

ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

Μαζικός ανιχνευτικός έλεγχος (screening) νεογνών για την ινοκυστική νόσο

Τ. Σιαχανίδου**ΠΕΡΙΛΗΨΗ**

Ο μαζικός ανιχνευτικός έλεγχος νεογνών (screening) για την ινοκυστική νόσο (ΙΚΝ) έχει ως στόχο τη διάγνωση της νόσου πριν την εμφάνιση συμπτωμάτων και την εφαρμογή θεραπευτικών προγραμμάτων που στοχεύουν κυρίως στη διατήρηση της υγείας των ασθενών παρά στη θεραπεία των συμπτωμάτων. Τα πρωτόκολλα και οι αλγόριθμοι ανιχνευτικού ελέγχου νεογνών για την ΙΚΝ ποικίλλουν, όμως όλα βασίζονται στον προσδιορισμό του θρυψινογόνου σε σταγόνες ξηρού αίματος κάρτας Guthrie, η οποία λαμβάνεται από τα νεογνά κατά τις πρώτες ημέρες ζωής και χρησιμοποιείται για τον ανιχνευτικό έλεγχο και άλλων νοσημάτων, όπως της φαινυλκετονουρίας και του υποθυρεοειδισμού. Αν τα επίπεδα του θρυψινογόνου είναι κατ' επανάληψη αυξημένα, το νεογνό παραπέμπεται για δοκιμασία (test) ιδρώτα προς αποκλεισμό ή επιβεβαίωση της ΙΚΝ. Εναλλακτικά, σε περίπτωση που διαπιστωθούν αυξημένα επίπεδα θρυψινογόνου, ακολουθεί έλεγχος DNA στο ίδιο δείγμα αίματος προς αναζήτηση της συχνότερης μετάλλαξης ΔF508 ή άλλων μεταλλάξεων και επί θετικού αποτελέσματος το νεογνό υποβάλλεται σε test ιδρώτα. Μελέτες παρακολούθησης ασθενών με ΙΚΝ, για χρονικό διάστημα 4-17 χρόνων, έδειξαν ότι με το νεογνικό screening για την ΙΚΝ μπορεί να προκύψουν βραχυπρόθεσμα και μακροπρόθεσμα κλινικά ωφέλη ως προς τη σωματική ανάπτυξη και θρέψη, τη βαρύτητα της πνευμονοπάθειας, τη νευροαναπτυξιακή εξέλιξη και τη θνητότητα. Στα μειονεκτήματα του νεογνικού screening για την ΙΚΝ περιλαμβάνονται τα ψευδώς αρνητικά και ψευδώς θετικά αποτελέσματα και το κόστος. Σήμερα, το screening νεογνών για την ΙΚΝ περιλαμβάνεται στο Εθνικό Πρόγραμμα ανιχνευτικού ελέγχου νεογνών σε 11 πολιτείες των ΗΠΑ, στην Αυστραλία-N. Ζηλανδία, την Αυστρία, τη Γαλλία και πρόκειται να περιληφθεί σ' αυτό της Μ. Βρετανίας από το έτος 2007. Στη χώρα μας, η μεγάλη ετερογένεια των μεταλλάξεων του γονιδίου ΙΚΝ καθιστά δύσκολη, προς το παρόν, την επιτυχημένη εφαρμογή ενός προγράμματος ανιχνευτικού ελέγχου νεογνών που θα περιλαμβάνει γενετικό έλεγχο. Όμως τούτο, ενδεχομένως, θα μπορέσει να επιτευχθεί στο μέλλον με τη χρησιμοποίηση ενός

panel ανίχνευσης των μεταλλάξεων που απαντώνται συχνότερα στον ελληνικό πληθυσμό. Πιθανότατα, με αυτή την εξέλιξη της τεχνολογίας θα δοθεί επίσης η δυνατότητα ιδανικής πρόληψης της νόσου με την αναγνώριση των ζευγαριών που είναι και οι δύο φορείς της νόσου. **(Δελτ Α' Παιδιατρ Κλιν Πανεπ Αθηνών 2006, 53(4):313-319)**

Λέξεις ευρετηριασμού: *ΙΝΟΚΥΣΤΙΚΗ νόσος, ανιχνευτικός έλεγχος, νεογνά, αναγνώριση φορέων.*

Η ΙΝΟΚΥΣΤΙΚΗ νόσος (IKN) είναι το συχνότερο μονογονιδιακό νόσημα της λευκής φυλής, με συχνότητα στη χώρα μας 1:2.500 γεννήσεις και συχνότητα φορέων περίπου 5%. Η συχνότητα του νοσήματος είναι 8 φορές μεγαλύτερη από αυτή της φαινυλκετονουρίας (1:20.000 γεννήσεις) και συγκρίσιμη με αυτή του συγγενούς υποθυρεοειδισμού (1:3.000 γεννήσεις), νοσήματα για τα οποία ήδη εφαρμόζεται ευρέως ανιχνευτικός έλεγχος νεογνών. Παλαιότερα οι ασθενείς με IKN κατέληγαν πριν φτάσουν στη σχολική ηλικία, ενώ σήμερα η επιβίωσή τους έχει αυξηθεί (μέσο προσδόκιμο επιβίωσης 35 χρόνια)¹, κυρίως ως αποτέλεσμα της φροντίδας που παρέχεται από ειδικά οργανωμένα κέντρα. Όμως, ακόμη και σήμερα, συχνά διαπιστώνονται καθυστέρηση της σωματικής ανάπτυξης και μη αναστρέψιμες πνευμονικές βλάβες κατά τη διάγνωση της νόσου.

Με το μαζικό ανιχνευτικό έλεγχο νεογνών για την IKN (screening) η διάγνωση της νόσου τίθεται πριν την εμφάνιση συμπτωμάτων και παρέχεται η δυνατότητα εφαρμογής θεραπευτικών προγραμμάτων που στοχεύουν κυρίως στη διατήρηση της υγείας των ασθενών παρά στη θεραπεία των συμπτωμάτων. Προγράμματα μαζικού ανιχνευτικού ελέγχου νεογνών για την IKN πρωτοεφαρμόστηκαν στην Αυστραλία-Ν. Ζηλανδία (1979) και, αμέσως μετά, σε πολιτείες των ΗΠΑ (Colorado, Wisconsin, Wyoming) και σε περιοχές της Ευρώπης (περιοχές της Γαλλίας, Ιταλίας, Μ. Βρετανίας και Ολλανδίας).

Τα πρωτόκολλα και οι αλγόριθμοι ανιχνευτικού ελέγχου νεογνών για την IKN ποικίλλουν ευρέως², όμως, όλα τα πρωτόκολλα περιλαμβάνουν τον προσδιορισμό των επιπέδων θρυψινογόνου στο αίμα, τα οποία είναι συνήθως αυξημένα σε ασθενείς με IKN. Τα επίπεδα θρυψινογόνου προσδιορίζονται σε σταγόνες ξηρού αίματος κάρτας Guthrie που λαμβάνεται από τα νεογνά κατά τις πρώτες ημέρες ζωής και χρησιμοποιείται για τον ανιχνευτικό έλεγχο και άλλων νοσημάτων, όπως της φαινυλκετονουρίας και του συγγενούς υποθυρεοειδισμού. Αν τα επίπεδα θρυψινογόνου είναι αυξημένα, η μέτρηση

επαναλαμβάνεται σε νέο δείγμα ξηρού αίματος που λαμβάνεται σε ηλικία 1-2 εβδομάδων ζωής. Σε περίπτωση που το θρυψινογόνο βρεθεί και πάλι αυξημένο, το νεογνό παραπέμπεται για δοκιμασία (test) ιδρώτα προς αποκλεισμό ή επιβεβαίωση της IKN. Εναλλακτικά, αν το θρυψινογόνο είναι αυξημένο στο 1ο δείγμα ξηρού αίματος, ακολουθεί έλεγχος DNA στο ίδιο δείγμα αίματος προς αναζήτηση της ΔF508 μετάλλαξης ή διαφόρων μεταλλάξεων, συμπεριλαμβανομένης της ΔF508, και αν ανιχνευτούν μία ή δύο μεταλλάξεις ακολουθεί test ιδρώτα.

Με την εφαρμογή ανιχνευτικού προγράμματος νεογνών για την IKN, η διάμεση ηλικία κατά τη διάγνωση της νόσου είναι 0,5 μήνας ζωής, ενώ για τους ασθενείς που η διάγνωση τίθεται μετά την εκδήλωση συμπτωμάτων (με εξαίρεση τον ειλεό από μπκνίον), η διάμεση ηλικία κατά τη διάγνωση είναι 14,5 μήνες³, η δε μέση ηλικία είναι πολύ μεγαλύτερη. Είναι αξιωματικό ότι το 1/3 περίπου των συμπτωματικών ασθενών διαγιγνώσκονται μετά τον 1ο χρόνο ζωής, ενώ στο 10% των περιπτώσεων η διάγνωση τίθεται μετά την ηλικία των 10 χρόνων⁴.

Η καθυστέρηση στη διάγνωση της νόσου, ακόμη κι αν αυτή δεν είναι μεγάλη, μπορεί να έχει άμεσες κλινικές συνέπειες. Βρέφη με IKN που διαγνώστηκαν μετά την εκδήλωση συμπτωμάτων εμφάνισαν, μέχρι το τέλος του 1ου χρόνου ζωής, καθυστέρηση της σωματικής ανάπτυξης (μήκος ή/και βάρος σώματος <3η εκατοστιαία θέση), οίδημα λόγω υποπρωτεϊναιμίας, αποικισμό με ψευδομονάδα και ανάγκη εισαγωγής σε νοσοκομείο σε μεγαλύτερο ποσοστό συγκριτικά με ίδιας ηλικίας βρέφη, στα οποία η διάγνωση της νόσου τέθηκε με την εφαρμογή προγράμματος νεογνικού screening³. Επιπλέον, η καθυστέρηση στη διάγνωση της νόσου προκαλεί άγχος και οικονομική επιβάρυνση στους γονείς του συμπτωματικού παιδιού, λόγω του ελέγχου που συχνά απαιτείται προς αποκλεισμό άλλων νοσημάτων, και μπορεί να οδηγήσει σε διαταραχή της σχέσης γονέων-παιδιάτρου. Το σημαντικότερο, όμως, είναι ότι υπάρχει κίνδυνος να γεννηθεί 2ο πάσχον παιδί στην οικογένεια λόγω άγνοιας των γονέων και μη εφαρμογής προγεννητικού ελέγχου.

Παρότι δεν υπάρχει αμφιβολία ότι η πρώιμη διάγνωση της νόσου με τον ανιχνευτικό έλεγχο νεογνών παρέχει τη δυνατότητα για ενωρίτερη παρέμβαση και εξασφαλίζει στους ασθενείς βραχυπρόθεσμα κλινικά οφέλη, τίθεται το ερώτημα, δεδομένης της φύσης του νοσήματος, αν η ενωρίτερη διάγνωση και παρέμβαση έχει για τους ασθενείς μακροπρόθεσμα κλινικά οφέλη. Το θέμα έχει αποτελέσει αντικείμενο συζήτησης και μελέτης τα τελευταία 20 χρόνια.

Έχουν διεξαχθεί, μέχρι σήμερα, δύο τυχαιοποιημένες κλινικές μελέτες (randomized controlled trials), μία στις ΗΠΑ⁵ και η άλλη στη Μ. Βρετανία⁶, καθώς και ένας σημαντικός αριθμός πληθυσμιακών, και άλλων, μελετών⁷⁻¹¹. Στις μελέτες αυτές οι ασθενείς παρακολουθήθηκαν για χρονικό διάστημα 4-17 χρόνων και ελέγχθηκε η επίδραση του νεογνικού screening στην έκβαση της ΙΚΝ και συγκεκριμένα στη σωματική ανάπτυξη και θρέψη των ασθενών, τη συχνότητα αποικισμού με ψευδομονάδα, τη βαρύτητα της πνευμονοπάθειας, τη νευροαναπτυξιακή εξέλιξη και τη θνητότητα.

Η ισχυρότερη ένδειξη ότι οι πάσχοντες από ΙΚΝ που διαγιγνώσκονται με νεογνικό screening έχουν μακροπρόθεσμα καλύτερη σωματική ανάπτυξη και θρέψη από αυτούς που διαγιγνώσκονται μετά την εμφάνιση συμπτωμάτων προέρχεται από την τυχαιοποιημένη μελέτη που διεξήχθη στις ΗΠΑ⁵. Η μελέτη αυτή έδειξε ότι οι ασθενείς που διαγνώστηκαν με νεογνικό screening ήταν ψηλότεροι και σε μικρότερο ποσοστό κάτω από την 10η εκατοστιαία θέση ως προς το βάρος και το ύψος σώματος από τους ασθενείς της ομάδας ελέγχου ($p < 0,01$), μέχρι την ηλικία των 16 χρόνων τουλάχιστον που διήρκεσε η μελέτη. Αντίθετα, η τυχαιοποιημένη μελέτη από τη Μ. Βρετανία δεν έδειξε σημαντική διαφορά ως προς την ανάπτυξη και θρέψη μεταξύ των ασθενών που διαγνώστηκαν με νεογνικό screening και αυτών της ομάδας ελέγχου, όμως, το χρονικό διάστημα παρακολούθησης των ασθενών ήταν μικρό (1-4 χρόνια).

Καλύτερη σωματική ανάπτυξη και θρέψη των ασθενών που διαγνώστηκαν με νεογνικό screening διαπιστώθηκε και σε πολλές πληθυσμιακές μελέτες⁷⁻¹¹. Όμως, σε μερικές από αυτές, η διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων ασθενών παύει να είναι στατιστικά σημαντική προοιούσης της ηλικίας^{7,8,11}, ενώ σε άλλες μελέτες η διαφορά παραμένει καθ' όλο το χρονικό διάστημα παρακολούθησης των ασθενών (10-17 χρόνια)^{9,10}.

Σε ασθενείς με ΙΚΝ, η καλύτερη σωματική ανάπτυξη και θρέψη συνδέεται με καλύτερη πνευμονική λειτουργία¹². Ενδεχόμενη επίδραση του νεογνικού screening στη βαρύτητα της πνευμονοπάθειας των ασθενών θα είχε ιδιαίτερη σημασία, διότι η πνευμονοπάθεια αποτελεί την κύρια αιτία θανάτου των ασθενών αυτών. Εντούτοις, η τυχαιοποιημένη μελέτη που διεξήχθη στις ΗΠΑ δεν έδειξε διαφορά ως προς την πνευμονική λειτουργία μεταξύ των ασθενών που διαγνώστηκαν με νεογνικό screening και αυτών που διαγνώστηκαν μετά την εκδήλωση συμπτωμάτων. Αντίθετα, σε ηλικία 7 χρόνων, ο βιαίως εκπνεόμενος όγκος αέρα στο 1ο δευτερόλεπτο (FEV_1) ήταν

φυσιολογικός σε μικρότερο ποσοστό ασθενών στην ομάδα του νεογνικού screening (12%) συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου (25%)¹³. Επίσης, ενώ τα ακτινολογικά ευρήματα των πνευμόνων ήταν παρόμοια μεταξύ των δύο ομάδων ασθενών μέχρι τα 10 χρόνια ζωής, στη συνέχεια η ομάδα του νεογνικού screening παρουσίασε σημαντικά μεγαλύτερη επιδείνωση από αυτή της ομάδας ελέγχου. Αίτιο των αποτελεσμάτων αυτών ήταν ο ενωρίς αποικισμός των ασθενών της ομάδας του νεογνικού screening με ψευδομονάδα, καθώς οι ασθενείς που παρουσίασαν επιδείνωση της πνευμονικής λειτουργίας στην ομάδα του νεογνικού screening ήταν αυτοί που είχαν αποικισθεί με ψευδομονάδα, η δε διάμεση ηλικία του αποικισμού, ενώ ήταν 5,5 χρόνια στην ομάδα ελέγχου, ήταν μόλις 1 χρόνος ζωής στην ομάδα του νεογνικού screening. Είναι γνωστό ότι ο αποικισμός με ψευδομονάδα ασθενών με ΙΚΝ συσχετίζεται με μείωση της αναπνευστικής τους λειτουργίας και επιβαρύνει την πρόγνωση. Ο ενωρίς αποικισμός με ψευδομονάδα των ασθενών που διαγνώστηκαν με νεογνικό screening αποδόθηκε σε μη τήρηση κανόνων πρόληψης και περιορισμού των λοιμώξεων, με αποτέλεσμα τη μόλυνσή τους από ήδη αποικισμένους με ψευδομονάδα ασθενείς, μεγαλύτερης ηλικίας, που παρακολουθούνταν στο ίδιο κέντρο ΙΚΝ.

Σε άλλες μελέτες, δεν διαπιστώθηκε ενωρίς αποικισμός με ψευδομονάδα ασθενών που διαγνώστηκαν με νεογνικό screening. Αντίθετα, διάφορες μελέτες έδειξαν ότι η συχνότητα αποικισμού με ψευδομονάδα των ασθενών αυτών δεν διέφερε¹⁴ ή ήταν μικρότερη¹¹ από αυτή ασθενών που διαγνώστηκαν μετά την εκδήλωση συμπτωμάτων. Επιπλέον, διαπιστώθηκαν μακροπρόθεσμα οφέλη ως προς τη βαρύτητα της πνευμονοπάθειας από την εφαρμογή του νεογνικού screening. Η πληθυσμιακή μελέτη από την Αυστραλία έδειξε ότι η ομάδα των ασθενών που διαγνώστηκε με νεογνικό screening είχε κατά 12% καλύτερες λειτουργικές δοκιμασίες πνευμόνων (FEV_1 και FVC) συγκριτικά με την ομάδα που διαγνώστηκε μετά την εκδήλωση συμπτωμάτων ($p < 0,01$), μέχρι την ηλικία των 15 χρόνων, τουλάχιστον, που διήρκεσε η μελέτη¹⁴. Επίσης, στην ίδια μελέτη, ο βαθμός της πνευμονοπάθειας στην ακτινογραφία θώρακα ήταν μικρότερος στην ομάδα του νεογνικού screening συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου στην ηλικία των 15 χρόνων ($p < 0,05$). Στη μελέτη από τη Γαλλία⁹, τα ακτινολογικά ευρήματα των πνευμόνων επιδεινώθηκαν κατά 8% στην ομάδα του νεογνικού screening έναντι 20% στην ομάδα ελέγχου κατά την 1η δεκαετία ζωής. Παρόμοια ήταν τα ευρήματα μελέτης καταγραφής από τη Μ. Βρετανία¹¹.

Η επίδραση του νεογνικού screening για την ΙΚΝ στη νευροαναπτυξιακή εξέλιξη των ασθενών ελέγχθηκε μόνο στην τυχαιοποιημένη μελέτη που διεξήχθη στις ΗΠΑ και δεν διαπιστώθηκε σημαντική διαφορά ως προς το νοητικό πηλίκο μεταξύ των δύο ομάδων ασθενών σε μέση ηλικία 10 χρόνων¹⁵. Όμως, όταν μελετήθηκαν χωριστά οι ασθενείς που είχαν χαμηλά επίπεδα βιταμίνης Ε (<300μg/dL) κατά τη διάγνωση της νόσου, διαπιστώθηκε ότι οι ασθενείς που διαγνώστηκαν μετά την εκδήλωση συμπτωμάτων είχαν νοητικό πηλίκο κατά 12,5 βαθμούς χαμηλότερο από τους ασθενείς που διαγνώστηκαν με νεογνικό screening. Τούτο αποδόθηκε στη μακρότερη διάρκεια της έλλειψης βιταμίνης Ε στους ασθενείς που διαγνώστηκαν μετά την εκδήλωση συμπτωμάτων συγκριτικά με αυτούς που η νόσος διαγνώστηκε νωρίς με νεογνικό screening.

Όσον αφορά στη θνητότητα της ΙΚΝ, είναι δύσκολο να απαντηθεί, από τα στοιχεία που υπάρχουν μέχρι σήμερα, αν η εφαρμογή ενός προγράμματος νεογνικού screening είναι δυνατόν να συμβάλει στην ελάττωση της θνητότητας της νόσου. Η θνητότητα της ΙΚΝ είναι χαμηλή κατά την παιδική ηλικία και χρειάζεται να μελετηθεί μεγάλος αριθμός ασθενών για μακρύ χρονικό διάστημα προκειμένου να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα. Οι μελέτες που έχουν διεξαχθεί μέχρι σήμερα δείχνουν ότι η θνητότητα, μέχρι την ηλικία των 17 χρόνων, είναι χαμηλότερη σε ασθενείς με ΙΚΝ που διαγνώστηκαν με νεογνικό screening συγκριτικά με αυτούς που διαγνώστηκαν μετά την εκδήλωση συμπτωμάτων^{7-11,16}, αλλά η διαφορά είναι στατιστικά σημαντική σε ορισμένες μόνο από αυτές τις μελέτες^{9,10,16}.

Ασφαλώς, εκτός από τα οφέλη που είναι δυνατόν να προκύψουν από την εφαρμογή ενός προγράμματος μαζικού ανιχνευτικού ελέγχου νεογνών για την ΙΚΝ, πρέπει να ληφθούν υπόψη και τα μειονεκτήματα, στα οποία κυρίως περιλαμβάνονται τα ψευδώς αρνητικά και τα ψευδώς θετικά αποτελέσματα και το κόστος. Τα ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα έχουν σχέση με την ευαισθησία της μεθόδου που εφαρμόζεται. Η ευαισθησία του νεογνικού screening για την ΙΚΝ ποικίλλει ανάλογα με το εφαρμοζόμενο πρωτόκολλο. Σε screening που βασίζεται στον προσδιορισμό του θρυψινογόνου σε κάρτα Guthrie, η ευαισθησία εξαρτάται από το όριο των τιμών θρυψινογόνου που καθορίζονται ως παθολογικές (όσο υψηλότερο το όριο, τόσο χαμηλότερη η ευαισθησία). Σε screening που περιλαμβάνει την ανίχνευση μεταλλάξεων του γονιδίου της νόσου, η ευαισθησία σχετίζεται με τη συχνότητα των μεταλλάξεων στον ελεγχόμενο πληθυσμό και ποικίλλει ανάλογα με τη φυλή και

την εθνικότητα. Στοιχεία από τις ΗΠΑ δείχνουν ότι η ευαισθησία ενός πρωτοκόλλου που βασίζεται μόνο στο θρυψινογόνο είναι 87% όταν λαμβάνονται ως παθολογικές οι τιμές θρυψινογόνου που είναι υψηλότερες από την 99,8η εκατοστιαία θέση του συνόλου των τιμών, ενώ η ευαισθησία ενός πρωτοκόλλου που περιλαμβάνει προσδιορισμό θρυψινογόνου και ανίχνευση της ΔF508 μετάλλαξης είναι 94%, όταν λαμβάνονται ως παθολογικές οι τιμές θρυψινογόνου που είναι ≥96η εκατοστιαία θέση, και φτάνει μέχρι 99% όταν, εκτός από τη ΔF508, αναζητούνται και άλλες μεταλλάξεις^{17,18}. Η ειδικότητα του νεογνικού screening για την ΙΚΝ είναι πολύ υψηλή (>99%), αλλά η θετική προγνωστική αξία είναι χαμηλή, περίπου 10%¹⁸. Επομένως, μόνο 1 στα 10 περίπου νεογνά με θετικό screening νοσεί από ΙΚΝ, ενώ τα υπόλοιπα 9, όταν το screening βασίζεται στην ανίχνευση μεταλλάξεων, είναι φορείς της νόσου. Το ψυχολογικό stress που μπορεί να εμφανίσουν οι γονείς των νεογνών με θετικό screening, μέχρις ότου η νόσος αποκλεισθεί με test ιδρώτα, συνυπολογίζεται στους κινδύνους που απορρέουν από την εφαρμογή ενός προγράμματος νεογνικού screening¹⁹.

Το κόστος του νεογνικού screening για την ΙΚΝ, επίσης, ποικίλλει ανάλογα με το πρωτόκολλο που εφαρμόζεται, π.χ. επί 70.000 γεννήσεων/έτος σε πολιτεία των ΗΠΑ, το κόστος ανά νεογνό είναι 1,50\$ όταν το screening βασίζεται μόνο στον προσδιορισμό του θρυψινογόνου, 2,77\$ όταν το screening περιλαμβάνει προσδιορισμό θρυψινογόνου και επιπλέον αναζήτηση της ΔF508 μετάλλαξης στα νεογνά με αυξημένο θρυψινογόνο, και φτάνει στα 4,16\$ όταν περιλαμβάνει προσδιορισμό θρυψινογόνου και αναζήτηση πολλών (εικοσιπέντε) μεταλλάξεων²⁰.

Με βάση τις μελέτες που υπάρχουν μέχρι σήμερα, τα οφέλη και τα μειονεκτήματα του νεογνικού screening για την ΙΚΝ συζητήθηκαν σε workshop που οργανώθηκε από το Κέντρο Πρόληψης Λοιμώξεων της Αμερικής (CDC) και την Εταιρεία Ινοκυστικής Νόσου (Cystic Fibrosis Foundation)²¹. Το συμπέρασμα που ανακοινώθηκε ήταν το εξής: «αν και η απόφαση για την εφαρμογή ενός προγράμματος μαζικού ανιχνευτικού ελέγχου νεογνών για την ΙΚΝ εξαρτάται από την οικονομική πολιτική και τις προτεραιότητες κάθε πολιτείας, με βάση τα δεδομένα που υπάρχουν για μέτρια οφέλη και χαμηλό κίνδυνο από την εφαρμογή του ανιχνευτικού ελέγχου, το CDC πιστεύει ότι ο ανιχνευτικός έλεγχος νεογνών για την ΙΚΝ δικαιολογείται». Ωστόσο, πρέπει να ληφθεί υπόψη ότι αυτή η άποψη του CDC βασίστηκε στα οφέλη και τους κινδύνους που απορρέουν από το νεογνικό screening για τους πάσχοντες από ΙΚΝ και

τις οικογένειές τους, όμως, δεν εξετάστηκε το γεγονός ότι με την εφαρμογή ενός προγράμματος νεογνικού screening για την ΙΚΝ θα μπορούσε συγχρόνως να γίνει ανίχνευση φορέων και πρόληψη της νόσου. Στη Γαλλία, με το συνδυασμό νεογνικού screening για την ΙΚΝ και ελέγχου των ομάδων υψηλού κινδύνου, οι γεννήσεις παιδιών με ΙΚΝ ελαττώθηκαν κατά 30%²². Σήμερα, το screening νεογνών για την ΙΚΝ περιλαμβάνεται στο Εθνικό Πρόγραμμα ανιχνευτικού ελέγχου νεογνών σε 11 πολιτείες των ΗΠΑ, στην Αυστραλία και Ν. Ζηλανδία, την Αυστρία, τη Γαλλία και πρόκειται να περιληφθεί στο Εθνικό Πρόγραμμα ανιχνευτικού ελέγχου νεογνών της Μ. Βρετανίας κατά το έτος 2007.

Όσον αφορά στη χώρα μας, η μεγάλη ετερογένεια των μεταλλάξεων του γονιδίου της ΙΚΝ καθιστά δύσκολη, προς το παρόν, την επιτυχημένη εφαρμογή ενός ανιχνευτικού προγράμματος που περιλαμβάνει γενετικό έλεγχο, προϋπόθεση της οποίας αποτελεί η δυνατότητα αναγνώρισης >90% των πασχόντων. Η συχνότητα της μετάλλαξης ΔF508 σε χρωμοσώματα Ελλήνων πασχόντων είναι 53,4%²³, ενώ σε πληθυσμούς της Β. Ευρώπης και Β. Αμερικής είναι >70%. Επομένως, η ευαισθησία ενός προγράμματος ανιχνευτικού ελέγχου που περιλαμβάνει την ανίχνευση της μετάλλαξης ΔF508 θα ήταν μικρότερη από 90% στη χώρα μας (περίπου 80%) και χαμηλότερη από αυτή που παρατηρείται στη Β. Ευρώπη και Β. Αμερική (94%). Το πρόβλημα θα μπορούσε να λυθεί με τη χρησιμοποίηση ενός panel ανίχνευσης πολλών μεταλλάξεων, αυτών που απαντώνται συχνότερα στον Ελληνικό πληθυσμό.

Στη χώρα μας, οι 8 συχνότερες μεταλλάξεις του γονιδίου ΙΚΝ, συμπεριλαμβανομένης της ΔF508, απαντώνται στο 74% των χρωμοσωμάτων των πασχόντων, ενώ οι 62 συχνότερες μεταλλάξεις απαντώνται στο 86% των χρωμοσωμάτων των πασχόντων. Επομένως, η ευαισθησία ενός πρωτοκόλλου νεογνικού screening που περιλαμβάνει προσδιορισμό θρυψινογόνου και ανίχνευση των 8 συχνότερων μεταλλάξεων θα ήταν 93% και θα έφτανε έως 98%, αν ο γενετικός έλεγχος περιελάμβανε ανίχνευση των 62 μεταλλάξεων. Εναλλακτικά, η ευαισθησία ενός προγράμματος ανιχνευτικού ελέγχου νεογνών για την ΙΚΝ θα μπορούσε να αυξηθεί με την εφαρμογή συνδυασμού βιοχημικών δεικτών σε κάρτα Guthrie, π.χ. θρυψινογόνου και πρωτεΐνης που σχετίζεται με παγκρεατίτιδα (pancreatitis-associated protein)²⁴, ή συνδυασμού πρωτοκόλλων και αλγορίθμων, π.χ. προσδιορισμός θρυψινογόνου και γενετικός έλεγχος στην ίδια κάρτα Guthrie για τα νεογνά με αυξημένο θρυψινογόνο και, επιπλέον, test ιδρώτα για εκείνα τα

νεογνά που ο γενετικός έλεγχος είναι αρνητικός αλλά τα επίπεδα του θρυψινογόνου είναι πολύ υψηλά. Φαίνεται ότι για τη χώρα μας, ο προβληματισμός δεν έγκειται μόνο στο αν πρέπει να εφαρμοστεί ανιχνευτικό πρόγραμμα νεογνών για την ΙΚΝ, αλλά και ποιο πρωτόκολλο ανιχνευτικού ελέγχου θα μπορούσε να εφαρμοστεί επιτυχώς με το μικρότερο δυνατό κόστος.

Σύμφωνα με τα ανωτέρω, με την εφαρμογή ενός προγράμματος νεογνικού screening για την ΙΚΝ επιτυγχάνεται η ενωρίς διάγνωση των πασχόντων και η αναγνώριση ενός ποσοστού φορέων της νόσου. Για την ανίχνευση όλων των φορέων και την ιδανική πρόληψη της νόσου χρειάζεται να εφαρμοστεί πρόγραμμα προγεννητικού ανιχνευτικού ελέγχου στο γενικό πληθυσμό. Ήδη, το Αμερικανικό Κολλέγιο Μαιευτήρων και Γυναικολόγων συστήνει προαιρετικό έλεγχο όλων των ζευγαριών πριν τη σύλληψη ή νωρίς κατά την κύηση προκειμένου να αναγνωρισθούν οι φορείς της νόσου²⁵. Για τον έλεγχο αυτό προτείνεται η χρησιμοποίηση ενός panel ανίχνευσης πολλών μεταλλάξεων (εικοσιπέντε) του γονιδίου ΙΚΝ έτσι ώστε να είναι δυνατή η ανίχνευση >90% των μεταλλάξεων του Αμερικανικού πληθυσμού προκειμένου να αναγνωρισθούν 80-90% των ζευγαριών που είναι και οι δύο φορείς της νόσου²⁵.

Το τυποποιημένο panel των εικοσιπέντε μεταλλάξεων που χρησιμοποιείται στην Αμερική καλύπτει μόνο το 70-75% των μεταλλάξεων ΙΚΝ στον ελληνικό πληθυσμό²³ και επομένως δίνει τη δυνατότητα ανίχνευσης στη χώρα μας μόνον του 50% των ζευγαριών που είναι και οι δύο φορείς της νόσου. Χρειάζεται να ελεγχθούν περίπου 80 μεταλλάξεις του γονιδίου ΙΚΝ προκειμένου να ανιχνευτεί >90% των μεταλλάξεων του Ελληνικού πληθυσμού και να αναγνωρισθεί 80-90% των ζευγαριών που είναι σε κίνδυνο για τη γέννηση παιδιού με ΙΚΝ. Σήμερα, η εξέλιξη της τεχνολογίας δίνει τη δυνατότητα ανίχνευσης περισσότερων από 200 μεταλλάξεων ΙΚΝ με σχετικά χαμηλό κόστος²⁶. Με βάση την καλή εμπειρία μας από την πρόληψη της μεσογειακής αναιμίας με την εφαρμογή ενός προαιρετικού προγράμματος ανίχνευσης φορέων, ίσως μπορούμε να είμαστε αισιόδοξοι για την πρόληψη, στο μέλλον, και της ΙΚΝ στη χώρα μας. Η πρόληψη με την ανίχνευση των φορέων στο γενικό πληθυσμό και η πρώιμη διάγνωση με το νεογνικό screening αποτελούν σημαντικά όπλα για την αντιμετώπιση της νόσου.

Newborn screening for cystic fibrosis
T. Siahanidou
(*Ann Clin Paediatr* 2006, 53(4):313-319)

Newborn screening for cystic fibrosis (CF) aims at the presymptomatic diagnosis of the disease in order to be applied a treatment program designed to maintain health rather than just treat symptoms. Although multiple protocols and algorithms are used to screen newborns for CF, all protocols begin with the measurement of trypsinogen in dried blood spots obtained during the first few days of life (Guthrie test) in conjunction with screening for other diseases such as phenylketonuria and congenital hypothyroidism. Babies with repeatedly increased trypsinogen levels are referred for sweat testing. Alternatively, DNA testing for $\Delta F508$ or multiple mutation analysis is applied in the same blood spot when an initial trypsinogen elevation is observed and in case of a positive result the neonate is referred for sweat testing. Several studies following-up CF patients for 4 to 17 years have showed that there are short-term and long-term benefits from newborn screening including nutrition and growth, pulmonary outcomes, cognitive function and survival. The main potential harms of CF newborn screening include the false negative and false positive results, as well as the financial cost. In nowadays, CF newborn screening is included in the national screening program in 11 States of America, Australia-N. Zealand, Austria, France and it will begin in United Kingdom as a national program since 2007. In Greece, there are difficulties in introducing a successful CF newborn screening program based on genetic testing due to the molecular heterogeneity of CF gene, but this may possibly be fulfilled in the future using a multiple mutation panel that will identify the specific mutations of the Greek population. It is also possible that such advances in technology will provide the opportunity for detection of carrier couples and ideal prevention of the disease.

Key words: cystic fibrosis, screening, neonates, carrier testing.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Campbell P, White T. Newborn screening for cystic fibrosis: An opportunity to improve care and outcomes. *J Pediatr* 2005; 147:S2-S5.
2. Therrel B, Loyd-Puryear M, Mann M. Understanding newborn screening system issues with emphasis on cystic fibrosis screening. *J Pediatr* 2005; 147:S6-S10.
3. Accurso F, Sontag M, Wagener J. Complications associated with symptomatic diagnosis in infants with cystic fibrosis. *J Pediatr* 2005; 147:S37-S41.
4. Cystic Fibrosis Foundation. Patient Registry 2000 Annual Data Report. Bethesda (MD): Cystic Fibrosis Foundation: 2001.
5. Farrell P, Kosorok M, Rock M, Laxova A, Zeng L, Lai HC, et al. Early diagnosis of cystic fibrosis through neonatal screening prevents severe malnutrition and improves long-term growth. *Pediatrics* 2001; 107:1-13.
6. Chatfield S, Owen G, Ryley HC, Williams J, Alfaham M, Goodchild MC, et al. Neonatal screening for cystic fibrosis in Wales and the West Midlands: clinical assessment after five years of screening. *Arch Dis Child* 1991; 66:29-33.
7. Waters D, Wilcken B, Irwig L, Van Asperen P, Mellis C, Simpson J, et al. Clinical outcomes of newborn screening for cystic fibrosis. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 1999; 80:F1-F7.
8. Merelle ME, Schouten JP, Gerritsen J, Dankert-Roelse JE. Influence of neonatal screening and centralized treatment on long-term clinical outcome and survival of CF patients. *Eur Respir J* 2001; 18:306-15.
9. Siret D, Bretaudeau G, Branger B, Dabadie A, Dagorne M, David V, et al. Comparing the clinical evolution of cystic fibrosis screened neonatally to that of cystic fibrosis diagnosed from clinical symptoms: a 10-year retrospective study in a French region (Brittany). *Pediatr Pulmonol* 2003; 35:342-9.
10. Mastella G, Zanolla L, Castellari C, Altieri S, Furnari M, Giglio L, et al. Neonatal screening for cystic fibrosis: long-term clinical balance. *Pancreatol* 2001; 1:531-7.
11. Sims E, McCormick J, Mehta G, Mehta A, on behalf of the steering committee of the UK cystic fibrosis database. Neonatal screening for cystic fibrosis is beneficial even in the context of modern treatment. *J Pediatr* 2005; 147:S42-S46.
12. Konstan MW, Butler SM, Wohl MEB, Stoddard M, Matouse R, Wagener JS, et al. Growth and nutritional indexes in early life predict pulmonary function in cystic fibrosis. *J Pediatr* 2003; 142:624-30.
13. Farrell PM, Li Z, Kosorok MR, Laxova A, Green CG, Collins J, et al. Bronchopulmonary disease in children with cystic fibrosis after early or delayed diagnosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 168:1100-8.
14. McKay KO, Waters DL, Gaskin KJ. The influence of newborn screening for cystic fibrosis on pulmonary outcomes in New South Wales. *J Pediatr* 2005; 147:S47-S50.
15. Kosciuk R, Farrell P, Kosorok M, Zaremba K, Laxova A, Lai HC, et al. Cognitive function of children with cystic fibrosis: Deleterious effect of early malnutrition. *Pediatrics* 2004; 113:1549-58.

16. Doull IJ, Ryley HC, Weller P, Goodchild MC. Cystic fibrosis-related deaths in infancy and the effect of newborn screening. *Pediatr Pulmonol* 2001; 31:363-6.
17. Comeau A, Parad R, Dorkin H, Dovey M, Gerstle R, Haver K, et al. Population-based newborn screening for genetic disorders when multiple mutation DNA testing is incorporated: A cystic fibrosis newborn screening model demonstrating increased sensitivity but more carrier detections. *Pediatrics* 2004; 113:1573-81.
18. Rock M, Hoffman G, Laessig R, Kopish G, Litsheim T, Farrell P. Newborn screening for cystic fibrosis in Wisconsin: Nine-year experience with routine trypsinogen/DNA testing. *J Pediatr* 2005; 147: S73-S77.
19. Tluczek A, Kosciak R, Farrell P, Rock M. Psychosocial risk associated with newborn screening for cystic fibrosis: Parents' experience while awaiting the sweat-test appointment. *Pediatrics* 2005; 115:1692-703.
20. Rosenberg M, Farrell P. Assessing the cost of cystic fibrosis diagnosis and treatment. *J Pediatr* 2005; 147:S101-S105.
21. CDC. Newborn screening for cystic fibrosis: evaluation of benefits and risks and recommendations for state newborn screening programs. *MMWR* October 15, 2004.
22. Scotet V, Audrezet MP, Roussey M, Rault G, Blayau M, De Braekeleer M, et al. Impact of public health strategies on the birth prevalence of cystic fibrosis in Brittany, France. *Hum Genet* 2003; 113:280-5.
23. Kanavakis E, Efthymiadou A, Strofalis S, Doudounakis S, Traeger-Synodinos J, Tzetis M. Cystic fibrosis in Greece: molecular diagnosis, haplotypes, prenatal diagnosis and carrier identification amongst high-risk individuals. *Clin Genet* 2003; 63:400-9.
24. Sarles J, Berthezene P, Louarn C, Somma C, Perini JM, Catheline M, et al. Combining immunoreactive trypsinogen and pancreatitis-associated protein assays, a method of newborn screening for cystic fibrosis that avoids DNA analysis. *J Pediatr* 2005; 147:302-5.
25. ACOG Committee Opinion. Update on carrier screening for cystic fibrosis. *Obstet Gynecol* 2005; 325:1465-8.
26. Schrijver I, Oitmaa E, Metspalu A, Gardner P. Genotyping microarray for the detection of more than 200 CFTR mutations in ethnically diverse populations. *J Mol Diagn* 2005; 7:375-87.