att fortsätta: reducera given dos, minska virus inflammatoriska egenskaper eller kombinera behandlingen med antiinflammatorisk profylax. Ett transgent CF-musfoster har behandlats intrauterint med adenovirusbunden CFTR-gen och därvid blivit friskt utan tecken till CF [39].

Adenoassocierade virus är inte patogena eller toxiska för människan, men de har begränsad kapacitet att ta emot främmande genmaterial. Retrovirus har redan prövats i genterapi för andra sjukdomar såsom den ärftliga sjukdomen adenosindeaminas (ADA)-brist och flera cancerformer. Retrovirus kan förväntas ge en permanent effekt. Man försöker nu att i dess virushölje inkorporera särskilda markörer för receptorer på de celler som man önskar transfektera.

Om detta lyckas skulle retrovirusinjektioner kunna nå stamceller för epitel i många vävnader och därmed ge en universell bot. Liposom-DNA-komplex har fördelen att inte ge infektioner och inte ha någon reproducerbarhet. Med hydrolyserbara bindningar blir de naturligt degraderade efter avgivande av sitt DNA och är då varken immunogena eller toxiska.

Försök med intravenös administrering av liposom-CFTR-komplex på mus har visat genexpression i lungor i mer än 150 dagar.

Genterapi för CF är således en god bit på väg, men många frågor återstår: Vilken vektor är bäst? Hur är säkerheten vad gäller infektion, inflammation, skador på andra organ, transfektion av germinalceller, onkogenicitet? Hur är effekten, hur stark, hur långvarig, vilka celler påverkas? Hur skall genen och vektorn tillföras, inhalation, intravenöst? Vilken dos och hur ofta? Det kommer att ta tid att lösa dessa problem, men personligen tror jag att det kommer



Figur 3. Biosyntes av CFTR. För närmare förklaring – se text samt Tabell II.

att ske inom en inte alltför avlägsen framtid.

Farmakologisk behandling av kloridkanaler

Biosyntesen av CFTR sker från transkription av kärnans DNA till RNA via translation till protein i ribosomer och en partiell glykosilering i endoplasmiskt reticulum (ER) (Tabell II). Här sker en kvalitetskontroll som endast låter friskt CFTR passera för att via Golgiapparaten och fortsatt glykosilering nå cellmembranet. Olika mutationer i CF-genen gör att denna process kan hejdas på olika nivåer [40] (Figur 3): 1) Det sker ingen translation; 2) det sker ingen glykosilering, och merparten av muterat CFTR förstörs härvid i ER (bl a $\Delta F508$); 3) förändrat CFTR-protein når cellmembranet men kan inte aktiveras eller 4) inte fungera som en kloridkanal. Dessutom finns 5) nedsatt syntes samt förändringar i introner. CFTR öppnas och sluts efter β -adrenerg stimulus över cAMP medelst cykler av ATP-hydrolys – proteinkinase A eller C fosforylerar och öppnar kloridkanalen, varefter proteinfosfataser defosforylerar och inaktiverar den (Figur 1).

Med kunskap om dessa processer söker man vägar att få muterade CF-proteiner att nå cellmembranet och därvid bli verksamma alternativt att tillföra ett friskt CFTR-protein till cellerna.

Tillägg till 1): Gentamycin ökar av okänd anledning translationen till CFTR-protein.

Tillägg till 2): Natrium-4-fenylbutyrat, en känd transkriptionsregulator,

ökar den fraktion av $\Delta F508$ -mutationen som passerar Golgiapparaten och når cellytan. In vitro-studier har visat att Na-4-fenylbutyrat minskar kloridhalten inuti CF-celler [40]. Stora doser Na-4-fenylbutyrat har givits till CF-patienter, varvid den negativa nasala potentialen över cellmembranet minskat. Fas 1-studier på patienter har startats. I vävnadsodling har man också visat att man kan »lura» kvalitetskontrollen så att $\Delta F508$ -celler odlade vid 26°C (men inte vid 37°C) når cellmembranet. Liknande resultat har uppnåtts med dextran i odlingsvätskan.

Tillägg till 3): En känd xantin, cyklopentyl-dipropylxantin, CPX, verkar ha direkt verkan på $\Delta F508$ -mutationer genom att binda till CFTR och därigenom öppna kloridkanalen. Närvaro av PKA och ATP samt eventuellt också adenin fordras. CPX tycks också öka den fraktion av muterat protein som passerar Golgiapparaten. CPX har låg toxicitet, och kliniska fas 1-studier har startats. En annan väg att hålla kloridkanalen öppen är att använda sig av hämmare av fosfataser. Försök på CF-musmodeller med milrinon har gett mycket lovande resultat, och preliminära försök på CF-patienter med milrinon + beta-adrenerg stimulering har startats. I vävnadsodlingar har man kunnat aktivera CFTR med speciella farmaka: En isoform av ett cGMP-beroende proteinkinase (PKG II) tillfört CFTR-transfektade fibroblaster visade i patch-klampstudier PKA-liknande öppningsegenskaper. Peptider som kan aktivera PKG II, exempelvis E coli-enterotoxin eller granlylin, skulle kunna vara potentiella farmaka vid CF. Dessutom har inhibitorer av tyrosinkinase, exempelvis genistein,

visat sig kunna öppna CFTR-kanalen även i $\Delta F508$ -transfektade celler.

Blockering av kloridkanalen bot även mot diarrésjukdomar

CFTR är en regulator av sin egen kanal, och i viss mån även av den andra utåtriktade Cl-kanalen i sekretoriska celler (ORCC). Detta kan potentiellt ha stor betydelse ur en helt annan aspekt. Resultat från CF-forskningen skulle kunna leda till behandling av de diarrésjukdomar vars besvär utlöses av tarmpatogener (kolera, E coli m fl) som aktiverar kloridkanaler. Blockerare av dessa kanaler, som ADP eller CFTR-antikroppar, kan kanske bli framtidens bot vid dessa infektioner [9].

Farmakologisk behandling av sekundära effekter

Slemlösande medel: Humant rekombinerat DNAs har visat god effekt vid inhalation hos många CF-patienter [41]. Gelsolin, ett normalt humant protein som bryter ned aktin, synes ha synergistiska egenskaper med DNAs [41].

Antiinflammation: Den höga graden av inflammation i luftvägarna ger obalans mellan luftvägsskadande enzymer och deras inhibitorer, »relativ antitrypsinbrist». Flera enzym-inhibitorer (alfa-1-antitrypsin, SLPI, MBI m fl) har visat sig kunna minska elastasaktiviteten hos CF-patienter [42]. Forskningen kring cytokiner, interleukiner och prostaglandiner och hur de olika komponenterna i immunsystemet skall stimuleras (exempelvis med interferon gamma eller olika tillväxtfaktorer i kombination med antibiotika) eller inhiberas (exempelvis cytokinreceptorinhiberare) kan komma att ge oss specifika vägar för infektions- och inflammationsbekämpning [42]. Ginseng har i danska studier visat sig kunna ha en gynnsam modulerande effekt på immunsvaret. Antiinflammatoriska behandlingar, såsom höga doser steroider i inhalation [43] eller peroral långtidsmedicinering med ibuprofen [44], har i enstaka studier visat sig ha effekt och används redan nu för utvalda patienter. Azitromycin, en makrolid, har visat sig ofta ha god effekt hos CF-patienter med kroniska pseudomonasinfektioner trots att makrolider inte har någon antibiotisk effekt mot pseudomonas. Orsaken är okänd men mest troligt är att medlet har en antiinflammatorisk effekt.

Infektionsbekämpning: En speciell inhalationslösning av tobramycin (TOBI) har just godkänts i USA och kan förskrivas på licens i Sverige. Men antibiotika har svåra sidoeffekter för individen, t ex förändrad bakteriefloora, allergier, toxiska bieffekter, och för den ekologiska omgivningen. Nya behandlingsvägar måste hittas! En rad katjo-

niska peptider har visat sig ha en baktericid verkan på pseudomonas och kan bli en alternativ behandling om de inte inaktiveras av miljön i CFs luftvägar [20]. Vaccination mot *P aeruginosa* har på sistone visat en viss framgång i fas 2-studier [45]. Intravenös behandling med immunglobulin med höga antikroppstitrar mot mukoid exopolysackarid från *P aeruginosa* är i klinisk prövning fas 2-3 i USA. I Uppsala har vi i fyra års tid prövat profylaktisk gurgling med pseudomonasantikroppar från hönsägg (IgY). Teorin är att de specifika antikropparna mot pseudomonas skall förhindra adhesion av bakterierna redan i de övre luftvägarna och därvid förhindra kolonisation och efterföljande infektion i lungorna [46]. Resultaten är mycket lovande, och hittills har ingen av de nio patienter som fått profylax utvecklat någon kronisk pseudomonas-infektion.

Nutrition: Substitution med pankreasenzym har blivit effektivt sedan de blivit dragerade för att skydda mot magsäckens saltsyra. Malabsorptionen beror dock inte bara på brist på pankreasenzym. Brist på bikarbonat att buffra magsäckens syra, brist på galla, segt tarmsekret, förändrade motilitets- och permeabilitetsförhållanden i tarmen är andra hinder för näringsupptaget. Mag-syrehämmare, ventrikelperistaltikfrämjare, modifiering av gallsalter medelst taurin och ursodeoxykolsyra (UDCA) är kompletterande vägar att förbättra nutritionen. UDCA har också god effekt för att förhindra biliär cirros [47]. Man har alltmer uppmärksammat betydelsen av antioxidanter (vitamin E och C, betakaroten, kanske också selen, taurin, ubiquinon). Att CF har en ökad omsättning av fleromättade fettsyror är klarlagt. Nuvarande kostrekommendationer vid CF kommer säkerligen att finjusteras.

Den kirurgiska behandlingen utvecklas ständigt

Nya, förbättrade metoder kommer ständigt, t ex titthålskirurgi i buken (Cave! Det ökade intraabdominala trycket under operation kan påverka lungorna.), intrahepatisk shuntning med stentar etc. Transplantation av lungor kan nu erbjudas alla CF-patienter med långt gången lunginsufficiens [48]. Bedömningen om när en CF-patient skall anmälas för transplantation skall alltid ske i samarbete mellan patient, CF-expert och transplantationsenhet. CF-patienter har lika bra resultat vid lungtransplantation som andra patienter. Postoperativt mår de flesta patienter klart bättre än tidigare och kan leva ett aktivt liv med promenader, löpning, sällskapsaktiviteter m m. De flesta tycker att de fått en mycket förbättrad

livskvalitet. I Sverige transplanterar man för närvarande lungor i Göteborg och i Lund.

In vitro-fertilisering vid manlig infertilitet

Som redan nämnts är 95-98 procent av CF-män infertila på grund av oblateration av vas deferens. Deras spermio-genes är dock oförstörd, och män med CF har blivit fäder genom att man tagit spermier via testisbiopsi och in vitro-fertiliserat partners ägg och inplanterat detta i hennes livmoder [49]. Partners CFTR-status bör analyseras. Om ingen av de i Sverige vanligaste tre mutationerna hittas hos henne är risken för att ett CF-barn föds mindre än 0,1 procent.

GODA FRAMTIDSUTSIKTER

Förbättringar i överlevnad har hittills så gott som helt varit beroende av goda kliniska iakttagelser, klinisk forskning och utveckling. Den senaste tidens genombrott inom molekylärbiologin och genetiken ger dock stora förhoppningar att behandlingen skall finna nya vägar och prognosen bli allt bättre. Kliniker och grundforskare kommer, gemensamt och växelvis, att skapa alltmer förfinade former att bekämpa infektioner och inflammationer, att lösa och bortskaffa slem, att få bättre kunskaper kring näring och näringsupptag, lever- och gallbesvär, att förbättra prognosen vid lung- och levertransplantationer, att finna nya vägar både till att korrigera gendefekten och till genterapi. Därmed skulle visionen förverkligas att patienter med CF kan leva och må bra lika länge som alla andra.

Referenser

1. Kollberg H. Cystisk fibros - urgammal sjukdom med ny aktualitet. Historik och klinik. *Läkartidningen* 1999; 96: 3324-9.
2. Di Sant'Agnes PA, Darling RC, Perera GA, Shea E. Abnormal electrolyte composition of sweat in cystic fibrosis of the pancreas, its clinical significance and relationship to the disease. *Pediatr* 1953; 12: 549-63.
3. Quinton PM. Chloride impermeability in cystic fibrosis. *Nature* 1983; 301: 421-2.
4. Kerem BS, Rommens JM, Buchanan JA, Markiewicz D, Cox TK, Chakravarti A et al. Identification of the cystic fibrosis gene: Genetic analysis. *Science* 1989; 245: 1073-80.
5. Widdicombe JH, Miller SS, Finkbeiner WE. Altered regulation of airway fluid content in cystic fibrosis. In: Dodge JA, Brock DJH, Widdicombe JH, eds. *Cystic fibrosis, current topics*. Chichester: John Wiley and sons, 1994; 2: 109-30.
6. Knowles MR, Stutts MJ, Spock A. Abnormal ion permeation through cystic fibrosis respiratory epithelium. *Science* 1983; 221: 1067-70.
7. Hanrahan JW, Tabcharani JA, Grygorzyk

R. Patch clamp studies of apical membrane chloride channels. In: Dodge JA, Brock DJH, Widdicombe JH, eds. *Cystic fibrosis, current topics*. Chichester: John Wiley and sons, 1993; 1: 93-138.

14. Kollberg H, Bardon A, Ceder O. Cystic fibrosis, speculations on the pathogenesis. Disturbed metabolism of energy. *Acta paediatr Scand* 1983; Suppl 309: 41-7.
18. Strandvik B. Relation between essential fatty acid metabolism and gastrointestinal symptoms in cystic fibrosis. *Acta Paediatr Scand Suppl* 1989; 363: 58-65.
22. Saiman L, Prince A. Pseudomonas aeruginosa pili bind to asialoGMI which is increased on the surface of cystic fibrosis epithelial cells. *J Clin Invest* 1993; 92: 1875-80.
26. Cystic fibrosis genetic analysis consortium. www.genet.sickkids.on.ca/cftr/
29. Rochwerger L, Buchwald M. Cell cultures in cystic fibrosis research. In: Dodge JA, Brock DJH, Widdicombe JH, eds. *Cystic fibrosis, current topics*. John Wiley and sons, Chichester: 1996: 1-38.
30. Dorin JR, Alton EFWF, Porteous DJ. Mouse models for cystic fibrosis. In: Dodge JA, Brock DJH, Widdicombe JH, eds. *Cystic fibrosis, current topics*. Chichester: John Wiley and sons, 1994; 3: 3-32.
33. Stephan U, Busch K, Kollberg H, Helsing K. Cystic fibrosis. Detection by means of a test strip. *Pediatrics* 1975; 55: 35-8.
35. Dankert-Roelse JE. Neonatal screening. In: Dodge JA, Brock DJH, Widdicombe JH, eds. *Cystic fibrosis, current topics*. Chichester: John Wiley and sons, 1993; 1: 303-17.
38. Coutelle C, Caplen NJ, Hart SL, Middleton PG, Williamson R. Towards gene therapy for cystic fibrosis. In: Dodge JA, Brock DJH, Widdicombe JH, eds. *Cystic fibrosis, current topics*. Chichester: John Wiley and sons, 1994; 2: 33-54.

En fullständig referensförteckning kan erhållas från Hans Kollberg, Akademiska barnsjukhuset, 751 85 Uppsala.

Summary

Continuing clarification of functional issues in cystic fibrosis; current research and future prospects

Hans Kollberg

Läkartidningen 1999; 96: 3414-20

First rate collaboration between clinicians and research scientists in a multiplicity of fields have brought new hope to patients with cystic fibrosis (CF). The gene, mutations of which give rise to the disease, has been exhaustively mapped, and the functional defects are becoming steadily clearer. Diagnosis is continually being improved and simplified. Neonatal screening has been introduced in many countries and has yielded good results. Promising new advances in treatment include inhalatory DNase (deoxyribonuclease), lung and liver transplantation, UDCA (ursodeoxycholic acid) against cirrhosis, and in vitro fertilisation for men with CF. Pseudomonas species are being combated more and more effectively with new antibiotics, with immunoglobulins (IgY) for prophylaxis, and possibly new vaccines to come. Future treatment strategies, designed to correct anomalies of cellular biology, are already undergoing clinical trials, and gene therapy using a variety of vectors is undergoing phase-I trials. A definitive cure remains a realistic hope.

Correspondence: Professor Hans Kollberg, Akademiska barnsjukhuset, SE-751 75 Uppsala, Sweden.