

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

RENATA KOLENC MIKLAVŽINA (KOLENC)

KLINIČNI POMEN DOLOČANJA
IMUNOGLOBULINOV IgG PRI BOLNIKI S CISTIČNO
FIBROZO

DIPLOMSKA NALOGA

VISOKOŠOLSKI STROKOVNI
ŠTUDIJSKI PROGRAM LABORATORIJSKE BIOMEDICINE

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

RENATA KOLENC MIKLAVŽINA (KOLENC)

KLINIČNI POMEN DOLOČANJA IMUNOGLOBULINOV IgG PRI
BOLNIKI S CISTIČNO FIBROZO

CLINICAL SIGNIFICANCE OF DETERMINING IMMUNOGLOBULIN
IgG IN PATIENTS WITH CYSTIC FIBROSIS

DIPLOMSKA NALOGA

Ljubljana, 2011

Diplomsko nalogo sem opravljala na Fakulteti za farmacijo pod mentorstvom prof. dr. Joška Osredkarja, mag. farm., spec. med. biokem. Meritve imunoglobulinov IgG so opravili na Univerzitetnem kliničnem centru v Ljubljani.

Zahvala

Hvala mentorju prof. dr. Jošku Osredkarju, mag. farm., spec. med. biokem., da se je odzval moji prošnji in mi tako omogočil pisanje diplomske naloge pod njegovim mentorstvom in hvala, ker me je z svojimi nasveti usmerjal skozi celoten proces pisanja. Prav tako bi se rada zahvalila celotnemu kolektivu proteinskega laboratorija v Univerzitetnem kliničnem centru v Ljubljani, za njihovo prijaznost in strokovno pomoč pri izvajanju moje diplomske naloge.

Posebna hvala pa gre tudi mojima staršema, ki sta me skozi sam proces šolanja podpirala, me vodila na prava pota ter me podpirala v najtežjih obdobjih študija. Prav tako, pa hvala tudi mojemu soprogu in vsem tistim najdražjim, ki so mi kadar koli pomagali, mi dajali nasvete in mi prav tako lepšali moja najlepša študentska leta.

Hvala vsem!

Izjavljam, da sem diplomsko delo samostojno izdelala pod vodstvom mentorja prof. dr. Joška Osredkarja, mag. farm., spec. med. biokem.

Ljubljana, september 2011

Renata Kolenc Miklavžina

Predsednik diplomske komisije: izr. prof. dr. Vojko Kmetec, mag. farm.

Član diplomske komisije: doc. dr. Marko Anderluh, mag. farm.

KAZALO

KAZALO	I
ABSTRACT	III
POVZETEK	V
SEZNAM OKRAJŠAV	VII
SEZNAM SLIK, TABEL IN GRAFOV	VIII
1 UVOD	1
1.1 CISTIČNA FIBROZA.....	1
1.1.1 Molekularna struktura beljakovine CFTR.....	3
1.1.2 Mutacija CFTR proteina	4
1.1.3 Prizadetost organov in organskih sistemov pri CF kot posledica mutacije....	5
1.1.4 Funkcija kisika pri bolezni pljuč	6
1.1.4.1 Respiratorni sistem.....	7
1.1.4.2 Prebavni sistem, okvara prebavil, jeter in žolčnika.....	9
1.1.4.3 Žleze znojnice	12
1.1.4.4 Sladkorna bolezen	12
1.1.4.5 Zmanjšana mineralna kostna gostota (MKG)	13
1.1.5 Prehrana otroka s CF.....	13
1.1.6 Diagnostika.....	16
1.1.6.1 Zdravljenje	16
1.1.6.2 Raba protiglivičnih zdravil.....	18
1.1.6.3 Slikovna diagnostika	21
1.1.6.4 Fizioterapevtske obravnave bolnika s CF	22
1.1.7 Transplantacija.....	26
1.1.7.1 Presaditev pljuč	26
1.1.7.2 Izbor in priprava bolnika.....	26
1.1.8 Protitelesa in imunoglobulini	27
1.1.8.1 Razredi protiteles	28

2	NAMEN DELA	31
3	MATERIALI IN METODE	32
3.1	SPLOŠNA OPOZORILA	32
3.2	OPIS PREISKOVANCEV	32
3.3	REFERENTNA OBMOČJA IgG	32
3.4	REAGENTI	33
3.5	SHRANJEVANJE IN STABILNOST	34
3.6	VZORCI, PRIMERNI ZA ANALIZE	35
3.7	MERJENJE IMUNOGLOBULINOV Z METODO NEFELOMETRIJE	36
3.7.1	<i>Postopek</i>	36
3.7.2	<i>Testiranje vzorcev.....</i>	36
3.7.3	<i>Omejitev postopka</i>	37
3.7.4	<i>Metoda.....</i>	38
3.7.5	<i>Obdelava podatkov.....</i>	39
4	REZULTATI.....	40
4.1	MERJENJE IMUNOGLOBULINOV IgG PRI CELOTNI SKUPINI OTROK... 40	
4.1.1	<i>Prikaz deleža preiskovancev ki ne odstopajo in deležem odstopanj IgG</i>	43
4.2	MERJENJE IMUNOGLOBULINOV IgG PRI DEKLICAH..... 44	
4.2.1	<i>Prikaz deleža preiskovancevki ne odstopajo in deleža odstopanj IgG izven podanih referenčnih območij prid deklicah.....</i>	45
4.3	MERJENJE IMUNOGLOBULINOV IgG PRI DEČKIH	47
4.3.1	<i>Prikaz deleža preiskovancev ki ne odstopajo in deleža odstopanj IgG izven podanih referenčnih območij pri dečkih.....</i>	49
4.4	GRAFIČNI PRIKAZ IZRAČUNA RAZLIKE MED SREDNJIMI VREDNOSTMI ZA POSAMEZNO STAROSTNO OBDOBJE..... 50	
4.5	IZRAČUN OBČULJIVOSTI IN SPECIFIČNOSTI PRI PREISKOVANCIH IZ REVMATOLOŠKE AMBULANTE IN PEDIATRIČNE KLINIKE..... 51	
4.5.1	<i>Izračun občutljivosti in specifičnosti pri preiskovancih v revmatološki ambulanti.....</i>	51
4.5.2	<i>Izračun občutljivosti in specifičnosti pri preiskovancih iz pediatrične klinike.....</i>	53
4.6	RAZPRAVA.....	55

4.6.1	<i>Merjenje imunoglobulinov IgG pri celotni skupini preiskovancev, deklicah in dečkih.....</i>	<i>55</i>
4.6.2	<i>Izračun občutljivost in specifičnost pri preiskovancih iz revmatološke in pediatrične klinike</i>	<i>55</i>
5	SKLEP	58
6	LITERATURA	59

ABSTRACT

Cystic fibrosis (CF) or mucoviscidosis was in the 20th century a disease, mostly known only by paediatricians. It cases resulted fatally in childhood or adolescence.

CF is most common usually fatal autosomale recessive genetic disease where failure of cell membrane transport occurs, which is expressed as an anomaly of secretion of exocrine glands, especially in respiratory organs, lungs, pancreas, intestines etc. Apocrine glands are also affected.

CF is caused by mutated gene on a long side of seventh chromosome. Affected gene codes chloride channel, which can be founded in epitelic cells of exocrine glands. Because of failure in functioning the separated mucus is thicker and therefore it occludes ducts and it congestives in organs. The disease can affect many organs and organ systems. Clinically it is presented above all as a respiratory organs, pancreas, intestines, hepatobilliar system and reproductive organs deficiency. In majority liver deficiencies break out in later stages of the disease.

Mutated gene frequency is high, as 1 out of 25 people is a carrier – ratio at Caucasians in 1 out of 40. That means that 5 to 6 children are born with CF a year. Patients with CF register are kept in Paediatric clinic in Ljubljana. All children recorded in the register were medically treated for CF in Ljubljana or were registered by other paediatricians. In last decade mortality is in decline. In last decades a major progress has been made in knowledge and treatment of CF, which has resulted in average survival age growth, being under 10 years of age 40 years ago to above 37 years of age in year 2000.

The survey includes 80 subjects from one to nineteen years of age, where 47 are boys and 33 are girls. Immunoglobulin IgG was measured by nephelometry method to determine deviation of reference area values. Among all subjects five of them were outside this area – two girls and three boys. On the basis of deviation we could suspect the probability of the subject having CF. We calculated differences between middle values of immunoglobulin IgG according to age group and upper values to given reference intervals of

immunoglobulin IgG. We also calculated specificity and sensitivity at patients of rheumatic and paediatric clinic. Final results were evaluated on the basis of other studies.

Based on our studies, we found that if we take into account the sensitivity and specificity we would suggest that IgG is a good indicator of potential disease cystic fibrosis, but only one setting has vast importance. If we would like accurate diagnosis we would have done so much repetition of the measurement of IgG in different phases of the disease. In this way we could assess how changing the values of IgG and thus can accurately determine the possibility of diseases from cystic fibrosis.

POVZETEK

Cistična fibroza (CF), oziroma mukoviscidoza je bila še v drugi polovici 20. stoletja bolezen, ki so jo v glavnem poznali le pediatri, saj se je pri večini bolnikov v otroštvu ali mladostnem obdobju končala smrtno.

CF je najpogostejša večkrat usodna avtosomno recesivna genetska bolezen, pri kateri gre za motnjo celičnega membranskega transporta, ki se izraža kot nepravilnost izločanja vseh eksokrinih žlez, zlasti v dihalnih poteh, pljučih, trebušni slinavki, črevesju. Prav tako so prizadete tudi žleze znojnice.

CF povzroči mutacija gena na dolgem kraku sedmega kromosoma. Prizadeti gen kodira kloridni kanalček, ki se nahaja v epitelijskih celicah žlez z zunanjim izločanjem. Izločena sluz, ki je zaradi motnje v delovanju žlez gostejša, maši izvodila in zaostaja v organih. Bolezen lahko prizadene številne organe in organske sisteme. Klinično se kaže predvsem s prizadetostjo dihal in trebušne slinavke, pa tudi črevesja, hepatobiliarnega sistema in reproduktivnih organov. Prizadetost jeter se v večini primerov pojavi kasneje v poteku same bolezni.

Frekvenca mutiranega gena je visoka, saj je nosilec vsak 25 oziroma vsak 40 belec. To pomeni, da bi se pri nas rodilo nekje od 5 do 6 otrok s CF letno. Na Pediatrični kliniki v Ljubljani se vodi register bolnikov s CF. V ta register so vpisani vsi otroci s CF, ki so bili vodeni in tisti ki so jih prijavili pediatri od drugod. V zadnjem desetletju in pol je umrljivost zaradi CF upadla. V zadnjih par desetletjih je bil dosežen velik napredek v poznavanju in zdravljenju CF, kar se je pokazalo tudi v povečanju srednje dobe preživetja, ki je bila pred 40 leti še pod 10 let, leta 2000 pa že polnih 37 let.

V našo raziskavo je bilo vključenih 80 preiskovancev starih od enega do devetnajstega leta starosti. V celotno skupino je bilo vključenih 47 dečkov in 33 deklic. Vsem preiskovancem smo z metodo nefelometrije izmerili imunoglobuline IgG in tako ugotavljali, kolikšno je bilo odstopanje vrednosti od podanih referenčnih območij. Pri celotni skupini preiskovancev, je tako odstopalo le pet preiskovancev. Pri deklicah, sta od podanih vrednosti odstopali le dve preiskovanki, pri dečkih pa trije preiskovanci. Na podlagi

povišanih rezultatov, smo lahko sumili na možnost obolenja s CF. Nato smo izračunali še razlike med srednjimi vrednostmi imunoglobulinov IgG glede na starostno skupino, ter zgornjimi mejami podanih referenčnih intervalov imunoglobulinov IgG. Prav tako smo računali specifičnost, ter občutljivost pri pacientih revmatološke ambulate ter pediatrične klinike, končne rezultate pa smo ovrednotili na podlagi drugih študij.

Na podlagi naše študije smo ugotovili, da če bi upoštevali izračune občutljivosti in specifičnosti bi lahko sklepali da je IgG dober pokazatelj možnega obolenja s cistično fibrozo, vendar pa z eno samo določitvijo nima ogromnega pomena. Če bi želeli natančno postaviti diagnozo, bi tako morali opraviti še mnogo ponovitev merjenja IgG v različnih obdobjih bolezni. Na ta način bi lahko ugotavljali, kako se vrednosti IgG spreminjajo in bi tako lahko natančno določili možnost obolenja s cistično fibrozo.

SEZNAM OKRAJŠAV

CF	Cistična fibroza
CFTR	Transmembranski regulator cistične fibroze
TRL	Treonin, arginin in levcin
SB	Sladkorna bolezen
OGTT	Oralni glukozni tolerančni test
MKG	Mineralna kostna gostota
IL8	Interlukin 8
SaO₂	Odstotek razpoložljivega hemoglobina, ki je nasičen s kisikom
MRSA	Na meticilin odporni <i>Staphylococcus aureus</i>
ABPA	Alergijska bronhopulmonarna aspergiloza
HRCT	Računalniška tomografija visoke ločljivosti
RTG	Rentgen
CT	Računalniška tomografija
MR	Magnetna resonanca
PEP	Pozitivni ekspiracijski tlak
FEV₁	Forsirani ekspiratorni volumen v prvi sekundi izdiha
IgG	Iunoglobulin G
IgA	Imunoglobulin A
IgM	Imunoglobulin M
IgE	Imunoglobulin E
IgD	Imunoglobulin D
EDTA	Etilendiamintetraocetna kislina
CST	Cerebrospinalna tekočina
CFSB	S cistično fibrozo pogojena sladkorna bolezen
OGTT	Oralni glukozni tolerančni test

SEZNAM SLIK, TABEL IN GRAFOV

Slika 1: Shema dedovanja	2
Slika 2: CFTR beljakovina/protein.....	3
Slika 3: Prikaz respiratornega sistema.....	7
Slika 4: Prikaz zdravih in sesedenih pljuč.....	8
Slika 5: Prebavni sistem	9
Slika 6: Žleze znojnice	12
Slika 7: <i>Candida albicans</i>	19
Slika 8: <i>Aspergillus fumigatus</i> – običajna gliva, ki lahko povzroči poslabšanje pljučnega obolenja pri ljudeh s CF.	20
Slika 9: Zgradba IgG	29
Slika 10: Reagenti - potreben material pri nefelometriji	34
Slika 11: Reagenti.....	34
Slika 12: Priprava vzorcev pred analizo	35
Slika 13: Nefelometer.....	38
Slika 14: Kaseta z vzorci preiskovancev	39

Tabela I: mutacije in njihov delež/pogostost.....	4
Tabela II: Referenčni intervali glede na starost otroka.....	33
Tabela III: Prikaz meritev IgG pri celotni skupini preiskovancev	41
Tabela IV: Prikaz rezultatov IgG pri deklicah.....	44
Tabela V: Prikaz rezultatov IgG pri dečkih.....	47
Tabela VI: Prikaz razlike med srednjo vrednostjo in vsako posamezno starostno skupino	50
Tabela VII: Tabela za izračun specifičnosti in občutljivosti	51
Tabela VIII: Prikaz celotne skupine preiskovancev v revmatološki ambulanti.	52
Tabela IX: Prikaz pacientov iz revmatološke ambulante	52
Tabela X: Prikaz vrednosti obolenja in suma na prisotnost CF	53

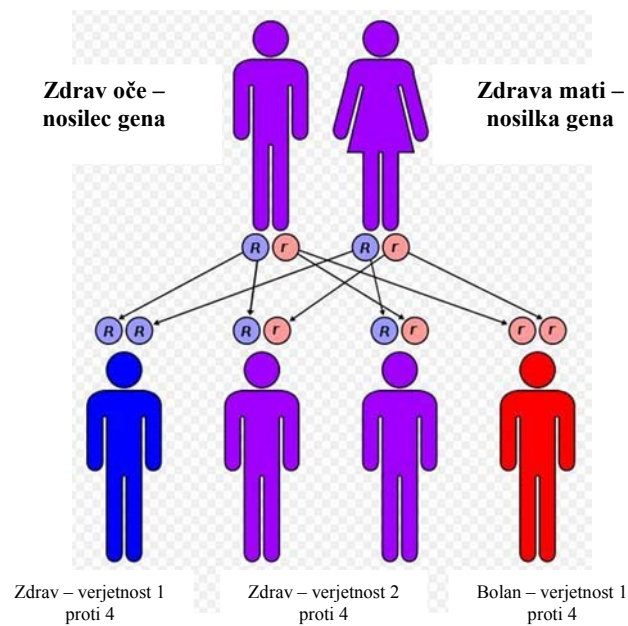
Graf I: Procentni prikaz prehrane pri otroku s CF	14
Graf II: Prikaz deleža preiskovancev ki ne odstopajo in deležem odstopanj IgG	43
Graf III: Prikaz deleža preiskovancev ki ne odstopajo in deleža odstopanj IgG izven podanih referenčnih območij pri deklicah	46
Graf IV: Prikaz deleža preiskovancev ki ne odstopajo in deleža odstopanj IgG izven podanih referenčnih območij pri dečkih	49
Graf V: Prikaz rezultatov med srednjo vrednostjo posamezne starostne skupine in zgornjo mejo	50

1 UVOD

1.1 CISTIČNA FIBROZA

Cistična fibroza (CF), imenovana tudi mukoviscidoza (mucus = sluz; viscid = lepljiv, gost) je najpogostejša večkrat usodna avtosomno recesivna genetska bolezen. Pri CF gre za motnjo celičnega membranskega transporta, ki se izraža kot nepravilnost izločanja vseh eksokrinih žlez, zlasti v dihalnih poteh, pljučih, trebušni slinavki (pankreas), črevesju. Prav tako so prizadete tudi žleze znojnice (1).

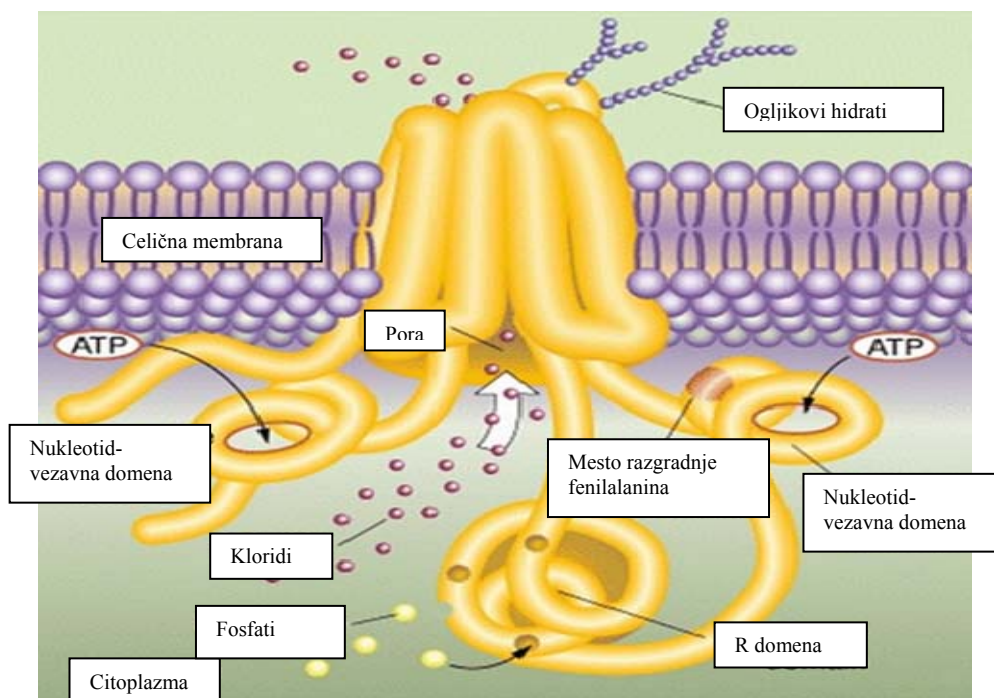
Pozno v poteku bolezni se pogosto okvari tudi delovanje hepatobiliarnega sistema, izjemno redko pa pride do nastanka zlatenice ali drugih znakov zastoja žolča že v neonatalnem obdobju. CF povzroči mutacija gena na dolgem kraku sedmega kromosoma (najpogostejši tip mutacije je delta F 508). Prizadeti gen kodira kloridni kanalček, ki se nahaja v epiteljskih celicah žlez z zunanjim izločanjem. Izločena sluz, ki je zaradi motnje v delovanju žlez gostejša, maši izvodila in zastaja v organih. Bolezen lahko prizadene številne organe in organske sisteme. Klinično se kaže predvsem s prizadetostjo dihal in trebušne slinavke, pa tudi črevesa, hepatobiliarnega sistema in reproduktivnih organov. Prebavila so prizadeta v 85 do 90% vseh primerov, jetra in žolčevodi pa v 30 do 50%. Prizadetost jeter se v večini primerov pojavi kasneje v poteku bolezni. Jetra starejših otrok s CF prizadene značilen patološki proces, imenovan fokalna biliarna ciroza, ki ga označuje zapora znotraj jetrnih žolčevodov s sluzjo in portalna fibroza. Fokalno biliarno cirozo jeter najdemo kar pri 72% odraslih bolnikov s CF. V 4 do 6% primerov pripelje CF do klinično izražene ciroze in posledične portalne hipertenzije. Medtem ko je prizadetost jeter in žolčnika z žolčevodi po več let trajajoči bolezni pogosta, pa je pri novorojencu prisotna le izjemoma in se večinoma pokaže z zlatenico in drugimi znaki zastoja žolča. V svetu je do sedaj opisanih le nekaj takšnih primerov. Raziskave kažejo, da je verjetni mehanizem, ki pripelje do bolezni jeter pri novorojencu s CF, zastajanje viskoznega žolča v žolčevodih (2, 3).



Slika 1: Shema dedovanja

Primarna nepravilnost je v transportu kloridnih (Cl^-) ionov preko epitelija. V normalnem epiteliju poteka transport Cl^- ionov preko transmembranskih proteinov, le ti so Cl^- kanali. Ti kanali so kakor vrata skozi katera Cl^- ioni vstopajo in izstopajo iz celice. Do same obolevosti pride zaradi mutacije gena za ionski kanal imenovanega CFTR (4).

Mutacija gena za beljakovino CFTR, do katere pride pri cistični fibrozi, prizadene njeno funkcionalnost. Zato je moteno prehajanje kloridnih in posledično natrijevih ionov v celicah vrhnjice, ki prekriva zunanje in notranje površine organov. Beljakovina CFTR spada glede na strukturo v družino ATP-az oziroma družino ABC (ATP-binding cassette). Sestavljena je iz dveh ATP-hidrolizirajočih domen, ki jih imenujemo tudi nukleotid-vezavne domene in dvanajstih transmembranskih alfa vijačnic. Beljakovine ABC sodelujejo kot mediatorji transporta raztopljenih organskih snovi.



Slika 2: CFTR beljakovina/protein

Vloga beljakovine CFTR je, da zmanjša transport natrijevih ionov predvsem v epiteljskih natrijevih kanalčkih. Regulira od Ca^{2+} odvisne kloridne in kalijeve kanalčke, sodeluje pri eksocitozi in nastanku molekularnih kompleksov v plazemski membrani (Slika 1, 2) (4, 5, 6, 7, 8).

1.1.1 Molekularna struktura beljakovine CFTR

Beljakovina CFTR je sestavljena iz 1480 aminokislin in več globularnih in transmembranskih domen. Zadnje tri aminokisliline TRL (treonin, arginin in levcein) so odgovorne za pritrditev beljakovine na receptorje tipa PDZ, ki je v bližini ostalih membranskih receptorjev (npr. intracelularnih signalnih beljakovin), ionskih kanalčkov in citoskeleta. Te beljakovine vplivajo na različne funkcije CFTR, kot so prevodnost, regulacija ostalih kanalčkov, prevajanje signalov in lokalizacija na apikalni plazemski membrani. Protein kinaza A aktivira beljakovino CFTR preko fosforilacije. Aktivnost kanala pa je regulirana z dvema globularnima nukleotid-vezavnima domenama, ki omogočata odprtost oz. zaprtost kanala. Vsaka transmembranska globularna domena vsebuje šest alfa vijačnic, ki prebadajo membrano, le te pa tvorijo pore, ki omogočajo

prehod klorida. Regulatorno domeno predstavlja del beljakovine, ki se fosforilira s protein kinazo A.

1.1.2 Mutacija CFTR proteina

Mutacija gena CFTR onemogoča pravilno sintezo beljakovine, ki sodeluje v transmembranskem prenosu Cl^- ionov, zaradi česar se v telesu zadržuje prebitna količina NaCl in se tvori gost in lepljiv mukus ter preslan pot. Najbolj prizadete so žleze znojnice, trebušna slinavka, pljuča, srce (aritmije) in črevesje. Pride lahko do popolne azoospermije in neplodnosti, najpogostejši vzrok smrti pa so pljučne okužbe (*Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, *Aspergillus fumigatus*...). Pomanjkanje beljakovine CFTR vpliva na izražanje ostalih genskih produktov, predvsem beljakovin, ki so pomembne pri vnetnih procesih, procesih razvoja, ionskem transportu in celičnem signaliziranju. Ti proteini so odgovorni za fenotip cistične fibroze in nam omogočajo razlikovanje med različno hudimi oblikami bolezni pri bolnikih z enako mutacijo na genu CFTR (Tabela I).

Tabela I: mutacije in njihov delež/pogostost

Mutacija	Delež/pogostost
ΔF508	66.0 %
G542X	2.4 %
G551D	1.6 %
N1303K	1.3 %
W1282X	1.2 %
Vse ostale	27.5 %

Razdelitev mutacij v CFTR genu

- Razred I – mutacije, katerih posledica je pomanjkljiva sinteza beljakovine;
- Razred II – mutacije, zaradi katerih pride do okvarjenega razvoja beljakovine ali prezgodnje degradacije le-te;
- Razred III – mutacije, zaradi katerih pride do disorientirane regulacije beljakovine (npr. mutacija G551D, ki je vzrok za abnormalno funkcijo nukleotid-vezavne domene, ATP se zato nanjo ne mora vezati, ne pride do hidrolize);

- Razred IV – mutacije, zaradi katerih pride do okvarjene kloridne prevodnosti (npr. mutacija A455E, ki povzroči le delno prevodno aktivnost beljakovine CFTR, ta mutacija je povezana z manj hudo prognozo bolezni pljuč);
- Razred V – mutacije, zaradi katerih pride do zmanjšane števila CFTR-transkriptov, ki so posledica abnormalnosti promotorja ali abnormalnosti pri spajanju (splicingu);
- Razred VI – mutacije, zaradi katerih pride do pospešene premene beljakovine.

Ena od 25 najpogostejših mutacij se imenuje $\Delta F508$ in je prisotna pri približno 70 % vseh okvarjenih alelov in pri 90 % bolnikov s CF v ZDA. Spada v razred II.

Prognozo bolezni povzroča okvara pljuč, ki so prizadeta zaradi kroničnega vnetja in kronične okužbe, ki je najpogosteje povzročena s *Pseudomonas aeruginosa*. CF se dejansko pokaže že v zgodnjem otroštvu in le redko so znaki bolezni tako blagi, da se odkrije šele pri odraslem. Skoraj vsi bolni otroci imajo znake napredujoče gnojne pljučne bolezni, večina tudi znake malapsorbcije. Mukoviscidoza prizadane več organov, vendar je prizadetost pljuč glavni vzrok obolevanja in smrti pri bolnikih z boleznijo. Pri bolnikih s CF so prebavila različno prizadeta. Večina ima insuficienco pankreasa. Pomemben vendar manjši del bolnikov ima spremembe na različnih delih prebavne cevi. Prav tako pa lahko pride tudi do prizadetosti jeter in žolčnika (5).

1.1.3 Prizadetost organov in organskih sistemov pri CF kot posledica mutacije

Glavni vzrok obolevanja in umrljivosti pri CF je bolezen pljuč. Prisotni so tudi simptomi bolezni prebavil, jeter in žolčnika, kot sekundarna bolezen pa se pojavi še sladkorna bolezen (diabetes) in zmanjšana kostna gostota (osteopenija, osteoporoza). Prav tako imajo bolniki s CF lahko prizadet tudi nosni organ (nosne in obnosne votline ter nosno žrelo), kar se kaže z oteženim dihanjem skozi nos, poslabšanjem voha, kroničnim sinuzitisom in nosno polipozo. Zaradi ponavljajoče uporabe nekaterih antibiotikov lahko pride tudi do okvare notranjega ušesa (9).

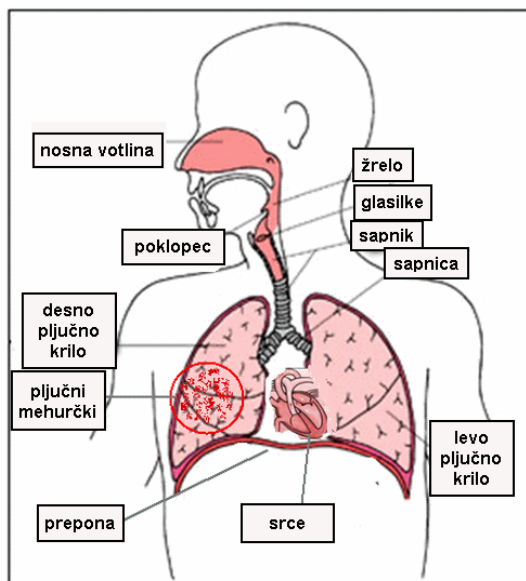
1.1.4 Funkcija kisika pri bolezni pljuč

Človek lahko brez hrane zdrži nekaj tednov, brez vode dva dni, brez kisika pa le nekaj minut. Prenehanje oskrbe organizma z kisikom pripelje do izgube zavesti že v desetih sekundah. Glavna funkcija pljuč je dihanje in izločanje ogljikovega dioksida iz telesa v okolje. Pri vdihu zrak potuje preko dihalne poti in sicer skozi nosno votlino, žrelo, grlo in v sapnik kateri se razcepi na dve sapnici. Kisik nato potuje v pljuča. Dihalna pot se nato zaključi v respiratornem območju pljuč, kjer je glavna funkcijska enota acinus. Značilnost acinusa je, da se že v poteku bronhiolov začnejo pojavljati alveoli kot majhni mehurčki, v katerih prihaja do neposrednega stika vdihanega zraka s krvjo. Ob zaključku dihalnih poti cel grozd alveolov tvori skupen prostor, ki sodelujejo pri izmenjavi plinov- respiracija. Kisik se prenaša po krvi. Ko preide kisik v pljučni mešiček (alveol), se le-ta veže na hemoglobin v eritrocitih, ki je prenosna molekula za kisik. Hemoglobin nosi kisik po krvnih celicah vse do tkiv in nazadnje do organov. Največ kisika se prenese z eritrociti in zelo malo po plazmi, v celicah se proizvaja ogljikov dioksid, ki pa se v nasprotni smeri kot kisik izloča iz telesa.

Transport plinov med pljuči in okolico omogočata dva procesa. Aktivni proces ventilacije pljuč zajema način izmenjave zraka med alveoli in okolico, nekaj zraka pa vedno ostaja v pljučih, da ne pride do sesedanja pljuč, pasivna difuzija plinov je prehod kisika v kri in ogljikovega dioksida iz krvi, ta poteka skozi stene alveol in kapilar. Prav tako sta poznana dva krvna obtoka in sicer veliki ali sistemski, ki je namenjen oskrbi celotnega telesa s kisikom obogateno arterijsko krvjo in mali ali pljučni, ki zagotavlja da se s kisikom revna venska kri ob stiku z zrakom v alveolih pljuč ponovno zasiti s kisikom. Najpogostejša motnja v samem transportu kisika in ogljikovega dioksida v alveolu privede do respiratorne odpovedi ob bolezenskih stanjih pljuč.

Pri CF se zaradi goste, lepljive sluzi, ki zastaja v pljučnih mešičkih, pojavljajo bronhiektazije, ki povzročijo da se dihalne poti bolezensko spremenijo, zvijugajo ter prekrijejo z gosto sluzjo. Tako ne more priti do izmenjave plinov v pljučnih mešičkih in celice ne dobijo kisika, ki ga potrebujejo za celično dihanje. Celice tako pričnejo odmirati, kasneje tudi tkiva in organi dokler ne pride do kronične odpovedi pljuč.

1.1.4.1 Respiratorni sistem



Slika 3: Prikaz respiratornega sistema

- **Nosna votlina**

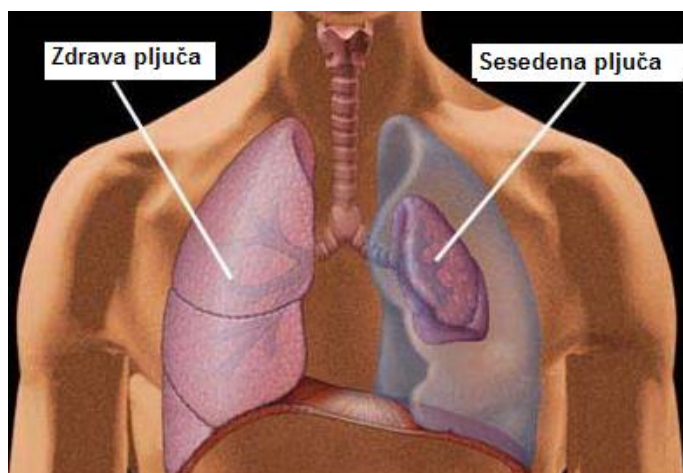
Pri bolnikih s CF se pogosto pojavljajo prizadetosti nosu, obnosnih votlin (sinusov). Prizadetost nosnega organa se kaže z oteženim dihanjem, poslabšanjem voja, kroničnim vnetjem obnosnih votlin in nosno polipozo. Možna je okvara notranjega ušesa zaradi ponavljajoče uporabe aminoglikozidnih antibiotikov. Do simptomov pride zaradi posledic genetske okvare, možnih spremljajočih se bolezni, predvsem kroničnih infekcij. Posledica genetske okvare je suha nosna sluznica, bolj gosta sluz v nosu. Ob kroničnih okužbah pride do novih poškodb nosne sluznice. Zamašen nos je vodilni simptom pri otrocih s CF, sledi kašelj, gnojni izcedek in zadah. Približno 45 % bolnikov s CF ima nosne polipe. Lahko pride do popolnega zaprtja nosne votline z nosnimi polipi. Povprečna starost pri odkritju je 15 let. Prav tako pa so lahko nosni polipi prvi pokazatelj CF.

- **Obnosna votlina**

Od obnosnih votlin pa se težave največkrat pojavijo v čeljustni votlini, ta je skoraj vedno izpolnjena z gosto sluzjo, ki zastaja v čeljustni votlini in jo zaradi pritiska širi. Čeljustna votlina se izboči v nos in tako ovira dihanje. Takšno izbočenje nastane pri otrocih med tretjim mesecem in osmim letom starosti in ga opisujejo pri 12 % bolnikov (Slika 3).

- **Pljuča**

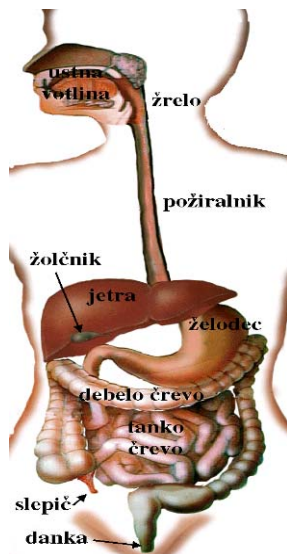
Pljuča so edini organ, ki je v neposrednem stiku z okoljem, zato je toliko bolj pomembno preprečevanje okužb, saj so bolniki s CF zelo dovzetni za okužbe. Pljuča so prizadeta zaradi kroničnega vnetja in kronične bakterijske okužbe kar vodi v upad pljučne funkcije. Najpogostejši bakterijski povzročitelji kronične okužbe spodnjih dihal so *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, *Pseudomonas aerogenosa*, *Stenotrophomonas maltophilia* ter *Burkholderia aureusum*. Tako torej ni priporočljivo, da so otroci, oboleni s CF v vrtcih, kjer je velika potencialna nevarnost okužb saj le-te vodijo v napredovano obliko bolezni (Slika 4) (1,3).



Slika 4: Prikaz zdravih in sesedenih pljuč

Nekateri pacienti prav tako razvijejo manifestacije na zgornjem respiratornem traktu - prizadet nosni organ (nosne in obnosne votline ter nosno žrelo), kar se kaže z oteženim dihanjem skozi nos, poslabšanjem voja, kroničnim sinuzitisom in nosno polipozo. Sluz se neprenehoma tvori v bronhialnem sistemu in običajno se zlahka izloča iz pljuč. Glavna funkcija sluzi je, da skrbi za čiščenje in tako preprečuje respiratorne infekcije. V primeru slabega prenosa pride do blokade, ki vodi do motene izmenjave plinov in do bakterijske infekcije debelega črevesa. Kronično vnetje ima pomembno vlogo v razvoju bolezni. Poškodbe veznih tkiv pljuč povzročijo nespremenljivost procesa, poslabšanje funkcije pljuč in preobremenitev srca. Kakovost življenja in preživetje sta odvisna od navedenih patoloških sprememb (10, 11).

1.1.4.2 Prebavni sistem, okvara prebavil, jeter in žolčnika



Slika 5: Prebavni sistem

Pri bolnikih s CF so prebavila različno prizadeta. Pri večini slabše deluje trebušna slinavka, manjše število pa ima različne spremembe na različnih delih prebavil. Za bolnike s CF sta poglavitna vzroka podhranjenosti okvarjena prebava hranil v prebavilih in okvarjena ali nepopolna absorpcija hranil v črevesju zaradi motenega delovanja trebušne slinavke. Trebušna slinavka izloča pri 85-90 % bolnikov premalo encimov, ki so potrebni za razgradnjo hrane (Slika 5) (1).

Gosta sluz blokira majhne cevke in kanale. Pride do slabe prebave in slabe absorpcije hrane. Brez encimskih nadomestil se pojavijo bolečine v trebuhu in diareja. Upočasneni somatski razvoj pri otroku lahko opozori na bolezen, ki zahteva posebne diagnostične postopke. Tudi bolniki, katerih bolezen je že vodena in nadzorovana, imajo občasne nepravilnosti v jetrih in težave z žolčnikom (kamni). Zaradi okvarjene prebave hranil in okvarjene ali nepopolne absorpcije hranil v črevesju zaradi motenega delovanja trebušne slinavke, nastane podhranjenost, ki je povezana tudi z okvarjenim pljučnim delovanjem (10, 11, 12).

Bolezen jeter pri bolnikih s CF se podaljšuje, zato je pravočasno odkrivanje ter zdravljenje bolezni jeter in njihovih posledic vse pogostejše. Dejavniki ki vplivajo na razvoj jetrne bolezni pri otrocih so, genetski dejavniki in sicer slaba ekspresija gena za CF in vpliv

sorodnih genov na halangiocyte, spol otroka, ter dejavniki okolja ki vključujejo slabo prehranjenost otroka, popolno parenteralno prehrano, operativne posege v trebušni votlini, okužbo z hepatotropnimi virusi, uživanje hepatotoksičnih zdravil. Okvara jeter je posledica zapore žolčnih vodov, ki vodi v napredujočo periportalno fibrozo in cirozo jeter. K zgodnjemu razvoju jetrne bolezni so nagnjeni otroci, pri katerih se je v prvih dneh življenja razvila mekonijska zapora črevesja, pri ostalih otrocih pa se klinična slika okvare jeter razvije nekje do desetega leta starosti (1).

Nekateri otroci, oboleni s CF, določen čas lahko normalno napredujejo s telesno težo in rasto ter se temu primerno razvijajo, vendar otroci z napredovalimi pljučnimi težavami zelo kmalu potrebujejo še dvakrat več energijskih potreb kot njegovi zdravi vrstniki. Ko se pri cistični fibrozi pljučna bolezen še poslabša, lahko zaradi težavnejšega dihanja in vnetnih sprememb, ki so posledica kronične okužbe, pride do anoreksije in pospešene presnove. Pomembna okvara jeter je posledica zapore žolčnih vodov, ki lahko vodi v cirozo jeter. V primeru napredovanja bolezni pa je potrebna presaditev jeter (10, 11, 12).

Obolenja prebavil, jeter in žolčnika:

- ***Gastroezofagealna refluksna bolezen*** je zatekanje želodčne kisline ali tekočine iz dvanajstnika v požiralnik. O bolezni se govori, če zatekanje povzroča težave, kot so bolečina za prsnico, težave pri požiranju, kašelj, slabšanje delovanja pluć. Je zaradi dodatnih vzrokov (kašelj, fizioterapija) pogostejša kot v zdravi populaciji. Diagnosticira se jo s 24-urno pH-metrijo in z ezofagogastroduodenoskopijo. Zdravi se z zaviralci protonske črpalke, antagonisti receptorjev H2 ali operativno.
- ***Mekonijski ileus***: ima 10–20 % novorojenčkov s CF. Ta lahko privede do perforacije in mekonijskega peritonitisa že v maternici. Po rojstvu se kaže z znaki zapore črevesa (napet trebuh, bruhanje žolča). Novorojenček ne odvajja mekonija. Pogosto je potrebno operativno zdravljenje. Obolenje lahko privede do predrtnja prebavne cevi.
- ***Sindrom distalne intestinalne obstrukcije*** je stanje, ki je podobno mekonijskemu ileusu. Zdravljenje je stanje, ki je podobno mekonijskemu ileusu. Pojavljati se prične pri nekaterih bolnikih v kasnejšem obdobju. Začetek bolezni se kaže kot

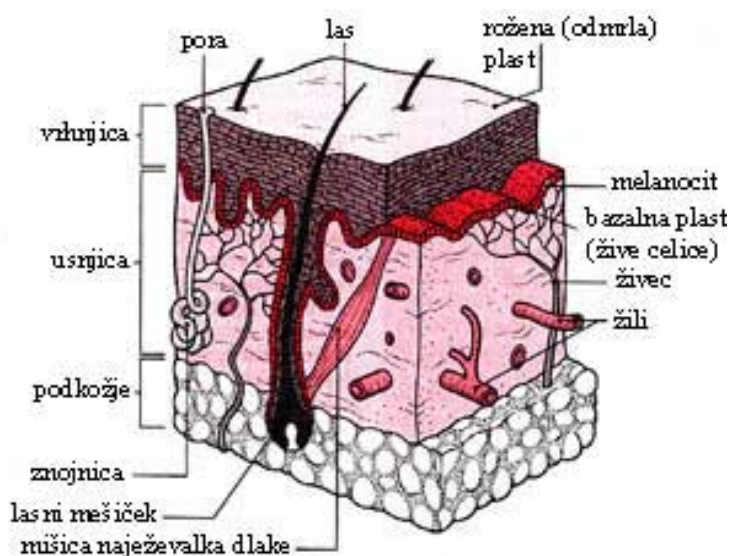
bolečina običajno v desnem spodnjem delu trebuha, ki se stopnjuje. Bolnik ne odvaja blata in prične bruhati. V samem predelu trebuha je tipna valjasta črevesna vijuga. Nepopolno zaporo zdravimo z odvajali, v hujših primerih so potrebne klizme, pri neuspehu pa operativni poseg.

- **Vnetje slepiča** se kaže z bolečino v predelu trebuha. Prvotno na sredini, nato pa se bolečina preseli v desni spodnji del trebuha. Bolniki bruhamo in imajo vročino. Zaradi hkratnega uživanja antibiotikov je vnetje lahko prikrito.
- **Prolaps rektuma:** ima 10–20 % otrok s CF in se pojavlja do 5. leta. Gre za obolenje kjer del črevesja pogleda skozi zadnjik. Okvara je lahko posledica slabšega vsrkavanja živil in pogostega odvajanja velikih količin blata. Pogostejša je pri podhranjenih otrocih. Lahko je posledica malabsorpcije in pogostega odvajanja velikih količin blata pri podhranjenih bolnikih. Zdravljenje je usmerjeno v ustrezno nadomeščanje encimov trebušne slinavke. Če je glavni sprožilec trdo blato, predpišemo odvajala. Redko je potreben kirurški poseg.
- **Fibrozirajoča kolonopatija** je zožitev začetnih delov debelega črevesja. Kaže se z bolečinami in drugimi znaki zapore prebavil. Je fibroza in posledična zožitev začetnih delov debelega črevesa. Povezujejo jo s pripravki z visokimi odmerki encimov trebušne slinavke (predvsem proteaze) ali kopolimera v nekaterih preparatih. Kaže se z bolečinami in drugimi znaki zapore prebavil. Zdravljenje je operativno. Pomembno je preprečevanje. Pri bolnikih s CF, ki ne pridobivajo ustrezno na telesni teži in imajo druge znake bolezni, je potrebno opraviti dodatne preiskave, saj so nekatere bolezni prebavil pri njih pogostejše (npr. Crohnova bolezen, celiakija, infestacija z giardio).
- **Chronova bolezen** je kronična vnetna črevesna bolezen. Gre za bolezenski proces, pri katerem se črevo vname, prizadene črevesno steno in lahko zajame celotno prebavno pot. Najpogosteje se pojavlja v spodnjem delu tankega črevesa in v debelem črevesu, zajame pa lahko tudi katerikoli del prebavne cevi od sluznice v ustni votlini do zadnjične odprtine.

- **Celiakija** povzroča vnetje tankega črevesja ali okužbo s parazitom *Giardia lamblia*, ki povzroča dolgotrajno drisko (13, 14, 15, 16, 17, 18).

1.1.4.3 Žleze znojnice

Žleze znojnice zaradi svojega nepravilnega delovanja povzročajo nastanek manjše količine potu z veliko večjo vsebnostjo natrija in klora, kot je normalno. Izguba soli ima negativen učinek na vodno presnovo in povzroča najprej utrujenost, zmanjšano fizično aktivnost, kasneje pa vrtočlavico, apatijo in druge simptome (Slika 6) (1, 10).



Slika 6: Žleze znojnice

1.1.4.4 Sladkorna bolezen

Je resno bolezensko stanje, pogosto jo spremlja tudi poslabšanje simptomatike in bolnikovo splošno stanje, kar je lahko tudi vzrok smrti. Pojavlja se pri od 4 % do 11 % bolnikov s CF, najpogosteje med dvajsetim in tridesetim letom starosti. Glavna značilnost SB je pomanjkanje inzulina, ki je posledica fibroze in maščobne filtracije eksokrinega dela pankresa, kar poruši zgradbo Langerhansovih otočkov in uniči večje število beta celic. SB se lahko kaže z značilnimi kliničnimi znaki kot sta pogosto odvajanje vode (poliurija) in huda žeja (polidipsija) z nenapredovanjem ali izgubo telesne teže kljub primernemu kaloričnemu vnosu ter poslabšanjem pljučne simptomatike ali pa samo s povečano koncentracijo krvnega sladkorja. Diagnoza se lahko postavi kadar se ugotovi povečana

koncentracija krvnega sladkorja na tešče ($> 7\text{ mmol/l}$) pri dveh ali več meritvah ali kadar poleg povečane koncentracije krvnega sladkorja na tešče ugotovimo še povečano koncentracijo krvnega sladkorja ($> 11\text{ mmol/l}$) pri naključni meritvi. Od 10 do 14 leta dalje se enkrat letno izvaja tudi OGTT. Sredstvo za zdravljenje CFSB je inzulin. Glede na to da imajo bolniki z CFSB tudi inzulinsko rezistenco, bi prišlo v poštev tudi zdravljenje s peroralnimi antidiabetiki, trenutno pa se ta rutinska uporaba ne priporoča (1, 3, 4, 6, 7).

1.1.4.5 Zmanjšana mineralna kostna gostota (MKG)

Z zmanjšano mineralno kostno gostoto je povečano tveganje za zlome. Ponavadi se zmanjšana kostna gostota pojavi pri bolnikih v adolescenčnem obdobju, se pa število bolnikov s starostjo povečuje tako, da ima zmanjšano kostno gostoto od 50-75% odraslih bolnikov. Število bolnikov z zmanjšano MKG se povečuje s trajanjem bolezni. Zmanjšana kostna gostota je posledica povečane razgradnje in zmanjšane tvorbe kosti. Pri njenem nastanku sodelujejo številni dejavniki kot so podhranjenost, malabsorpcija, pomanjkanje vitaminov D in K ter kalcija, zmanjšana telesna aktivnost, zdravljenje s kortikosteroidi, pozna puberteta, CFSB, kronično vnetje in primarni hipogonadizem. Zmanjšana kostna gostota se pogosteje ugotavlja pri bolnikih moškega spola. Najpogostejši so zlomi dolgih kosti, vretenc in reber, zaradi česar nastane kifoza (nepravilna drža) in deformacije prsnega koša. Posledično se zmanjša pljučna funkcija in sposobnost izkašljevanja ter čiščenja dihalnih poti, kar privede do poslabšanja pljučne bolezni. Kostna gostota se najpogosteje meri z dvofotonsko absorpciometrijo (DXA) (1, 3, 4, 6, 7).

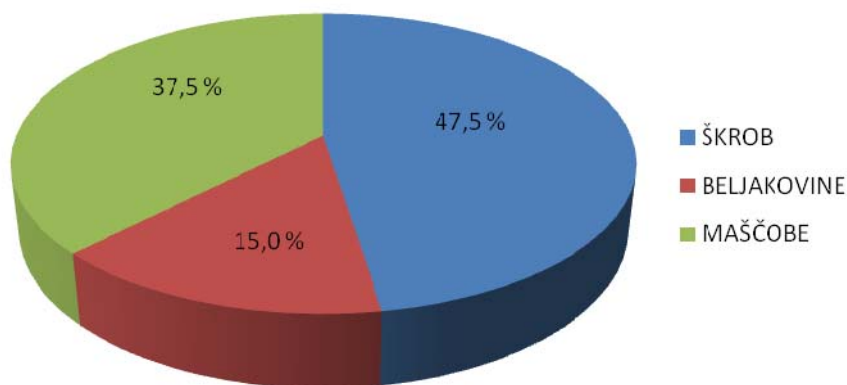
1.1.5 Prehrana otroka s CF

Pravilna prehrana predstavlja temeljni kamen uspeha zdravljenja. Pomembnost usmerjene prehranske intervencije in tako izboljšanja prehranskega statusa je za dobro počutje in daljše preživetje bolnikov s CF dobro poznana. Kljub temu pa nedohranjenost pri bolnikih še zmeraj ostaja eden glavnih problemov. Večina otrok ima zaradi neješčosti in pomanjšanja apetita težave. Namen usmerjene prehranske intervencije pri bolnikih s CF je dvojen in sicer potrebno je doseči optimalen prehranski status in normalno rast ter razvoj.

Zato je zelo pomembno starše in svojce poučiti o prehrani bolnika s CF. Usmerjeno prehransko svetovanje se zagotavlja ob potrditvi diagnoze in se ga nato kontinuirano nadaljuje kot del rutinske terapijske intervencije. Program lahko prepreči nedohranjenost, omogoči primerno rast ter napredovanje na telesni teži, odloži invazivne metode prehranske intervencije in ne nazadnje lahko upočasni napredovanje pljučne bolezni in podaljšuje življenjsko dobo.

Prehrana otroka v večini primerov temelji na povečanem energijskem vnosu. Nekateri otroci lahko določen čas normalno napredujejo na telesni teži ter v rasti in se temu primerno razvijajo. Otroci z napredovalimi pljučnimi težavami pa potrebujejo 50-60% več energijskih potreb kot njegovi zdravi vrstniki. Povečane energijske potrebe se poskuša doseči s pravilno izbiro in količino običajnih živil ter dobro vsakodnevno prehranjevalno rutino.

V prehrani otroka se nekje od 45-50 % energijskih potreb pokrije pretežno s škrobnimi žili in ne s povečanim vnosom ogljikovih hidratov (slaščic, čokolad,...). Najmanj 15 % celodnevni energijski potreb se pokrije z beljakovinami. Običajno je beljakovinski vnos v normalnih vsakodnevih razmerah zadovoljiv. Povečan vnos beljakovin je potreben pri neneadnem poslabšanju zdravstvenega stanja. Približno 35-40 % energijskih potreb se pokrije z maščobo. Zelo pogostokrat se zgodi, da opisan način prehranjevanja otroka ne zadostuje, v takšnih primerih se ob dogovoru z specialisti lahko uporablja energijske napitke (Graf I) (19, 20, 21).



Graf I: Procentni prikaz prehrane pri otroku s CF

- ***Prehrana v prvem letu življenja:*** Zaželeno je da mati otroka doji saj materino mleko vsebuje dovolj encima (lipaze) za razgradnjo maščob, obenem vsebuje tudi ugodno razmerje maščobnih in aminokislin, ki so pomembni za razvoj otroka. V primeru da to ni mogoče, so priporočljiva mleka s prilagojenimi vrstami. S časom se začne otroka hraniti z mešano prehrano. V poletnem času se dovaja sol zaradi prevelike izgube soli pri otroku v poletnem času. Pri otrocih z malabsorpcijo je v prvem letu življenja dodajati vitamine, topne v maščobi (A;D;E in K). Če otrok v prvem letu ne uspeva primerno, je priporočljivo dodajanje kaloričnih dodatkov, kot so glukozni polimeri in rastlinska olja.
- ***Prehrana pri malem in predšolskem otroku (od 2. do 6. leta):*** Otrok v tem obdobju potrebuje ustrezno prehrano, ki mora biti bogata z maščobami in kalorijami. V tem obdobju se ustvarjajo prehranske navade, pomembna je kontrola rasti in pridobivanje telesne teže. Starši morajo vedeti, da so izdelki z manj maščobami pri otroku s CF strogo prepovedani.
- ***Prehrana pri šolskih otrocih (6 do 10 let):*** To je obdobje ki je nevarno za razvoj slabše prehranjenosti pri otroku, saj so potrebe po kalorijah večje zaradi fizične aktivnosti otroka, ob tem pa si otrok ne vzame dovolj časa za obroke in ustrezno zdravljenje z nadomestnimi encimi. Potrebni s resni pogovori z otrokom, ki mora v tem obdobju že biti seznanjen z svojo boleznijo in pomenom zdravljenja.
- ***Prehrana pri mladostniku (11 do 18 let):*** V tem obdobju je potrebna večja količina kalorij, zaradi hitre rasti, spolnega razvoja in visoke stopnje fizične aktivnosti. V teh letih se nemalokrat pojavijo pogoste pljučne okužbe, obolenje jeter, žolčevodov in lahko tudi SB. Pomembno je da mora maščobe sestavljati nekje od 35-40 % kalorij. Maščobe pomenijo za telo pomemben vir kalorij, pa tudi vir esencialnih maščobnih kislin (22, 23).

1.1.6 Diagnostika

1.1.6.1 Zdravljenje

Zdravljenje obolelih s CF je usmerjeno v preprečevanje in antibiotično zdravljenje bakterijskih okužb, vnetja v dihalih in izboljšanje mukociliarnega čiščenja. Najpogostejši bakterijski povzročitelji ponavljajoče ali kronične okužbe spodnjih dihal so *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacia* complex. Diagnostika okužbe spodnjih dihal je težka, saj je pogosto prisotna že pri majhnih otrocih, ki sputuma ne morejo izkašljati. Zato so pri majhnih otrocih v uporabi še druge metode kot so aspirat žrela, bris žrela, odvzem kužnine s pomočjo bronhoskopije. Kronična okužba s *Pseudomonas aeruginosa* sproži vnetni odgovor s sproščanjem proinflammatoryh citokinov, predvsem IL8 ki je kemotaktičen za nevtrofilce. Povečana okužba sputuma pri otrocih, ki so kronično okuženi dobro sovпада s stopnjo vnetja, številom nevtrofilcev in sproščanjem serinskih proteinaz, kar vodi v progresivno destrukcijo pljučnega tkiva in obstrukcijo dihalnih poti z upadanjem pljučne funkcije. Zgodnje in agresivno eridikacijsko zdravljenje okužbe s *Pseudomonas aeruginosa* prepreči ali vsaj podaljša čas do razvoja kronične okužbe, ki vodi v napredovan (progesiven) upad pljučne funkcije. Zgodnje zdravljenje se lahko zagotovi z aktivnim iskanjem okužbe. Za eradikacijsko zdravljenje je priporočena kombinacija ciprofloksacina in inhalacij tobramicina.

Blaga akutna poslabšanja se zdravijo s peroralnimi antibiotiki v primeru neuspeha pa s parenteralnimi antibiotiki. Za zmanjšanje razvoja rezistence in učinkovito istočasno delovanje je potrebno pri okužbi s *Pseudomonas aeruginosa* dvojno antibiotično zdravljenje s kombinacijo antipseudomonasnega penicilina in aminoglikozida. Dolgotrajno zdravljenje z makrolidnim antibiotikom azitromicinom je dovoljeno pri vseh otrocih s kronično okužbo. Zdravilo zmanjšuje število akutnih poslabšanj ter izboljša pljučno funkcijo ter kvaliteto življenja.

Otrok s CF je redno pregledan v specialistični ambulanti vsake tri mesece, dojenčki in bolniki z novo odkrito boleznijo v začetnem obdobju tudi pogosteje, otroci z atipično obliko in blagimi težavami pa vsakih šest mesecev. Ob vsaki ambulantni kontroli se otroka pregleda, izmeri telesno težo, višino, SaO₂, spirometrijo in opravi mikrobiološki

pregled sputuma ali aspirata žrela. CF fizioterapevt oceni otroka vsake tri mesce v sklopu ambulantnega pregleda. Opravi spirometrijo, oceno drže, gibljivost prsnega koša in mišične mase ter napiše individualno prilagojen program fizioterapevtskih vaj, ki jih ob vsakem pregledu oceni in dopolni. Priporočene preiskave ki se pri otroku izvajajo enkrat letno so:

- Hemogram, ionogram;
- Testi jetrne funkcije (AST, ALT, AF, γ GT, bilirubin, žolčne kisline, albumini);
- Testi ledvične funkcije, urin;
- IgG, IgE;
- Vitamini A,E, 25(OH)D3, cink, selen;
- Testi koagulacije;
- Sputum na patogene bakterije, glive;
- Spirometrija;
- Rentgenogram prsnih organov;
- UZ abdomna, UZ Doppler portalnega sistema;
- Pri bolnikih, ki imajo cirozo jeter α -fetoprotein;
- Pri sumu na GERB ali slabšem pridobivanju na telesni teži 24h pH metrijo in eventuelno gastroskopijo;
- 3-dnevni prehranski dnevnik za oceno ustreznosti nadomeščanja pankreatičnih encimov;
- Elastaza v blatu (pri tistih, ki še nimajo insuficiencie pankreasa);
- OGTT > 10 let;
- DXA > 8 let < 8 let pri visoko rizičnih otrocih (FEV1 < 50 % ali nepojasnen upad pljučne funkcije, diabetes, osteoporoza v družini);
- Osteocalcin, crosslaps, 1,25 (OH)2D3, iPTH;
- IgE in IgG na alergen *Aspergillus fumigatus*;
- EKG, UZ srca (FEV1 < 60 %);
- ORL (sinusi, polipi, avdiogram pri zdravljenju z aminoglikozidi);
- Šola respiratorne fizioterapije;
- Šola inhalatorne fizioterapije;
- Psiholog.

Zaradi možnega prenosa patogenih bakterij med bolniki je zelo pomembno ločevanje otrok s cistično fibrozo v ambulantni, bolnišnici in zunaj nje: otroci, ki imajo kronično okužbo s *Pseudomonas aeruginosa*, morajo biti ločeni od otrok brez okužbe, otroci okuženi z *Burkholderia cepacia* in MRSA pa morajo biti ločeni drug od drugega. Otroci s CF morajo biti hospitalizirani v enoposteljnih sobah, po možnosti z lastnimi toaletnimi prostori, da čimbolj zmanjšamo možnost prenosa okužbe.

Pričakovan življenjska doba bolnikov s CF se je v zadnjih letih dramatično podaljšala na 36.8 let, še vedno pa je to bolezen, ki kljub izboljššanemu zdravljenju vodi v napredovan upad pljučne funkcije in smrt zaradi kardio respiratorne odpovedi. (3, 13, 22).

1.1.6.2 Raba protiglivičnih zdravil

Pri bolnikih s CF se glivične okužbe pojavljajo redkeje kot bakterijske, vendar pa so najpogostejši povzročitelji glivične okužbe kvasovke iz rodu *Candida albicans* in plesni iz rodu *Aspergillus*. Zdravljenje s sistematičnimi glivičnimi okužbami je zaradi osnove bolezni in zapletov nezanesljive diagnostike in težkega ločevanja med kolonizacijo in pravo okužbo zahtevno. Zdravljenje omejuje relativno majhna izbira protiglivičnih zdravil, ki se je v zadnjih letih nekoliko povečala.

Okužbe s *Candida albicans*

Glive iz rodu *Candida albicans* so del normalne flore kože, sluznic ustne votline, žrela ter prebavnih poti. Ob motenem ravnoesju z drugimi mikroorganizmi normalne človeške flore in ob zmanjšani imunski odpornosti se čezmerno razmnožijo in povzročijo bolezenske znake površinske kandidoze (kožno-sluznične) ali pa se hematogeno razširijo ter povzročijo sistemsko okužbo. Najpogostejše so okužbe z *Candida albicans*, ki povzroča približno 90 % vseh okužb, sledijo *Candida glabrata* (5 %), *Candida parapsilosis* in *Candida krusei*. Bolniki so bolj dovzetni za okužbe s kandido, dejavniki tveganja so predhodno inhalatorno ali peroralno zdravljenje s kortikosteroidi, pogosto prejemanje antibiotikov in sladkorna bolezen. Posledice so navadno blage, zato ne sodijo med resnejše zaplete bolnikov s CF. Okužbe s *Candida albicans*, se najpogostejše kažejo s klinično sliko oralne ali dentalne kandidaze (24 % bolnikov s CF ima sor petkrat letno), ter redkeje

sistemskih okužb (kandidemija, pljučna kandidoza). Te se pojavljajo predvsem pri bolnikih po presaditvi organov in pri tistih z osrednjim venskim katetrom. Predhodna kolonizacija je neodvisni napovedni dejavnik za sepsiko. Tveganje za okužbo narašča s številom koloniziranih mest, odvisno pa je tudi od vrste kandidoze. Glivična pljučnica ki jo povzroči gliva je pogosto smrtna (Slika 7).



Slika 7: *Candida albicans*

Zdravljenje invazivnih okužb

Kandidemijo pri bolniku, ki je hemodinamsko stabilen in ni prejemal azolov se prične zdraviti. Kadar ima bolnik venski kanal ga je potrebno odstraniti. **Glivično pljučnico** ki jo povzroči *Candida albicans*, se zdravi če imajo bolniki kljub ustreznemu antibiotičnemu zdravljenju še zmeraj prisotne infiltrate na pljučih in pri katerih je bila iz večjih vzorcev izpljunga osamljena kandida.

Zdravljenje kožnosluzničnih okužb

Orofaringealno kandidozo se zdravi z topičnimi protiglivičnimi zdravili. Zdravljenje se nadaljuje še ko klinični znaki izvenijo. Pri bolnikih so kljub topičnemu zdravljenju pogoste ponovitve, zato je potrebna stroga higiena ust in oralno zdravljenje. Bolniki s hudim jetrnim obolenjem se zdravijo le s topičnimi protiglivičnimi zdravili.

Vulvovaginalna kandidoza se običajno zdravi z zdravili v obliki mazila ali svečke. Učinkovito pa je tudi kratkotrajno peroralno zdravljenje.

Okužbe s *Aspergillus*

Aspergillus je plesen, ki se nahaja v zemlji v organskih materialih, prahu, kompostu, hrani, začimbah ter trohnečih rastlinah. Obstaja približno dvesto vrst aspergilusa, patogeni za človeka pa so le nekateri med njimi in sicer so to *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*. Do okužbe pride z vdihavanjem spor in micelijskih delcev iz zraka, ki pridejo globoko v pljuča do alveolusov. Osebe z običajnim imunskim odgovorom običajno ne zbolijo. Sam razvoj bolezni je odvisen od količine invirulence vdihanih gliv in imunskega stanja gostitelja. Okužba povzroča več kliničnih, bioloških, patoloških in rentgenoloških sindromov. Lahko pride do same kolonizacije dihalnih poti ali do invazivnega traheobronhitisa, invazivne pljučnice aspergiloze, aspergiloma in različnih oblik preobčutljivostnih bolezni kot so astma, preobčutljivostna pljučnica, alergična bronhopulmonalna aspergiloza (ABPA). Bolniki so najpogostejše kolonizirani z *Aspergillus fumigatusom* in redkeje z drugimi vrstami. Najpogostejši zaplet pri bolnikih s CF je ABPA. Diagnoza ABPA temelji na kombinaciji kliničnih, bioloških, radioloških kriterijev. Z zdravljenjem ABPA se želi zmanjšati vnetje in imunski odziv ter zmanjšati nastajanje antigena aspergilusa v koloniziranih dihalnih poteh. Trajanje zdravljenja je nekje od štiri do dvanajst mesecev. Za zdravljenje invazivnega traheobronhitisa se priporoča zdravljenje s proti glivičnimi zdravili, za zdravljenje kronične nekrotizantne pljučne aspergiloze pa protiglivična zdravila in izjemoma tudi kirurški poseg (Slika 8).

Z racionalnim predpisovanjem protiglivičnih zdravil se želi izboljšati klinično stanje bolnika, zmanjšati stranske učinke zdravil, razvoj odpornosti na protiglivična zdravila ter stroške zdravljenja. S pravilnim pristopom se lahko vsaj deloma prispeva k boljši kakovosti življenja bolnikov s CF (23).



Slika 8: *Aspergillus fumigatus* – običajna gliva, ki lahko povzroči poslabšanje pljučnega obolenja pri ljudeh s CF.

1.1.6.3 Slikovna diagnostika

Slikovna diagnostika je v diagnostiki CF sekundarnega pomena, je nepogrešljiva pri spremljanju in vodenju pacientov in je v veliko pomoč za življenje ogrožajočih komplikacij.

- **Rentgensko slikanje** (RTG) pljuč na začetku nima večjega pomena. V veliko pomoč je pri spremljanju pacientov z dokazano CF, predvsem pri odkrivanju hudih komplikacij, kot so pneumotoraks ali pljučna aspergiloza. V preteklem obdobju so razvili številne ocenjevalne sisteme rentgenogramov pljuč za oceno stanja CF. Med njimi so Schwachman-Kulczycki točkovni sistem, Chrispin-Norman točkovni sistem, prirejeni Chrispin-Norman sistem, Birmingham sistem, Wisvkinson študiji med posameznimi točkovnimi sistemi, klinični podatki in laboratorijskimi izvidi se je Chrispin Norman točkovni sistem izkazal ta tistega, ki se najboljše sklada s testi pljučne funkcije. Chrispin Norman točkovni sistem ima najmanjšo variabilnost rezultatov med posameznimi preiskovanci. S kombinirano uporabo več točkovnih sistemov se zviša natančnost točkovanja. Najdbe pri klasičnem slikanju pljuč so nespecifične, v začetnih stadijih bolezni pa je rentgenogram pljuč praviloma normalen.
- **Rentgensko slikanje skeleta** je pri bolnikih s CF v veliko pomoč. Odkrije se lahko osteoporoza in predvsem hipertrofično osteoartropatijo.
- RTG obnosnih votlin in predvsem CT-pregled glave oziroma obnosnih votlin sta odlični metodi za dokaz mukokele (maksilarni sinus) ali piokele. Mukokele so najpogostejše v frontalenem sinusu kjer povzročajo nastanek resnih nevroloških motenj, kot so stabizem (patološki odklon enega očesa v razmerju na drugo oko), diplopija (dvojni vid) ali motnje vida.
- Pomembno vlogo v sami diagnostiki in spremljanju pacientov ima tudi HRCT. CT se uporablja pri odkrivanju anatomskih detajlov. Z uporabo CT-preiskave se najde več pacientov z bronhiektazijami in mukoznimi čepki. Slaba stran preiskave je v potrebi po sedaciji majhnih otrok, pa tudi izpostavljenost ionizirajočemu sevanju je znatno večja kot pri klasičnem rentgenskem slikanju pljuč in srca.

- Preiskave s pomočjo magnetno resonančne tomografije (MR) se redkeje uporabljajo v diagnostiki in spremljanju pacientov. MR aparati so glasni, pacienti pa morajo biti pri miru približno trideset minut ali več, kar je pri odraslih pacientih, ki so včasih klavstrofobični težje izvedljivo. Pri otrocih preiskava običajno ni mogoča brez splošnega opoja. Preiskava s pomočjo MR daje sicer kar zadovoljive podatke o patologiji pljuč, ki se skladajo z kliničnimi podatki in podatki dobljenimi pri CT preiskavi pljuč.
- Za dokaz komplikacij CF v abdomnu se uporablja ultrazvočni pregled abdomna, ki je nepogrešljiva metoda za prikaz prizadetosti pankreasa in jeter.

Scintigrafske metode preiskave pljuč imajo v diagnostiki in spremljanju bolnikov s CF manjšo vlogo. Preiskava ima preveč lažno pozitivnih rezultatov. Scintigrafska preiskava jeter je koristna pri bolnikih s CF in protrahiranim iktusom in pri tistih, kjer pri UZ-preiskavi dokažemo razširitev žolčnih vodov. Slikovna diagnostika je v diagnostiki CF sekundarnega pomena, je pa nepogrešljiva pri spremljanju in vodenju bolnikov, ter je v veliko pomoč pri odkrivanju življenje ogrožajočih zapletov (1, 3, 13, 23).

1.1.6.4 Fizioterapevtske obravnave bolnika s CF

Izbrani posegi in intervencije se prilagajajo individualno glede na bolnikove potrebe, težave in njegovo toleranco. Bistvenega pomena je bolnikovo aktivno sodelovanje. Prilagajanje in spreminjanje fizioterapevtskih posegov glede na trenutno stanje bolnika je potrebno ob poslabšanju bolezni, bolnikovi netoleranci posega, neuspešnosti posega, kadar posega ni več potrebno preverjati, ko bolnik navaja bolečino ali večje neugodje med posegom in ob spremembi vitalnih funkcij. Bolnike je potrebno motivirati za čim boljše življenje, prav tako jim je potrebno pomagati poiskati individualno vadbo zaradi spremljajočih obolenj. Prav tako je pomembno vključevanje staršev in drugih družinskih članov v samo izvajanje fizioterapije. Pomaga se jim s podajanjem novih vsebin dela in nadgradnjo dosedanjih metod. Pomembna je predstavitev metod, ki jih lahko izvajajo doma. Bolnike je potrebno opozoriti na previdnost pri določenih metodah in jih učiti

doslednosti pri izvajanju fizioterapije in motivirati za večji samoprispevek k zdravljenju. Bolnike je potrebno spodbujati k gibanju in čim bolj aktivnemu življenjskemu slogu.

Glede na prizadeto področje pljuč se tehnike delijo na:

Tehnike za čiščenje bronhialnega sekreta in perifernih dihalnih poti

1. Postrualna drenaža – položajna drenaža;
2. Perkusija ali clapping;
3. Vibracijska masaža prsnega koša;
4. Avtogena drenaža.

Tehnike za čiščenje bronhialnega sekreta iz centralnih dihalnih poti

1. Asistiran forsiran izdih;
2. Huffing (haffing);
3. Aktivno ciklično dihanje;
4. S pripomočki, oscilacijska terapija (Flutter, Acapella);
5. Treshold, PEP maska/ustnik.

- ***Položajna drenaža (masaža prsnega koša)***

Namen položajne drenaže je mobilizacija sluzi iz posameznih delov pljuč. Indikacija te respiratorne fizioterapije so masovna produkcija sekreta (več kot 25 ml/dan), težko čiščenje dihalnih poti, odsotnosti ali slabše prisotnosti, pljučni zvok. Kontraindikacije so lahko huda osteoporoza, velika plevralna vnetja, pomembno povečanje otežkočenega dihanja (dispnoe), ognojek (absces), pljučnica, krvav izkašljaj (hemoptize), bolezni prsnega koša.

- ***Perkusija ali clapping***

Namen je odlusčenje sluzi od stene dihalnih poti s pomočjo konkavno oblikovane dlani. Indikacije so masovna produkcija sekreta, prizadetost bronhijev (bronhiektazije), odsotnost ali slabše prisotnosti pljučni zvoki. Kontraindikacije so zlomi reber, infekcije, poškodbe kože, začasna zožitev bronhijev (bronhospazem), nabiranje gnoja (empiem), huda osteoporoza, pljučnica, hemoptize, bolezni prsnega koša.

- ***Vibracijska masaža prsnega koša***

Namen je mobilizacija sluzi proti centralnem dihalnim potem, ki se izvaja z mehanskimi napravami (mastorji). Indikacije so lahko masovna produkcija sekreta, razširjeni bronhiji (bronhiektazije), prisotnost kolapsa pljuč (atelektaz). Kontraindikacije pa so lahko enake kot pri perkusiji.

- ***Avtogeno dihanje***

Je metoda dihanja pri različnih dihalnih volumnih, s katero vplivamo na mobilizacijo, zbiranje in evakuacijo sluzi. Uči se jo postopoma, da postane dihanje dobro ozaveščeno in dobro koordinirano. To dihanje omogoča očiščenje dihalnih poti in spodbuja razvoj zelo kvalitetnih mehanizmov čiščenja le-teh.

- ***Kašelj***

Namen izkašljevanja je čiščenje sekreta iz centralnih dihalnih poti. Običajno je izkašljevanje končna tehnika ostalih tehnik. Za bolnika je značilno povečano izločanje in večja patogenost sputuma. Kašlja se ne spodbuja takrat, kadar je suh in neproduktiven, pri prisotnosti hemoptiz in pnevmotorsu (zrak zaradi predrtja popljučnice iz pljuč uhaja v prsno votlino).

- ***Huffing***

Namen je čiščenje zgornjih dihalnih poti, pri tej metodi pride do manjših pritiskov kot pa pri samem kašlju. Gre za eksperimentalno tehniko kjer gre za forsiran izdih ter izgovarjanjem črke h. Bolnik naredi počasen vdih skozi nos, zadrži približno tri sekunde nato pa istočasno naredi forsiran izdih z primikanjem (adducijo) rok k telesu.

- ***Flutter***

Je mehanski pripomoček v obliki pipce za čiščenje dihalnih poti. Je zelo priljubljen in učinkovit pripomoček, ki združuje učinek oscilacije in PEP-a na dihalne poti in je zelo primeren za vsakodnevno uporabo. Je pripomoček, ki je primeren za dodatno ali pa tudi popolnoma samostojno obravnavo. Ob redni uporabi vpliva na večjo predihanost pljuč in omogoča boljše izkašljevanje, hkrati zmanjša občutek dušenja. Pri tehniki gre za čiščenje

zgornjih dihalnih poti, večjo predihanost pljuč in zmanjšano količino zraka v dihalnih poteh. Pojavi se lahko dolgotrajen kašelj z izmečkom, bronhiektazije, sesedanje dihalnih poti, upočasnen pretok zraka skozi dihalne poti, okvara mukociliarnega aparata. Nezaželeni znaki pa so lahko pnevmotorax, hemoptize, bolezni prsnega koša ter plevralni izliv.

- ***Incetivna spirometrija***

Pri tej tehniki gre za preprečevanje respiratornih zapletov, povečanja dihalnih volumnov ter trening inspiratornih mišic. Pri osemtedenskem programu pride do povečanja inspiratornih mišic. Rezultat samega treninga je povečanje funkcije trebušne prepone, povečajo se pljučni volumni ter psihosocialni položaj.

Ostale tehnike za izboljšanje celotnega dihalnega vzorca, z manjšo dodatno uporabo mišic

- Dihalne vaje / vaje v dihanju;
- Dihanje z ustnično priporo

Namen dihalnih vaj je večja predihanost pljuč in sprostitev. Te vaje se uporablja za predihavanje zgornjih, srednjih ter spodnjih predelov pljuč. Indikacije pri teh tehnikah so lahko prisotnost večjih količin pljučnega sekreta, kronična respiracijska insuficienca. Kontraindikacije do katerih lahko privedejo dihalne vaje pa so lahko bronhialna krvavitev, akutni respirat, insuficienca in varice požiralnika. (1, 3, 24).

1.1.7 Transplantacija

1.1.7.1 Presaditev pljuč

Transplantacija pljuč je uveljavljena terapevtska možnost pri bolnikih s hudo napredovalo stopnjo CF. Glede na statistične podatke "International Society for Heart and Lung Transplantation" znaša 3-letno preživetje bolnikov s CF po transplantaciji pljuč 66 % (25).

Presaditev pljuč je za enkrat edina možnost, ki omogoča preživetje bolnikov. Zato je toliko bolj pomembno, da starši otroku s CF redno izvajajo čiščenje dihalnih poti, ki pogosto zajema tudi programe telesnih dejavnosti. Dejstvo je, da redna respiratorna vadba, skupaj s fizičnim treningom lahko pomembno vpliva na izboljšanje pljučne funkcije otrok s CF, seveda ob pomoči in sodelovanju staršev. Presaditev pljuč je potrebna takrat, ko pride do končne dihalne odpovedi. Namen presaditve je normalizirati bolnikovo pljučno funkcijo in s tem izboljšati ne samo preživetje ampak tudi kvaliteto življenja. Je zahteven in drag postopek. Zelo zahtevno pa je tudi pooperativno obdobje, v katerem se srečujejo z številnimi izzivi kot so pooperativna rehabilitacija bolnika, vodenje imunosupresivnega zdravljenja na takšen način da ob najmanjših možnih stranskih učinkih ne pride do zavrnitve organa ter preprečevanje, zgodnje odkrivanje in učinkovito zdravljenje okužb, ki se pojavljajo pogostejše ravno zaradi imunosupresivnega zdravljenja. Zato je za želen uspeh presaditve pljuč izrednega pomena že predoperativno, najprej skrben izbor primernih kandidatov, nato pa dobra predoperativna priprava.

1.1.7.2 Izbor in priprava bolnika

Za presaditev pljuč so primerni kandidati, pri katerih je izčrpano vse zdravljenje z drugimi operativnimi postopki, zdravili in kisikom, pričakovano preživetje pa se oceni na eno leto ali manj. Izjema so bolniki s CF, kjer se za poseg odločijo ko je kakovost življenja tako slaba, da se povsem socialno izolirajo, kljub temu da ocenjeno preživetje brez presaditve presega eno leto. Sledijo še natančne preiskave ostalih organskih sistemov. Kandidati morajo biti telesno še dovolj zmogljivi, brez pomembnih pridruženih bolezni, brez potencialnih fokusov okužbe v telesu in primerno motivirani na sam poseg. Pripravljeni morajo biti na zahtevno pooperativno zdravljenje, ki od njih in celotne družine zahteva

aktivno sodelovanje tako pri vodenju jemanja zdravil kot pri rehabilitaciji in ponovnemu vključevanju bolnika v socialno življenje. Kandidati morajo pred posegom opustiti vse razvade, ki škodljivo vplivajo na potek zdravljenja in korigirati morebitno preveliko ali premajhno telesno težo.

Preiskave pred presaditvijo pljuč so na eni strani usmerjene v preiskave, ki opredelijo velikost pljuč in tkivne značilnosti organizma in s tem omogočijo iskanje skladnega organa, na drugi strani so usmerjene v oceno funkcionalnega stanja vseh pomembnih organskih sistemov, v oceno pridruženih bolezni in iskanje prebolelih, skritih in trenutnih bakterijskih, virusnih in glivičnih okužb. Funkcionalno naj bi s spirometrijo izmerjeni forsirani ekspiratorni volumen v prvi sekundi (FEV1) manjši kot 30 % za bolnika predvidene norme oziroma če hitro upada, delni tlak ogljikovega dioksida v arterijski krvi ($p\text{CO}_2$) > 6 pKa in delni tlak kisika ($p\text{O}_2$) < 7.5 pKa. Po opravljenih preiskavah se kandidata predstavi s kompletno dokumentacijo kirurški ekipi, ki bo poseg opravila. Kandidati, ki so sprejeti za poseg, so uvrščeni na listo za transplantacijo. Čakalna doba za presaditev pljuč povprečno traja eno leto (1, 9, 25, 26).

1.1.8 Protitelesa in imunoglobulini

Po zgradbi so vsa protitelesa imunoglobulini, vendar po funkciji vsi imunoglobulini niso protitelesa. Če kakšen imunoglobulin reagira z znanim antigenom se imenuje protitelo, toda če njegova specifičnost ni znana, mu pravimo imunoglobulin. So beljakovine z razmeroma veliko molekulo, ki je sestavljena iz 1330 aminokislin. Protitelesa prepoznajo povzročitelja bolezni in se tako proti njemu svojevrstno odzivajo, tako da ga nevtralizirajo in onemogočijo. Protitelesa nastajajo v endoplazmatskem retikulumu plazmatk in se oblikujejo v Golgijevih kompleksih. Največ jih je v krvi, manj v drugih telesnih tekočinah in izločkih, kot sta sluz ter mleko, najdemo pa jih tudi na celicah B, kjer opravljajo naloge receptorjev ali vezišč za antigen. Ko se kri strjuje, ostanejo v serumu.

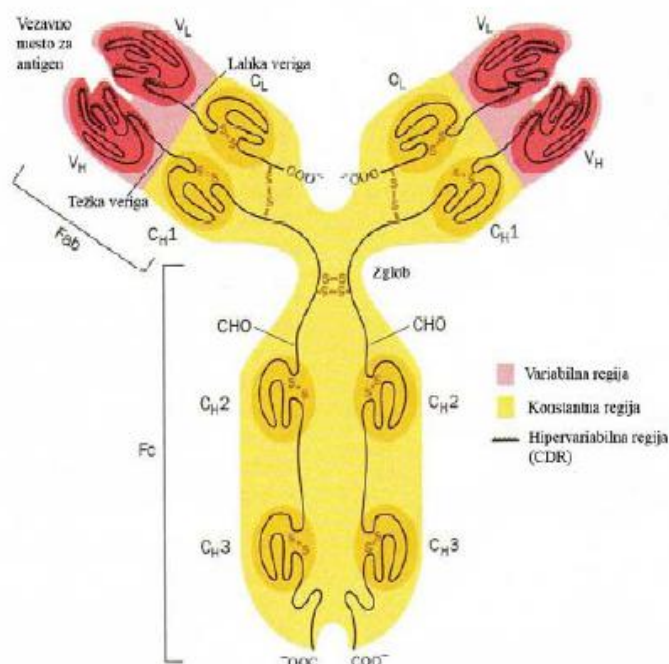
Temeljna imunoglobulinska enota je sestavljena iz dveh istovetnih težkih verig in dveh istovetnih lahkih verig. Težki verigi sta približno dvakrat daljši in dvakrat težji. V sredini verige je gibljivo mesto, na tem mestu so težke verige povezane z disulfidnimi vezmi. Prav tako pa so tudi lahke verige povezane z disulfidnimi vezmi. Težkih verig je pet in se

imenujejo gama, mi, alfa, delta ter epsilon, medtem ko sta lahki verigi samo v dveh tipih lambda in kapa. Vsi imunoglobulini se razvrstijo v pet razredov po njihovih težkih verigah in sicer IgG, IgM, IgA, IgE, IgD. (27, 28, 29).

1.1.8.1 Razredi protiteles

- **Protitelesa IgG**

Protitelesa G katerih nastanek sprožajo predvsem proteinski antigeni, zajemajo približno 80% (12.5 mg/ml) vseh imunoglobulinov v serumu. IgG so enakomerno porazdeljeni v krvi in medceličnini, njihova življenjska razpolovna doba je približno dvajset dni, v krvi pa se ohranijo 40 dni. Molekula IgG, ki je težka 150 kD je glede na osnovno strukturno enoto iz dveh težkih in dveh lahkih verig monomerna ali enodelna. Razmeroma velika količina, velika afiniteta ali moč vezave na antigen in številne sekundarne biološke lastnosti uvršča imunoglobuline IgG med najpomembnejša protitelesa. Poglavitna protitelesa se nahajajo v krvi, vendar ta prehajajo tudi v tkiva ter nosijo glavno breme pri nevtralizaciji bakterijskih toksinov, pogosto pa se tudi vežejo na mikrobo ter tako pospešujejo fagocitozo, omogočajo delovanje naravnih celic ubijalk, en podtip pa prav tako degranulacijo v mastocitih. Pomembna lastnost imunoglobulinov IgG je sposobnost prehoda skozi placento. IgG tako zagotovijo zgodnjo, odločilno protitelesno zaščito novorojenca, ki se kasneje lahko okrepi s kolostralnimi protitelesi. Ta se prenesejo skozi celično pregrado s translokacijo, ki vključuje vezavo protiteles v lumnu črevesja pri pH 6.0 na posebna vezišča Fc na epitelih celicah sluznice, nadalje endocitozo in prenos kompleksa receptor protitelo skozi celico epitela ter nazadnje sproščanje IgG na drugi strani pregrade na bazalni površini epitela pri pH 7.4 (Slika 9) .



Slika 9: Zgradba IgG

- **Protitelesa IgA**

So pomembna za obrambo sluznic. Protiteles tega razreda je komaj 13 % (2.1 mg/ml) vseh imunoglobulinov v krvi, vendar pa prevladujejo v telesnih izločkih, IgA v solzah, slini, bronhialni in nosni sluzi ter sluzi v prebavilih ter izločkih mlečne žleze imenujemo sekretorni IgA. Pri človeku se pojavljajo v obliki monomera in dimera. Pri monomerni obliki se ločijo na dva podrazreda IgA1 ter IgA2. Molekule omenjenih podrazredov se med seboj rahlo razlikujejo tako po zgradbi kot nalogah. IgA ima posebno velik pomen kot poglavitno protitelo, ki se izloča na sluznicah. Je prav tako močno nevtralizacijsko dejaven pri virusnih infekcijah, predvsem v nosni in bronhialni sluznici. Protitelesa razreda A se vežejo s številnimi topnimi antigeni, ki lahko izvirajo iz sestavin hrane ali iz mikrobov prebavil in tako preprečujejo njihov vdor v organizem. Sekretorni IgA pa so zelo pomembni tudi pri protimikrobni obrambi novorojenca v prvem mesecu življenja.

- **Protitelesa IgM**

So največja protitelesa sestavljena iz petih podenot. Zanje je značilno, da se takoj spoprimejo z povzročiteljem bolezni. Imunoglobuline M inducirajo predvsem polisaharidni antigeni in so prva protitelesa, ki se pojavijo med protitelesnim imunskim odzivom in prva,

ki nastanejo v zarodku. Zaradi številnih mest za vezavo zelo hitro vežejo antigen ter učinkovito sprožijo cepljenje komponent komplementnega sistema ter nastanek litičnih kompleksov. Posredno torej povzročajo odmiranje bakterijski celic zaradi lize in so torej posebej pomembna kot orožje proti bakteriemiji. Membranski ali površinski imunoglobulin M so skupaj z imunoglobulini D poglavitni receptorji za antigen na zrelih limfocitih B. IgM so protitelesa z razmeroma šibko afiniteto do posameznih antigenskih determinant, vendar pa imajo spričo številnih vezišč veliko avidnost do antigenov s številnimi istovrstnimi epitopi. IgM se nahajajo tudi v telesnih izločkih, čeprav v manjših količinah kot IgA. Veriga J namreč omogoča tem protitelesom vezavo in podoben prenos skozi epitelno pregrado sluznic kot pri imunoglobulinih A. Delovanje IgM je posplošeno, nespecifično in zato kratkotrajno, saj traja največ do tri dni.

- **Protitelesa IgE**

Njihova poglavitna fiziološka naloga je zaščita delov telesa, izpostavljenih poškodbam in vdoru patogenih mikrobov. V ta namen sprožijo akutno vnetno reakcijo. Kužne klice, ki so prebile obrambo IgA, skupaj s specifičnimi protitelesi IgE, vezanimi na mastocite, povzročijo sproščanje vazoaktivnih snovi in kemotaktičnih dejavnikov za granulocite. Posledica tega je naval imunoglobulinov G, komponent komplementnega sistema ter seveda granulocitov na mesto poškodbe. IgE so skupaj z eozenofilnimi granulociti pomembni tudi pri obrambi pred nekaterimi notranjimi zajedavci. Razumevanje reakcij ki jih sprožijo IgE in katerih osnova je vnetje, povezano s takojšnjo preobčutljivostjo. Pri nekaterih posameznikih nagnjenih k preobčutljivosti se iz ne povsem pojasnenih vzrokov namesto IgM in IgG v večjih količinah sintetizirajo protitelesa E kot odgovor na nekatere sicer neškodljive antigene v okolju. Številni antigeni lahko sprožijo odgovore IgE ki pa so prešibki, da bi povzročili zaznavno preobčutljivostno reakcijo.

- **Protitelesa IgD**

Komaj 1 % vseh imunoglobulinov v serumu človeka je iz razreda D. Pojavljajo se v obliki monomerov. IgD sodelujejo pri internalizaciji, torej pri prehodu antigenov v celice, ves čas pa spodbujajo in tudi zavirajo limfocite ter tako po svoje uravnavajo imunski odziv (27, 28, 29,30).

2 NAMEN DELA

Namen dela je ugotovitev, v kolikšni meri so imunoglobulini IgG povišani pri pacientih s cistično fibrozo. V ta namen bomo analizirali vzorce pacientov iz pediatrične klinike in revmatološke ambulate ter tako poskušali ugotoviti, v kolikšnem številu in kakšni meri bodo imunoglobulini IgG povišani. Tako bomo ugotovili uporabnost določitve markerja pri diagnostiki cistične fibroze.

V ta namen bomo:

- V raziskavo vključili 80 preiskovancev, ki jim je bila odvzeta kri;
- Z metodo nefelometrije izmerili vrednosti imunoglobulinov IgG vsakega posameznika;
- Grafično prikazali odstopanja IgG pri celotni skupini ter posamično pri deklicah in dečkih;
- Izračunali povprečne vrednosti glede na starostno skupino, ter rezultate ovrednotili;
- Na podlagi rezultatov izračunali specifičnost in občutljivost uporabljene metode;

3 MATERIALI IN METODE

3.1 SPLOŠNA OPOZORILA

Pri samem delu smo uporabljali sterilen material za enkratno uporabo. Pred delom smo potrebne epruvete pripravili ter jih primerno označili. Med potekom dela smo pazili na čistočo, da bi se tako izognili kontaminaciji vzorcev. Prav tako smo uporabljali zaščitne rokavice iz lateksa za enkratno uporabo.

3.2 OPIS PREISKOVANCEV

V raziskavo smo vključili 80 preiskovancev, razdeljenih v naslednje podskupine:

- Dečki in deklice;
- Dečki starosti do devetnajstega let;
- Deklice starosti do devetnajstega let;

3.3 REFERENTNA OBMOČJA IgG

Naslednji referenčni interval se uporablja za vzorce seruma in plazme zdravih odraslih ljudi:

- **IgG**: 7.0 – 16.0 g/l;

Referenčni interval IgG v vzorcu urina:

- IgG v drugem jutranjem urinu: manjši od 9.6 mg/l (odvisen glede na starost in se lahko spreminja);

Referenčni interval IgG v vzorcu CST:

- **IgG v CST**: nižji od 34 mg/l³, (po pretvorbi na CRM-računalniško funkcijo 470); ta vrednost je predvidena samo vodnik za referenčne intervale v ožjem območju za CST/razmerje seruma.
- Kljub temu pa je potrebno vsakemu preiskovancu določiti svoj referenčni interval, saj so vrednosti lahko zelo odvisne od posamezne populacije.

Pediatrični razponi intervalov za IgG so odvisni od starosti in so lahko v zelo širokem razponu (Tabela II):

Tabela II: Referenčni intervali glede na starost otroka

STAROST (meseči)	IgG (g/l)	STAROST (leta)	IgG (g/l)
rojstvo – 1	6.80-15.23	1-2	3.84-10.13
1-2	4.36-10.05	2-3	4.58-11.91
2-3	2.66-7.03	3-4	5.10-13.39
3-4	2.22-5.84	4-5	5.32-14.05
4-5	2.07- 5.62	5-6	5.62-14.87
5-6	2.22- 6.06	6-7	5.84- 15.97
6-7	2.36- 6.51	7-8	6.06-16.19
7-8	2.59- 6.88	8-9	6.14-16.49
8-9	2.74-7.47	9-10	6.29-17.01
9-10	3.10- 8.06	10-11	6.36-17.01
10-11	3.33- 8-73		
11-12	3.62- 9.45		
12-24	3.84-10.13		

3.4 REAGENTI

- N Antiserum do človeškega IgG, IgA ali IgM (natrijev azid < 0.1 %).
- N Antiserumi so tekoči živalski serumi in se proizvajajo z imunizacijo zajcev in dobro prečiščenim človeškim imunoglobulinom (IgG, IgA ali IgM).
- Protitelesni titri so določeni z radialno imunodifuzijo in nato natisnjeni preko etikete.
- Titri so indikatorji števila antigenov v miligramih, kar je oborjeno na agaroznem gelu na 1 ml ustreznega antiseruma (Slika 10).

Reagents			
Materials provided			
NAS	IGG	REF	OSAS
1 x 5 mL	NAS IGG	N Antiserum to Human IgG (γ chain) or	
1 x 2 mL	NAS IGG	N Antiserum to Human IgG (γ chain) or	
NAS	IGA	REF	OSAF
1 x 5 mL	NAS IGA	N Antiserum to Human IgA (α chain) or	
1 x 2 mL	NAS IGA	N Antiserum to Human IgA (α chain) or	
NAS	IGM	REF	OSAT
1 x 5 mL	NAS IGM	N Antiserum to Human IgM (μ chain) or	
1 x 2 mL	NAS IGM	N Antiserum to Human IgM (μ chain)	

Slika 10: Reagenti - potreben material pri nefelometriji

3.5 SHRANJEVANJE IN STABILNOST

- Stabilnost med $+2$ in $+8^{\circ}\text{C}$ (potrebno je preverjati rok uporabnosti na etiketi).
- Stabilnost odprtih reagentov:

Reagenti so lahko shranjeni štiri tedne, če so shranjeni pri temperaturi od $+2$ do $+8^{\circ}\text{C}$. Dobro zaprti regenti takoj po vsaki uporabi preprečijo dodatno kontaminacijo (na primer prisotnost mikroorganizmov).

- Med shranjevanjem lahko N antiserumi povzročijo precipitacijo ali motnost, katerih vzrok ni mikroba kontaminacija in kar ne vpliva na njihovo aktivnost.

V tem primeru je potrebno antiserum pred ponovno uporabo filtrirati. Za samo filtracijo pa so primerni filtri za enkratno uporabo z velikostjo luknjic $0.45\ \mu\text{m}$.

- Reagentov (Slika 11) se prav tako ne sme zamrzovati.



Slika 11: Reagenti

3.6 VZORCI, PRIMERNI ZA ANALIZE

- Serum (Slika 12).
- Heparin ali EDTA plazma.

Vzorci morajo biti čim bolj sveži in shranjeni na temperaturi od +2 do +8°C ali pa zamrznjeni.

- Svež človeški urin in CST, vzorci so prav tako primerni za IgG določanje.
- Serum in plazma vzorci so lahko shranjeni pri -30°C do največ tri mesece, če so zamrznjeni v roku 24 ur od trenutka, ko so bili odvzeti in če se izogibamo cikličnemu zamrzovanju in odtajevanju.
- Vzorci seruma morajo biti popolnoma koagulirani in po centrifugiranju ne smejo vsebovati nikakršnih delcev ali sledi fibrina.
- Lipemični ali zamrznjeni vzorci, ki so po odtalitvi postali motni, se morajo zbistriti s pomočjo centrifugiranja (10 minut pri cca. 15000 x g) pred testiranjem.
- Naključno ali časovno določeno odvzeti urinski vzorci so primerni vzorci za testiranje IgG v urinu.
- Urinski in CST vzorci, ki niso bili shranjeni zamrznjeni, niso primerni za uporabo.
- Vsak urinski in CST vzorec mora biti pred testiranje centrifugiran.



Slika 12: Priprava vzorcev pred analizo

3.7 MERJENJE IMUNOGLOBULINOV Z METODO NEFELOMETRIJE

Imunoglobuline izločajo plazma celice kot odziv na stik med imunskim sistemom in antigeni. Primarna reakcija na začetni kontakt je formiranje antiteles IgM razreda, katerim sledijo IgG in tudi IgA protitelesa. Določanje števila antiglobulinov lahko poda pomembno informacijo glede hormonskega imuno statusa. Zmanjšane koncentracije seruma imunoglobulinov se pojavljajo pri zmanjšani imunski odpornosti, kot tudi v sekundarnih imunskih nezadostnosti (npr. maligni tumorji, limfna levkemija, multiple mielom in Waldenstromova bolezen). Povečane koncentracije seruma imunoglobulinov se pojavijo zaradi poliklonalnih ali oligoklonalnih Ig proliferacij (npr. hepatične bolezni – hepatitis, ciroza jeter, akutne in kronične infekcije, avtoimunske bolezni kot tudi preko popkovnične krvi pri novorojenčkih). Monoklonalni imunoglobulinski proliferaciji – *odziv* je možno opazovati pri npr. plazmocitomih, Waldenstromove bolezni.

Monoklonalna imunoglobulinemija zahteva podrobno diferencialno diagnostično raziskovanje, poleg tega pa še določitev števila Ig. Lokalne imunske reakcije s centralnim živčnim sistemom se pokažejo v dvigu ravni Ig, predvsem IgG in cerebrospinalne tekočine. Zvišane urinske koncentracije IgG pa lahko najdemo pri pacientih z neselektivno glomerularno proteinurijo.

3.7.1 *Postopek*

Pred začetkom dela na nefelometru BN* 100 System (Slika 13) je bilo potrebno izenačiti reagente in vzorce s sobno temperaturo.

3.7.2 *Testiranje vzorcev*

- Vzorci seruma so avtomatično redčeni na 1 : 400 (IgG), 1 : 20 (IgA, IgM) ali 1 : 5 pri nižje koncentriranih testnih protokolih (IgAs, IgMs) z N razredčilom.
- Razredčeni vzorci morajo biti izmerjeni v roku štirih ur.
- IgG v urinu mora biti merjen iz nerazredčenega vzorca z uporabo ločenega testnega protokola.
- IgG je lahko analiziran s pomočjo referenčne krivulje, pod pogojem, da je primeren vzorec razredčine izbran ročno.

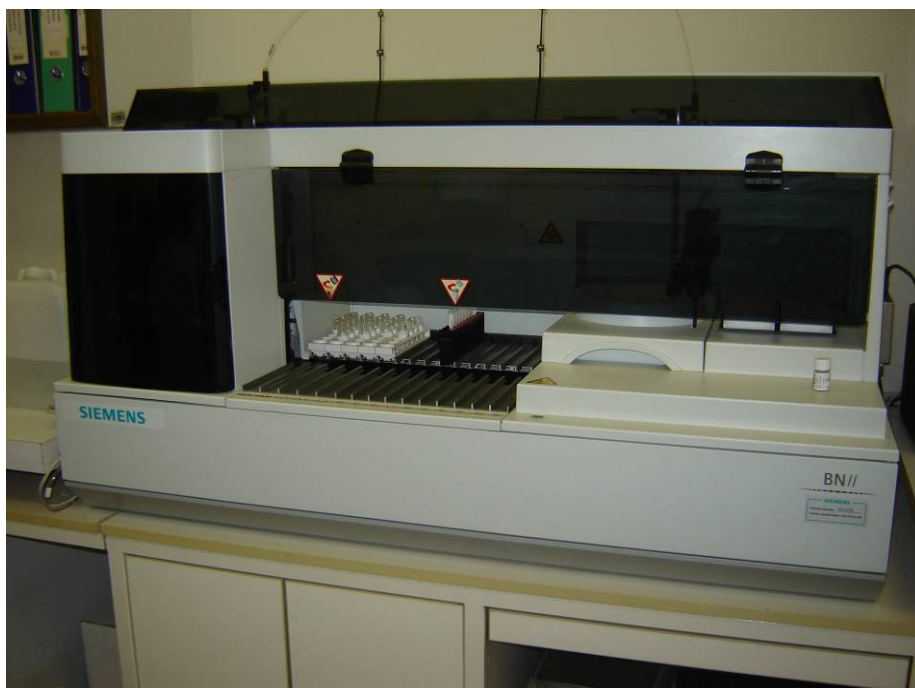
- Če so pridobljeni rezultati zunaj mejnega dosega, je test možno ponoviti z uporabo višje ali nižje razredčenosti vzorca (testni protokol IgG v serumu ali plazmi).
- Če so meritve pri običajnem IgA ali IgM testnem protokolu (1 : 20 razredčenost vzorca) pod mejo merilnega dosega, je lahko vzorec ponovno testiran s primernim nizko koncentriranim testnim protokolom s pomočjo novega vzorca.

3.7.3 Omejitev postopka

- Motnost in delci v vzorcu lahko vplivajo na določitev, zato morajo biti tovrstni vzorci pred testiranje centrifugirani.
- Lipemični ali motni vzorci, ki jih pri centrifugiranju (10 minut pri cca. 15000 x g) ne zbistri, ne smejo biti uporabljeni.
- Imunoglobulinski test je bil ustvarjen, da minimalizira presežke antigenov v razredčinah začetnega vzorca. Po drugi strani jih ni mogoče povsem odstraniti in lahko v redkih primerih zelo visoke koncentracije imunoglobulina prikažejo napačno nizke rezultate. Posebej monoklonalni imunoglobulini lahko pokažejo reaktivnost, ki je različna poliklonalnemu standardu, in v osamljenih primerih lahko vodi k nenaravno znižanim ali nelinearnim rezultatom.
- V primerih določanja seruma ali plazme mora biti ocenjena postavitev IgG, IgM in IgA.
- Preverjanje IgG rezultatov v CST mora biti opravljeno s pomočjo diagrama razmerij.
- V primeru vprašljivih rezultatov mora biti določitev ponovljena in pri tem uporabljena naslednja višja vzorčna razredčina.
- Za spremljanje stanja pacienta bi morale biti uporabljene zaporedne določitve imunoglobulinov iz iste razredčine vzorca, kolikor dolgo lahko.
- Rezultati teh testov morajo vedno biti interpretirani v soodvisnosti s pacientovo zdravstveno preteklostjo, s klinično predstavitvijo in z ostalimi ugotovitvami.
- Glede na matriks efekt lahko laboratorijski testi in kontrolni testi prikažejo rezultate, ki so povsem različni rezultatom, ki so bili pridobljeni z drugimi metodami, zato je pred testom potrebno te rezultate pridobiti, da si lahko z njihovo pomočjo določijo specifične ciljne vrednosti.

3.7.4 Metoda

Z metodo nefelometrije (Slika 14) se meri nastale imunske komplekse v raztopini. Nefelometrija je postopek, pri katerem se določa koncentracijo delcev ali celic v suspenziji s spuščanjem snopa žarka (običajno monokromatskega) skozi suspenzijo. Meri se intenzivnost sipane svetlobe pod kotom 70° glede na vpadno svetlobo. V razredčeni raztopini povzroči precipitacija antigena s protitelesi povečan odboj. Imunske komplekse, ki jih tvori plazma z specifičnimi protitelesi razpršijo žarek, ki tako prehaja skozi sam vzorec. Intenziteta razpršenega žarka je sorazmerna koncentraciji IgG v vzorcu. Laserski ali drugi žarki se tako zberejo v zbiralni leči in prehajajo skozi epruvete, v kateri so antigeni in protitelesa. Svetlobo, ki stopi pod kotom 70° , zbere druga leča in jo tako vodi v elektronski detektor, kateri prevede signal v količino motnosti vzorca in preračuna na količino antigena ali protitelesa v vzorcu. Rezultat je ocenjen glede na primerjavo s standardom znane koncentracije (31).



Slika 13: Nefelometer



Slika 14: Kasetna z vzorci preiskovancev

3.7.5 Obdelava podatkov

Po opravljenih meritvah in dobljenimi rezultati IgG z metodo nefelometrije (Slika 13, Slika 14), smo pričeli z vrednotenjem rezultatov, kjer smo se osredotočili na grafične in statistične izračune dobljenih vrednosti glede na spol (dečki, deklice) ter celotno skupino preiskovancev. Za izračun statističnih podatkov in izdelovanje grafov ter tabel, smo uporabljali računalniški program Excel.

4 REZULTATI

Namen diplomske naloge je bilo ugotoviti v kolikšni meri bodo imunoglobulini IgG povišani pri preiskovancih iz pediatrične klinike. Rezultate smo dobili z metodo nefelometrije - nefelometer BN* 100 System (Slika 13). Z meritvami na aparatu smo dobili vrednosti vseh 80 preiskovancev in ugotavljali, kolikšna so odstopanja glede na starostno skupino od podanih referenčnih območij, nato pa poskušali ugotoviti, v kakšni meri in kolikšnem številu so imunoglobulini povišani. Prav tako smo primerjali rezultate iz revmatološke ambulante in tako izračunali občutljivost ter specifičnost pri preiskovancih iz revmatološke ambulante in pediatrične klinike.

4.1 MERJENJE IMUNOGLOBULINOV IgG PRI CELOTNI SKUPINI OTROK

- Skupina preiskovancev zajema 80 otrok starih, od enega leta do devetnajstega leta starosti (Tabela III).
- Vsem preiskovancem smo izmerili imunoglobuline IgG in tako izračunali povprečno vrednost celotne skupine.
- Vzorce smo pred preiskavo ustrezno označili in nato vložili v kaseto vzorcev, ki smo jo vložili v nefelometer.
- Aparat je avtomatsko izračunal vrednosti vseh preiskovancev, mi pa smo nato na podlagi vseh rezultatov izračunali povprečno vrednost vseh skupaj.
- Povprečna vrednost je definirana kot kvocient med vsoto vseh meritev in številom meritev:

$$\bar{X} = \frac{X_1 + X_2 + X_3 \dots}{N}$$

- Rezultat povprečne vrednosti celotne skupine preiskovancev je bil 9.21 g/l, ki je znotraj podanih referenčnih območij IgG.

Tabela III: Prikaz meritev IgG pri celotni skupini preiskovancev

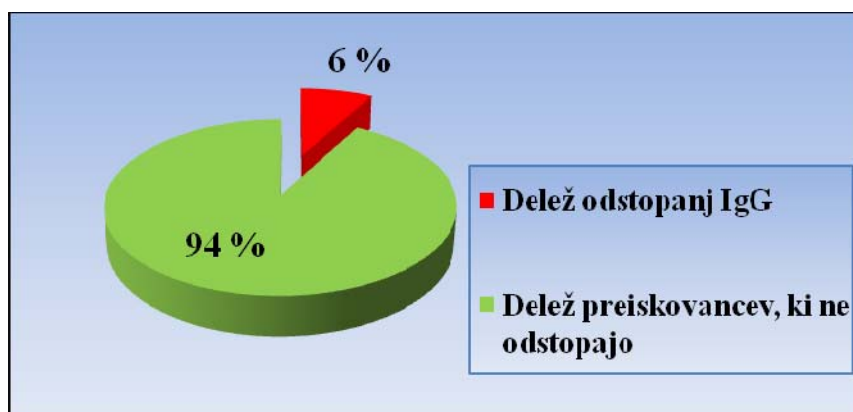
Preiskovanec	Starost	Spol	IgG (g/l)
PREISKOVANEC 1	19	Ž	12.4
PREISKOVANEC 2	18	M	17.5
PREISKOVANEC 3	18	M	9.22
PREISKOVANEC 4	18	Ž	12
PREISKOVANEC 5	18	Ž	9.83
PREISKOVANEC 6	18	M	6.08
PREISKOVANEC 7	17	M	12.3
PREISKOVANEC 8	17	M	2.33
PREISKOVANEC 9	16	Ž	3.61
PREISKOVANEC 10	16	M	5.35
PREISKOVANEC 11	16	M	5.03
PREISKOVANEC 12	16	M	0.89
PREISKOVANEC 13	16	M	5.46
PREISKOVANEC 14	16	M	13.4
PREISKOVANEC 15	15	Ž	16
PREISKOVANEC 16	15	M	11.7
PREISKOVANEC 17	15	M	12.6
PREISKOVANEC 18	14	M	6.72
PREISKOVANEC 19	14	M	12.4
PREISKOVANEC 20	14	Ž	10.6
PREISKOVANEC 21	14	Ž	10.1
PREISKOVANEC 22	14	M	14.2
PREISKOVANEC 23	13	Ž	34.6
PREISKOVANEC 24	13	Ž	7.25
PREISKOVANEC 25	13	M	28.8
PREISKOVANEC 26	13	Ž	12.4
PREISKOVANEC 27	12	M	10.2
PREISKOVANEC 28	12	M	11.8
PREISKOVANEC 29	12	M	18.3
PREISKOVANEC 30	11	Ž	6.91
PREISKOVANEC 31	11	M	7.56
PREISKOVANEC 32	11	M	2.23
PREISKOVANEC 33	11	M	1.92

Preiskovanec	Starost	Spol	IgG (g/l)
PREISKOVANEC 34	11	M	12
PREISKOVANEC 35	11	M	10.8
PREISKOVANEC 36	10	Ž	10.1
PREISKOVANEC 37	10	Ž	7.05
PREISKOVANEC 38	10	Ž	7.07
PREISKOVANEC 39	10	Ž	11.1
PREISKOVANEC 40	9	Ž	10.8
PREISKOVANEC 41	9	Ž	9.56
PREISKOVANEC 42	9	M	9.32
PREISKOVANEC 43	8	M	7.86
PREISKOVANEC 44	8	M	10.5
PREISKOVANEC 45	8	M	12.6
PREISKOVANEC 46	7	M	2.23
PREISKOVANEC 47	7	M	10.9
PREISKOVANEC 48	7	Ž	10.9
PREISKOVANEC 49	7	M	13.5
PREISKOVANEC 50	6	M	9.42
PREISKOVANEC 51	6	Ž	8.97
PREISKOVANEC 52	5	Ž	8.56
PREISKOVANEC 53	5	M	9.67
PREISKOVANEC 54	5	M	11.3
PREISKOVANEC 55	5	M	8.25
PREISKOVANEC 56	5	M	4.28
PREISKOVANEC 57	4	Ž	0.82
PREISKOVANEC 58	4	Ž	0.77
PREISKOVANEC 59	4	Ž	1.5
PREISKOVANEC 60	4	Ž	4.59
PREISKOVANEC 61	4	Ž	6.27
PREISKOVANEC 62	4	M	12.3
PREISKOVANEC 63	4	Ž	9.46
PREISKOVANEC 64	4	Ž	11.6
PREISKOVANEC 65	4	Ž	8.15
PREISKOVANEC 66	4	M	10

Preiskovanec	Starost	Spol	IgG (g/l)
PREISKOVANEC 67	3	M	7.42
PREISKOVANEC 68	3	M	5.71
PREISKOVANEC 69	3	M	9.71
PREISKOVANEC 70	3	Ž	4.5
PREISKOVANEC 71	3	Ž	3.34
PREISKOVANEC 72	3	Ž	4.05
PREISKOVANEC 73	3	M	7.01
PREISKOVANEC 74	3	Ž	5.55
PREISKOVANEC 75	2	M	2.25
PREISKOVANEC 76	2	M	14.8
PREISKOVANEC 77	2	Ž	5.01
PREISKOVANEC 78	1	M	6.04
PREISKOVANEC 79	1	M	7.67
PREISKOVANEC 80	1	M	12.4

4.1.1 Prikaz deleža preiskovancev ki ne odstopajo in deležem odstopanj IgG

Od 80-ih vzorcev preiskovancev (Tabela III), starih od enega do devetnajstega leta, smo izračunali, da 6 % preiskovancev, torej pet preiskovancev od celotne starostne skupine, odstopa od mejnih vrednosti. Med njimi so bili tako dečki kot tudi deklice (Graf II).



Graf II: Prikaz deleža preiskovancev ki ne odstopajo in deležem odstopanj IgG

4.2 MERJENJE IMUNOGLOBULINOV IgG PRI DEKLICAH

- Skupina je obsegala 33 deklic, starih od enega do devetnajstega leta .
- Prav tako smo tukaj vsem preiskovankam izmerili imunoglobuline IgG in tako izračunali povprečno vrednost celotne skupine (Tabela IV).
- Vzorce smo pred preiskavo ustrezno označili in nato vložili v kaseto vzorcev, ki smo jo vložili v nefelometer.
- Aparat je avtomatsko izračunal vrednosti vseh preiskovancev, mi pa smo nato na podlagi vseh rezultatov izračunali povprečno vrednost vseh skupaj.
- Rezultat povprečne vrednosti celotne skupine preiskovancev je bil 8.65 g/l.

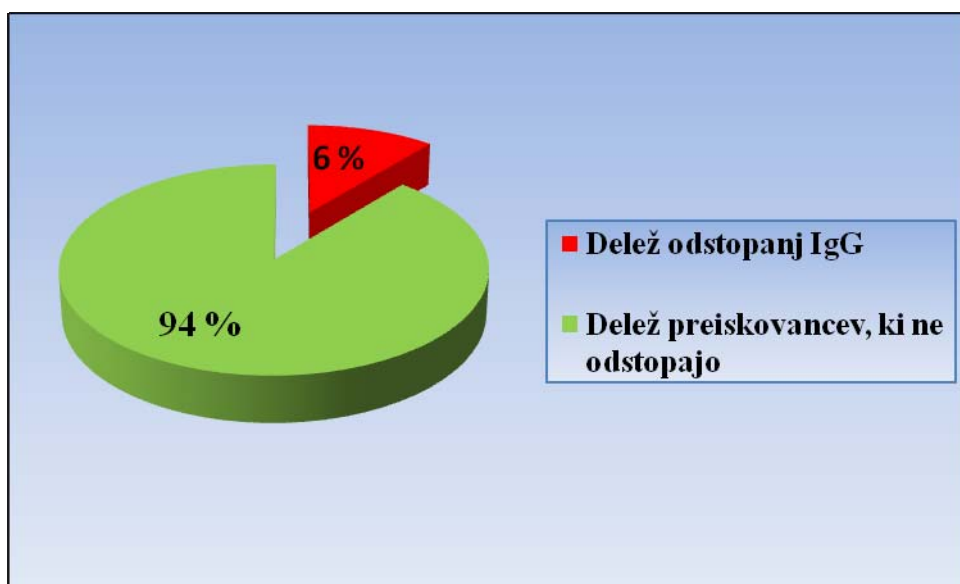
Tabela IV: Prikaz rezultatov IgG pri deklicah

Preiskovanec	Starost	Spol	IgG (g/l)
PREISKOVANEC 1	19	Ž	12.4
PREISKOVANEC 2	18	Ž	9.83
PREISKOVANEC 3	18	Ž	12
PREISKOVANEC 4	16	Ž	3.61
PREISKOVANEC 5	15	Ž	16
PREISKOVANEC 6	14	Ž	10.1
PREISKOVANEC 7	14	Ž	10.6
PREISKOVANEC 8	13	Ž	12.4
PREISKOVANEC 9	13	Ž	7.25
PREISKOVANEC 10	13	Ž	34.6
PREISKOVANEC 11	11	Ž	6.91
PREISKOVANEC 12	10	Ž	11.1
PREISKOVANEC 13	10	Ž	7.07
PREISKOVANEC 14	10	Ž	7.05
PREISKOVANEC 15	10	Ž	10.1
PREISKOVANEC 16	9	Ž	9.56
PREISKOVANEC 17	9	Ž	10.8

Preiskovanec	Starost	Spol	IgG (g/l)
PREISKOVANEC 18	7	Ž	10.9
PREISKOVANEC 19	6	Ž	8.97
PREISKOVANEC 20	5	Ž	8.56
PREISKOVANEC 21	4	Ž	8.15
PREISKOVANEC 22	4	Ž	11.6
PREISKOVANEC 23	4	Ž	9.46
PREISKOVANEC 24	4	Ž	6.27
PREISKOVANEC 25	4	Ž	4.59
PREISKOVANEC 26	4	Ž	1.5
PREISKOVANEC 27	4	Ž	0.77
PREISKOVANEC 28	4	Ž	0.82
PREISKOVANEC 29	3	Ž	5.55
PREISKOVANEC 30	3	Ž	4.05
PREISKOVANEC 31	3	Ž	3.34
PREISKOVANEC 32	3	Ž	4.5
PREISKOVANEC 33	2	Ž	5.01

4.2.1 Prikaz deleža preiskovancevki ne odstopajo in deleža odstopanj IgG izven podanih referenčnih območij prid deklicah

Prav tako kot pri celotni skupini preiskovancev, smo tudi v tem primeru pri deklicah, ki jih je bilo 33 izmerili vrednosti IgG z metodo nefelometrije in tako izračunali, kolikšno število deklic ima rezultat izven meje referenčnega območja. Od 33 deklic, starih od enega do devetnajstega leta, smo tako izračunali, da le 6 % preiskovank (Graf III), kar sta dve preiskovanki na celotno skupino, imeli rezultate izven podanega referenčnega območja.



Graf III: Prikaz deleža preiskovancev ki ne odstopajo in deleža odstopanj IgG izven podanih referenčnih območij pri deklicah

4.3 MERJENJE IMUNOGLOBULINOV IgG PRI DEČKIH

- Skupina je zajemala 47 otrok, starih od enega do devetnajstega leta starosti.
- Prav tako smo tudi tukaj vsem preiskovancem izmerili imunoglobuline IgG (Tabela V) in tako izračunali povprečno vrednost celotne skupine.
- Rezultat povprečne vrednosti celotne skupine preiskovancev je bil 9.45 g/l.

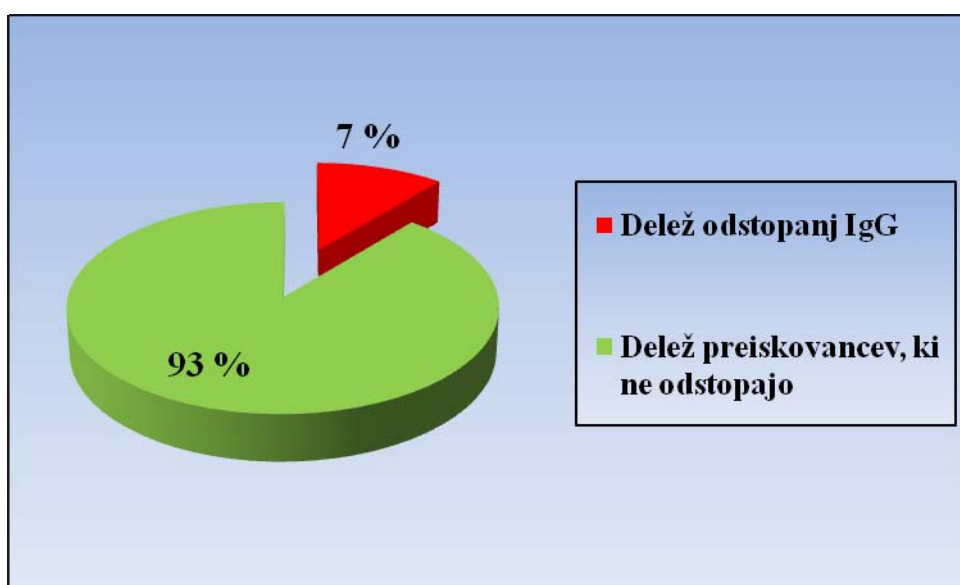
Tabela V: Prikaz rezultatov IgG pri dečkih

Priimek in ime	Starost	Spol	IgG (g/l)
PREISKOVANEC 1	18	M	6.08
PREISKOVANEC 2	18	M	9.22
PREISKOVANEC 3	18	M	17.5
PREISKOVANEC 4	17	M	2.33
PREISKOVANEC 5	17	M	123
PREISKOVANEC 6	16	M	134
PREISKOVANEC 7	16	M	546
PREISKOVANEC 8	16	M	0.89
PREISKOVANEC 9	16	M	5.03
PREISKOVANEC 10	16	M	5.35
PREISKOVANEC 11	15	M	12.6
PREISKOVANEC 12	15	M	11.7
PREISKOVANEC 13	14	M	14.2
PREISKOVANEC 14	14	M	12.4
PREISKOVANEC 15	14	M	6.72
PREISKOVANEC 16	13	M	28.8
PREISKOVANEC 17	12	M	18.3
PREISKOVANEC 18	12	M	11.8
PREISKOVANEC 19	12	M	10.2
PREISKOVANEC 20	11	M	10.8
PREISKOVANEC 21	11	M	12

Priimek in ime	Starost	Spol	IgG (g/l)
PREISKOVANEC 22	11	M	1.92
PREISKOVANEC 23	11	M	2.23
PREISKOVANEC 24	11	M	7.56
PREISKOVANEC 25	9	M	9.32
PREISKOVANEC 26	8	M	12.6
PREISKOVANEC 27	8	M	10.5
PREISKOVANEC 28	8	M	7.86
PREISKOVANEC 29	7	M	13.5
PREISKOVANEC 30	7	M	10.9
PREISKOVANEC 31	7	M	2.23
PREISKOVANEC 32	6	M	9.42
PREISKOVANEC 33	5	M	4.28
PREISKOVANEC 34	5	M	8.25
PREISKOVANEC 35	5	M	11.3
PREISKOVANEC 36	5	M	9.67
PREISKOVANEC 37	4	M	10
PREISKOVANEC 38	4	M	12.3
PREISKOVANEC 39	3	M	7.01
PREISKOVANEC 40	3	M	9.71
PREISKOVANEC 41	3	M	5.71
PREISKOVANEC 42	3	M	7.42
PREISKOVANEC 43	2	M	14.8
PREISKOVANEC 44	2	M	2.25
PREISKOVANEC 45	1	M	12.4
PREISKOVANEC 46	1	M	7.67
PREISKOVANEC 47	1	M	6.04

4.3.1 Prikaz deleža preiskovancev ki ne odstopajo in deleža odstopanj IgG izven podanih referenčnih območij pri dečkih

Pri celotni skupini dečkov, ki je obsegala 47 preiskovancev, smo tudi v tem primeru izmerili vrednosti IgG z metodo nefelometrije in tako izračunali, kolikšno število dečkov ima rezultat izven meje referenčnega območja. Od vseh dečkov, starih od enega do devetnajstega leta, smo tako izračunali, da je 7 % rezultatov kar so trije dečki, odstopalo od podanega referenčnega območja (Graf IV).



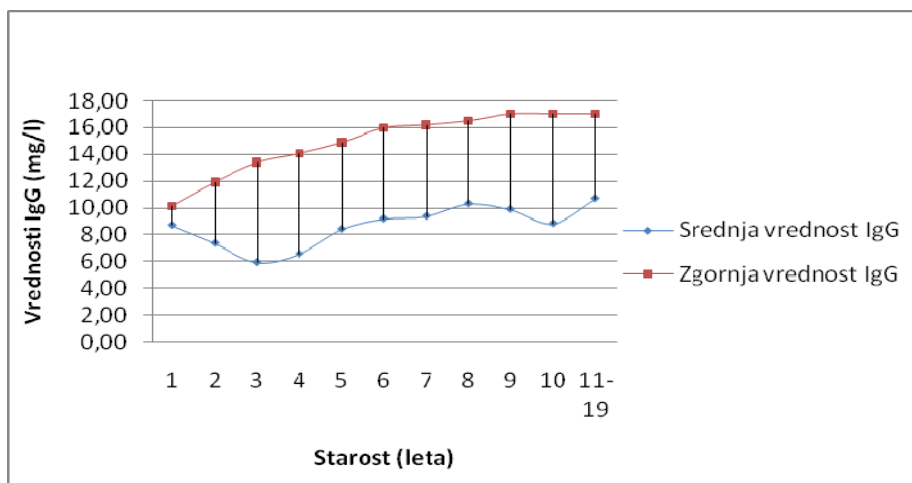
Graf IV: Prikaz deleža preiskovancev ki ne odstopajo in deleža odstopanj IgG izven podanih referenčnih območij pri dečkih

4.4 GRAFIČNI PRIKAZ IZRAČUNA RAZLIKE MED SREDNJI MI VREDNOSTMI ZA POSAMEZNO STAROSTNO OBDOBJE

Tukaj smo računali srednjo vrednost ter zgornjo mejo preiskovancev (Tabela VI, Graf V).

Tabela VI: Prikaz razlike med srednjo vrednostjo in vsako posamezno starostno skupino

STAROST (leto)	SREDNJA VREDNOST IgG	ZGORNJA VREDNOSTI IgG	Razlika med zgornjo vrednostjo IgG in srednjo vrednostjo IgG
1	8.7	10.13	1.43
2	7.35	11.91	4.56
3	5.91	13.39	7.48
4	6.55	14.05	7.5
5	8.41	14.87	6.46
6	9.19	15.97	6.78
7	9.38	16.19	6.81
8	10.32	16.49	6.17
9	9.89	17.01	7.12
10	8.83	17.01	8.18
11 - 19	10.7	17.01	6.31



Graf V: Prikaz rezultatov med srednjo vrednostjo posamezne starostne skupine in zgornjo mejo

4.5 IZRAČUN OBČUTLJIVOSTI IN SPECIFIČNOSTI PRI PREISKOVANCIH IZ REVMATOLOŠKE AMBULANTE IN PEDIATRIČNE KLINIKE

4.5.1 Izračun občutljivosti in specifičnosti pri preiskovancih v revmatološki ambulanti

Tukaj smo se osredotočili na izračun občutljivosti in specifičnosti pri preiskovancih v revmatološkem oddelku, ki je zajemala pet preiskovancev, pri katerih smo na oddelku dobili podatke, da imajo od celotne skupine potrjeno diagnozo CF le štirje preiskovanci. Glede na rezultate IgG iz tabele (Tabela VIII) smo sklepali, da je možnost prisotnosti obolenja s CF pri petih preiskovancih. Tako smo izračunali občutljivost in specifičnost. Rezultati pri katerih smo posumili na možno obolenje so bili nad 16 g/l.

- **Občutljivost**, je verjetnost pozitivnega izida testa, pri osebah, pri katerih je bolezen prisotna in kaže delež oseb z boleznijo, pri katerih je test pozitiven.

$$\frac{RP}{RP + LN} (\%)$$

- **Specifičnost**, je verjetnost negativnega izida testa, pri osebah, ki nimajo bolezni in kaže delež oseb, pri katerih je test negativen.

$$\frac{RN}{RN + LP} (\%)$$

Tabela VII: Tabela za izračun specifičnosti in občutljivosti

/	Prisotnost bolezni	Odsotnost bolezni	
A zaznana	RP	LP	RP+LP
B nezaznavna	LN	RN	RN+LN
	RP+LN	LP+RN	VSI

- **Ujemanje**: $\frac{RN + RP}{VSI} (\%)$

Tabela VIII: Prikaz celotne skupine preiskovancev v revmatološki ambulanti.

	Starost	Spol	IgG
PREISKOVANEC 1	82	Ž	14.4
PREISKOVANEC 2	69	Ž	14.2
PREISKOVANEC 3	47	Ž	14.7
PREISKOVANEC 4	58	Ž	21.9
PREISKOVANEC 5	72	Ž	17.2
PREISKOVANEC 6	60	Ž	16.2
PREISKOVANEC 7	38	Ž	20.7
PREISKOVANEC 8	81	M	17.5

Tabela IX: Prikaz pacientov iz revmatološke ambulante

	Prisotnost bolezni	Odsotnost bolezni	
A zaznana	4	1	5
B nezaznavna	0	3	3
	4	4	Σ = 8

V tabeli (Tabela IX) je v stolpcu pod prisotnost bolezni, prikaz dejansko prisotne bolezni (A) in naše domneve prisotnosti bolezni, glede na dobljene rezultate IgG (B), v stolpcu odsotnost bolezni, pa je prikaz dejansko pacientov, ki niso oboleli za CF (A) in tistih, pri katerih smo glede na vrednosti IgG sklepali da bolezen ni prisotna (B).

- **Občutljivost:**

$$\frac{RP}{RP + LN} = \frac{4}{4 + 0} = 1 = 100 \%$$

Imunoglobulini IgG v revmatološki ambulanti imajo v našem primeru 100 % občutljivost. Rezultat nam pove, da je verjetnost da bodo testi pozitivni, če je pacient dejansko pozitiven. Tako smo ugotovili da v našem primeru v 100% metoda ne daje lažno negativnih rezultatov.

- **Specifičnost:**

$$\frac{RN}{RN + LP} = \frac{3}{3 + 1} = 0.75 = 75 \%$$

Imunoglobulini IgG so se v raziskavi izkazali za 75 % specifičnost. To pomeni, da metoda v 75 % ne daje lažno pozitivnih rezultatov in pa v 25% metoda daje lažno pozitivne rezultate.

4.5.2 *Izračun občutljivosti in specifičnosti pri preiskovancih iz pediatrične klinike*

Izračunali smo občutljivost in specifičnost (Tabela X) pri preiskovancih v pediatrični kliniki, ki so bili vključeni v sam namen naloge. Skupina je zajemala 80 preiskovancev, starih od 1-19 leta (Tabel III). Dejansko smo v pediatrični kliniki dobili informacije, koliko preiskovancev ima podano diagnozo CF, tako je to število obsegalo 7 ljudi, glede na naše vrednosti IgG, ki smo jih dobili z metodo nefelometrije, in tako pri petih preiskovancih lahko posumili na možnost obolenja CF. Rezultati pri katerih smo posumili na možno obolenje so bili nad 16 g/l.

Tabela X: Prikaz vrednosti obolenja in suma na prisotnost CF

	Prisotnost bolezni	Odsotnost bolezni	
A zaznana	5	0	5
B nezaznavna	2	73	75
	7	73	Σ = 80

- **Občutljivost:**

$$\frac{RP}{RP + LN} = \frac{5}{5 + 2} = 0.71 = 71 \%$$

Imunoglobulini IgG v pediatrični kliniki imajo v našem primeru 71 % občutljivost. Rezultat nam pove, da je koncentracije IgG pri 71 % pacientov z obolenjem CF povišana, pri ostalih pa ne, kar nam pove da je 29 % rezultatov lažno negativnih.

- **Specifičnost:**

$$\frac{RN}{RN + LP} = \frac{73}{73 + 0} = 1 = 100 \%$$

Imunoglobulini IgG so se v naši raziskavi izkazali za 100 % specifičnost. To pomeni, da v 100 % metoda ne daje lažno pozitivnih rezultatov.

4.6 RAZPRAVA

4.6.1 Merjenje imunoglobulinov IgG pri celotni skupini preiskovancev, deklicah in dečkih

V prvi vrsti smo se pri nalogi osredotočili na celotno skupino pacientov, kjer smo z metodo nefelometrije določili vrednost imunoglobulinov IgG. Na podlagi rezultatov smo izračunali, koliko preiskovancev je imelo povišane vrednosti in so tako odstopali od podanih območij. V prvi skupini, kjer smo analizirali osemdeset pacientov, smo ugotovili, da ima samo pet pacientov povišane vrednosti in so tako izstopali. Rezultati so pokazali, da je od celotne skupine v 6 % možna prisotnost obolenja CF.

V drugem delu naloge smo se posvetili merjenju IgG pri deklicah. Ta skupina je prav tako obsegala pacientke stare od enega do devetnajstega leta starosti. V raziskavo je bilo v tem primeru vključenih 33 deklic, po izračunu odstopanj smo ugotovili, da v celotni skupini odstopata le dve deklici, kar je le 6 % od celotnih 100 %.

Pri preiskovanju, oziroma določanju IgG pri dečkih, je skupina zajemala 47 dečkov. Pri izračunu vrednosti smo ugotovili, da imajo pri celotni skupini, trije dečki povišane vrednosti IgG in smo tako lahko sklepali na možnost obolenja.

V primerih, kjer so bile vrednosti povišane, smo lahko posumili, da je tako možna prisotnost obolenja z CF.

V četrtem primeru smo izračunali in grafično prikazali razlike srednjih vrednosti IgG in zgornjo vrednost IgG glede na starostno skupino.

4.6.2 Izračun občutljivost in specifičnost pri preiskovancih iz revmatološke in pediatrične klinike

Znano je da so imunoglobulini IgG pri posameznih obolenjih povišani, zato nas je zanimal klinični pomen določanja pri obolenju s CF. V prvem primeru smo ugotavljali občutljivost in specifičnost pri pacientih revmatološke ambulate. Iz podanih rezultatov smo izračunali, da imajo IgG 100 % občutljivost, kar je dobro. To pomeni da metoda v 100% ne daje lažno

negativnih rezultatov. Imunoglobulini IgG so se v naši raziskavi izkazali za 75 % specifičnost. To pomeni, da v 75 % ne dajejo lažno pozitivnih rezultatov in pa da v samo 25% dajejo lažno pozitivne rezultate.

Imunoglobulini IgG v pediatrični kliniki imajo v našem primeru 71 % občutljivost. Rezultat nam pove, da je koncentracije IgG pri 71 % pacientov z obolenjem CF povišana, pri ostalih pa ne, kjer smo lahko sklepali, da v 71 % ne dajejo lažno negativnih rezultatov in pa samo v 29 % dajejo lažno negativne rezultate. Medtem ko so se Imunoglobulini IgG v naši raziskavi izkazali za 100 % specifičnost. To pomeni da v 100% metoda ne daje lažno pozitivnih rezultatov, torej so rezultati pri vseh pacientih ki niso oboleli za CF normalni.

Če upoštevamo izračune občutljivosti in specifičnosti lahko sklepamo, da je IgG dober pokazatelj možnega obolenja s CF. Ena sama določitev nima ogromnega pomena, potrebnih bi bilo še mnogo večkratnih ponovitev merjenja IgG v različnih stadijih bolezni. S tem bi ugotovili kako se vrednosti IgG spreminjajo.

Na podlagi vseh analiz, ki smo jih opravili, smo rezultate primerjali še z drugimi študijami. V večini primerov, kjer so ugotavljali ali so imunoglobulini pri bolnikih s CF povišani, je bil rezultat pozitiven. V študijih, ki smo jih primerjali z našim delom, so določali IgG ob prisotnosti infekcije s *Pseudomonas aeruginosa*. Sklepali so, da *Pseudomonas aeruginosa* z reaktivnim IgG privede do kronične okužbe. CF respiratorni imunoglobulini so bili v primerjavi z ostalimi preiskovanci (tisti z bronhitisom in zdravimi prostovoljci), ki so jih v raziskavi zajeli znatno povišani. Ugotovili so, da so serum in pljučni imunoglobulini povišani pri ljudeh s CF, ki imajo kronično vnetje dihalnih poti (32, 33).

Prav tako smo primerjali študijo, kjer so merili IgG proti mikobakterijskim antigenom, kjer je bil rezultat občutljivosti 89 % in pa specifičnosti 95 %. Ugotovili so, da je IgG dober pokazatelj okužbe in da so v večini primerov IgG povišani. Z nekaj mesečnim antibiotičnim zdravljenjem, pa se Anti-A60-IgG lahko zmanjšajo ali pa po prekinitvi ponovno povišajo. Z raziskavo so ugotovili, da so Anti-60 serološki testi lahko zelo koristni za diagnostiko in vrednotenje stopnje dejavnosti okužbe mikobakterijskih antigenov (34).

V eni izmed študij, so ugotavljali ali so IgG pri obolelih za CF povišani. V raziskavo so tako vključili še druge preiskovance, med njimi so bili tudi astmatiki in pa pacienti pod kontrolo. Pacienti z CF so v raziskavi imeli povišane vrednosti v primerjavi z ostalimi preiskovanci (35).

Na zadnje smo primerjali še študijo, v katero je bilo vključenih 70 otrok s CF, ki so jih preučevali več kot pet let, za ugotovitev ocene razmerja med serumskimi ravnmi IgG in napredovanjem bolezni pljuč pri CF. V sami študiji so bolnike razdelili v skupine glede na koncentracijo IgG (nizko, normalno, visoko) in ovrednotili vključno z zaporednim testiranjem pljučne funkcije, kliničnim nadzorom, radiološkim in imunološkim študijem.

Pri tistih s trajno hipogamaglobulinemijo G, se je izkazalo bistveno boljše delovanje pljuč, manj hospitalizacij, počasnejše upadanje pljučne funkcije, kot pa pri bolnikih z normalno ali visoko ravni IgG. Smrt pacientov je nastopila v petih primerih od osmih (63%) pri bolnikih z hipergamaglobulinemijo, treh od tridesetih (10%) primerov z normogamaglobulinemijo ter v enem od dvaintridesetih (3%) primerov pri hipogamaglobulinemiji. Ugotovili so, da pride pri otrocih s CF in hipogamaglobulinemijo počasneje do poslabšanja pljučne funkcije, kot pri starostnih skupinah z normalno ali povišano vrednostjo IgG (36).

Na podlagi vseh študij smo lahko sklepali, da je pri preiskovancih s povišanimi IgG možno obolenje s CF, prav tako pa je pri vseh tistih, ki bi lahko bili oboleli za CF možna prisotnost drugih dejavnikov, ki so jih določali v študijih (razne mikobakterije, *Pseudomonas aeruginosa*,..).

5 SKLEP

Namen naše diplomske naloge je bilo ugotoviti v kolikšni meri bodo imunoglobulini IgG povišani pri preiskovancev iz pediatrične klinike. Z meritvami, ki smo jih opravili smo ugotavljali, kolikšna so odstopanja glede na starostno skupino od podanih referenčnih območij, nato pa poskušali ugotoviti, v kakšni meri in kolikšnem številu so imunoglobulini povišani. Primerjali smo tudi rezultate iz revmatološke ambulate in tako izračunali občutljivost ter specifičnost pri preiskovancih iz revmatološke ambulate in pediatrične klinike.

Na podlagi dobljenih rezultatov smo lahko sklepali:

- Da so imunoglobulini IgG, ki so odstopali od referenčnih vrednosti in so bili povišani lahko pokazatelj obolenja s CF.
- Pri izračunu občutljivosti in specifičnosti smo pri pacientih iz revmatološke klinike na podlagi izračunanih rezultatov lahko sklepali, da imajo 100 % občutljivost, kar je dobro. To pomeni da metoda v tem primeru ne daje lažno negativnih rezultatov. Imunoglobulini IgG so se v raziskavi izkazali za 75 % specifičnost iz tega lahko sklepamo, da daje metoda v 25 % lažno pozitivne rezultate. Pri preiskovancih iz pediatrične klinike pa je izračun občutljivosti pokazal, da je koncentracija IgG pri 71 % pacientov z obolenjem CF povišana, pri ostalih pa ne, in tako smo lahko sklepali da daje metoda v 29 % lažno negativne rezultate. Imunoglobulini IgG pa so se v raziskavi izkazali za 100 % specifične. Tako metoda v 100 % ne daje lažno pozitivnih rezultatov, torej so rezultati pri vseh pacientih ki niso oboleli za CF normalni.
- Tako smo ugotovili, da če bi upoštevali izračune občutljivosti in specifičnosti bi lahko sklepali da je IgG dokaj dober pokazatelj možnega obolenja s CF, vendar ena sama določitev nima ogromnega pomena. Za natančno postavitev diagnoze bi bilo potrebnih še mnogo večkratnih ponovitev merjenja IgG v različnih stadijih bolezni. S tem bi ugotovili kako se vrednosti IgG spreminjajo in tako natančno določili možnost obolenja s CF.

6 LITERATURA

1. Babnik A, Bajc D, Borinc Beden A, Bratanič N, Breclj J, Fležar M, Homan M, Iglič Č, Jenko K, Jeruc M, Kenig A, Kovačič J, Lorbek M, Oštir M, Salobir B, Simonič a, Skočir L, Stefanova L, Špelič M, Tubin M, Turel M, Uhovšek A K, Župec A: Cistična fibroza, Društvo pljučnih in alergijskih bolnikov Slovenije, Sekcija za cistično fibrozo, Zbornik predavanj 2009: 16-25; 31-37; 42- 62.
2. Milivojevič N, Sedmak M, Logar-Car G: Zlatenica novorojenca-redka oblika pojavljanja cistične fibroze, ZDRAV VESTN 2003; 72: 223-6.
Dostopno na: <http://www.vestnik.szd.si/st3-4/st3-4-223-226.htm>, april 2011
3. Borinc Beden A, Breclj J, Bratanič N, Homan M, Homšak M, Jenko K, Kenig A, Oštir M, Skočir L, Širca Čampa A: SMERNICE ZA OBRAVNAVO OTROK S CISTIČNO FIBROZO, Zdrav Vestn 2008; 77: 679–92;
Dostopno na: <http://www.vestnik.szd.si/st08-10/679-692.pdf>, april 2011
4. Seminar: Motnje metabolizma in homeostaze : CISTIČNA FIBROZA
http://www.mf.uni-mb.si/slike/Gradivo/patologija-seminarji/Skupina3/Cisti%C4%8Dna_fibroza.doc, april 2011
5. Štrukelj B: CFTR, 2006.
Dostopno na: <http://sl.wikipedia.org/wiki/CFTR>, april 2011
6. Diseases and conditions: Cystic fibrosis.
Dostopno na:
<http://www.mayoclinic.com/health/cystic-fibrosis/DS00287/DSECTION=2>, april 2011
7. Underwood JCE: General and systematic pathology, 4th ed. Edinburgh, Churchill Livingstone, 2004.
8. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL: Basic pathology, 7th ed. Philadelphia, Saunders, 2003.
9. Cistična fibroza: društvo za cistično fibrozo Slovenije.
Dostopno na: <http://www.drustvocf.si/cf.php>, april 2011
10. Prof. K. Gyurkovits Timsis, Hungarian team; for medical correctness: teacher in-service training material concerning pupils with serious and chronic illness in both regular and hospital attached schools.

- Dostopno na: <http://www.hospitalteachers.eu/timsis/index.php?id=1440&L=116>, april 2011
11. Republika slovenije, državni zbor.
Dostopno na: <http://www.dz-rs.si/index.php?author=574&id=94&showdoc=1&unid=VPP|BEB59E4F9D42941BC1257537003A6434>, april 2011
 12. Wapedia: Cistična fibroza (Dostopano: 09.09.2010)
URL: <http://wapedia.mobi/sl/cisticna-fibroza>, april 2011
 13. Borinc Beden A, Olib.si, Digitalna Knjižnica Slovenije, Smernice za obravnavo otrok s cistično fibrozo.
Dostopno na:
<http://www.dlib.si/v2/Preview.aspx?URN=URN:NBN:SI:doc-ZICU23P9>
 14. Button BM, Roberts S, Kotsimbos TC, Levvey BJ, Williams TJ, bailey M, e tal. Gastroesophageal reflux (symptomatic and silent): a potentially significant problem in patient with cystic fibrosis before and after lung translation. J Heart lung transplantation 2005; 24: 1522-9.
 15. Escobar MA, Grosfeld JL, Burdick JJ, Powell RL, Jay CL, Wait AD, e tal. Surgical considerations in cystic fibrosis in cystic fibrosis: a 32-years evalution of outcomes. Surgery 2005; 138: 560-72.
 16. Agrons GA, Corse WR, Markowitz RI, Suarez ES, Perry DR. Gastointestinal manifestations of cystic fibrosis: radiologic-pathologic corellation. Radiographics 1996; 16: 871-93.
 17. Littlewood JM, Wolfe SP, Conway SP. Diagnosis and treatment of investinal malabsorbtion in cystic fibrosis. Pediarial Pulmonal 2006; 41: 35-49.
 18. Borowizz D, baker RD, Stallings V. Consensus report on nutrition for pediatric patients with cystic fibrosis. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2002; 41: 35-49.
 19. Adde FV, Rodrigues JC, Cardoso AL. Nutritional follow-up of cystic fibrosis patient: the role of nutrition education. J Pediatr 2004; 80: 475-82.
 20. Abrams SA. Chronic pulmonary insufficiency ain children and in effects on growth and development. J Nutr. 2001; 131: S938-41.
 21. Staab D. Cystic fibrosis-therapeutic challenge in cystic fibrosis children. Eur J Endocrinal 2004; 151:77-80.

-
22. Sedmak M, Logar-Car G, Čampa A: Prehrana otroka s cistično fibrozo, Društvo pljučnih in alergijskih bolnikov Slovenije 2003: 1-22.
23. Borinc Beden A, Krivec U: Cistična fibroza: Smernice sodobnega zdravljenja, Zbornik prispevkov, Ljubljana 2007: 6-45; 49- 51; 56-57.
24. Wikiknjige: Cistična fibroza.
Dostopno na: http://sl.wikibooks.org/wiki/Cisti%C4%8Dna_fibroza, april 2011
25. Mencinger M, Šilar M, Košnik M, Korošec P: Genetsko testiranje za cistično fibrozo. Dostopno na: <http://www.vestnik.szdz.si/st6-2/st6-2-071-77.htm>, april 2011
26. Slovensko zdravniško društvo:
Dostopno na: <http://szdz.si/index.php?PageID=375>, april 2011
27. Vozelj M: Medsebojno spoznavanje in sodelovanje celic, Medicinska fakulteta, Ljubljana 1989; 83.
28. Vozelj M: Kratek pregled klinične imunologije, Medicinska fakulteta Univerze Edvarda Kardelja, Inštitut za mikrobiologijo, Ljubljana 1989; 27-31.
29. Černelč D: Alergijske bolezni, Založništvo tržaškega tiska, 1981.Trst 1981; 14-16.
30. Vozelj M: Temelji imunologije, Ljubljana 2000; 51-60; 408-410.
31. Osredkar J: Izbrana poglavja iz klinične kemije, Ljubljana, Fakulteta za farmacijo, 2008; 314-315.
32. Robert B. Fick, Jr., Gary P. Naegal, Susan U. Squier, Robert E. Wood, J. Bernal L. Gee, Herbert Y. Reynolds: Proteins of the cystic fibrosis, respiratory tract, Fragmented immunoglobulin G Opsonic Antibody Causing Defective Opsonophagocytosis.
Dostopno na:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC425206/pdf/jcinvest00134-0244.pdf>, april 2011
33. Pressler T, Pandey J P, Espersent F, Pedersen S S, Fomsgaard A, Koch C: Immunoglobulin allotypes and IgG subclass antibody response to Pseudomonas aeruginosa antigens in chronically infected cystic fibrosis patient, Clin. exp. Immunol (1992) 90, 209- 214.
Dostopno na:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1554608/pdf/clinexpimmunol00043-0051.pdf>, april 2011

34. Oxford Journals, Clinical Infections Diseases: Measurement of Immunoglobulin G against Mycobacterial Antigen A60 in Patient with Cystic Fibrosis and Lung Infection Due to Mycobacterium abscessus, Clin. Infect Dis. (2005) 40 (1): 58-66.
Dostopno na: <http://cid.oxfordjournals.org/content/40/1/58.full>, april 2011
35. European Respiratory journal: official scientific journal of the ers, ME Hodson, L Morris, Batten JC: Serum immunoglobulins and immunoglobulin G subclasses in cystic fibrosis related to the clinical state of the patient: ERJ August 1. 1988 vol.1 no. 8 701- 705.
Dostopno na: <http://erj.ersjournals.com/content/1/8/701.abstract>, april 2011
36. Pubmed.gov, U.S. National Library of Medicine National Institutes and Health: Wheeler WB, Williams M, Matthews WJ Jr, Colter Hr: Progression of cystic fibrosis lung disease as a function of serum immunoglobulin G levels: a 5-year longitudinal study: J pediatr. 1984 May; 104 (5) : 695-9.
Dostopno na: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6716217>, april 2011