



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**



ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ-ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ»**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**«Το παρόν και το μέλλον στην θεραπεία της Κυστικής ίνωσης: δεδομένα για γονιδιακές
θεραπείες»**

Κασπίρη Σοφία

Βιολόγος

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Καθηγήτρια Μαρία Τζέτη, Επιβλέπουσα

Καθηγήτρια Ασπασία Τσέζου, Συνεπιβλέπουσα

Επικ. Καθηγήτρια Ιωάννα Παπαθανασίου, Μέλος

ΛΑΡΙΣΑ, 2024



**UNIVERSITY OF THESSALY
SCHOOL OF HEALTH SCIENCES
FACULTY OF MEDICINE**



**POSTGRADUATE MASTER PROGRAM
“HUMAN GENETICS – GENETIC COUNSELING”**

MASTER’S THESIS

«The present and the future in the treatment of cystic fibrosis: evidence for gene therapies»

Sophia Kaspiri

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	σελ. 10-37
1.1 Κυστική Ίνωση σελ. 10-11	
1.2 Κληρονομικότητα σελ. 11	
1.3 Συμπτώματα της Κυστικής Ίνωσης σελ. 11-13	
1.4 Επιπλοκές σελ. 13-18	
1.5 Γονίδιο και πρωτεΐνη CFTR σελ. 19-20	
1.6 Λειτουργία πρωτεΐνης CFTR σελ 21	
1.7 Ρυθμιστική περιοχή (RD) της CFTR σελ 22	
1.8 Διαμεμβρανικές περιοχές CFTR σελ 22-23	
1.9 Οι επικράτειες δέσμησης των νουκλεοτιδίων σελ. 23	
1.10 Το άνοιγμα και το κλείσιμο του διαύλου σελ 24	
1.11 Ταξινόμηση μεταλλάξεων CFTR με βάση την δομή και λειτουργία του CFTR σελ. 24-26	
1.12 Διάγνωση Κυστικής Ίνωσης σελ. 26-27	
1.13 Προγεννητική και προεμφυτευτική διάγνωση της Κυστικής ίνωσης σελ. 28	
1.14 Ετερογένεια συμπτωμάτων σελ. 28	
1.15 Θεραπευτικές προσεγγίσεις σελ. 29-31	
1.16 Διαμορφωτές CFTR σελ. 31	
1.17 Εξατομικευμένη θεραπεία με βάση την κατάταξη των μεταλλάξεων σελ. 32-37	
2. ΣΚΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ	σελ. 37
3. ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ.....	σελ. 38-39
3.1 Υλικά και Μέθοδοι σελ. 38	
3.2 Στρατηγική έρευνας σελ. 38	
3.3 Κριτήρια ένταξης στη μελέτη σελ. 38	
3.4 Εξαγωγή δεδομένων σελ. 38-39	
4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	σελ 39-54
4.1 Αποτελέσματα Αναζήτησης σελ. 39-40	
4.2 Ανάλυση Αποτελεσμάτων σελ. 40-54	
5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	

5.1	Φάσεις κλινικών δοκιμών Γονιδιακής θεραπείας	σελ. 55-57
5.2	Προκλήσεις και μελλοντικές προοπτικές Γονιδιακής θεραπείας	σελ. 57
5.3	Διαμορφωτές	σελ. 57-60
5.4	Θεραπείας με χρήση mRNA	σελ. 60
5.5	Γονιδιακή Διόρθωση	σελ. 60-61
5.6	Θεραπεία με τη χρήση βλαστοκυττάρων	σελ. 61-62
6.	BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	σελ. 63-69

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η ερευνητική πρόταση πάνω στην οποία στηρίχτηκε η συγκεκριμένη μελέτη, αποτελούσε ιδέα της επιβλέπουσας καθηγήτριας κ. Τζέτη με σκοπό να συνδυάσει τις τρέχουσες εξελίξεις αλλά και τις μελλοντικές προοπτικές στην αντιμετώπιση της Κυστικής Ίνωσης. Θεωρώ τον εαυτό μου ιδιαίτερα ευτυχή και τυχερό συνάμα, που μου δόθηκε η ευκαιρία να συνεργαστώ με αξιόλογους ανθρώπους που όχι μόνο διεύρυναν τους επιστημονικούς μου ορίζοντες, αλλά με στήριξαν ηθικά και συναισθηματικά για την ολοκλήρωση της εργασίας μου. Θα ήθελα κατ' αρχάς να σταθώ στην κ. Τζέτη και να την ευχαριστήσω για την αμέριστη συμπαράστασή της, την εμπιστοσύνη που μου έδειξε, τις ερευνητικές αρχές που μου δίδαξε, καθώς και την επιστημονική της καθοδήγηση για την αρτιότητα των αποτελεσμάτων μας. Στάθηκε δίπλα μου σε κάθε βήμα, επεξηγώντας αναλυτικά τα ευρήματά μας, παίζοντας καθοριστικό ρόλο στην επιτυχή έκβαση της παρούσας βιβλιογραφικής μελέτης.

Επιπλέον, θα ήθελα να σταθώ στην συμπαράσταση και επιστημονική καθοδήγηση των άλλων μελών της τριμελούς επιτροπής, της καθηγήτριας κ. Τσέζου και της επικ. καθηγήτριας κ. Παπαθανασίου. Η επιστημονική τους καθοδήγηση στην εκτίμηση των ευρημάτων της βιβλιογραφίας συνετέλεσε στην επιτυχή ερμηνεία των αποτελεσμάτων μας.

Επιπρόσθετα, δεν ξεχνώ πως αυτά που πέτυχα θα ήταν αδύνατα δίχως την υλική και ηθική στήριξη και την υπομονή και παρότρυνση της οικογένειάς μου που αποτελεί την σημαντικότερη πηγή έμπνευσης και ενθάρρυνσης στις οποιεσδήποτε προσπάθειές μου.

Κατάλογος πινάκων	
ΠΙΝΑΚΑΣ 1	Σελ 10-11
ΠΙΝΑΚΑΣ 2	Σελ 16-17
ΠΙΝΑΚΑΣ 4	Σελ 43-45
ΠΙΝΑΚΑΣ 5	Σελ 46-49
ΠΙΝΑΚΑΣ 5	Σελ 49-51
ΠΙΝΑΚΑΣ 6	Σελ 52-53
ΠΙΝΑΚΑΣ 8	Σελ 54
ΠΙΝΑΚΑΣ 9	Σελ 54

Κατάλογος εικόνων	
Εικόνα 1	Σελ 18
Εικόνα 2	Σελ 19
Εικόνα 3	Σελ 20
Εικόνα 4	Σελ 23
Εικόνα 5	Σελ 25
Εικόνα 6	Σελ 26
Εικόνα 7	Σελ 34
Εικόνα 8	Σελ 35
Εικόνα 9	Σελ 40

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Θεωρητικό Υπόβαθρο: Η κυστική ίνωση είναι το συχνότερο κληρονομικό νόσημα στη λευκή φυλή με συχνότητα 1/2000-2500 γεννήσεις. Κληρονομείται με υπολειπόμενο σωματικό χαρακτήρα και αποτελεί το 2^ο πιο κοινό νόσημα στην Ελλάδα με φορείς 5% του γενικού πληθυσμού. Η νόσος εμφανίζει μεγάλη ετερογένεια και προκαλείται από μεταλλάξεις στο γονίδιο του ρυθμιστή της διαμεμβρανικής αγωγιμότητας της κυστικής ίνωσης-CFTR. Η πιο συχνή μετάλλαξη είναι η F508del και έχει σαν αποτέλεσμα την λανθασμένη αναδίπλωση της πρωτεΐνης CFTR, η οποία εντοπίζεται στη πάνω (ακραία) μεμβράνη των αναπνευστικών και εκκριτικών επιθηλιακών κυττάρων, όπου δρα κυρίως ως διάυλος ιόντων Cl και επίσης συμβάλλει στη μεταφορά ιόντων HCO₃ με την απελευθέρωση ATP. Ως αποτέλεσμα οι παραλλαγές διαταράσσουν τη λειτουργία του διαύλου CFTR αναστέλλοντας τη ροή των ιόντων χλωρίου και του νερού μέσα και έξω από τα κύτταρα, προκαλώντας δυσλειτουργία των εξωκρινών αδένων. Τα τελευταία χρόνια έχουν αναπτυχθεί πολλά είδη θεραπειών με σκοπό την εξάλειψη των συμπτωμάτων της ασθένειας και τη διόρθωση της γενετικής βλάβης, καμία όμως δεν βρέθηκε να πληροί όλες τις προϋποθέσεις για να καταστεί ιδανική.

Σκοπός της Μελέτης: Σκοπός της παρούσας διπλωματικής είναι η αξιολόγηση των υπάρχοντων θεραπειών της Κυστικής Ίνωσης και οι μελλοντικές προσεγγίσεις σχετικά με αυτές.

Συμπεράσματα: Ο συνδυασμός του Lumacaftor(LUM) με το Ivacaftor(IVA) καθώς και ο συνδυασμός του tezacaftor (TEZ) με το ivacaftor (IVA), έχουν δείξει μέτριες βελτιώσεις στη λειτουργία των πνευμόνων σε ασθενείς που είναι ομόζυγοι για τη μετάλλαξη F508del. Η πιο πρόσφατη καινοτομία είναι ο συνδυασμός τριών φαρμάκων (elexacaftor (ELX), TEZ και IVA), ο οποίος έχει δείξει σημαντική αποτελεσματικότητα, προσφέροντας ελπίδα για καλύτερη ποιότητα ζωής και βελτίωση της υγείας των ασθενών με κυστική ίνωση. Αυτή η πρόοδος ενισχύει τη σημασία της εξατομικευμένης ιατρικής στη θεραπεία γενετικών παθήσεων. Η γονιδιακή θεραπεία αποτελεί μια υποσχόμενη προσέγγιση για την αντιμετώπιση όλων των μεταλλάξεων του γονιδίου *CFTR*, προσφέροντας την προοπτική μιας καθολικής θεραπείας για την κυστική ίνωση. Αυτή η μέθοδος στοχεύει στην αποκατάσταση ή στη διόρθωση του γονιδίου που προκαλεί τη νόσο, επιδιώκοντας να αποκαταστήσει τη σωστή

λειτουργία της CFTR πρωτεΐνης. Ωστόσο, υπάρχουν αρκετές προκλήσεις που πρέπει να ξεπεραστούν προκειμένου να γίνει η γονιδιακή θεραπεία ευρέως διαθέσιμη και αποτελεσματική

ABSTRACT

Theoretical Background: Cystic fibrosis is the most common genetically inherited disease in an autosomal recessive manner, causing severe problems in the respiratory and digestive systems. The disease exhibits significant heterogeneity and is caused by mutations in the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) gene. The most common mutation is F508del, which results in misfolding of the CFTR protein. The CFTR protein functions as a channel in the membrane of epithelial cells specialized in the production of mucus, sweat, saliva, tears, and digestive enzymes. Consequently, mutations disrupt the function of the CFTR channel by inhibiting the flow of chloride ions and water in and out of the cells, leading to various pulmonary issues in patients. In recent years, numerous types of therapies have been developed aimed at alleviating the symptoms of the disease and correcting the genetic defect, but none have been found to meet all the criteria to become ideal.

Purpose of the Study: The purpose of this MSc thesis is to evaluate the existing treatments for cystic fibrosis and explore future approaches related to them.

Conclusions: The combination of lumacaftor (LUM) with ivacaftor (IVA), as well as the combination of tezacaftor (TEZ) with IVA, have shown moderate improvements in lung function in patients who are homozygous for the F508del mutation. The most recent innovation is the combination of three drugs (elexacaftor (ELX), TEZ, and IVA), which has shown significant effectiveness, providing hope for better quality of life and improved health for patients with cystic fibrosis. This progress underscores the importance of personalized medicine in the treatment of genetic diseases. Gene therapy represents a promising approach to address all mutations of the CFTR gene, offering the prospect of a universal treatment for cystic fibrosis. This method aims to restore or correct the gene that causes the disease, seeking to restore the proper function of the CFTR protein. However, several challenges must be overcome in order to make gene therapy widely available and effective.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Κυστική Ίνωση

Η κυστική ίνωση (εφεξής ΚΙ) (Cystic Fibrosis (CF; OMIM 219700, CFTR; OMIM 602421). είναι η πιο συχνή κληρονομική γενετική ασθένεια, η οποία έχει αυτοσωμικό υπολειπόμενο τύπο κληρονομικότητας και προκαλεί σοβαρά προβλήματα στο αναπνευστικό και το πεπτικό σύστημα. Κύριο παθογενετικό χαρακτηριστικό της είναι η δυσλειτουργία των εξωκρινών αδένων, που ευθύνεται για το ευρύ φάσμα κλινικών εκδηλώσεων και επιπλοκών. Αποτελεί μια από τις πιο κοινές κληρονομούμενες ασθένειες στον Καυκάσιο πληθυσμό με συχνότητα 1/2000-2500 γεννήσεις, ενώ στην Ελλάδα είναι το δεύτερο πιο συχνό κληρονομικό νόσημα μετά τη Μεσογειακή Αναιμία. Εκτιμάται ότι περίπου 400.000-500.000 Έλληνες είναι φορείς της νόσου και υπάρχουν περισσότεροι από 800 ασθενείς. Η συχνότερα εμφανιζόμενη γονιδιακή μετάλλαξη (54% των περιπτώσεων) που παρατηρείται στον ελλαδικό χώρο είναι η F508del (ΔF508)^[1], η οποία εκδηλώνεται με τα σοβαρότερα συμπτώματα. Η συχνότητα εμφάνισης των πιο συχνών CFTR μεταλλάξεων στην Ελλάδα απεικονίζονται στον **Πίνακα 1**.

Ο κλινικός φαινότυπος της νόσου προκαλείται από ποικίλες μεταλλάξεις στο γονίδιο που ρυθμίζει την παραγωγή της πρωτεΐνης CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator). Οι μεταλλάξεις επηρεάζουν την CFTR μέσω διαφόρων μηχανισμών, που καταλήγουν είτε στη μη παραγωγή λειτουργικής πρωτεΐνης είτε στην παραγωγή πρωτεΐνης με μειωμένη λειτουργικότητα.^[2]

Πίνακας 1. Οι συχνότερες μεταλλάξεις στον Ελληνικό πληθυσμό. Η μετάλλαξη p.E822X είχε περιγραφεί αρχικά μόνο στον Ελληνικό πληθυσμό.

Μετάλλαξη	Ποσοστό αλληλομόρφων
p.Phe508del	54%
621+1G>T	5.72%
2789+5G>A	1.72%
p.G542X	3.9%
p.N1303K	2.63%
2183AA>G	1.38%

1.2 Κληρονομικότητα

Η κυστική ίνωση κληρονομείται με αυτοσωμικό υπολειπόμενο τρόπο με ποσοστό φορέων 4% στο γενικό πληθυσμό. Επειδή οι φορείς είναι φαινοτυπικά υγιείς, αυτός ο υψηλός επιπολασμός υποδηλώνει ένα δυνητικό πλεονέκτημα επιβίωσης που παρέχεται με το να είναι κάποιος ετερόζυγος. Σε ζευγάρι φορέων η πιθανότητα απόκτησης παιδιού που πάσχει από ΚΙ είναι 25% σε κάθε εγκυμοσύνη. Τα ποσοστά ισχύουν σε κάθε εγκυμοσύνη, ανεξαρτήτως του φύλου του παιδιού. [3]

1.3 Συμπτώματα κυστικής ίνωσης

Η πρωτεΐνη CFTR δρα ως διάυλος χλωρίου στη μεμβράνη των επιθηλιακών κυττάρων που είναι εξειδικευμένα στην παραγωγή βλέννας, ιδρώτα, σάλιου, δακρύων και πεπτικών ενζύμων. Οι μεταλλάξεις διαταράσσουν τη λειτουργία του διαύλου CFTR, αναστέλλοντας τη ροή των ιόντων χλωρίου και του νερού μέσα και έξω από τα κύτταρα. Αυτές οι μεταβολές στη λειτουργία του αναπνευστικού επιθηλίου οδηγούν σε σχετική αφυδάτωση των εκκριμάτων των αεροφόρων οδών, με αποτέλεσμα η βλέννα που εκκρίνεται από τα κύτταρα να είναι παχύρρευστη και κολλώδης, λόγω του αυξημένου ιξώδους της. Αυτό συνεπάγεται ελάττωση της μεταφοράς της βλέννας από τους κροσσούς και απόφραξη των αεροφόρων σωλήνων με αποτέλεσμα τον αποικισμό τους από μικρόβια, όπως ο, ο σταφυλόκοκκος και η ψευδομονάδα, προκαλώντας χρόνια λοίμωξη των βρόγχων. Αυτός ο σχηματισμός της ενδοβρογχικής βλεννώδους πλάκας προκαλεί αύξηση της βλεννίνης, που αποτελεί ένα από τα βασικά συστατικά της βλέννης των αεραγωγών, οδηγώντας σε χρόνια φλεγμονή των πνευμόνων. Παράλληλα οι συχνές ενδοβρογχικές λοιμώξεις προκαλούν μια φλεγμονώδη αντίδραση η οποία χαρακτηρίζεται από αυξημένα επίπεδα του ενζύμου ουδετερόφιλης ελαστάσης, βοηθώντας με αυτόν τον τρόπο στην περεταίρω συγκέντρωση παχιάς και κολλώδους βλέννας. Δημιουργείται έτσι, ένας φαύλος κύκλος λοιμώξεων και φλεγμονών, ο οποίος οδηγεί σταδιακά σε ανάπτυξη βρογχεκτασιών. Με την πάροδο του χρόνου, αυτή η προοδευτική πνευμονική βλάβη οδηγεί σε σοβαρή αναπνευστική ανεπάρκεια, η οποία χαρακτηρίζεται από μειωμένο όγκο εκπνεόμενου αέρα (FEV1) και σοβαρή μείωση της αναπνευστικής ικανότητας^[4]. Σε

προχωρημένα στάδια της νόσου, οι ασθενείς μπορεί να αναπτύξουν αναπνευστική ανεπάρκεια, γεγονός που συχνά απαιτεί υποστήριξη με οξυγονοθεραπεία ή ακόμη και μηχανικό αερισμό.

Η νόσος προσβάλλει επίσης την εξωκρινή μοίρα του παγκρέατος. Όπως και σε άλλα εμπλεκόμενα συστήματα οργάνων, ο μηχανισμός βλάβης του παγκρέατος στην ΚΙ περιλαμβάνει τη συμπύκνωση της βλέννας στους παγκρεατικούς πόρους. Το κανάλι του ρυθμιστή διαμεμβρανικής αγωγιμότητας της κυστικής ίνωσης (CFTR) εκφράζεται σε μεγάλο βαθμό στην κορυφαία μεμβράνη των παγκρεατικών επιθηλιακών κυττάρων, ιδιαίτερα στον εγγύς κύριο παγκρεατικό πόρο. Μαζί με τους μεταφορείς νατρίου/διττανθρακικών και τον μεταφορέα της οικογένειας 26 των διαλυτών φορέων (SLC26), το CFTR ρυθμίζει τη δραστική μεταφορά χλωρίου και διττανθρακικών στους πόρους. Μέσω αυτής της δραστηριότητας, το CFTR διατηρεί ένα ωσμωτικό κλίμα στους πόρους, το οποίο διευκολύνει τη διέλευση των προενζύμων προς το δωδεκαδάκτυλο. Οι παθογόνες μεταλλάξεις στο *CFTR* διαταράσσουν τη λειτουργία αυτού του καναλιού, επιβραδύνοντας τη ροή υγρών στο σύστημα των πόρων και η συμπυκνωμένη βλέννα εμποδίζει την απέκκριση των ενζύμων στο έντερο, ώστε να γίνει σωστά η πέψη των θρεπτικών συστατικών της τροφής. Τα συσσωρευμένα παγκρεατικά ένζυμα οδηγούν στην αυτοπεψία του οργάνου και τελικά στην προσβολή και της ενδοκρινούς μοίρας. Αυτό σημαίνει ότι τα περισσότερα άτομα με κυστική ίνωση δεν απορροφούν σωστά τα θρεπτικά συστατικά από τα τρόφιμα και ενώ στις ήπιες περιπτώσεις αρκεί να ακολουθούν ορισμένη δίαιτα, με συμπλήρωμα βιταμινών και να καταναλώνουν περισσότερες θερμίδες για να αποφύγουν την υποθρεψία ^[5] οι ασθενείς με παγκρεατική ανεπάρκεια, διπλοί ετεροζυγώτες με βαριές μεταλλάξεις, χρειάζεται να παίρνουν και παγκρεατικά ένζυμα. Η παγκρεατική ενζυμική θεραπεία (PERT) είναι η κύρια στρατηγική για την αποκατάσταση της λειτουργίας των παγκρεατικών ενζύμων. Η κλινική συμπτωματολογία της κυστικής ίνωσης περιλαμβάνει: επαναλαμβανόμενες λοιμώξεις στους πνεύμονες, συριγμός, βήχας, δύσπνοια και βλάβη στους αεραγωγούς (βρογχεκτασίες), δυσκολία στην αύξηση βάρους και στην ανάπτυξη, νεογνικός ίκτερος (κιτρίνισμα του δέρματος και του λευκού των ματιών), στεατόρροια (μεγάλες, λιπαρές και δύσοσμες κενώσεις) δυσκοιλιότητα ή απόφραξη του εντέρου σε νεογέννητα (ειλεός μηκωνίου) όπου μπορεί να χρειαστεί χειρουργική επέμβαση. Τα άτομα με τη συγκεκριμένη πάθηση, ειδικά σε μεγαλύτερη ηλικία, μπορεί επίσης να αναπτύξουν μια σειρά σχετικών παθήσεων όπως Σακχαρώδη Διαβήτη, οστεοπόρωση, ηπατικά

προβλήματα, ενώ έχει παρατηρηθεί ακόμα και στειρότητα στους άνδρες, λόγω αποφρακτικής αζωοσπερμίας ^[6].

Παλαιότερα η ΚΙ θεωρούνταν ασθένεια των πνευμόνων και είχε συνδεθεί με την κοίλοκάκη. Αργότερα, ωστόσο αναγνωρίστηκε ως αιτία μη φυσιολογικής ανάπτυξης των παιδιών. Ιδιαίτερα σημαντική κρίνεται η συμβολή της Dorothy Andersen. Αυτή ήταν η πρώτη που την ξεχώρισε το 1938 κάνοντας μια βιοψία στο πάγκρεας, εφόσον διαπίστωσε μια δυσασπορρόφηση, ικανή να προκαλέσει ακόμα και τον θάνατο, και ένα μη φυσιολογικό πάγκρεας. Πλέον, θεωρείται γνωστό πως η δυσλειτουργία του παγκρέατος αποτελεί χαρακτηριστικό γνώρισμα της ΚΙ και διαχωρίζεται σε δύο μορφές, την παγκρεατική ανεπάρκεια (ΠΑ) και την παγκρεατική επάρκεια (ΠΕ). Το ποσοστό των πασχόντων με παγκρεατική ανεπάρκεια ανέρχεται στο 85%. Η παγκρεατική ανεπάρκεια συνδέεται στενά με δύο σοβαρές μεταλλάξεις του γονιδίου CFTR και οφείλεται στην καταστροφή της εξωκρινούς μοίρας του παγκρέατος. Έχει παρατηρηθεί ότι ασθενείς με ΚΙ, οι οποίοι παρουσιάζουν παγκρεατική επάρκεια, έχουν την τάση να εμφανίζουν πιο ήπια πνευμονική δυσλειτουργία και αυξημένο προσδόκιμο ζωής, εν αντιθέσει με αυτούς που έχουν παγκρεατική ανεπάρκεια. Αξίζει να σημειωθεί ότι ορισμένοι ασθενείς με φυσιολογική λειτουργία του παγκρέατος, ενδέχεται να εμφανίσουν κάποια στιγμή στη ζωή τους ανεπάρκεια, σε περίπτωση που πάσχουν από σοβαρές μεταλλάξεις του γονιδίου CFTR και μάλιστα χωρίς απαραίτητα να εμφανίσουν ορισμένα αρχικά συμπτώματα που να σηματοδοτούν την κατάσταση αυτή. Ενδεικτικά συμπτώματα που παρουσιάζονται συχνά ως απόρροια της παγκρεατικής ανεπάρκειας είναι η απώλεια βάρους, ο μετεωρισμός, η δυσπεψία και τα λιπαρά, δύσοσμα κόπρανα. Ακόμα, έρευνες έχουν δείξει πως περίπου το 20% των εφήβων και το 50% των ενηλίκων με παγκρεατική ανεπάρκεια αναπτύσσουν διαβήτη που οφείλεται στην ΚΙ, μια ξεχωριστή μορφή διαβήτη με κοινά χαρακτηριστικά τόσο του διαβήτη τύπου Ι όσο και του διαβήτη τύπου ΙΙ ^[7].

1.4 Επιπλοκές

Η κυστική ίνωση είναι χρόνια πάθηση η οποία εξελίσσεται ύπουλα παρουσιάζοντας πολλές επιπλοκές, που οφείλονται στην ιξώδη βλέννα, στη δυσασπορρόφηση και στις λοιμώξεις και αφορούν ως επί το πλείστον το αναπνευστικό και γαστρεντερικό σύστημα (πίνακας 2).

Η βρογχεκτασία, η ατελεκτασία, η αιμόπτυση, ο πνευμοθώρακας καθώς και η αναπνευστική ανεπάρκεια είναι μερικές από τις επιπλοκές του αναπνευστικού συστήματος. ^[1]

Λοβώδης ατελεκτασία παρατηρείται σχετικά σπάνια και μπορεί να αποτελεί ένα τυχαίο εύρημα σε μία συνήθη ακτινογραφία θώρακα, γιατί μπορεί να μη συνοδεύεται από συμπτώματα.

Η αιμόπτυση έχει γίνει μια σχετικά συχνή επιπλοκή, λόγω της αύξησης του αριθμού των ασθενών μεγαλύτερης ηλικίας. Αιτίες της ενδοβρογχικής αιμορραγίας αποτελούν η διάβρωση του τοιχώματος των αεραγωγών και η διάταση των βρογχικών αρτηριών, λόγω της λοίμωξης.

Πνευμοθώρακας παρατηρείται στους μεγαλύτερης ηλικίας ασθενείς και μπορεί να απειλήσει τη ζωή τους, ειδικά στις περιπτώσεις εκείνες που δεν συνοδεύονται από συμπτώματα. Ακόμη κι ελαφριά συμπτώματα επομένως, πρέπει να λαμβάνονται σοβαρά υπόψη και να οδηγούν στην εκτέλεση μιας ακτινογραφίας θώρακα. Άλγος στο θώρακα και τον ώμο, επιπόλαιες αναπνοές ή αιμόπτυση είναι οι συχνότερες ενδείξεις πνευμοθώρακα.

Μία επιπλοκή ακόμη, που εκδηλώνεται με συμπτώματα από το αναπνευστικό όπως συρίττωση αναπνοή και ταχύπνοια ή μεγάλη υπερδιάταση στις δοκιμασίες πνευμονικής λειτουργίας είναι η αλλεργική ασπεργίλλωση.

Αναπνευστική ανεπάρκεια εμφανίζεται με την οξεία της μορφή στους ασθενείς με ήπια έως μέτρια πνευμονική νόσο, συνήθως μετά από μια σοβαρή ιογενή λοίμωξη όπως γρίπη. Συνήθως όμως αναπτύσσεται χρόνια αναπνευστική ανεπάρκεια, λόγω της σταδιακής και μακροχρόνιας έκπτωσης της πνευμονικής λειτουργίας σε ασθενείς μεγαλύτερης ηλικίας, χωρίς να αποκλείεται αυτό σε κάθε ηλικία.

Αν και η μακροχρόνια υποξαιμία με αρτηριακή PO₂ μικρότερη από 50mmHg οδηγεί σε ανάπτυξη χρόνιας δεξιάς καρδιακής ανεπάρκειας, ορισμένοι ασθενείς αναπτύσσουν δεξιά καρδιακή ανεπάρκεια σαν αποτέλεσμα μιας επιπλοκής όπως οξείας ιογενούς λοίμωξης ή πνευμοθώρακα.

Οι επιπλοκές του πεπτικού συστήματος περιλαμβάνουν διατροφικές ανεπάρκειες, νοσήματα ήπατος, παγκρεατίτιδα, υπεργλυκαιμία, χολολιθίαση, γαστροοισοφαγική παλινδρόμηση, πρόπτωση ορθού, ειλεό από μηκώνιο, εγκολεασμό, βακτηριακή υπερανάπτυξη του λεπτού εντέρου (SIBO) και σύνδρομο άπω εντερικής απόφραξης (DIOS) ^{[8], [9]}.

Οι περισσότεροι (90%) ασθενείς παρουσιάζουν νωρίς από τη γέννησή τους εξωκρινή παγκρεατική ανεπάρκεια, λόγω συμπίκνωσης βλέννας στους εκφορητικούς πόρους του παγκρέατος, με αποτέλεσμα δευτεροπαθή δυσαπορρόφηση θρεπτικών συστατικών. Αυτό οδηγεί σε πρωτεϊνική-θερμιδική υποθρεψία σε ποσοστό 5-10%, παρά την υπερβολική όρεξη του ασθενούς

Εκτός της πρωτοπαθούς ανεπάρκειας της εξωκρινούς μοίρας του παγκρέατος σε εφήβους και ενήλικους παρουσιάζεται συχνά δυσλειτουργία και της ενδοκρινούς μοίρας, που εκδηλώνεται ως υπεργλυκαιμία και σακχαρώδη διαβήτη. Η διαιτητική αντιμετώπιση μπορεί να μην είναι αρκετή, λόγω των περιορισμών που επιβάλλει η νόσος αλλά, όταν χρειαστεί θεραπεία με ινσουλίνη, συνήθως μικρές δόσεις αρκούν για τον έλεγχο της υπεργλυκαιμίας. Αντιδιαβητικά από το στόμα δεν είναι αποτελεσματικά.

Ο ειλεός από μηκόνιο αποτελεί στο 10% των περιπτώσεων την πρώτη εκδήλωση στα νεογέννητα που πάσχουν από κυστική ίνωση.

Η γαστροοισοφαγική παλινδρόμηση παρατηρείται σε μεγάλο ποσοστό παιδιών με κυστική ίνωση αλλά δεν είναι ξεκάθαρο αν σχετίζεται με τον υπεραερισμό ή με την θεραπεία της νόσου. Οποσδήποτε όμως παρατηρήθηκε βελτίωση της αναπνευστικής λειτουργίας όταν αντιμετωπίστηκε θεραπευτικά η παλινδρόμηση.

Νοσήματα ήπατος που σχετίζονται με την κυστική ίνωση είναι η ηπατική στεάτωση (λιπώδης εκφύλιση), ο νεογνικός αποφρακτικός ίκτερος, η χρόνια ηπατίτιδα και η χολική κίρρωση, που σπάνια εξελίσσεται σε ηπατική ανεπάρκεια.

Άλλες πιθανές επιπτώσεις περιλαμβάνουν καθυστερημένη σεξουαλική ωρίμανση με κοντό ανάστημα ή και στειρότητα, οστεοπόρωση, ανισορροπίες ηλεκτρολυτών και αφυδάτωση, λόγω των μεγάλων απωλειών άλατος με τον ιδρώτα ειδικά σε θερμά ξηρά κλίματα, που μπορεί να εμφανιστούν ως αυξημένος καρδιακός ρυθμός, κόπωση, αδυναμία και χαμηλή αρτηριακή πίεση ^[9]. Σε ποσοστό 15-20% των ασθενών με κυστική ίνωση παρατηρούνται ρινικοί πολύποδες πιο συχνά κατά τη 2^η δεκαετία της ζωής, που υποτροπιάζουν σε πολλές περιπτώσεις, ενώ μπορεί να αποτελούν από μόνοι τους ένδειξη για διενέργεια προσδιορισμού ηλεκτρολυτών στον ιδρώτα (SWEAT TEST).

ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΕΣ ΕΠΙΠΛΟΚΕΣ

Βρογχεκτασία,βρογχίτιδα,βρογχιολίτιδα,πνευμονία
Ατελεκτασία
Αιμόπτυση
Πνευμοθώρακας
Ρινικοί πολύποδες
Παραρρινοκολπίτιδα
Πνευμονική καρδιά
Αναπνευστική ανεπάρκεια
Αλλεργική ασπεργίλλωση

ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΕΣ ΕΠΙΠΛΟΚΕΣ

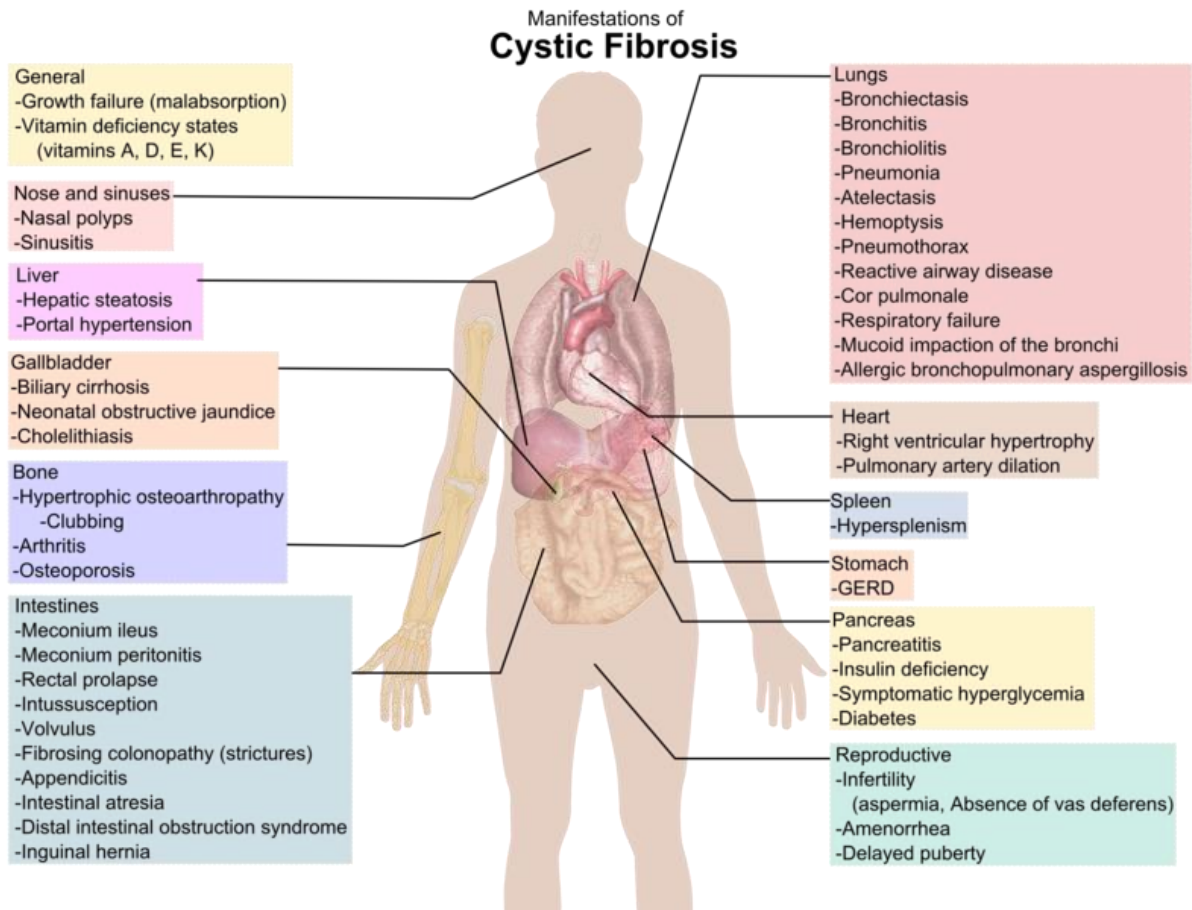
Ειλεός από μηκόνιο
Περιτονίτιδα από μηκόνιο
Εντερική απόφραξη (ισοδύναμο ειλεού από μηκόνιο)
Πρόπτωση ορθού
Εγκολεασμός εντέρου
Συστροφή εντέρου
Ατρησία εντέρου
Σκωληκοειδίτιδα
Παγκρεατίτιδα
Χολική κίρρωση
Νεογνικός αποφρακτικός ίκτερος
Ηπατική στεάτωση(λιπώδης εκφύλιση)
Χολολιθίαση
Βουβωνοκήλη

Γαστροοισοφαγική παλινδρόμηση
Ελλειπής σωματική αύξηση
Ανεπάρκεια βιταμινών (Α,Δ,Ε,Κ)
Ελλειψη ινσουλίνης, συμπτωματική υπεργλυκαιμία

ΑΛΛΕΣ ΕΠΙΠΛΟΚΕΣ

Στειρότητα
Αφυδάτωση
Υπολευκωματιναιμία,οίδημα
Αρθρίτιδα
Καθυστέρηση ενήβωσης ,αμηνόρροια
Αμυλοείδωση

Πίνακας 2. Οι κυριότερες επιπλοκές στην Κυστική Ίνωση

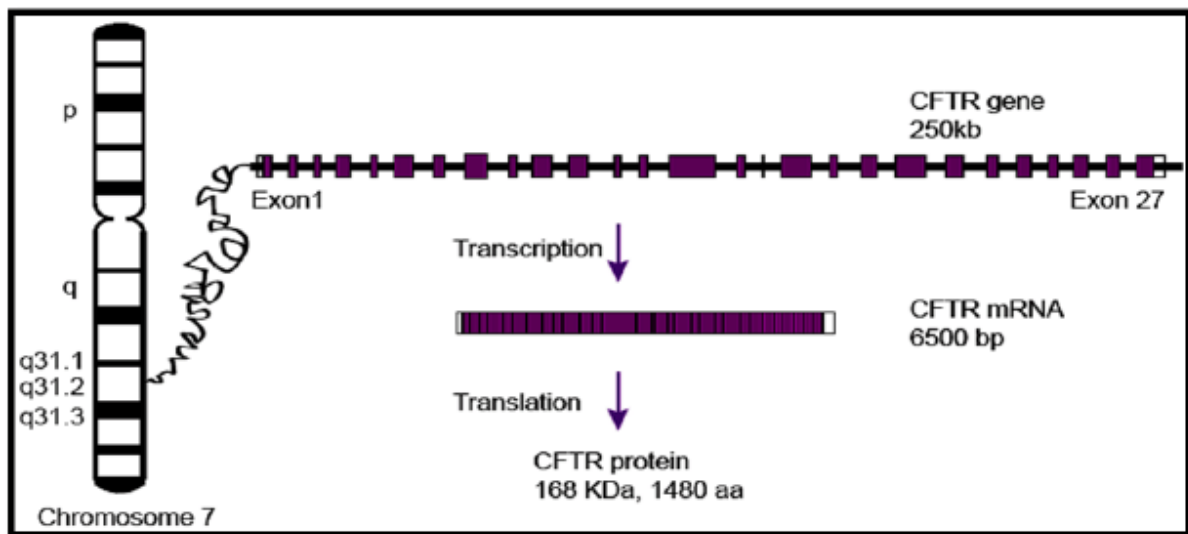


Εικόνα 1. Πιθανές επιπτώσεις στους πάσχοντες από ΚΙ [3]

1.5 Γονίδιο και πρωτεΐνη Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator (CFTR)

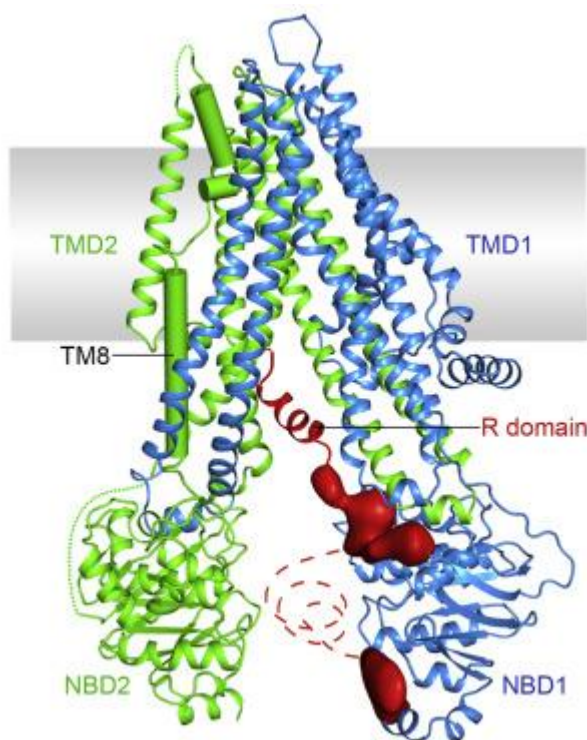
Το γονίδιο *CFTR* (OMIM #602421) εντοπίστηκε το 1986 στο μακρύ σκέλος του χρωμοσώματος 7 συγκεκριμένα στη θέση 7q31.2 (Εικόνα 1) και η δομή του περιλαμβάνει 27 εξόνια, που εκτείνονται σε πάνω από 190 kb . Μετά το μάτισμα των ιντρονίων, το mRNA του *CFTR* είναι 6,5 kb και όλα τα εξόνιά του είναι απαραίτητα για την παραγωγή μιας λειτουργικής πρωτεΐνης CFTR. Ένα εκτεταμένο φαινοτυπικό φάσμα με αυτοσωμικό υπολειπόμενο τρόπο κληρονομικότητας προκαλείται από παθογόνες παραλλαγές του γονιδίου *CFTR*, οι οποίες ορίζονται από τη δυσλειτουργία αρκετών εξωκρινών ιστών. Μελέτες σχετικά με τη σχέση μεταξύ γονότυπου και φαινοτύπου έχουν συνδέσει παραλλαγές με τη φυσιολογική πολυοργανική μορφή κυστικής ίνωσης, ενώ οι πολύ ήπιες παραλλαγές συνδέονται με μονοσυμπτωματικές ασθένειες, οι οποίες ονομάζονται διαταραχές που

σχετίζονται με την *KI (CFTR-RD)* ^[10].



Εικόνα 2. Αναπαράσταση του χρωμόσωματος 7 το οποίο περιέχει το γονίδιο *CFTR* από το οποίο παράγεται η πρωτεΐνη CFTR ^[11]

Η πρωτεΐνη CFTR (ονομάζεται επίσης και ABCC7) (εικόνα 2) είναι μέλος της υπερικογένειας πρωτεϊνών που ονομάζονται μεταφορείς με θύλακα δέσμησης ATP (ATP-binding cassette transporter, ABC). Η CFTR περιέχει δύο υδρόφοβες περιοχές 48 ενσωματωμένες στην PM (membrane-spanning domains-MSDs) τις MSD1 και MSD2 με έξι διαμεμβρανικές α-έλικες (transmembrane-TM) η κάθε μία και δύο περιοχές δέσμησης νουκλεοτιδίων ATP (nucleotide-binding domains-NBDs) NBD1 και NBD2 προς το κυτταρόπλασμα. Η CFTR περιέχει επίσης και μία φορτισμένη ρυθμιστική περιοχή (Regulatory Domain-RD) προς το κυτταρόπλασμα ^[12]. Η ρυθμιστική αυτή περιοχή είναι ένα μοναδικό χαρακτηριστικό μεταξύ των μεταφορέων κασέτας σύνδεσης ATP. Οι διαμεμβρανικές α-έλικες συνδέονται στα εξωκυτταρικά τους άκρα με μικρού μήκους εξωκυτταρικούς βρόχους (extracellular loops-ECLs) και στα κυτταροπλασματικά τους άκρα με μεγάλου μήκους ενδοκυτταρικούς βρόχους (intracellular loops-ICLs).



Εικόνα 3. Η δομή της πρωτεΐνης CFTR. ^[13]

1.6 Λειτουργία πρωτεΐνης CFTR

Η πρωτεΐνη CFTR είναι η μοναδική μεταξύ των πρωτεϊνών ABC η οποία λειτουργεί ως κανάλι ιόντων. Ενώ άλλοι μεταφορείς ABC χρησιμοποιούν τη χημική ενέργεια της υδρόλυσης ATP για τη μεταφορά υποστρωμάτων έναντι των ηλεκτροχημικής τους βαθμίδωσης, η CFTR εξάγει ανιόντα σύμφωνα με την ηλεκτροχημική κλίση τους και η υδρόλυση του ATP οδηγεί στο άνοιγμα του διαύλου. Η αρχιτεκτονική του είναι πολύπλοκη και επιτρέπει στα ιόντα χλωρίου (Cl^-) να εξέρχονται από τα επιθηλιακά κύτταρα^[14] (Hanssens et al.,2021). Η πρωτεΐνη CFTR είναι γνωστή ως κανάλι Cl^- και εντοπίζεται στην πάνω μεμβράνη των επιθηλιακών κυττάρων όπου ρυθμίζει και άλλα κανάλια ιόντων, συγκεκριμένα το επιθηλιακό κανάλι νατρίου (Na^+) που παίζει τον κεντρικό ρόλο στην απορρόφηση του άλατος. Ρυθμίζει επίσης τη μεταφορά διττανθρακικών (HCO_3^-) το οποίο, βρέθηκε ότι εμπλέκεται σε μεγάλο βαθμό στην παθοφυσιολογία της ΚΙ.

Η ρύθμιση του διαύλου της CFTR είναι αρκετά περίπλοκη. Η CFTR περιέχει μία ρυθμιστική περιοχή (RD). Πρώτα η περιοχή RD φωσφορυλιώνεται από την εξαρτώμενη από cAMP πρωτεϊνική κινάση A (PKA). Αυτό επιτρέπει τη σύνδεση του ATP στην περιοχή

δέσμευσης νουκλεοτιδίων 1 (NBD1). Όταν το ATP υδρολύεται από το NBD1, το κανάλι ανοίγει και τα ανιόντα μπορούν να μετακινούνται, σύμφωνα με την ηλεκτροχημική βαθμίδωση, μέσω του πόρου που σχηματίζεται από τις διαμεμβρανικές περιοχές. Όταν η περιοχή R είναι πλήρως φωσφορυλιωμένη, η δεύτερη περιοχή δέσμευσης νουκλεοτιδίων (NBD2) μπορεί να δεσμεύσει ATP. Αυτό το γεγονός σταθεροποιεί την ανοιχτή κατάσταση του καναλιού χλωρίου και έχει ως αποτέλεσμα την περαιτέρω διάνοιξη. Όταν σε ένα επόμενο βήμα το ATP υδρολύεται στο NBD2 και το ADP και το P_i απελευθερώνονται και από τις δύο NBD, το κανάλι θα κλείσει ξανά. Όσο η περιοχή R είναι φωσφορυλιωμένη, οι κύκλοι δέσμευσης και υδρόλυσης του ATP και στις δύο περιοχές δέσμευσης νουκλεοτιδίων μπορούν να συνεχιστούν και, κατά συνέπεια, το άνοιγμα και το κλείσιμο του διαύλου. Ωστόσο, όταν η περιοχή R αποφωσφορυλιωθεί από φωσφατάσες τα NBD δεν είναι πλέον σε θέση να δεσμεύσουν το ATP και το κανάλι θα παραμείνει σε κλειστή κατάσταση έως ότου ο τομέας R επαναφωσφορυλιωθεί από το PKA (εικόνα4).

1.7 Η ρυθμιστική περιοχή (RD) της CFTR

Η ρυθμιστική περιοχή της CFTR περιέχει περίπου 200 αμινοξέα, με 20 πιθανές θέσεις φωσφορυλίωσης (12 σερίνες και 8 θρεονίνες). Η αλληλουχία είναι πολύ συντηρημένη σε θηλαστικά (ομοιότητα 85%), αλλά λιγότερο σε άλλα σπονδυλωτά (από 60 έως 35%). Επίσης δύο θεωρούμενες φωσφορυλιωμένες σερίνες, στις θέσεις 660 και 670, που βρίσκονται στη NBD1 (αμινοξέα 638-670) θεωρήθηκαν υποψήφιες για την ρύθμιση της λειτουργίας της CFTR. Το C-τελικό άκρο του τομέα R είναι λιγότερο συντηρημένο και περιέχει το μεγαλύτερο μέρος των θέσεων φωσφορυλίωσης από την PKA και την PKC.^[11]

Εκτός από τις κινάσες και τις φωσφατάσες, πολλοί ενδο- και διαμοριακοί εταίροι είναι γνωστό ότι αλληλεπιδρούν με την περιοχή R για να ρυθμίσουν τη διακίνηση της πρωτεΐνης-διαύλου και/ή το ανοιγοκλείσιμο αυτής. Η διαγραφή της περιοχής R, έχει ως αποτέλεσμα ένα κανάλι χλωρίου που είναι μόνο εν μέρει ενεργό, σε σύγκριση με το κανάλι CFTR άγριου τύπου στην ενεργοποιημένη του κατάσταση. Επίσης, η αμοιβαία ρύθμιση της SLC26A3 (μίας πρωτεΐνης που δρα ως εναλλάκτης ιόντων χλωρίου/διττανθρακικών στα κύτταρα του εντερικού επιθηλίου) και της CFTR στην πλασματική μεμβράνη εμπλέκει την αλληλεπίδραση της περιοχής R με έναν τομέα της SLC26A3 και η φωσφορυλίωση ενισχύει αυτή την

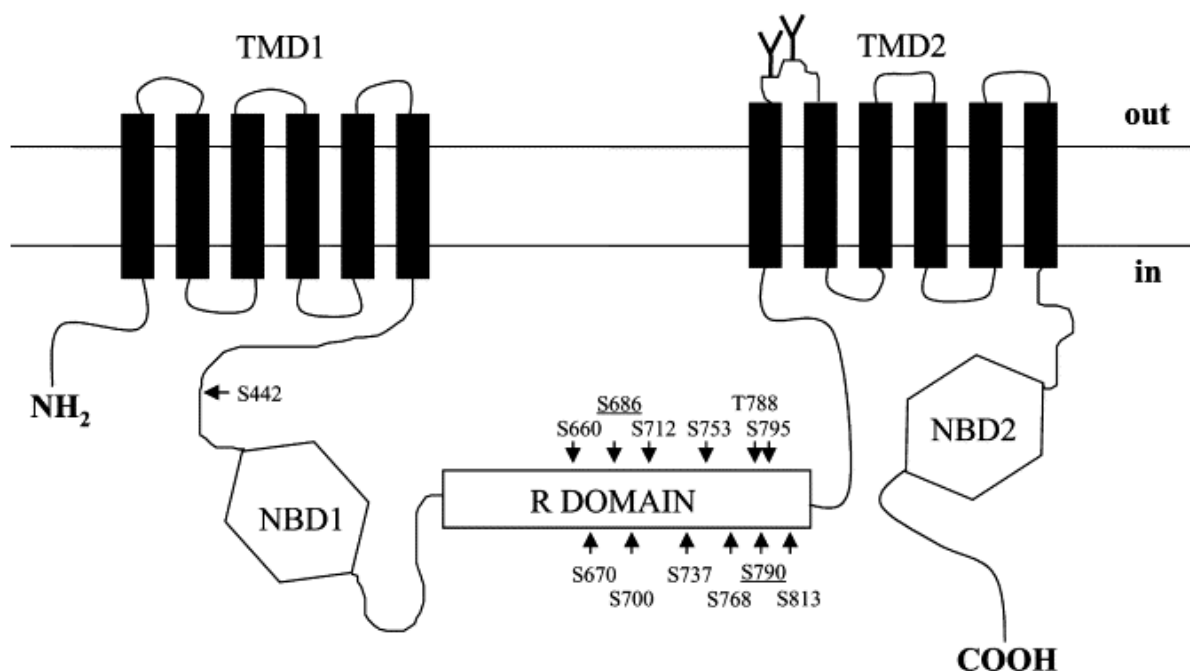
αλληλεπίδραση. Η φωσφορυλίωση της περιοχής R στις πολλαπλές θέσεις διευκολύνει επίσης την έξοδο CFTR από το ενδοπλασματικό δίκτυο.

1.8 Οι διαμεμβρανικές περιοχές της CFTR

Οι ενσωματωμένες στην πλασματική μεμβράνη α-έλικες της CFTR που σχηματίζουν το κανάλι διέλευσης περιέχουν κυρίως υδρόφοβα υπολείμματα. Υπάρχουν αρκετά θετικά φορτισμένα υπολείμματα αργινίνης και λυσίνης στα κυτταροπλασματικά όρια πολλών μεμβρανικών πρωτεϊνών ενώ είναι πολύ λιγότερα στον πυρήνα της μεμβράνης ή κοντά στην εξωκυτταρική επιφάνεια. Αυτή η άνιση κατανομή των θετικά φορτισμένων υπολειμμάτων, ο κανόνας "θετικό-εσωτερικό", είναι σημαντική γενικά για την τοπολογία των 68 μεμβρανικών πρωτεϊνών. Η CFTR, ωστόσο, περιέχει μεγάλο αριθμό αργινινών (R) και λυσινών (K) που διανέμονται σε όλες τις TMD. Οι λειτουργικοί ρόλοι μεμονωμένων καταλοίπων αργινίνης και λυσίνης έχουν μελετηθεί εκτενώς. Τα αμινοξέα που βρίσκονται στην πρώτη, τρίτη και έκτη διαμεμβρανική έλικα συμμετέχουν στο σχηματισμό του πόρου των ιόντων. Επιπλέον, τα υπολείμματα που βρίσκονται στην περιοχή των αμινοξέων 351 και 353 φαίνεται να καθορίζουν την επιλεκτικότητα ανιόντος-κατιόντος και το υπόλειμμα T338 φαίνεται να παίζει σημαντικό, αλλά μάλλον έμμεσο ρόλο στον προσδιορισμό των ιδιοτήτων διείσδυσης του καναλιού χλωριούχου CFTR.

1.9 Οι επικράτειες δέσμευσης νουκλεοτιδίων

Μετά την ενεργοποίηση της CFTR από την PKA, μπορεί να συμβεί σύνδεση και υδρόλυση ATP στην περιοχή NBD1 και έτσι να ενεργοποιηθεί η δραστηριότητα του καναλιού. Η δέσμευση του ATP στην NBD2, ωστόσο, αυξάνει αυτή την κατάσταση ενεργοποίησης αλλά η επακόλουθη υδρόλυση ATP στην NBD2 τερματίζει τη δραστηριότητα του καναλιού. Για αυτή την λεπτομερή ρύθμιση της δραστηριότητας του καναλιού, φαίνεται αναγκαία μια αλληλεπίδραση μεταξύ των δύο τομέων δέσμευσης νουκλεοτιδίων με την δημιουργία ενός διμερούς.



Εικόνα 4. Σχηματική αναπαράσταση του καναλιού χλωρίου CFTR. Οι διαφορετικοί τομείς, η διαμεμβρανική περιοχή 1 (TMD1) και 2 (TMD2), η περιοχή δέσμευσης νουκλεοτιδίων 1 (NBD1) και 2 (NBD2), η ρυθμιστική περιοχή (R), η αμινοτελική (NH₂) και η C-τερματική (COOH). Τα άκρα, υποδεικνύονται οι συναινετικές θέσεις PKA και PKC και οι θέσεις γλυκοζυλίωσης που υπάρχουν στον τέταρτο εξωκυτταρικό βρόχο.^[11]

1.10 Το άνοιγμα και το κλείσιμο του διαύλου

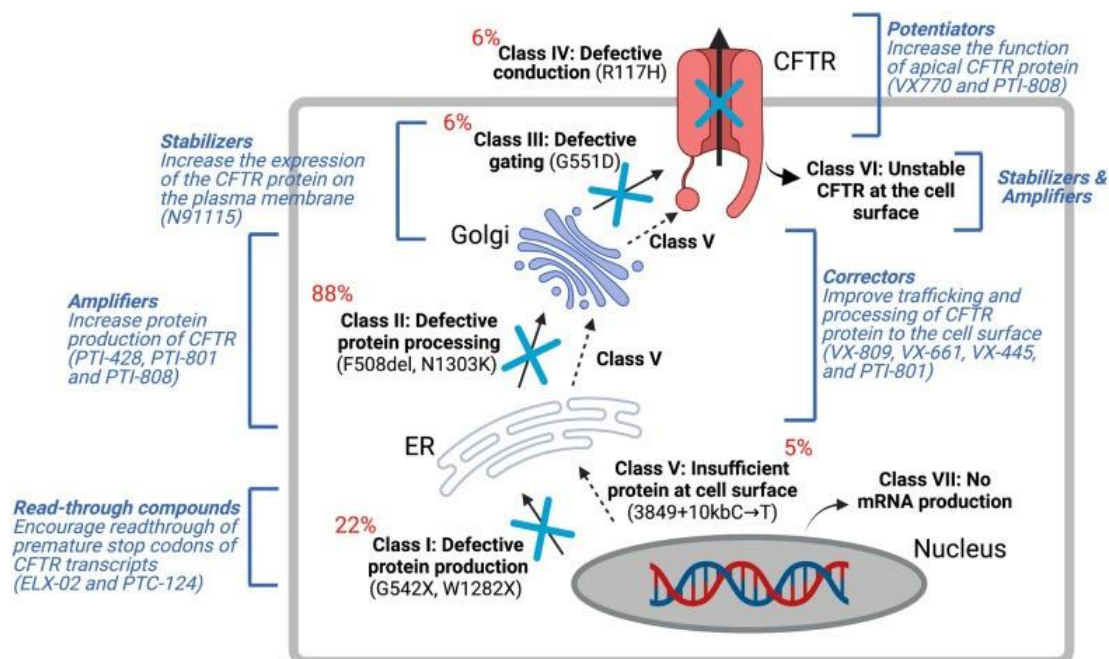
Η φωσφορυλίωση της περιοχής R επιτρέπει την δέσμευση του ATP στον τομέα δέσμευσης νουκλεοτιδίων NBD1. Όταν το ATP υδρολύεται από το NBD1 ανοίγει το κανάλι και τα ανιόντα μπορούν να ρέουν σύμφωνα με την ηλεκτροχημική βαθμίδωση, μέσω του πόρου που σχηματίζεται από τις διαμεμβρανικές περιοχές. Όταν η περιοχή R είναι πλήρως φωσφορυλιωμένη, ο δεύτερος τομέας δέσμευσης νουκλεοτιδίων NBD2 μπορεί να δεσμεύσει το ATP. Υπάρχουν αρκετές ενδείξεις για τον διμερισμό των NBDs με μεσολάβηση του ATP. Αυτό το γεγονός σταθεροποιεί την ανοικτή κατάσταση του διαύλου χλωρίου και έχει ως αποτέλεσμα άνοιγμα μεγαλύτερης διάρκειας. Όταν σε ένα επόμενο βήμα το ATP υδρολύεται στο NBD2 και το ADP και P_i απελευθερώνονται και από τους δύο NBDs (με την ενζυματική δραστηριότητα των NBDs) τερματίζεται ένας κύκλος δραστηριότητας αφού απελευθερώνοντας το ADP το κανάλι θα κλείσει πάλι. Εφόσον η περιοχή R φωσφορυλιώνεται, οι κύκλοι δέσμευσης και υδρόλυσης του ATP και στους δύο τομείς δέσμευσης νουκλεοτιδίων

μπορούν να συνεχιστούν και κατά συνέπεια να συνεχιστεί το άνοιγμα και το κλείσιμο του καναλιού . Ωστόσο, όταν η περιοχή R αποφωσφορυλιώνεται από φωσφατάσες οι NBDs δεν είναι πλέον σε θέση να δεσμεύσουν το ATP και το κανάλι θα παραμείνει στην κλειστή κατάσταση μέχρις ότου η περιοχή R φωσφορυλιωθεί ξανά από την PKA.

1.11 Ταξινόμηση μεταλλάξεων CFTR με βάση τη δομή-λειτουργία του CFTR.

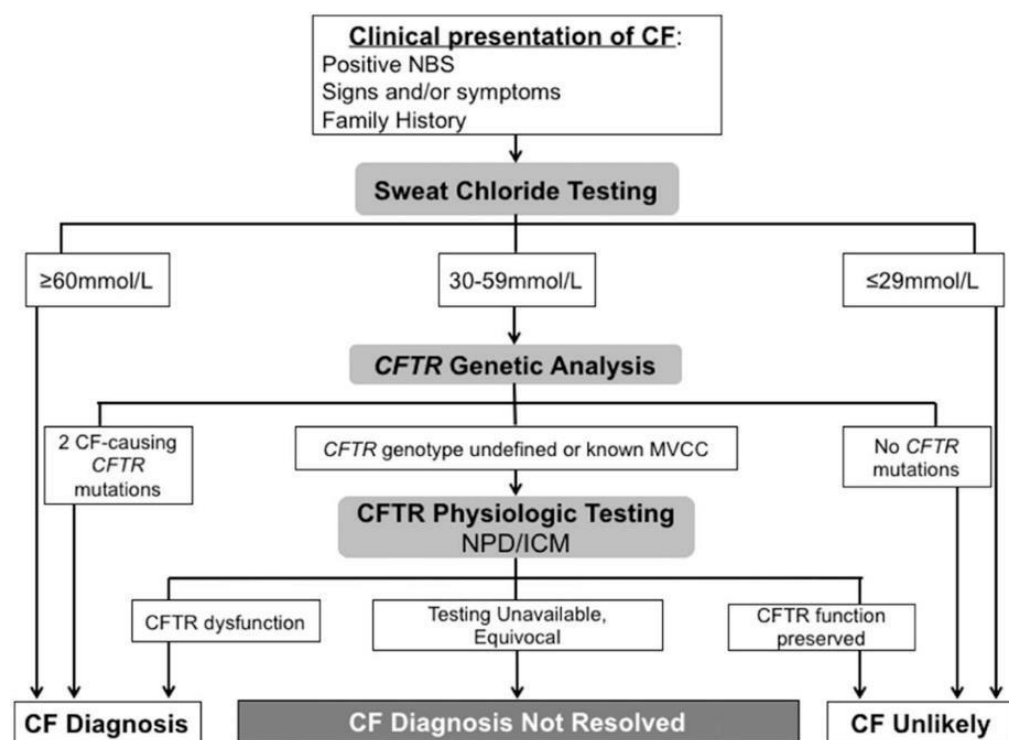
1. Μεταλλάξεις με επίπτωση στην παραγωγή της πρωτεΐνης CFTR (Κατηγορίας 1): Λειτουργική πρωτεΐνη CFTR δεν μπορεί να παραχθεί σε οποιαδήποτε ποσότητα λόγω μεταλλάξεων τύπου 1. Τέτοιες μεταλλάξεις μπορεί να προκληθούν από διαφορετικούς παράγοντες, συμπεριλαμβανομένων(1) υποκαταστάσεων νουκλεοτιδίων που έχουν ως αποτέλεσμα το κωδικόνιο πρόωρου τερματισμού, (2) εντός πλαισίου (PTC) UAA, UAG ή UGA, (3) εισαγωγές ή διαγραφές νουκλεοτιδίων που προκαλούν μετατόπιση πλαισίου, (4) μεταλλάξεις σε αμετάβλητες συνδέσεις ματίσματος δινουκλεοτιδίων, που οδηγεί σε πλήρη παράλειψη ενός εξωνίου εκτός πλαισίου, (5) διαγραφή του γονιδίου CFTR.
2. Μεταλλάξεις λανθασμένης επεξεργασίας και ωρίμανσης πρωτεϊνών. Σε αυτές περιλαμβάνεται και η πιο συχνή μετάλλαξη F508del (Κατηγορίας 2)
3. Ελλαττωματική ρύθμιση που οδηγεί στην μειωμένη δραστηριότητα της CFTR πρωτεΐνης. Περιλαμβάνει και άλλες μεταλλάξεις συγκεκριμένα στον ρυθμιστικό τομέα. (Κατηγορίας 3)
4. Μεταλλάξεις αγωγιμότητας οι οποίες έχουν ως αποτέλεσμα τη μεταβολή της συχνότητας ροής των ιόντων. (Κατηγορίας 4)
5. Μεταλλάξεις μειωμένης σύνθεσης και λειτουργικότητας. (Κατηγορίας 5)

Στην εικόνα 5 παρουσιάζονται οι Κλάσεις των μεταλλάξεων της CFTR



Εικόνα 5 Κατηγορίες παραλλαγών *CFTR* και ο αντίκτυπος που έχουν στην έκφραση και την επεξεργασία της *CFTR* [15]

1.12 Διάγνωση



Εικόνα 6 . Τα βήματα που οδηγούν στην διάγνωση της κυστικής ίνωσης ^[16]

Η νόσος χαρακτηρίζεται από μεγάλη ποικιλομορφία όσον αφορά στη συχνότητα και στη βαρύτητα των κλινικών συμπτωμάτων. Η διάγνωση της ΚΙ προϋποθέτει την ύπαρξη συγκεκριμένων κριτηρίων (εικόνα 6) α) κλινική διάγνωση, β) θετικό τεστ ιδρώτα, γ) ύπαρξη 2 παθολογικών μεταλλάξεων στο CFTR γονίδιο στα 2 αλληλόμορφα (σε θέση trans). Θετικό τεστ ιδρώτα (εικόνα 6) απαιτείται για επιβεβαίωση της ΚΙ. Όταν η CFTR είναι δυσλειτουργική, δεν συμβαίνει η επαναρρόφηση του χλωρίου και αυτό εξηγεί την υψηλή περιεκτικότητα ιόντων χλωρίου του ιδρώτα των ανθρώπων. Η επιλογή για τεστ ιδρώτα αφορά άτομα οποιασδήποτε ηλικίας με συμπτώματα Κυστικής Ίνωσης, θετικό οικογενειακό ιστορικό και σε νεογνά με θετικό screening test-NBS (αυξημένα επίπεδα IRT-immunoreactive trypsinogen).

Τιμές άνω του 60 mmol/l στο τεστ ιδρώτα υποδεικνύουν την ύπαρξη Κυστικής Ίνωσης, ενώ τιμές κάτω του 30 mmol/l ότι η διάγνωση είναι μάλλον απίθανη. Στις ενδιάμεσες τιμές η διάγνωση τίθεται και με την μοριακή γενετική ανάλυση του γονιδίου *CFTR*. Όταν βρεθούν 2 μεταλλάξεις CFTR ενισχύεται η διάγνωση, ενώ όταν δεν ανιχνεύονται μεταλλάξεις, η διάγνωση είναι μάλλον απίθανη. Τα αποτελέσματα από τις μετρήσεις συγκεντρώσεων του

χλωρίου και του νατρίου θα πρέπει να ερμηνεύονται σε συνδυασμό με την κλινική εικόνα. Όταν ο γονότυπος είναι ακαθόριστος ακολουθεί περαιτέρω έλεγχος για τη λειτουργικότητα του CFTR με φυσιολογική ανάλυση, με χρήση NPD (Nasal Potential Difference) και ICM (Intestinal Current Measurement), σε εξειδικευμένα κέντρα, η οποία θέτει τη βέβαιη διάγνωση. Η NPD χρησιμοποιείται και για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας των νέων θεραπειών όπως η γονιδιακή θεραπεία και οι ρυθμιστές μεταφοράς ιόντων [17]. Η δυσλειτουργία του CFTR επιβεβαιώνει τη διάγνωση της ΚΙ, ενώ η απουσία της την αποκλείει. Μερικά νεογνά με θετικό νεογνικό screening (αυξημένο IRT σε νεογνικό έλεγχο) και τεστ ιδρώτα μεταξύ 30-59 mmol/l και ακαθόριστη γενετική ανάλυση καθώς και μη διαθέσιμη φυσιολογική ανάλυση ορίζονται ως CRMS/CFSPID (Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR)-related metabolic syndrome/CF Screen Positive, Inconclusive Diagnosis). Σε αυτές τις περιπτώσεις συνιστάται παρακολούθηση από ειδικούς και σε περίπτωση εμφάνισης συμπτωμάτων τυπικών κυστικής ίνωσης κρίνεται απαραίτητο αυτά να επανεξετάζονται. Συνιστάται σε όλα τα άτομα με διάγνωση Κυστικής Ίνωσης ή CFTR δυσλειτουργίας να υποβάλλονται σε γενετική ανάλυση και γενετική συμβουλευτική για δυνατότητα προγεννητικής διάγνωσης σε επόμενη κύηση και για ένταξη τους σε σωστό θεραπευτικό πρωτόκολλο με τους νέους διαμορφωτές για το CFTR γονίδιο, οι οποίοι χορηγούνται ανάλογα με τον CFTR γονότυπο [16].

Ο εντοπισμός σπάνιων παραλλαγών γίνεται με χρήση μεθόδων Sanger αλληλούχισης ή νέας γενεάς αλληλούχισης (Next Generation Sequencing, NGS) των 27 εξωνίων του γονιδίου CFTR, συγκεκριμένων περιοχών ιντρονίων, που περιέχουν γνωστές παθογόνες παραλλαγές και τμήματος του υποκινητή. Η NGS αλληλούχιση επιτρέπει τον σύγχρονο εντοπισμό σημειακών παραλλαγών, μικρών ελλειμμάτων/ενθέσεων (λίγα νουκλεοτίδια) καθώς και τον ταυτόχρονο εντοπισμό διαγραφών/επαναλήψεων που περιλαμβάνουν >1 εξώνια του CFTR γονιδίου [18]. Τα περισσότερα εργαστήρια εφαρμόζουν πλέον μόνο την NGS αλληλούχιση ως μοναδική τεχνική για την διάγνωση [19] με υψηλή ευαισθησία που αγγίζει το 99% [20].

1.13 Προγεννητική και προ-εμφυτευτική διάγνωση της ΚΙ.

Ο προγεννητικός έλεγχος πραγματοποιείται στην περίπτωση των γονέων που γνωρίζουν ότι και τα δύο μέλη του ζευγαριού είναι φορείς παθογόνων παραλλαγών του γονιδίου *CFTR*. Η διαδικασία του προγεννητικού ελέγχου περιλαμβάνει λήψη χοριακών

λαχνών ή αμνιοπαρακέντηση κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης. Παράλληλα, σημαντική πρόοδος έχει παρουσιαστεί στους τομείς της προεμφυτευτικής γενετικής διάγνωσης και της μη επεμβατικής προγεννητικής διάγνωσης ^[21]. Πλέον, υπάρχει η δυνατότητα ανίχνευσης στο αίμα της μητέρας, παραλλαγών της ΚΙ που πατρικής προέλευσης προέρχονται ^[22]. Στο μέλλον αναμένεται να υπάρξουν μη επεμβατικές διαδικασίες μέσω νέας γενιάς αλληλούχησης (Next - Generation Sequencing, NGS) σε όλα τα ζευγάρια που διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο ^[23]. Η προγεννητική διάγνωση της ΚΙ κρίνεται κατάλληλη ακόμη και σε περιπτώσεις που μπορεί να παρατηρηθούν στο υπερηχογράφημα στο 2^ο τρίμηνο της κύησης στο έμβρυο, υπερηχογενές έντερο, διάταση των εντερικών ελίκων εντός της εμβρυϊκής πύελου και μη οπτικοποίηση της χοληδόχου κύστης του εμβρύου, κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης ^[18].

1.14 Ετερογένεια συμπτωμάτων στην κυστική ίνωση-Τροποποιητικά γονίδια

Τα συμπτώματα της νόσου ποικίλλουν, γι' αυτό θεωρείται σκόπιμο να προσδιοριστούν τα αίτια, με στόχο να καταστούν λυσιτελέστερες οι θεραπείες που αποσκοπούν στην αντιμετώπιση των συμπτωμάτων της ασθένειας και τον εντοπισμό όσων διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο.

Η σοβαρότητα της νόσου έγκειται σε ένα συγκερασμό παραγόντων. Τόσο περιβαλλοντικοί παράγοντες όπως οι λοιμώξεις ή οι διατροφικές συνήθειες ενός ατόμου όσο και γονίδια-τροποποιητές μπορεί να επηρεάσουν κυρίως την αναπνευστική λειτουργία. Ωστόσο, δεν μπορεί να προσδιοριστεί με ακρίβεια η επιρροή που ασκείται από εξωγενείς παράγοντες σε ασθενείς που εμφανίζουν τους ίδιους γονότυπους *CFTR*. Οι μελέτες κληρονομικότητας δικαιολογούν την αναζήτηση γενετικών τροποποιητών, ενώ παράλληλα παρέχουν μια ποσοτική εκτίμηση της της επίδρασης των επιδράσεων του περιβάλλοντος και των αλληλεπιδράσεων γονιδίου-περιβάλλοντος ^[3].

1.15 Θεραπευτικές προσεγγίσεις

Ο στόχος της θεραπείας είναι να διατηρείται μια σταθερή κατάσταση για μεγάλα χρονικά διαστήματα. Αυτό απαιτεί τακτική παρακολούθηση και τροποποιήσεις του θεραπευτικού προγράμματος κατ'οίκον. Σε περιπτώσεις λοίμωξης ενδείκνυται εισαγωγή για 2 ή περισσότερες εβδομάδες για εντατική θεραπεία. Τα κύρια συστατικά της ημερήσιας

φροντίδας είναι η λήψη μέτρων για την αντιμετώπιση των αναπνευστικών προβλημάτων και η κατάλληλη διαιτητική αγωγή.

1. Φυσική Άσκηση

Η συμμετοχή των πασχόντων σε οποιοδήποτε είδος σωματικής άσκησης, όπως κολύμβηση, τρέξιμο και αθλοπαιδιές οδηγεί στην αυξημένη αποβολή της βλέννης από τους πνεύμονες και συμβάλλει στην συνολική προαγωγή της υγείας και της φυσικής κατάστασης του ασθενούς ^[24].

2. Τεχνικές κάθαρσης των αεραγωγών (Airway clearance techniques)

Σωστή φυσιοθεραπευτική προσέγγισή στους συγκεκριμένους ασθενείς μπορεί να οδηγήσει σε κάθαρση τόσο των πνευμόνων όσο και των αεραγωγών^[24]. Αυτές συνίστανται σε:

- a) Σε ενεργητικές ασκήσεις κατά τον κύκλο της αναπνοής (active cycle of breathing techniques (ACBT): που αποτελείται από έναν κύκλο βαθιάς εισπνοής, εκπνοής, βήχα και χαλαρής αναπνοής για την αποβολή της βλέννας ^[25].
- b) Στην αυτογενή παροχέτευση (autogenic drainage) που αποτελείται από μια σειρά ήπιων ελεγχόμενων τεχνικών αναπνοής που καθαρίζουν τη βλέννα από τους πνεύμονες ^[25]
- c) Συσκευές κάθαρσης αεραγωγών: συσκευές χειρός που χρησιμοποιούν τεχνικές αναπνοής, δόνηση και υψηλή πίεση αέρα για να βοηθήσουν στην απομάκρυνση της βλέννας από τους αεραγωγούς (για παράδειγμα η συσκευή θετικής εκπνευστικής πίεσης ή PEP) ^[26]
- d) Φυσιοθεραπεία θώρακα. Βασίζεται στη λογική ότι ο βήχας απομακρύνει τη βλέννα από τους μεγάλους αεραγωγούς αλλά για τη μετακίνηση των εκκρίσεων από τους μικρούς, όπου οι εκπνευστικές ροές είναι χαμηλές είναι απαραίτητες οι δονήσεις του θώρακα.

3. Θεραπεία με εισπνοές

Χρησιμοποιείται για τη χορήγηση φαρμάκων και ύδατος στο κατώτερο αναπνευστικό δέντρο. Με νεφελοποιητή χορηγούνται βρογχοδιασταλτικά φάρμακα, νατριούχος χρωμολίνη, αντιβιοτικά σε περίπτωση παθογόνων οργανισμών των αεραγωγών που είναι ανθεκτικοί στα από του στόματος αντιβιοτικά. Επίσης η ανθρώπινη ανασυνδυασμένη DNase χορηγούμενη σε μια εισπνεόμενη δόση την ημέρα βελτιώνει τη λειτουργία των πνευμόνων και μειώνει τον αριθμό των εξάρσεων σε ήπιας και μέτριας βαρύτητας περιπτώσεις.

4. Αντιβιοτική θεραπεία

Αποτελούν τη βασική θεραπεία για τον έλεγχο της πνευμονικής λοίμωξης και την καθυστέρηση της εξέλιξης της πνευμονικής βλάβης. Η θεραπεία ποικίλλει από περιοδική χορήγηση για ένα βραχύ διάστημα ενός αντιβιοτικού μέχρι συνεχή θεραπεία με ένα ή περισσότερα αντιβιοτικά.

5. Βρογχοδιασταλτική θεραπεία

Χορηγούνται β-αδρενεργικοί αγωνιστές σε εισπνοές, συμπαθητικομιμητικοί παράγοντες από το στόμα ή βραδείας ελευθέρωσης θεοφυλλίνη από το στόμα.

6. Αντιφλεγμονώδεις παράγοντες

Χορήγηση κορτικοστεροειδών σε περιορισμένης χρονικής διάρκειας σχήμα λόγω των επιπλοκών που μπορεί να επιφέρει η μακροχρόνια χρήση της στα παιδιά, όπως η καθυστέρηση της ανάπτυξης, ο καταρράκτης και οι ανωμαλίες της ανοχής γλυκόζης.

7. Διαιτητικές και Διατροφικές προσεγγίσεις

Το 90% των ασθενών με ΚΙ έχουν πλήρη απώλεια λειτουργίας της εξωκρινούς μοίρας του παγκρέατος με συνέπεια την ανεπαρκή πέψη λιπών και πρωτεϊνών. Χρειάζονται ρύθμιση της διαίτας, αντικατάσταση παγκρεατικών ενζύμων και συμπλήρωση βιταμινών και αλάτων.

Μια δίαιτα χαμηλού λίπους, υψηλής πρωτεΐνης και αυξημένων θερμίδων εφαρμόστηκε στο παρελθόν με αποτέλεσμα ελλείψεις σε θεμελιώδη λιπαρά οξέα. Με τη χρήση νεώτερων προϊόντων παγκρεατικών ενζύμων γίνονται καλά ανεκτές οι φυσιολογικές ποσότητες λίπους στη δίαιτα. Γενικά συστήνεται δίαιτα υψηλής θερμιδικής αξίας, συμπληρώματα βιταμινών και ανόργανων συστατικών και λήψη καψουλών με πεπτικά ένζυμα μαζί με τα τρόφιμα για να βοηθήσουν στην πέψη καθώς και η λήψη επιπλέον θερμίδων και θρεπτικών συστατικών για την αποφυγή του υποσιτισμού [24].

8. Μακρολίδες

Ικανός αριθμός τυχαιοποιημένων - ελεγχόμενων- δοκιμών που πραγματοποιήθηκαν, έδειξαν βελτίωση στη λειτουργία των πνευμόνων, αύξηση του σωματικού βάρους, μειωμένο ποσοστό παροξύνσεων σε ασθενείς που είχαν προσβληθεί από *P. aeruginosa* που έλαβαν θεραπεία με αζιθρομυκίνη αλλά και καλύτερη ποιότητα ζωής εν γένει [27] [28]. Ο μηχανισμός

δράσης μακρολιδών στην κυστική ίνωση μπορεί να είναι αντιφλεγμονώδης. Ασθενείς με CF που δεν είχαν μολυνθεί από *P. Aeruginosa*, δεν παρατηρήθηκε βελτίωση όσον αφορά στη λειτουργία των πνευμόνων, κατά τη διάρκεια της θεραπείας τους με αζιθρομυκίνη. Παρόλα αυτά υπήρχαν ορισμένα στοιχεία που αναδείκνυαν μείωση του ποσοστού παροξύνσεων^[29] [27].

9. Μεταμόσχευση πνευμόνων

Εφαρμόζεται σε ασθενείς με κυστική ίνωση που παρουσιάζουν πνευμονική νόσο τελικού σταδίου κι όλες οι συντηρητικές θεραπείες έχουν αποτύχει να αντιμετωπίσουν τη συμπτωματολογία της πάθησης^[30]. Άτομα με χρόνια αναπνευστική ανεπάρκεια που βρίσκονται στη λίστα αναμονής για μεταμόσχευση είναι πιθανοί υποψήφιοι υποβοηθούμενου αερισμού. Η μεταμόσχευση πνευμόνων αποτελεί μια σοβαρή επεμβατική διεργασία που εγκυμονεί κινδύνους, αλλά μπορεί να βελτιώσει σημαντικά τη διάρκεια και την ποιότητα ζωής για άτομα με σοβαρή κυστική ίνωση^[30].

1.16 Διαμορφωτές CFTR

Οι διαμορφωτές *CFTR* είναι μικρά μόρια που συνδέονται με την πρωτεΐνη CFTR με συγκεκριμένη θέση είτε κατά τη διάρκεια είτε μετά την επεξεργασία πρωτεϊνών. Υπάρχουν διάφορες κατηγορίες θεραπειών, ανάλογα με τον τύπο της μετάλλαξης, οι οποίες στοχεύουν στην αύξηση της ποσότητας της πρωτεΐνης CFTR που είναι διαθέσιμη στην κυτταρική επιφάνεια των επιθηλιακών κυττάρων. Αυτές περιλαμβάνουν: potentiators, correctors, read-through agents, amplifiers, και stabilizers.^[31] (εικόνα 8)

1.17 Εξατομικευμένη θεραπεία με βάση την κατάταξη των μεταλλάξεων CFTR

- Read-through agents για μεταλλάξεις Κλάσης I

Οι μεταλλάξεις Κατηγορίας I αφορούν παντελή απουσία της πρωτεΐνης CFTR λόγω της παρουσίας ενός κωδικονίου πρόωρης λήξης (PTC). Η προσπέραση του κωδικονίου λήξης με τη χρήση συγκεκριμένων ενώσεων έδωσε τη λύση στο συγκεκριμένο είδος μετάλλαξης. Ενώσεις που επιτυγχάνουν αυτό τον στόχο είναι τα αμινογλυκοσιδικά αντιβιοτικά (γενταμυκίνη και τομπραμυκίνη), τα οποία έχουν επίσης θέση στη διόρθωση των PTC σε άλλες γενετικές παθήσεις όπως στη μυϊκή δυστροφία Duchenne (DMD) και στον καρκίνο.

Μια άλλη ένωση, η αταλουρένη, αποδείχθηκε επίσης ότι προσπερνά τα PTC. Για τις υπόλοιπες μεταλλάξεις της Κλάσης I που αφορούν μικρές διαγραφές ή εισαγωγές που προκαλούν μετατόπιση πλαισίου ανάγνωσης, μέχρι στιγμής δεν υπάρχει θεραπευτική στρατηγική εκτός ίσως από τις λεγόμενες θεραπείες παράκαμψης που στοχεύουν άλλα κανάλια (όχι CFTR).

- Διορθωτές (Correctors) για μεταλλάξεις κλάσης II

Οι μεταλλάξεις της Κλάσης II.

Σε αυτή την κατηγορία ανήκει η πιο κοινή μετάλλαξη που προκαλεί ΚΙ (F508del, με τουλάχιστον ένα αλληλόμορφο στο 85% των ασθενών και περίπου 70% για τον Ελληνικό πληθυσμό) και για αυτό τον λόγο δόθηκε ιδιαίτερη σημασία να αποσαφηνισθεί ο μοριακός μηχανισμός που την προκαλεί. Οι διορθωτές CFTR είναι μικρά μόρια που βελτιώνουν τη διακίνηση μεταλλαγμένων CFTR (μεταλλάξεις κατηγορίας II, π.χ. F508del) από το ενδοπλασματικό δίκτυο (ER) στην πλασματική μεμβράνη και αυξάνουν την έκφραση του CFTR. Ο ρόλος των διορθωτών, όπως του μορίου VX-809 (lumacaftor), είναι να διορθώνουν την λανθασμένη αναδίπλωση της CFTR γεγονός που επιτυγχάνεται είτε με κυτταρική επεξεργασία με άμεση σύνδεση (ονομάζονται φαρμακολογικοί συνοδοί π.χ. lumacaftor) είτε με τη ρύθμιση και την ενεργοποίηση του συστήματος ποιοτικού ελέγχου του κυττάρου έτσι ώστε να αναγνωρίσει και να τροποποιήσει ύστερα από επεξεργασία το λανθασμένο CFTR (ονομάζονται ρυθμιστές πρωτεόστασης).^[32] Η συνδυαστική θεραπεία με lumacaftor και ivacaftor αποδείχθηκε αποτελεσματική στην αύξηση της έκκρισης χλωρίου στο 25% των φυσιολογικών κυττάρων. Το συνδυαστικό σκεύασμα με την ονομασία Orkambi είναι το δεύτερο φάρμακο που εγκρίθηκε το 2015, για ομόζυγους ασθενείς με F508del άνω των 12 ετών και πλέον έχει έγκριση και αντίστοιχα για ηλικίες άνω των 2 ετών. Το Μάρτιο του 2018 ξεκίνησε η φάση III του τριπλού συνδυασμού Trikafta (elexaftor-tezacaftor-ivacaftor) για ασθενείς με ένα μόνο αντίγραφο της F508del, που αφορά το 73% των Ελλήνων ασθενών. Στην Ευρώπη εγκρίθηκε με την ονομασία Kaftrio σε ασθενείς άνω των 12 ετών με τουλάχιστον ένα αντίγραφο της F508del και από τον Ιούλιο του 2020 χορηγείται και στην Ελλάδα σε μεγάλης ηλικίας αντίστοιχους ασθενείς.

- Ενισχυτές (potentiators) για μεταλλάξεις Κλάσης III και IV

Μικρά μόρια που συμμετέχουν στην επιδιόρθωση της ελαττωματικής ενεργοποίησης του καναλιού της F508del-CFTR ονομάζονται ενισχυτές της CFTR επειδή ενισχύουν το εξαρτώμενο από ATP άνοιγμα μετά την φωσφορυλίωση της F508del-CFTR από την PKA.

Τον Ιανουάριο του 2012, το ivacaftor (Kalydeco, Vertex Pharmaceuticals, Βοστώνη, Μασαχουσέτη, ΗΠΑ) έγινε το πρώτο μόριο-διαμορφωτής της CFTR που εγκρίθηκε από τον FDA για ασθενείς >6 ετών, που είχαν ένα αντίγραφο της μετάλλαξης p.Gly551Asp (legacy name G551D- μετάλλαξη της ομάδας III) στον γονότυπό τους και οδήγησε σε εντυπωσιακή βελτίωση της κλινικής εικόνας των ασθενών. Μετά από μελέτες εγκρίθηκε για ηλικίες άνω των 6 μηνών συμπεριλαμβάνοντας κι άλλες μεταλλάξεις ομάδας III και IV (στενός διάυλος).

- Amplifiers Για μεταλλάξεις Κλάσης V

Η θεραπεία για την κλάση αυτή χαρακτηρίζεται από ανάγκη για ενίσχυση της έκφρασης της πρωτεΐνης. Οι ενώσεις που ενισχύουν την έκφραση της CFTR πρωτεΐνης, με επακόλουθη αύξηση της ποσότητάς της στο ER, ονομάζονται amplifiers. Amplifiers θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως μια θεραπεία και για άλλες παθογόνες παραλλαγές του CFTR όταν συνδυάζεται με διορθωτές και ενισχυτές.

- Σταθεροποιητές για μεταλλάξεις Κλάσης IV

Η αστάθεια του CFTR στην πλασματική μεμβράνη απαιτεί ενώσεις που σταθεροποιούν μεταλλαγμένες πρωτεΐνες στη μεμβράνη. Οι σταθεροποιητές είναι μόρια που διορθώνουν την εγγενή αστάθεια της πρωτεΐνης και αυξάνουν τον χρόνο παραμονής της CFTR στην πλασματική μεμβράνη και συντελούν στη μείωση της αποικοδόμησης πρωτεΐνης.

Παρόλο που η θεραπεία με τα μόρια-διαμορφωτές της CFTR είναι μια νέα και αξιόλογη μορφή θεραπείας με μελλοντικές προοπτικές, υπάρχει μεγάλο οικονομικό κόστος όπως συμβαίνει στις εξατομικευμένες θεραπείες για σπάνιες ασθένειες.

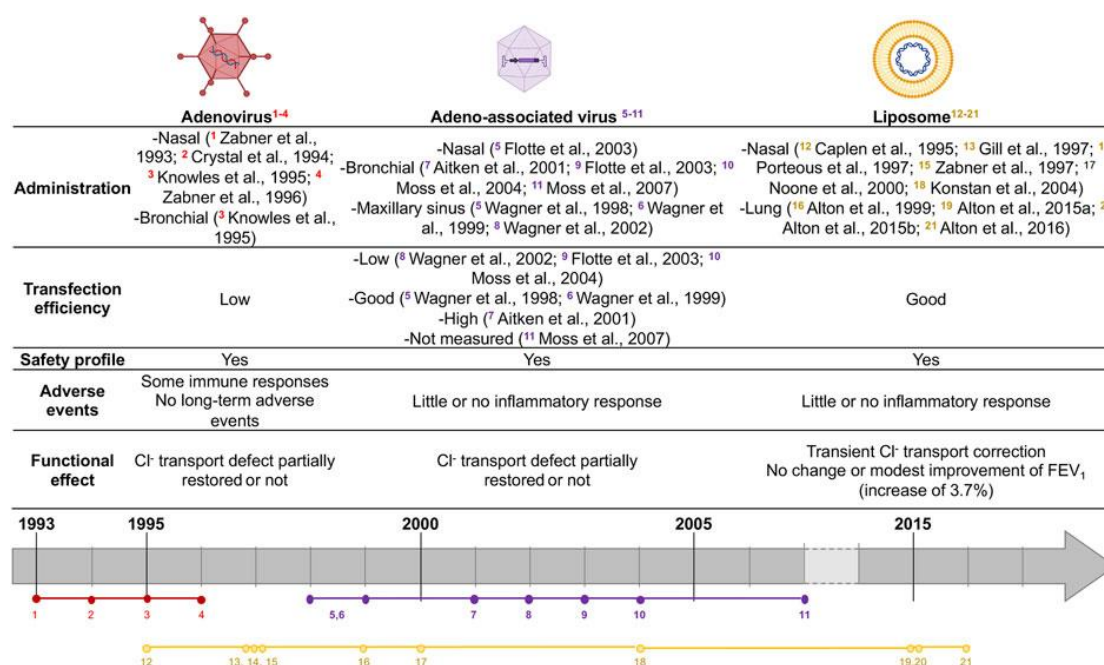
	Class I	Class II	Class III	Class IV	Class V	Class VI
Defect	Protein synthesis	Protein trafficking	Channel gating	Channel conductance	Reduced protein synthesis	Plasma membrane protein stability
Example mutation	G542X	F508del	G551D	R117H	3272-26A→G	c. 120del123
Therapy approach	Read-through, gene therapy	Corrector	Potentiator	Potentiator	Amplifier	Stabilizer
Available drug(s)	None	Elx/tez/iva Tez/iva Lum/iva	Iva	Iva	None	None

Εικόνα 7. Κατηγορίες μεταλλάξεων γονιδίων CFTR. Ο στόχος της διαστρωμάτωσης των μεταλλάξεων CFTR σε λειτουργικές τάξεις είναι η εφαρμογή της ίδιας θεραπευτικής προσέγγισης για τη βασική μετάλλαξη σε κάθε τάξη. Παρουσιάζονται οι παραδείγματα μεταλλάξεων από κάθε τάξη, τα είδη των μορίων που απαιτούνται για να επιτευχθεί κάτι τέτοιο και τα τρέχοντα φάρμακα. ^[31]

- Γονιδιακή θεραπεία

Η μεταφορά του γονιδίου με ιούς ή λιποσώματα μπορεί να προσφέρει διόρθωση της CFTR πρωτεΐνης στα επιθηλιακά κύτταρα στην ΚΙ ^[33]. Η γονιδιακή θεραπεία μπορεί να καταστεί ελπιδοφόρα για τη θεραπεία γενετικών ασθενειών, αντικαθιστώντας τη γενετική μετάλλαξη με μια «σωστή έκδοση» του γονιδίου CFTR, ενώ η λανθασμένη πρωτεΐνη CFTR εξακολουθεί να εκφράζεται. Το CFTR cDNA είναι μεγάλο μόριο που πρέπει να μεταφερθεί από μόρια που ονομάζονται φορείς για να εισέλθει το φυσιολογικό CFTR παράγωγο στα κύτταρα. Αυτοί οι παράγοντες μεταφοράς γονιδίων είναι είτε ιικοί ή μη ιικής, προέλευσης. Χωρίς να αμφισβητείται η χρησιμότητα της γονιδιακής θεραπείας, υπάρχουν ορισμένες δυσκολίες (τεχνικές, ανοσολογικές) οι οποίες είναι απαραίτητες να ξεπεραστούν. Λόγω των δυσκολιών αυτών οι ερευνητές έχουν στραφεί στην αναζήτηση εναλλακτικών ικών φορέων. Η τεχνολογία του ανασυνδιασμένου DNA έχει οδηγήσει στον σχεδιασμό ικών και μη ικών φορέων (εικόνα 9). Ως μη ιικοί φορείς χρησιμοποιούνται κατιονικά λιποσώματα τα οποία συντήκονται με την πλασματική μεμβράνη του κυττάρου, πολυμερή νανοσωματίδια του διμερούς γαλακτικού-γλυκολικού οξέος [Poly (lactico-glycolic acid)-PLGA] τα οποία μπορούν να τροποποιηθούν με προσδέματα στόχευσης και πεπτίδια κυτταρικής διείσδυσης για αυξημένη πρόσληψη σε συγκεκριμένα κύτταρα. Οι φορείς αυτοί είναι κατάλληλοι εφόσον εξυπηρετούν στην ενσωμάτωση μεγάλων διαγονιδίων και μειώνουν την ανοσογονικότητα ως

προς το παράγωγο που περιέχει την φυσιολογική CFTR πρωτεΐνη, γεγονός που επιτρέπει την επαναλαμβανόμενη χορήγηση. Ωστόσο δεν ευνοείται η μεταφορά από το κυτταρόπλασμα στον πυρήνα λόγω μειωμένου ρυθμού. Στον αντίποδα, οι ιικοί φορείς διαθέτουν έναν εγγενή μηχανισμό που καθιστά αποτελεσματική την είσοδο στο κύτταρο-ξενιστή και τον πυρήνα.



Εικόνα 8. Τα είδη φορέων στην θεραπεία της ΚΙ, ο τρόπος χορήγησής τους, η ασφάλεια και η αποτελεσματικότητά τους.^[34]

- Θεραπεία αντικατάστασης mRNA

Μια εναλλακτική θεραπεία ικανή να εφαρμοστεί σε οποιαδήποτε παραλλαγή που προκαλείται από την ΚΙ είναι η αντικατάσταση mRNA του *CFTR*. Στόχος της συγκεκριμένης θεραπείας είναι η παροχή *CFTR* mRNA σε κύτταρα που εκφράζουν το γονίδιο αυτό. Μέσω αυτής δεν απαιτείται χρήση μηχανισμών του πυρήνα για την δημιουργία της CFTR πρωτεΐνης. Καθώς η έκφραση της πρωτεΐνης είναι προσωρινή, το mRNA πρέπει να χορηγείται επανειλημμένα, γεγονός που επιτρέπει διακοπή ή προσαρμογή της δόσης^[35].

- Antisense oligonucleotide technologies.

Τα αντιπληροφορικά ολιγονουκλεοτιδια (ASO) είναι συνθετικά πολυμερή - γενικά μήκους 12-30 νουκλεοτιδίων - που μιμούνται δομικά ή λειτουργικά το DNA/RNA και συνδέονται με το RNA στόχο μέσω συμπληρωματικότητας των βάσεων^[36]. Η τεχνολογία

αντιπληροφοριακών ολιγονουκλεοτιδίων (ASO) κρίνεται κατάλληλη θεραπευτική μέθοδος για διάφορες ασθένειες. Τα ASO είναι ικανά να ρυθμίσουν την έκφραση των γονιδίων-στόχων συμβάλλοντας στην αποικοδόμηση του mRNA. Εναλλακτικά, μπορούν να τροποποιήσουν τη μετα-μεταγραφική επεξεργασία ή μετάφραση^[37].

Στην κυστική ίνωση οι μεταλλάξεις ματίσματος και αλλαγής του πλαισίου ανάγνωσης είναι γνωστό ότι συμβαίνουν σε όλα τα εξώνια του γονιδίου CFTR. Η θεραπεία με antisense ολιγονουκλεοτίδια θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί σε συγκεκριμένες περιπτώσεις για τη θεραπεία της κυστικής ίνωσης, για την παράλειψη ενός εξωνίου που θα περιέχει μια μετάλλαξη nonsense ή μετατόπισης του πλαισίου ανάγνωσης

- Επεξεργασία γονιδίων (Gene editing)

Γονιδιακή επεξεργασία ονομάζεται η μόνιμη διόρθωση σε επίπεδο γονιδιώματος. Οι πρώτες εξελίξεις στην επεξεργασία γονιδίων περιλάμβαναν τη χρήση τεχνητών περιοριστικών ενζύμων, νουκλεασών ψευδαργύρου δακτύλου (ZFNs) και νουκλεασών που μοιάζουν με ενεργοποιητές μεταγραφής (TALEN) και το σύστημα CRISPR/Cas9 (clustered regularly interspaced short palindromic repeats) το οποίο είναι ευρέως χρησιμοποιούμενο. Μέσω των τροποποιήσεων αυτών διευκολύνθηκε η ακριβής επεξεργασία του γονιδιώματος παρέχοντας νέες ελπίδες για τη γονιδιακή θεραπεία ^[38].

Η μηχανική του γονιδιώματος βρίσκεται ακόμη σε αρχικά στάδια χωρίς κλινικά δεδομένα μέχρι στιγμής. Τα εργαλεία γενετικής μηχανικής αποτελούν αρωγούς στις νέες στρατηγικές γονιδιακής θεραπείας για την διόρθωση της γενετικής βλάβης.

2.ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Η κυστική ίνωση είναι η πιο συχνή γενετικά κληρονομούμενη ασθένεια και χωρίς θεραπευτική αντιμετώπιση οι ασθενείς καταλήγουν κατά τη νεογνική ή παιδική περίοδο. Υπάρχουν πάνω από 2000 παραλλαγές στον ρυθμιστή διαμεμβρανικής αγωγιμότητας-CFTR οι οποίες προκαλούν την εμφάνιση της νόσου. Η σύγχρονη ανάπτυξη θεραπειών για την αντιμετώπιση των συμπτωμάτων της ΚΙ περιλαμβάνει χρήση ειδικών φαρμάκων, μορίων mRNA και ολιγονουκλεοτιδίων. Σημαντικό ρόλο στη θεραπεία της νόσου μπορεί να επιτελέσει η δημιουργία κατάλληλων φορέων που δύναται να καταστήσουν την γονιδιακή θεραπεία ιδανική θεραπεία.

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής είναι η βιβλιογραφική διερεύνηση της αποτελεσματικότητας των υπάρχόντων θεραπειών στην ΚΙ καθώς και η αναφορά πιθανών μελλοντικών θεραπευτικών προσεγγίσεων.

3.ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ

3.1 Υλικά και μέθοδοι

Μια διεξοδική αναζήτηση βιβλιογραφικής ανασκόπησης βάσει υπολογιστή με προκαθορισμένα κριτήρια πραγματοποιήθηκε στις 15 Ιουλίου του 2024, σύμφωνα με τις οδηγίες Preferred Reporting Items for Systematic Reviews (PRISMA) στο PubMed.

3.2 Στρατηγική έρευνας

Η μεθοδολογία έρευνας χρησιμοποίησε έναν συνδυασμό των παρακάτω όρων «cystic fibrosis», «modulators», «gene therapy» «Antisense oligonucleotide technologies», «mRNA therapy» .

3.2 Κριτήρια ένταξης και επιλογή μελέτης

Οι μελέτες που εντάχθηκαν στην παρούσα διπλωματική αφορούσαν τη θεραπεία της Κ.Ι μέσω: γονιδιακής θεραπείας με τη χρήση ικών και μη ικών φορέων, διαμορφωτών καθώς και μορίων mRNA και αντινοσηματικών ολιγονουκλεοτιδίων (ASOs). Αξίζει να σημειωθεί ότι συμπεριλήφθηκαν μόνο άρθρα πλήρους κειμένου. Επιπλέον κριτήρια ένταξης στη συστηματική ανάλυση περιλάμβαναν την ημερομηνία της δημοσίευσης η οποία επιλέχθηκε να είναι μετά το 2016 για τις κλινικές δοκιμές των φαρμάκων και του 1999 για τις κλινικές δοκιμές που αφορούσαν τη γονιδιακή θεραπεία.

Μελέτες που ήταν γραμμένες σε άλλη γλώσσα πλην της αγγλικής αλλά και μελέτες που δεν περιλάμβαναν ομάδες ελέγχου και περιλήψεις, δεν λήφθηκαν υπόψιν. Ακόμη, αποκλείστηκαν μελέτες που δεν είχαν επαρκή δεδομένα και δεν άπτονταν του ερευνητικού ενδιαφέροντος της συστηματικής μελέτης, όπως και μελέτες των ζωικών μοντέλων *in vivo* και *in vitro*.

3.3 Εξαγωγή δεδομένων

Όλα τα δεδομένα των ερευνών συγκεντρώθηκαν σε Microsoft Excel -υπολογιστικό φύλλο- ταξινομημένα ανά συγγραφέα, είδος μελέτης, μέθοδο, μετάλλαξη και αποτελέσματα. Τα χαρακτηριστικά που εξήχθησαν από κλινικές μελέτες περιλάμβαναν τον πρώτο συγγραφέα, το έτος της δημοσίευσης, τον σχεδιασμό μελέτης, τον αριθμό του εγγεγραμμένου

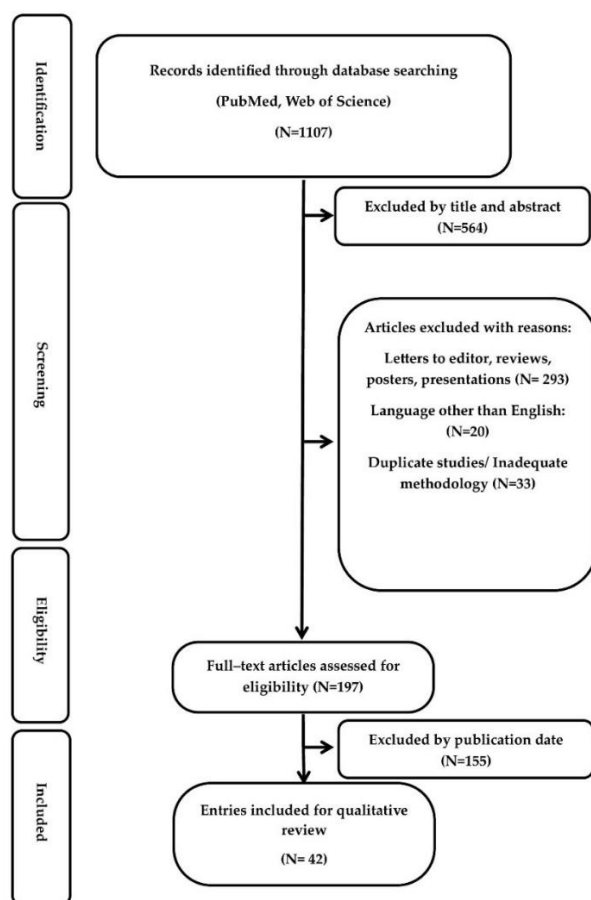
δείγματος στις ομάδες ελέγχου και τις ομάδες θεραπείας. Ακόμα, περιελάμβαναν το είδος της μετάλλαξης που φέραν οι ασθενείς και αποτελέσματα αναφορικά με την εφαρμογή της θεραπείας. Για την εξέταση διπλών μελετών χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό Endnote (Clarivate Analytics, Philadelphia, Πενσυλβάνια). Όλα τα δεδομένα που συλλέχθηκαν, συνοψίστηκαν και αναλύθηκαν.

4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

4.1 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΝΑΖΗΤΗΣΗΣ

Η βιβλιογραφική αναζήτηση στο Pubmed και Web of Science οδήγησαν στην συγκέντρωση 1107 αναφορών. Μετά την αρχική αξιολόγηση των βιβλιογραφικών αναφορών με βάση την περίληψη και τον τίτλο, συμπεριλήφθηκαν 543 δημοσιεύσεις. Περαιτέρω ανάλυση των υπόλοιπων εργασιών είχε ως αποτέλεσμα τον αποκλεισμό 293 μελετών που ο τίτλος και η περίληψη δεν ανταποκρίνονταν στους σκοπούς της συγκεκριμένης διπλωματικής εργασίας. Επιπλέον, 20 μελέτες αποκλείστηκαν επειδή ήταν γραμμένες σε γλώσσα διαφορετική από την αγγλική και 33 μελέτες απορρίφθηκαν λόγω διπλότυπων καταγραφών. Ακόμα, 155 μελέτες απορρίφθηκαν βάσει της ημερομηνίας δημοσίευσης. Τελικά, 42 μελέτες πληρούσαν τα κριτήρια ένταξής μας και συμπεριλήφθηκαν για περαιτέρω ποιοτική ανάλυση.

Figure 1: Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis (PRISMA) flowchart for seeking and identifying included studies



ΕΙΚΟΝΑ 9. Διάγραμμα ροής προτιμώμενων στοιχείων αναφοράς για συστηματικές ανασκοπήσεις και μετά-ανάλυση (PRISMA) για την αναζήτηση και τον προσδιορισμό των μελετών που περιλαμβάνονται.

4.2 ΑΝΑΛΥΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Συνολικά 13 μελέτες ανέλυσαν την αποτελεσματικότητα του συνδυασμού των φαρμάκων Lumacaftor/Ivacaftor. Σε όλες τις μελέτες εκτός από μια οι ασθενείς ήταν ομόζυγοι για την μετάλλαξη F508del.

10 μελέτες ανέλυσαν την αποτελεσματικότητα του συνδυασμού Tezacaftor/Ivacaftor εκ των οποίων σε 1 μελέτη οι ασθενείς ήταν ετερόζυγοι F508del/gating mutation, σε 2 ομόζυγοι για F508del, σε 1 ομόζυγοι για F508del ή ετερόζυγοι για F508del /G551D, σε 1

ετερόζυγοι για F508del/minimal function mutation, και σε 5 μελέτες ομόζυγοι F508del ή ετερόζυγοι με F508del/residual function mutation.

6 μελέτες ανέλυσαν τον τριπλό συνδυασμό φαρμάκων elexacaftor/tezacaftor/ivacaftor εκ των οποίων σε 2 μελέτες οι ασθενείς ήταν ομόζυγοι για την F508del, σε 1 ετερόζυγοι residual function/minimal function, 2 F508del/F508del ή F508del/minimal function mutation και 1 F508del/gating mutation ή F508del/residual function.

Σχετικά με την μελέτη των φορέων της γονιδιακής θεραπείας, 7 μελέτες αφορούσαν τη χρήση ιικών φορέων και 5 τη χρήση μη ιικών φορέων.

Τέλος 1 μελέτη αφορούσε τη χρήση μορίων mRNA σε ασθενείς με δύο σοβαρές κλάσης I και/ή II CFTR μεταλλάξεων και 1 μελέτη αφορούσε τη χρήση αντινοσηματικών ολιγονουκλεοτιδίων σε ασθενείς ομόζυγους για F508del.

Όσον αφορά τα αποτελέσματα, με τη χρήση Lumacaftor/Ivacaftor το ποσοστό ταχέως εκπνεόμενου όγκου αέρα (FEV1) καθώς και το χλώριο του ιδρώτα παρουσίασε βελτίωση στις περισσότερες μελέτες εκτός από μια, στην οποία δεν παρατηρήθηκε καμία διαφορά καθώς και στην μελέτη των Sagel S. et al., 2015^[40] το ποσοστό ταχέως εκπνεόμενου όγκου αέρα (FEV1) παρέμεινε σταθερό όμως βελτιώθηκε το χλώριο του ιδρώτα. Σύμφωνα με την κλινική δοκιμή οι Quon B. et al.^[41] Οι ασθενείς δεν παρουσίασαν καμία βελτίωση στο χρόνο αντοχής ή στη δύσπνοια κατά την άσκηση. Παρατηρήθηκαν στις περισσότερες μελέτες ανεπιθύμητες παρενέργειες που σχετίζονταν με το αναπνευστικό (βήχας, δύσπνοια).

Ο συνδυασμός φαρμάκων Tezacaftor/Ivacaftor βελτίωσε τον ταχέως εκπνεόμενο όγκο αέρα σε όλες τις κλινικές δοκιμές εκτός από 2. Το χλώριο του ιδρώτα βελτιώθηκε σε όλες τις μελέτες. Παρατηρήθηκαν παρενέργειες (βήχας, πονοκέφαλος και παραγωγικός βήχας) σε 4 μελέτες.

Η θεραπεία με χρήση elexacaftor/tezacaftor/ivacaftor σε όλες τις μελέτες βελτίωσε τον ταχέως εκπνεόμενο όγκο αέρα, και το χλώριο του ιδρώτα, όμως παρουσίασε πληθώρα παρενεργειών στην μελέτη των Griese M. et al., 2021^[42], (βήχας, πονοκέφαλος, στοματοφαρυγγικός πόνος, αιμόπτυση, σύνδρομο άπω εντερικής απόφραξης, κατάθλιψη, εξάνθημα και εμβοές και μώλωπες).

Στις αρχές της δεκαετίας του 2000, ο φορέας AAV2 χρησιμοποιήθηκε σε πολλές κλινικές δοκιμές. Οι πρώτες από αυτές τις δοκιμές ήταν μελέτες φάσης I που εξέτασαν τις μεμονωμένες χορηγήσεις σε ασθενείς με ΚΙ. Σημαντικά ευρήματα από αυτές τις μελέτες ήταν ότι οι φορείς AAV2 γενικά γίνονταν καλά ανεκτοί, με μεταβλητή ανίχνευση της έκφρασης CFTR και ασαφή κλινική σημασία. Μόνο 2 από τις δοκιμές φάσης I με AAV-CFTR οδήγησαν σε μελέτες φάσης II, στις οποίες αξιολογήθηκε η επανειλημμένη χορήγηση του AAV2-CFTR. Η πρώτη μελέτη που δημοσιεύθηκε το 2004 περιλάμβανε συνολικά 37 ασθενείς με κυστική ίνωση, οι οποίοι έλαβαν είτε 3 δόσεις AAV2-CFTR είτε εικονικό φάρμακο, με τις δόσεις να χορηγούνται σε διαστήματα 30 ημερών. Μετά την τελευταία χορήγηση, το DNA του φορέα ήταν ανιχνεύσιμο σε όλα τα δείγματα που ελέγχθηκαν, ωστόσο, το mRNA του CFTR δεν ανιχνεύθηκε. Παρατηρήθηκε μια τάση βελτίωσης FEV1 στην ομάδα θεραπείας σε σύγκριση με την ομάδα εικονικού φαρμάκου, αν και οι διαφορές δεν ήταν στατιστικά σημαντικές. Υπήρχε επίσης ένδειξη αντισωμάτων που σχετίζονται με τον AAV2 στους θεραπευόμενους ασθενείς, υποδεικνύοντας περιορισμούς στη χρήση του. Ακολούθησε μια μελέτη φάσης IIB στην οποία 102 ασθενείς τυχαιοποιήθηκαν σε θεραπεία με είτε νεφελοποιημένο AAV2-CFTR είτε εικονικό φάρμακο, με 2 δόσεις που χορηγήθηκαν σε διαστήματα 30 ημερών. Αν και το προφίλ ασφαλείας ήταν παρόμοιο και στις δύο ομάδες, υπήρξε και πάλι σημαντική χημική ανοσολογική απόκριση, με το 100% της ομάδας θεραπείας να παρουσιάζει τετραπλάσια αύξηση των τίτλων αντισωμάτων κατά του AAV2 σε σύγκριση με μόνο το 2% στην ομάδα εικονικού φαρμάκου. Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές βελτιώσεις σε τελικούς στόχους όπως το FEV1, οι δείκτες φλεγμονής των πτυέλων ή οι ημέρες χρήσης αντιβιοτικών. Δεδομένων των αναγκαίων επανειλημμένων χορηγήσεων, της απουσίας σαφούς βελτίωσης των κλινικών δεικτών και της απόκρισης αντισωμάτων που σχετίζεται με τον ιό, η χρήση των ικών φορέων AAV2 δεν συνεχίστηκε σε κλινικές δοκιμές για την ΚΙ.

Για την γονιδιακή θεραπεία με τη χρήση μη ικών φορέων πραγματοποιήθηκαν 5 ξεχωριστές κλινικές δοκιμές φάσης I που εξέτασαν 5 διαφορετικούς μη ικούς φορείς σε ρινικά και πνευμονικά επιθηλιακά κύτταρα, με κάθε δοκιμή να περιλαμβάνει μικρό αριθμό ασθενών με κυστική ίνωση. Παρόλο που οι μελέτες που χρησιμοποίησαν ρινική χορήγηση φαίνεται να έγιναν καλά ανεκτές, η πλειονότητα των ασθενών ανέφερε σημαντικές, προσωρινές φλεγμονώδεις αντιδράσεις στις μελέτες στις οποίες χρησιμοποιήθηκε χορήγηση μέσω του

κατώτερου αναπνευστικού σωλήνα. Σε 1 μόνο μελέτη παρατηρήθηκε ύπαρξη της CFTR , σε μια μελέτη η εμφάνιση της ήταν μερική και στις υπόλοιπες μελέτες δεν ανιχνεύθηκε πρωτεΐνη.

Η κλινική δοκιμή με τη χρήση ASO οδήγησε σε βελτίωση του ταχέως εκπνεόμενου όγκου αέρα, ενώ η χρήση mRNA δεν παρουσίασε βελτίωση στο FEV1.

	Author/Country	Study	N	Methods	Mutation-specific	Outcomes
1	Wainwright et al., 2015,Australia	phase 3, randomized, double-blind, placebo-controlled study	1108	either LUM in combination with IVA or matched placebo for 24 weeks	homozygous for F508del	Improvement in FEV1 hospitalization or the use of antibiotics was lower with LUM/IVA adverse events : dyspnea and chest tightness
2	Berkers G. et al, 2021, Netherlands	Placebo-controlled study	20	LUM/IVA→placebo or placebo→LUM/IVA	≥1 A455E–CFTR	did not show a statistically significant difference ppFEV, improvement in SwCl concentration, CFQ–R respiratory domain score
3	Stahl M. et al., 2023, Germany	Phase 2 Placebo-controlled Clinical Trial	51	LUM/IVA or placebo followed by LUM/IVA for 48 weeks	Homozygous for F508del	Benefit of early treatment
4	McColley S. et al., 2019, USA	Clinical trial phase 3	369	LUM/IVA or placebo for 24 weeks	Homozygous for F508del	Significant change in ppFEV1 LUM/IVA treated patients fewer PEx
5	Milla C.et al., 2017,USA	open-label phase 3 trial,	58	LUM/IVA for 24 weeks in addition to their	Homozygous for F508del	Improvement in lung clearance index, sweat

				existing cystic fibrosis medications		chloride and nutritional status
6	Taylor-Cousar J. et al., 2018, USA	Open-label study	46	LUM/IVA for 24 weeks	Homozygous for F508del	adverse events :infective pulmonary exacerbation, abnormal respiration, cough, and dyspnea. respiratory events more common in patients with ppFEV1 b 40; safe
7	Chilvers M. et al., 2021, Canada	Open-label phase 3 extension study	239	Those who received LUM/IVA or placebo in the parent studies were treated with LUM/IVA for up to 96 weeks; those who had received the combination therapy in the parent studies received up to 120 weeks of treatment in total	Homozygous for F508del	well tolerated improvements in CFQ–R respiratory domain scores Efficacy sustained for up to 120 weeks Respiratory adverse events transaminase concentration elevations
8	Sagel S. et al., 2021, USA	Cohort study	193	LUM/IVA	Homozygous for F508del	Improvements in sweat chloride No change in ppFEV1 Without change in lung function and hospitalization rates or Ps.aeruginosa infection
9	Ejiofor L. et al., 2020, Denmark	Follow-up study	21	LUM/IVA	Homozygous for F508del	Improvement in lung function physical performance and ppFEV1

10	Quon B. et al., 2020, USA	Clinical trial	11	LUM/IVA for 1 month	Homozygous for F508del	No improvement in endurance time , exertional dyspnea or leg discomfort rating
11	Boyle M. et al., 2014, USA	phase 2 randomised controlled trial	124	LUM for 14 days followed by IVA for 7 days, or 21 days of placebo.	Homozygous for F508del and compound heterozygotes	Improvement FEV1 for homozygous Modest effect on sweat chloride concentration
12	Konstan M. et al,2016, USA	a phase 3, extension study	1108	Patients who had received placebo in TRANSPORT or TRAFFIC assigned to receive lumacaftor/ivacaftor	homozygous for the F508del	slower rate of ppFEV improvement in lung function benefits on pulmonary exacerbation rates and patient-reported respiratory symptoms
13	Ratjen F. et al,2017, USA	randomised, placebo- controlled phase 3 trial	206	LUM/IVA or placebo for 24 weeks	homozygous for F508del- CFTR	change in LCI2,in sweat chloride concentration, BMI, CFQ-R respiratory domain score, ppFEV Respiratory events

Πίνακας 3. Βιβλιογραφικές αναφορές που μελετούν τις κλινικές δοκιμές του συνδυασμού των φαρμάκων LUMACAFITOR/IVACAFITOR (Orkambi).

Author	Study	N	Method	Mutation- specific	Outcomes
1.McKone EF et al., 2020, Ireland	A phase 3, randomize, double- blind, parallel- group study	156	4-week IVA run-in period then randomized to receive IVA or TEZ/IVA for 8 weeks in an active comparator treatment period	Heterozygous for F508del-CFTR and a gating mutation (F/gating genotypes)	No improvements were seen in efficacy No differences in ppFEV1 SwCl concentrations decreased more in the TEZ/IVA versus IVA group during the ACTP
2.Davies JC et al.,2021, UK	Phase 3, double- blind, parallel- group study	67	Participants were randomized 4:1 to tezacaftor/ivacafto r or a blinding group	Homozygous for F508del or heterozygous for the F508del-CFTR mutation and a residual function mutation	Adverse events : cough, headache, and productive cough. SwCl concentration decreased . CFQ-R respiratory domain score improved non-significantly

3.Sawicki GS et al.,2022, UK	Phase 3 multicenter , open-label, extension study	130	children received a morning dose of TEZ/IVA an evening dose of ivacaftor	homozygous (F/F) or heterozygous for the F508del-CFTR mutation and a residual function (F/RF) mutation	Improvements in lung function, SwCl concentration, CFQ–R respiratory domain score, and BMI. Most children had treatment-emergent adverse event
4.Walker S et al.,2019 ,USA	Phase 3, 2-part, open-label study	137	TEZ/IVA for 24 weeks	homozygous (F/F) or heterozygous for the F508del-CFTR mutation and a residual function (F/RF) mutation	Tezacaftor/ivacaftor was generally safe and well tolerated ,Lung function was stable in normal range, improved CFTR function based on sweat chloride levels and improved CFQ-R respiratory domain child version scores
5.Flume PA,2022, USA	Phase 3, open-label, three-part rollover study	464	Participants received TEZ /IVA fixed-dose combination once daily and IVA once daily for 96 weeks	homozygous for F508del (F/F) or heterozygous for F508del and a residual function mutation (F/RF)	Improvements in ppFEV1 and PEx were maintained TEZ/IVA was generally safe and well tolerated
6.Taylor-Cousar JL,2017, Canada	Phase 3, randomize, double-blind, multicenter placebo-controlled, parallel-group trial	510	Patients were randomly assigned in a 1:1 ratio to receive either 100 mg of tezacaftor once daily and 150 mg of ivacaftor twice daily or matched placebo for 24 weeks.	Homozygous for the CFTR Phe508del	Fewer patients in the tezacaftor–ivacaftor group than in the placebo group had respiratory adverse events, FEV1 in favor of tezacaftor–ivacaftor over placebo pulmonary exacerbation was lower in the

					tezacaftor–ivacaftor group .
7.Donaldson SH et al.,2018, USA	Randomize , placebo-controlled, double-blind, multicenter phase 2 study	190	Subjects homozygous for F508del received TEZ every day alone or in combination with IVA Subjects compound heterozygous for F508del and G551D,taking physician-prescribed IVA, received TEZ	Homozygous for F508del or compound heterozygous for F508del and G551D	Safety Change in sweat chloride Secondary endpoints change in percent predicted FEV1 pharmacokinetics
8.Rowe SM et al.,2017, USA	Randomize , double-blind, placebo-controlled phase 3, crossover study	248	Tezacaftor - ivacaftor, ivacaftor monotherapy, or placebo	Heterozygous for Phe508del and a CFTR residual function mutation	CFTR modulator therapy with tezacaftor-ivacaftor and ivacaftor are highly efficacious for patients FEV ₁ improved
9.Schwarz C et al., 2021, Germany	Phase 3 clinical trial	97	Treated with tezacaftor/ivacaftor or placebo for 56 days	Homozygous for Phe508del	generally safe, well tolerated, and efficacious ppFEV1improved respiratory adverse events

10.Munck A.,2020, France	Randomize , double- blind, placebo- controlled Phase 3 study	168	Participants were randomized to receive tezacaftor/ivacafto r or placebo for 12 weeks	Heterozygous for the F508del-CFTR mutation and a minimal function mutation	Did not show a clinically meaningful with F/MF genotypes
--------------------------------	--	-----	--	---	---

Πίνακας 4. Βιβλιογραφικές αναφορές που μελετούν τις κλινικές δοκιμές του συνδυασμού των φαρμάκων TEZACAFTOR/IVACAFTOR (Symdeko)

	Author	Study	N	Method	Mutation-specific	Outcomes
1	Barry P. et al., 2021, UK	Phase 3, double blind, active-control trial	258	4-week run-in period with IVA or TEZ- IVA, patients were randomly assigned to receive ELX-TEZ- IVA or active control for 8 weeks	F508del/gating mutation and F508del/residual	Improvement in FEV1, sweat chloride concentration and CFQ-R score

2	Griese M. et al. ,2021, Germany	Phase 3 Clinical Trial	506	ELX /TEZ/IVA each morning and IVA each evening.	F508del/F508del and F508del/minimal function mutation	Cough ,oropharyngeal pain, some infective PEx of CF, hemoptysis, and distal intestinal obstruction syndrome ,depression, rash , and tinnitus and contusion. Improvements in ppFEV1, SwCl concentration, BMI, CFQ-R RD score, and PEx event rate (F/F genotype over 36 weeks, F/MF over 24 weeks)
3	Aalbers B. et al., 2023, Netherlands	Clinical trial	18	ELX/TEZ/ IVA for 2 years	F508del/F508del and F508del/minimal function mutation	Structural lung damage, quality of life, exacerbation rate, BMI improved

4	Mall M. et al., 2022, Berlin		121	ELX/TEZ/IVA for a 24-week treatment period	F/MF genotypes	Absolute change in lung clearance index ^{2.5} , sweat chloride concentration, FEV1 Adverse events: headache and cough
5	Heijerman H. et al., 2019	Phase 3, multi-centre, randomise, double-blind, active-controlled trial	113	ELX triple combination with TEZ and IVA, or the dual combination of TEZ and IVA	Homozygous for F508del	Absolute change from baseline in ppFEV1, sweat chloride concentration and CFQ-R RD score
6	Suthersan S. et al., 2022	Multicentre, randomise, double-blind, active-controlled, phase 3b trial	176	24 weeks of either ELX plus TEZ plus IVA or TEZ plus IVA	Homozygous for the F508del	FEV1, sweat chloride concentration, CFQ-R respiratory domain score improvements superior to those seen with tezacaftor plus ivacaftor in this patient population

Πίνακας 5. Βιβλιογραφικές αναφορές που μελετούν τις κλινικές δοκιμές του συνδυασμού των φαρμάκων ELEXACAFTOR/TEZACAFTOR/IVACAFTOR

ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ

ΠΙΝΑΚΑΣ 6. Κλινικές δοκιμές γονιδιακής θεραπείας με χρήση ιικού φορέα

Author/Country	Study	N	Method	Mutation	Outcomes
1. Joseph et al, 2001, USA	Clinical trial	36	Vector: Ad Lung	-	CFTR mRNA and DNA: Transient detection noted Transient fevers, myalgias
2. Perricone et al, 2001, USA	Phase I clinical trial	36	Vector: Ad2 lung	-	CFTR mRNA and DNA: Transient detection noted
3. Aitkin et al, 2001, USA	Phase 1 clinical trial	12	Vector: AAV2 Lung	4 subjects homozygous for DF 508, 7 heterozygous, and 1 with 2 non-DF 508 alleles	mRNA: none detected
4. Wagener et al, 2002, USA	Phase II, double-blind, randomized, placebo-controlled clinical trial	23	Vector: AAV2 Nose	11 homozygous for DF508, 3 DF508 heterozygous with an unidentified allele, 2 DF508 heterozygous with G542X, 6 DF508 heterozygous with another allele	NPD: no change No change in histology of IL-8
5. Flotte et al, 2003, USA	Phase 1 clinical trial	25	Vector: AAV2 Nose–Lung	-	NPD: unchanged

6.Moss et al, 2004, USA	Randomized, double-blind, placebo- controlled, phase II trial	37	Vector:AAV2 Lung	-	FEV1: improvement trend CFTR mRNA: undetectable
7.Moss et al, 2007, USA	Randomized placebo- controlled phase 2B trial	102	Vector:AAV2 Lung	-	FEV1, sputum markers, antibiotic days: no improvement

ΠΙΝΑΚΑΣ 7. Κλινικές δοκιμές γονιδιακής θεραπείας με χρήση μη ιικών φορέων

Author	Study	N	Method	Mutation	Outcomes
1.Noone et al, 1999, USA	Randomized placebo- controlled clinical trial	11	Vector:EDMPC Nose	-	NPD: unchanged CFTR mRNA: undetectable
2.Alton et al, 1999, UK	Double-blind placebo- controlled trial	16	Vector:GL67 Nose-Lung	-	NPD: significant correction CFTR mRNA: undetectable CFTR DNA: detectable Flu-like symptoms
3.Hyde et al, 2000, UK	Double-blind placebo- controlled trial	11	Vector:DC- Chol/DOPE Nose	-	NPD: partial correction CFTR mRNA: detected in some
4.Ruiz et al, 2001,USA	Clinical trial	8	Vector:GL67 Lung	DF508/DF508 DF508/neg DF508/3849	CFTR mRNA: partially detectable Flu-like symptoms
5.Konstan et al, 2004, USA	Double -blind, dose escalation	12	DNA Nanoparticles Nose	-	NPD: partial correction CFTR DNA:

	gene transfer trial				detectable in treatment and some controls
--	---------------------	--	--	--	---

ΠΙΝΑΚΑΣ 8. κλινικές δοκιμές που αφορούν αντινοσηματικά ολιγονουκλεοτίδια (Eluforsen)

<u>Author</u>	<u>Study</u>	<u>N</u>	<u>Method</u>	<u>Mutation</u>	<u>Outcomes</u>
1.Drevinek P et al., 2019, Czech Republic	randomised, double-blind, placebo-controlled, dose escalation 1b study	46	eluforsen	homozygous F508del	improvement in, ppFEV1(in some patients) encouraging signal of therapeutic benefit

ΠΙΝΑΚΑΣ 9. Κλινικές δοκιμές που αφορούν τη θεραπεία με χρήση mRNA

<u>Author</u>	<u>Study</u>	<u>N</u>	<u>Method</u>	<u>Mutation</u>	<u>Outcomes</u>
1.Rowe SM et al.,2023, USA	Randomized, Double-blind, Placebo-Controlled Phase 1/2	42	Six dose levels of MRT5005 or placebo were administered by nebulization.	two severe class I and/or II CFTR mutations	febrile and hypersensitivity reactions FEV1 remained stable no beneficial effects on FEV1

5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η κυστική ίνωση είναι μία κληρονομική πολυσυστηματική νόσος με βασικό παθογενετικό χαρακτηριστικό τη δυσλειτουργία εξωκρινών αδένων η οποία ευθύνεται για το ευρύ φάσμα των κλινικών εκδηλώσεων και επιπλοκών της νόσου. Η νόσος κληρονομείται με υπολειπόμενο σωματικό χαρακτήρα και είναι το συχνότερο κληρονομικό νόσημα στη λευκή φυλή (1 σε 2500 γεννήσεις). Στη χώρα μας η συχνότητα φορείας εκτιμάται σε 4-5% και ο συνολικός αριθμός των ασθενών στη χώρα υπολογίζεται σε περίπου 1000 ασθενείς με πιο βαριά ή ήπια συμπτώματα.

Ο τύπος και η σοβαρότητα των συμπτωμάτων στην Κυστική Ίνωση μπορεί να διαφέρουν σε μεγάλο βαθμό από άτομο σε άτομο και αυτό οφείλεται και στην μεγάλη ετερογένεια γονιδιακών μεταλλάξεων. Τα τελευταία χρόνια η έρευνα επικεντρώθηκε στην εύρεση φαρμάκων που στοχεύουν στο αίτιο της νόσου και την αποκατάσταση της λειτουργίας της ελαττωματικής πρωτεΐνης CFTR που προκαλεί τη νόσο. Ήδη οι ερευνητές στοχεύουν στην ανάπτυξη νέων θεραπειών για μεγαλύτερο αριθμό ασθενών και γονιδιακών μεταλλάξεων. Αναμένεται οι ρυθμιστές CFTR να προσθέσουν δεκαετίες ζωής σε κάποιους ασθενείς με Κυστική Ίνωση.

5.1 Φάσεις Κλινικών Δοκιμών Γονιδιακής Θεραπείας για Κυστική Ίνωση:

Οι κλινικές δοκιμές αποτελούν κρίσιμο βήμα στην ανάπτυξη νέων θεραπειών, συμπεριλαμβανομένων των γονιδιακών θεραπειών. Οι δοκιμές αυτές διεξάγονται σε διάφορες φάσεις για να αξιολογηθούν η ασφάλεια, η αποτελεσματικότητα και η δοσολογία των φαρμάκων ή θεραπειών.

Φάση 1: Στην πρώτη φάση, η κύρια προτεραιότητα είναι να διαπιστωθεί αν ο γονιδιακός φορέας είναι ασφαλής για χρήση και αν η μέθοδος χορήγησής του είναι καλά ανεκτή. Σε αυτή τη φάση συμμετέχουν συνήθως λίγοι ασθενείς (10-20). Η πρώτη φάση εστιάζεται στην παρακολούθηση των ανεπιθύμητων ενεργειών και στην αρχική αξιολόγηση της ασφάλειας.

Φάση 2: Στη δεύτερη φάση, η έμφαση μεταφέρεται στην αποτελεσματικότητα της θεραπείας. Χρρίζει να δοθεί απάντηση για το αν η γονιδιακή θεραπεία πραγματικά βελτιώνει τα συμπτώματα και πόσο καλά μπορεί να προσαρμοστεί η δοσολογία. Συμμετέχουν

περισσότερα άτομα (20-100) και εξετάζεται αν η θεραπεία έχει θετικά αποτελέσματα στη βελτίωση της ποιότητας ζωής και των συμπτωμάτων.

Φάση 3: Στην τρίτη φάση, επιδιώκεται να επιβεβαιωθεί αν η θεραπεία είναι αποτελεσματική και ασφαλής σε μεγαλύτερο και πιο ποικιλόμορφο πληθυσμό. Εάν είναι επιτυχημένη, μπορεί να εγκριθεί για ευρύτερη χρήση. Περιλαμβάνει έναν μεγάλο αριθμό συμμετεχόντων (100-1000) και συγκρίνεται η γονιδιακή θεραπεία με τις συνήθεις θεραπείες ή placebo.

Φάση 4 (Μετά την Έγκριση): Μετά την έγκριση της θεραπείας, η φάση 4 επικεντρώνεται στην παρακολούθηση των μακροχρόνιων επιπτώσεων και στην αξιολόγηση της χρήσης της θεραπείας στην καθημερινή κλινική πρακτική. Εδώ, παρακολουθείται η θεραπεία σε πραγματικές συνθήκες και οι μακροπρόθεσμες παρενέργειες.

Η γονιδιακή θεραπεία είναι η μοναδική θεραπευτική προσέγγιση μέχρι σήμερα που μπορεί να αντιμετωπίσει όλες τις μεταλλάξεις γονιδίων CFTR, προσφέροντας έτσι μια δυνατότητα καθολικής θεραπείας. Οι δοκιμές σε ανθρώπους επικεντρώθηκαν αρχικά σε αδενοϊούς -φορείς. Δοκιμές που περιλάμβαναν ρινική ή ενδοτραχειακή χορήγηση έδειξαν παροδική έκφραση της CFTR χωρίς σημαντικές παρενέργειες σε χαμηλές δόσεις^[47] εκτός από κάποιους ασθενείς που εμφάνισαν παροδικούς πυρετούς και μυαλγίες. Ωστόσο, η επαναλαμβανόμενη δοσολογία σχετίζεται με την ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού και επομένως μειωμένη αποτελεσματικότητα της επιμόλυνσης και του κλινικού οφέλους^[48]. Ως εκ τούτου, επιδιώκονται τροποποιήσεις των αδενοϊικών φορέων ώστε να μειωθεί το ανοσογόνο δυναμικό τους^[49]. Η χρήση αδενοσχετιζόμενων ιών ως φορείς, λόγω της χαμηλότερης ανοσογονικότητάς τους σε σύγκριση με τους αδενοϊούς, έχει δείξει συνεχόμενη έκφραση και θετικές τάσεις στις μετρήσεις της κλινικής έκβασης^[50]. Ωστόσο, τα παραπάνω ευρήματα δεν υποστηρίχθηκαν περισσότερο από δοκιμές πολλαπλών δόσεων^[51]. Αντιθέτως, οι λεντι-ϊικοί φορείς, οι οποίοι διερευνονται σε μελέτες, έχουν δείξει υψηλή αποτελεσματικότητα επιμόλυνσης και συνεχή δραστηριότητα της CFTR έκφρασης^[52]. Τέλος, οι λιποσωμικοί φορείς θα μπορούσαν ενδεχομένως να ξεπεράσουν τους περιορισμούς των ιογενών φορέων. Τα λιποσώματα είναι λιγότερο ανοσογόνα (παρατηρήθηκαν μόνο κάποιες παρενέργειες που παρέπεμπαν σε γρίπη)^[53] και ως εκ τούτου, είναι κατάλληλα για επαναλαμβανόμενη

δοσολογία ^[54] Δυστυχώς, αυτό το θετικό στοιχείο σχετίζεται με χαμηλότερο επίπεδο αποτελεσματικότητας της επιμόλυνσης ^[49].

5.2 Προκλήσεις και Μελλοντικές Προοπτικές στη γονιδιακή θεραπεία

Παρόλο που η γονιδιακή θεραπεία δείχνει τεράστια προοπτική, υπάρχουν μερικές προκλήσεις που πρέπει να ξεπεραστούν.

1. Ασφάλεια : Οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται πρέπει να είναι ασφαλείς και να μην προκαλούν ανεπιθύμητες αντιδράσεις στο ανοσοποιητικό σύστημα
2. Αποτελεσματικότητα: Οι φορείς (vectors) πρέπει να είναι ικανοί να παραδίδουν το γονίδιο στα σωστά κύτταρα των πνευμόνων και να διατηρούν τη λειτουργία του για μεγάλο χρονικό διάστημα.
3. Πρόσβαση στα κύτταρα των πνευμόνων: Δεδομένου ότι η βλέννα που παράγεται από την κυστική ίνωση εμποδίζει την αποτελεσματική παράδοση των γονιδίων, αυτό αποτελεί ένα από τα βασικά εμπόδια.

5.3 Διαμορφωτές

Οι διαμορφωτές CFTR αναπτύχθηκαν το 1999 στο πλαίσιο ενός ερευνητικού προγράμματος που είχε στόχο την ανακάλυψη μικρών μορίων για τη ρύθμιση και διόρθωση της δυσλειτουργίας της CFTR, της πρωτεΐνης που σχετίζεται με την κυστική ίνωση (KI). Το πρόγραμμα αυτό αποτέλεσε συνεργασία της φαρμακευτικής εταιρείας Vertex Pharmaceuticals με το Νοσοκομείο Παιδών SickKids στον Καναδά. Το πρώτο φάρμακο για τη ρύθμιση του CFTR που εγκρίθηκε από τον FDA ήταν ο ενισχυτής ivacaftor (ή KALYDEKO) (αρχικά γνωστή ως VX-770) το οποίο στόχευε τις μεταλλάξεις της ομάδας 3 και το 2012 προορίστηκε για τη μετάλλαξη G551D για ασθενείς άνω των 6 ετών. Στη συνέχεια, η έγκριση επεκτάθηκε ώστε να περιλαμβάνει νεότερους ασθενείς (ηλικίας έως 6 μηνών) και πρόσθετες μεταλλάξεις του CFTR, πέρα από τη G551D. Το 2017 πήρε την έγκριση για 5 ακόμα μεταλλάξεις: 3849+10kbC->T, 2789+5G->A, 3272-26A->G, 711+3A->G, E831X. [3]

Η ανακάλυψη και η χρήση του Ivacaftor (Kalydeco) αποτέλεσε σημαντική πρόοδο για ασθενείς με πιο σπάνιες μεταλλάξεις, όπως η G551D. Ωστόσο, δεν ήταν αποτελεσματική για τη μετάλλαξη F508del. Για την αντιμετώπιση αυτής της μετάλλαξης, ήταν αναγκαία η

ανάπτυξη μιας νέας κατηγορίας φαρμάκων που θα μπορούσαν να διορθώσουν την αναδίπλωση της πρωτεΐνης CFTR και της λειτουργικότητας του διαύλου.

Το Orkambi (συνδυασμός lumacaftor και ivacaftor) έλαβε την έγκριση από τον FDA τον Ιούλιο του 2015 για χρήση σε ασθενείς ηλικίας 12 ετών και άνω με δύο αντίγραφα της μετάλλαξης F508del στο γονίδιο CFTR ενώ τον Σεπτέμβριο του 2016 πήρε έγκριση για ασθενείς 6-11 ετών. Αυτή η έγκριση ήταν ένα σημαντικό βήμα, καθώς για πρώτη φορά υπήρχε φάρμακο που μπορούσε να στοχεύσει τη μετάλλαξη που προκαλεί τη δυσλειτουργία της CFTR πρωτεΐνης στην πλειοψηφία των ασθενών με κυστική ίνωση.

Η επιτυχία του lumacaftor σε συνδυασμό με την ivacaftor άνοιξε τον δρόμο για την ανάπτυξη ακόμα πιο εξελιγμένων θεραπειών. Το επόμενο βήμα ήταν η ανάπτυξη του Trikafta (elexacaftor/tezacaftor/ivacaftor), το οποίο συνδυάζει περισσότερους "διορθωτές" με έναν "ενισχυτή" για την καλύτερη αποκατάσταση της λειτουργίας της CFTR πρωτεΐνης.

Στην κυστική ίνωση, υπάρχουν περισσότερες από 2.000 διαφορετικές μεταλλάξεις στο γονίδιο *CFTR*, η κάθε μία από τις οποίες μπορεί να προκαλέσει τη νόσο με διαφορετικό τρόπο και βαρύτητα. Αυτές οι μεταλλάξεις επηρεάζουν τη λειτουργία της CFTR πρωτεΐνης, η οποία είναι υπεύθυνη για τη ρύθμιση της μεταφοράς ιόντων χλωρίου και νατρίου στις κυτταρικές μεμβράνες. Η κατανόηση των συγκεκριμένων μεταλλάξεων που έχει ένας ασθενής είναι το κλειδί για τη σωστή επιλογή θεραπείας. Ο όρος **Theranostics** (θεραπευτική διάγνωση) στην κυστική ίνωση αναφέρεται στη συνδυαστική χρήση διαγνωστικών τεχνικών και εξατομικευμένων θεραπειών για τη βελτιστοποίηση της φροντίδας των ασθενών. Η προσέγγιση αυτή εστιάζει στην κατανόηση των ατομικών γενετικών μεταλλάξεων που προκαλούν τη νόσο και στη στόχευση αυτών μέσω συγκεκριμένων φαρμάκων που διορθώνουν τη δυσλειτουργία της πρωτεΐνης CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator). Η μοριακή διάγνωση των συγκεκριμένων μεταλλάξεων του γονιδίου CFTR επιτρέπει την κατανόηση της δυσλειτουργίας της πρωτεΐνης και την επιλογή του κατάλληλου προσωποποιημένου θεραπευτικού πρωτοκόλου θεραπείας.

Πιο αναλυτικά,

1) Lumacaftor- Ivacaftor

Το φάρμακο είναι ένας συνδυασμός ενός διορθωτή CFTR και ενός ενισχυτή. Το Lumacaftor, (διορθωτής), δρα αυξάνοντας τη διακίνηση των πρωτεϊνών CFTR στην εξωτερική κυτταρική μεμβράνη ενώ το Ivacaftor (ενισχυτής) λειτουργεί επιτρέποντας το άνοιγμα του διαύλου. Η συγκεκριμένη θεραπεία αφορά ασθενείς ομόζυγους για Phe508del γονότυπους.

In vitro ομόζυγες κυτταροκαλλιέργειες HBECs για την F508del δείχνουν σχεδόν 25% αποκατάσταση της δραστηριότητας της CFTR με την συνδυαστική θεραπεία lumacaftor-ivacaftor. ^[55] Τα ευρήματα αυτά ενισχύονται από τις κλινικές μελέτες οι οποίες επισημαίνουν την βελτίωση των συμπτωμάτων των ασθενών. Σε κάποιες μελέτες παρατηρήθηκαν ανεπιθύμητες παρενέργειες που σχετίζονταν με το αναπνευστικό (βήχας, δύσπνοια).

2) Tezacaftor-Ivacaftor

Θεραπεία Tezacaftor-Ivacaftor είναι συμβατή με ασθενείς που έχουν δύο αντίγραφα της μετάλλαξης F508del ή που έχουν τουλάχιστον μία μετάλλαξη στο γονίδιο CF που ανταποκρίνεται στη θεραπεία με SYMDEKO. Στις κλινικές δοκιμές του φαρμάκου που μελετήσαμε παρατηρούνται σημαντικές βελτιώσεις τόσο στο χλώριο του ιδρώτα όσο και στο ποσοστό του ταχέως εκπνεόμενου όγκου αέρα. Παρόλα αυτά παρατηρήθηκαν κάποιες παρενέργειες κυρίως στο αναπνευστικό σύστημα.

3) Trikafta (elexacaftor/tezacaftor/ivacaftor)

Ο διαμορφωτής CFTR Trikafta (elexacaftor/tezacaftor/ivacaftor) συνδυάζει τους διορθωτές elexacaftor και tezacaftor, οι οποίοι βοηθούν στη διόρθωση της πρωτεΐνης CFTR, ώστε να μπορεί να σχηματίσει το σωστό σχήμα και να κυκλοφορήσει στην επιφάνεια του κυττάρου. Το Ivacaftor στοχεύει άμεσα τη μεταλλαγμένη πρωτεΐνη που σχηματίζει κανάλι CFTR. Το Tezacaftor και το elexacaftor θεωρείται ότι λειτουργούν επίσης μέσω απευθείας αλληλεπίδρασης με μεταλλαγμένο πολυπεπτίδιο F508del-CFTR. Χρησιμοποιείται σε ασθενείς οι οποίοι φέρουν τουλάχιστον ένα αντίγραφο της μετάλλαξης F508del. Ο συνδυασμός αυτών των τριών φαρμάκων βοηθά την πρωτεΐνη CFTR να αποδώσει καλύτερα από άλλους ρυθμιστές (με ένα έως δύο φάρμακα) για ακόμη μεγαλύτερο αριθμό ατόμων με ΚΙ. Συγκεκριμένα, πλήθος κλινικών δοκιμών επισημαίνει πως η χρήση του τριπλού συνδυασμού φαρμάκων οδηγεί σε βελτιωμένη κλινική εικόνα των ασθενών στο ποσοστό του ταχέως

εκπνεόμενου όγκου αέρα, και στο χλώριο του ιδρώτα. Οι πιο συχνές παρενέργειες αφορούν πονοκέφαλο, στομαχικό πόνο, και συμπτώματα γρίπης.

Τα ευρήματα αυτά υποστηρίζονται περαιτέρω και από *in vitro* μελέτες^[56] οι οποίες υπογραμμίζουν την υπαρξη υψηλότερης κλινικής δραστηριότητας του Trikafta σε σύγκριση με παλαιότερους ρυθμιστές.

4) Eluforsen

Το Eluforsen, είναι ένα μόριο μήκους 33 βάσεων αντιπληροφοριακό ολιγονουκλεοτίδιο (ASO) που στοχεύει p.Phe508del CFTR. Η θεραπεία *in vitro* και σε μελέτες σε ζώα^[58] έδειξε πως ήταν ιδιαίτερα αποτελεσματική προσέγγιση για την αποκατάσταση της CFTR. Σε κλινική δοκιμή, το Eluforsen ήταν ανεκτό από τους ασθενείς, ασφαλές καθώς ακόμα ασθενείς που ήταν ομόζυγοι για τη μετάλλαξη p.Phe508del έδειξαν βελτίωση της ρινικής διαφοράς δυναμικού τους (NPD). Τα παραπάνω δεδομένα, δίνουν ελπίδα για τη χρήση των ASO ως θεραπευτική προσέγγιση στο μέλλον.

5.4 Θεραπεία με χρήση mRNA

Η μελέτη των Rowe SM et al.,2023, δείχνει ότι το MRT5005, το οποίο χρησιμοποιεί την τεχνολογία mRNA για την αποκατάσταση της CFTR πρωτεΐνης, είναι γενικά ασφαλές και καλά ανεκτό. Ωστόσο, η εμφάνιση πυρετικών και υπερευαίσθητων αντιδράσεων υποδεικνύει την ανάγκη για περαιτέρω διερεύνηση και αξιολόγηση των αντιδράσεων αυτών, καθώς και βελτίωση της παρακολούθησης των φλεγμονωδών αντιδράσεων. Η μελλοντική έρευνα μπορεί να εξετάσει τρόπους για να ελαχιστοποιήσει αυτές τις αντιδράσεις και να βελτιώσει την αποτελεσματικότητα της θεραπείας.

5.5 Γονιδιακή διόρθωση

Η εξέλιξη των γνώσεων σχετικά με τις ενδονουκλεάσες έδωσε τη δυνατότητα να αναπτυχθούν τεχνικές που στοχεύουν στη μόνιμη διόρθωση των μεταλλαγμένων γονιδίων.

Οι προγραμματιζόμενες νουκλεάσες, όπως οι zinc-finger νουκλεάσες (ZFNs), οι TAL effector νουκλεάσες (TALENs) και το σύστημα CRISPR-Cas9, αποτελούν ισχυρά εργαλεία για τη γονιδιακή τροποποίηση. Αυτές οι νουκλεάσες δημιουργούν διπλές τομές στο DNA σε συγκεκριμένα σημεία του γονιδιώματος, διευκολύνοντας έτσι την ενσωμάτωση γονιδίων μέσω

της διαδικασίας επιδιόρθωσης DNA που βασίζεται σε ομόλογες αλληλουχίες (HDR).^[59] Το πιο σημαντικό εργαλείο αποτελεί το σύστημα CRISPR/Cas9.

Η τεχνολογία CRISPR-Cas9 έχει επαναστατήσει την επεξεργασία του γονιδιώματος, προσφέροντας έναν ισχυρό, ακριβή και ευέλικτο τρόπο τροποποίησης του DNA. Το σύστημα CRISPR χρησιμοποιεί μια συνδυασμένη δράση πρωτεϊνών και μικρών RNA (όπως το gRNA ή το guide RNA) για να καθοδηγήσει την Cas9 νουκλεάση στην επιθυμητή θέση του γονιδιώματος, όπου προκαλεί μια δίκλωνη διάσπαση του DNA. Αυτή η διάσπαση δημιουργεί τη βάση για την εισαγωγή νέου γενετικού υλικού ή την επανόρθωση του DNA μέσω μηχανισμών επιδιόρθωσης που ακολουθούν. Η δύναμη του CRISPR-Cas9 σε σύγκριση με τις παλαιότερες τεχνολογίες, όπως οι νουκλεάσες ZFNs (zinc finger nucleases) και TALENs (transcription activator-like effector nucleases), έγκειται στην ευκολία σχεδίασης και εφαρμογής του, καθώς και στη μεγαλύτερη ακρίβεια και αποτελεσματικότητά του. Η τεχνολογία CRISPR δεν απαιτεί προηγμένη προσαρμογή των πρωτεϊνών για κάθε στόχο, όπως είναι απαραίτητο για τις ZFNs και TALENs, αλλά αντίθετα χρησιμοποιεί ένα προγραμματιζόμενο RNA για να καθοδηγήσει την Cas9 νουκλεάση ^[60].

Έχουν ήδη πραγματοποιηθεί μελέτες σε ζωικά μοντέλα. Η μελέτη των Zhou Z. et al., 2019 σε χοίρους στόχευσε στην χρήση δύο αδενοϊών, HD-Ad-Cas9-hCFTR και HD-Ad-Cas9-LacZ, με τους οποίους επιτεύχθηκε η μεταφορά του συστήματος CRISPR/Cas9. Η μελέτη απέδειξε την επιτυχή έκφραση του φυσιολογικού γονιδίου CFTR χρησιμοποιώντας την ανάλυση με βάση την ευαισθησία στη μεμβρανική διαφορά δυναμικού (FLIPR).

5.6 Θεραπεία με τη χρήση βλαστοκυττάρων

Η μεταμόσχευση βλαστοκυττάρων ή προγονικών κυττάρων των πνευμόνων εμφανίζεται ως μια πολλά υποσχόμενη θεραπευτική μέθοδος για πολλές κληρονομικές μονογονιδιακές ασθένειες. Συνδυάζοντας τις κυτταρικές θεραπείες με τις θεραπείες γονιδιακής επιδιόρθωσης, μπορούμε να έχουμε μια γενική προσέγγιση, καθώς οι κυτταρικές θεραπείες μπορούν να είναι αποτελεσματικές ανεξαρτήτως του είδους της μετάλλαξης. Η αποκατάσταση και αναγέννηση του πνευμονικού ιστού μετά από τραυματισμούς μπορεί να επιτευχθεί τόσο με ενδογενή όσο και με εξωγενή βλαστοκύτταρα και προγονικά κύτταρα. Υπάρχει μια εξειδικευμένη ομάδα ενδογενών πνευμονικών βλαστοκυττάρων που είναι υπεύθυνη για τη διατήρηση της ομοιότητας του ιστού και ενεργοποιείται για την αποκατάσταση των

κατεστραμμένων περιοχών. Αυτά περιλαμβάνουν τα βασικά κύτταρα, τα εκκριτικά κύτταρα στους αεραγωγούς, και τα επιθηλιακά κύτταρα τύπου II στις κυψελίδες, τα οποία έχουν περιορισμένη ικανότητα διαφοροποίησης. Επίσης, έχουν εντοπιστεί μεσεγχυματικά κύτταρα του πνεύμονα, παρόμοια με αυτά του μυελού των οστών. Τα ενήλικα βλαστοκύτταρα, ιδιαίτερα τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα (MSCs), θεωρούνται σημαντική πηγή παρακρινών παραγόντων που προάγουν την αναγέννηση και αποκατάσταση του επιθηλίου. Η αναγεννητική ιατρική του πνεύμονα επικεντρώνεται κυρίως στα MSCs, ενώ τα πολυδύναμα βλαστοκύτταρα, όπως τα εμβρυϊκά βλαστοκύτταρα (ESCs) και τα επαγόμενα πολυδύναμα βλαστοκύτταρα (iPSCs), αποκτούν ολοένα και μεγαλύτερη σημασία στη θεραπεία της κυστικής ίνωσης (CF). Αρχικά, η προσπάθεια επικεντρωνόταν στην απόκτηση πλήρως διαφοροποιημένου επιθηλίου της αναπνευστικής οδού *in vivo*, αλλά τώρα η έρευνα στρέφεται στη χρήση των ESCs και iPSCs για την ανακάλυψη φαρμάκων και τη μοντελοποίηση ασθενειών. Αυτοί οι τύποι βλαστοκυττάρων είναι στόχοι της τεχνολογίας επεξεργασίας γονιδιώματος CRISPR/Cas9. Οι Schwank et al., 2013 ^[61] χρησιμοποίησαν το CRISPR/Cas9 για τη διόρθωση του γονιδίου CFTR σε εντερικά βλαστοκύτταρα ασθενών με CF σε κυτταροκαλλιέργειες. Το διορθωμένο αλληλόμορφο ήταν πλήρως λειτουργικό όπως μετρήθηκε στα διογκωμένα οργανοειδή (δοκιμή FIS). Αυτή η μελέτη παρέχει απόδειξη της δυνατότητας διόρθωσης γονιδίων μέσω ομόλογου ανασυνδυασμού σε πρωτεύοντα ενήλικα βλαστοκύτταρα από ασθενείς με κληρονομικά ελαττώματα. Οι Crane et al., 2015 ^[62] ανέπτυξαν μια προσέγγιση που μπορεί να εφαρμοστεί εξατομικευμένα, η οποία περιλαμβάνει την παραγωγή iPSCs από το δέρμα ή τα αιμοσφαίρια των ασθενών και, με τη χρήση του μηχανισμού HDR και της ZFN, διορθώνει τη μετάλλαξη στην ενδογενή ακολουθία του χρωμοσωμικού DNA. Στη συνέχεια, η κατευθυνόμενη διαφοροποίηση μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή καθαρών πληθυσμών πνευμονικών βλαστοκυττάρων/προγονικών κυττάρων από τα διορθωμένα iPSCs για μεταμόσχευση. Το κύριο πρόβλημα με τα πολυδύναμα βλαστοκύτταρα, πέρα από τα βιοηθικά θέματα, είναι η δυσκολία ελέγχου της διαφοροποίησής τους και η πιθανότητα μετατροπής τους σε καρκινικά κύτταρα. Επίσης, υπάρχει η πιθανότητα πρόκλησης ανοσοαπόκρισης.

6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] M. M. Rafeeq and H. A. S. Murad, "Cystic fibrosis: Current therapeutic targets and future approaches," Apr. 27, 2017, *BioMed Central Ltd.* doi: 10.1186/s12967-017-1193-9.
- [2] L. Wellhauser, P. K. Chiaw, S. Pasyk, C. Li, M. Ramjeesingh, and C. E. Bear, "A small-molecule modulator interacts directly with ΔPhe508-CFTR to modify its ATPase activity and conformational stability," *Mol Pharmacol*, vol. 75, no. 6, pp. 1430–1438, Jun. 2009, doi: 10.1124/mol.109.055608.
- [3] Μ. Τζέτη and Μ. Πούλου, "Κυστική Ίνωση Γενετική, πρόληψη, εξατομικευμένη θεραπεία."
- [4] Turcios N., "cystic fibrosis lung disease : an overview".
- [5] L. Diab Cáceres and E. Zamarrón De Lucas, "Cystic fibrosis: Epidemiology, clinical manifestations, diagnosis and treatment," 2023.
- [6] S. S. Lusman, "Update on Cystic Fibrosis in Pediatric Patients," Nov. 01, 2023, *Springer*. doi: 10.1007/s11894-023-00896-3.
- [7] V. K. Singh and S. J. Schwarzenberg, "Pancreatic insufficiency in Cystic Fibrosis," *Journal of Cystic Fibrosis*, vol. 16, pp. S70–S78, Nov. 2017, doi: 10.1016/j.jcf.2017.06.011.
- [8] R. H. Houwen *et al.*, "Defining DIOS and constipation in cystic fibrosis with a multicentre study on the incidence, characteristics, and treatment of DIOS," *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, vol. 50, no. 1, pp. 38–42, Jan. 2010, doi: 10.1097/MPG.0b013e3181a6e01d.
- [9] F. J. C. Reis and N. Damaceno, "Cystic fibrosis," 1998, *Sociedade Brasileira de Pediatria*. doi: 10.2223/jped.489.
- [10] P. Fanen, A. Wohlhuter-Haddad, and A. Hinzpeter, "Genetics of cystic fibrosis: CFTR mutation classifications toward genotype-based CF therapies," *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, vol. 52, pp. 94–102, 2014, doi: 10.1016/j.biocel.2014.02.023.
- [11] A. Vankeerberghen, H. Cuppens, and J.-J. Cassiman, "The cystic fibrosis transmembrane conductance regulator: an intriguing protein with pleiotropic functions," 2002.
- [12] M. H. Akabas, M. Cheung, and R. Guinamard², "Probing the Structural and Functional Domains of the CFTR Chloride Channel," 1997.
- [13] F. Liu, Z. Zhang, L. Csanády, D. C. Gadsby, and J. Chen, "Molecular Structure of the Human CFTR Ion Channel," *Cell*, vol. 169, no. 1, pp. 85-95.e8, Mar. 2017, doi: 10.1016/j.cell.2017.02.024.
- [14] L. S. Hanssens, J. Duchateau, and G. J. Casimir, "Cftr protein: Not just a chloride channel?," Nov. 01, 2021, *MDPI*. doi: 10.3390/cells10112844.

- [15] J. A. Lee *et al.*, "Gene therapy for cystic fibrosis: new tools for precision medicine," Dec. 01, 2021, *BioMed Central Ltd.* doi: 10.1186/s12967-021-03099-4.
- [16] P. M. Farrell *et al.*, "Diagnosis of Cystic Fibrosis: Consensus Guidelines from the Cystic Fibrosis Foundation," *Journal of Pediatrics*, vol. 181, pp. S4-S15.e1, Feb. 2017, doi: 10.1016/j.jpeds.2016.09.064.
- [17] S. M. Rowe, J. P. Clancy, and M. Wilschanski, "Nasal Potential Difference Measurements to Assess CFTR Ion Channel Activity," in *Methods in Molecular Biology*, vol. 741, Humana Press Inc., 2011, pp. 69–86. doi: 10.1007/978-1-61779-117-8_6.
- [18] A. Bergougnoux *et al.*, "Functional characterization and phenotypic spectrum of three recurrent disease-causing deep intronic variants of the CFTR gene," *Journal of Cystic Fibrosis*, vol. 18, no. 4, pp. 468–475, Jul. 2019, doi: 10.1016/j.jcf.2018.10.012.
- [19] M. Kharrazi *et al.*, "Newborn screening for cystic fibrosis in California," *Pediatrics*, vol. 136, no. 6, pp. 1062–1072, Dec. 2015, doi: 10.1542/peds.2015-0811.
- [20] M. P. Audrézet *et al.*, "Comprehensive CFTR gene analysis of the French cystic fibrosis screened newborn cohort: Implications for diagnosis, genetic counseling, and mutation-specific therapy," *Genetics in Medicine*, vol. 17, no. 2, pp. 108–116, Feb. 2015, doi: 10.1038/gim.2014.113.
- [21] A. Girardet *et al.*, "The improvement of the best practice guidelines for preimplantation genetic diagnosis of cystic fibrosis: Toward an international consensus," *European Journal of Human Genetics*, vol. 24, no. 4, pp. 469–478, Apr. 2016, doi: 10.1038/ejhg.2015.99.
- [22] A. Gruber *et al.*, "Non-invasive prenatal diagnosis of paternally inherited disorders from maternal plasma: Detection of NF1 and CFTR mutations using droplet digital PCR," *Clin Chem Lab Med*, vol. 56, no. 5, pp. 728–738, Apr. 2018, doi: 10.1515/cclm-2017-0689.
- [23] C. Guissart *et al.*, "Dual Molecular Effects of Dominant RORA Mutations Cause Two Variants of Syndromic Intellectual Disability with Either Autism or Cerebellar Ataxia," *Am J Hum Genet*, vol. 102, no. 5, pp. 744–759, May 2018, doi: 10.1016/j.ajhg.2018.02.021.
- [24] S. Y. Graeber *et al.*, "Personalized CFTR Modulator Therapy for G85E and N1303K Homozygous Patients with Cystic Fibrosis," *Int J Mol Sci*, vol. 24, no. 15, Aug. 2023, doi: 10.3390/ijms241512365.
- [25] K. E. Wajda, E. A. Roesch, and A. H. Gifford, "Chronic daily respiratory care needs in people with cystic fibrosis treated with highly effective cystic fibrosis transmembrane conductance regulator modulators," Nov. 01, 2023, *Lippincott Williams and Wilkins*. doi: 10.1097/MCP.0000000000001006.
- [26] E. Main and S. Rand, "Conventional chest physiotherapy compared to other airway clearance techniques for cystic fibrosis," May 05, 2023, *John Wiley and Sons Ltd.* doi: 10.1002/14651858.CD002011.pub3.

- [27] L. Saiman *et al.*, “Azithromycin in Patients With Cystic Fibrosis Chronically Infected With *Pseudomonas aeruginosa* A Randomized Controlled Trial.” [Online]. Available: <http://jama.jamanetwork.com/>
- [28] J. Wolter, S. Seeney, S. Bell, S. Bowler, P. Masel, and J. McCormack, “Effect of long term treatment with azithromycin on disease parameters in cystic fibrosis: a randomised trial.” [Online]. Available: www.thoraxjnl.com
- [29] A. Clement, A. Tamalet, E. Leroux, S. Ravilly, B. Fauroux, and J. P. Jais, “Long term effects of azithromycin in patients with cystic fibrosis: A double blind, placebo controlled trial,” *Thorax*, vol. 61, no. 10, pp. 895–902, Oct. 2006, doi: 10.1136/thx.2005.057950.
- [30] G. S. Huang, C. M. Dunham, and E. A. Chance, “Occurrence of Numerous Cerebral White Matter Hyperintensities in Trauma Patients With Cerebral Fat Embolism: A Systematic Review and Report of Two Cases,” *Cureus*, Sep. 2023, doi: 10.7759/cureus.45450.
- [31] S. Jia and J. L. Taylor-Cousar, “Cystic Fibrosis Modulator Therapies,” *Annual Review of Medicine Annu. Rev. Med.* 2023, vol. 74, p. 2022, 2024, doi: 10.1146/annurev-med-042921.
- [32] P. H. Thibodeau *et al.*, “The cystic fibrosis-causing mutation $\Delta F508$ affects multiple steps in cystic fibrosis transmembrane conductance regulator biogenesis,” *Journal of Biological Chemistry*, vol. 285, no. 46, pp. 35825–35835, Nov. 2010, doi: 10.1074/jbc.M110.131623.
- [33] I. Fajac and K. De Boeck, “New horizons for cystic fibrosis treatment,” Feb. 01, 2017, *Elsevier Inc.* doi: 10.1016/j.pharmthera.2016.11.009.
- [34] J. Mercier, M. Ruffin, H. Corvol, and L. Guillot, “Gene Therapy: A Possible Alternative to CFTR Modulators?,” *Front Pharmacol*, vol. 12, Apr. 2021, doi: 10.3389/fphar.2021.648203.
- [35] S. M. Rowe, J. P. Clancy, and M. Wilschanski, “Nasal Potential Difference Measurements to Assess CFTR Ion Channel Activity,” in *Methods in Molecular Biology*, vol. 741, Humana Press Inc., 2011, pp. 69–86. doi: 10.1007/978-1-61779-117-8_6.
- [36] C. F. Bennett, “Therapeutic Antisense Oligonucleotides Are Coming of Age,” *Annu. Rev. Med.* 2019, vol. 70, pp. 307–321, 2018, doi: 10.1146/annurev-med-041217.
- [37] N. E. Allaire, U. Griesenbach, B. Kerem, J. D. Lueck, N. Stanleigh, and Y. S. Oren, “Gene, RNA, and ASO-based therapeutic approaches in Cystic Fibrosis,” *Journal of Cystic Fibrosis*, vol. 22, pp. S39–S44, Mar. 2023, doi: 10.1016/j.jcf.2022.12.016.
- [38] J. A. Lee *et al.*, “Gene therapy for cystic fibrosis: new tools for precision medicine,” Dec. 01, 2021, *BioMed Central Ltd.* doi: 10.1186/s12967-021-03099-4.
- [39] G. Berkers *et al.*, “Lumacaftor/ivacaftor in people with cystic fibrosis with an A455E–CFTR mutation,” *Journal of Cystic Fibrosis*, vol. 20, no. 5, pp. 761–767, Sep. 2021, doi: 10.1016/j.jcf.2020.11.007.

- [40] S. D. Sagel *et al.*, "Clinical Effectiveness of Lumacaftor/Ivacaftor in Patients with Cystic Fibrosis Homozygous for F508del-CFTR A Clinical Trial," *Ann Am Thorac Soc*, vol. 18, no. 1, pp. 75–83, Jan. 2021, doi: 10.1513/AnnalsATS.202002-144OC.
- [41] B. S. Quon *et al.*, "Short-term effects of Lumacaftor/Ivacaftor (Orkambi™) on exertional symptoms, exercise performance, and ventilatory responses in adults with cystic fibrosis," *Respir Res*, vol. 21, no. 1, Jun. 2020, doi: 10.1186/s12931-020-01406-Z.
- [42] M. Griesse *et al.*, "Safety and efficacy of elexacaftor/tezacaftor/ivacaftor for 24 weeks or longer in people with cystic fibrosis and one or more F508del alleles: Interim results of an open-label phase 3 clinical trial," Feb. 01, 2021, *American Thoracic Society*. doi: 10.1164/rccm.202008-3176LE.
- [43] C. E. Wainwright *et al.*, "Lumacaftor–Ivacaftor in Patients with Cystic Fibrosis Homozygous for Phe508del CFTR," *New England Journal of Medicine*, vol. 373, no. 3, pp. 220–231, Jul. 2015, doi: 10.1056/nejmoa1409547.
- [44] M. Stahl *et al.*, "Effects of Lumacaftor/Ivacaftor on Cystic Fibrosis Disease Progression in Children 2 through 5 Years of Age Homozygous for F508del-CFTR: A Phase 2 Placebo-controlled Clinical Trial," *Ann Am Thorac Soc*, vol. 20, no. 8, pp. 1144–1155, Aug. 2023, doi: 10.1513/AnnalsATS.202208-684OC.
- [45] S. A. McColley *et al.*, "Lumacaftor/Ivacaftor reduces pulmonary exacerbations in patients irrespective of initial changes in FEV₁," *Journal of Cystic Fibrosis*, vol. 18, no. 1, pp. 94–101, Jan. 2019, doi: 10.1016/j.jcf.2018.07.011.
- [46] C. E. Milla, F. Ratjen, G. Marigowda, F. Liu, D. Waltz, and M. Rosenfeld, "Lumacaftor/Ivacaftor in patients aged 6-11 years with cystic fibrosis and homozygous for F508del-CFTR," *Am J Respir Crit Care Med*, vol. 195, no. 7, pp. 912–920, Apr. 2017, doi: 10.1164/rccm.201608-1754OC.
- [47] J. L. Taylor-Cousar *et al.*, "Lumacaftor/ivacaftor in patients with cystic fibrosis and advanced lung disease homozygous for F508del-CFTR," *Journal of Cystic Fibrosis*, vol. 17, no. 2, pp. 228–235, Mar. 2018, doi: 10.1016/j.jcf.2017.09.012.
- [48] "crystal1994".
- [49] P. G. Noone *et al.*, "Safety and Biological Efficacy of a Lipid-CFTR Complex for Gene Transfer in the Nasal Epithelium of Adult Patients with Cystic Fibrosis," *Molecular Therapy*, vol. 1, no. 1, pp. 105–114, Jan. 2000, doi: 10.1006/mthe.1999.0009.
- [50] F. Ratjen, S. C. Bell, S. M. Rowe, C. H. Goss, A. L. Quittner, and A. Bush, "Cystic fibrosis," *Nat Rev Dis Primers*, vol. 1, no. 1, 2015, doi: 10.1038/NRDP.2015.10.
- [51] R. B. Moss *et al.*, "Repeated Adeno-Associated Virus Serotype 2 Aerosol-Mediated Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator Gene Transfer to the Lungs of Patients with Cystic Fibrosis: A Multicenter, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial," *Chest*, vol. 125, no. 2, pp. 509–521, 2004, doi: 10.1378/chest.125.2.509.

- [52] R. B. Moss *et al.*, "Repeated aerosolized AAV-CFTR for treatment of cystic fibrosis: A randomized placebo-controlled phase 2B trial," *Hum Gene Ther*, vol. 18, no. 8, pp. 726–732, Aug. 2007, doi: 10.1089/hum.2007.022.
- [53] U. Griesenbach *et al.*, "Assessment of F/HN-pseudotyped lentivirus as a clinically relevant vector for lung gene therapy," *Am J Respir Crit Care Med*, vol. 186, no. 9, pp. 846–856, Nov. 2012, doi: 10.1164/rccm.201206-1056OC.
- [54] F. E. Ruiz *et al.*, "A Clinical Inflammatory Syndrome Attributable to Aerosolized Lipid-DNA Administration in Cystic Fibrosis," Mary Ann Liebert, Inc, 2001.
- [55] S. C. Hyde *et al.*, "Repeat administration of DNA/liposomes to the nasal epithelium of patients with cystic fibrosis," 2000. [Online]. Available: www.nature.com/gt
- [56] F. Van Goor *et al.*, "Correction of the F508del-CFTR protein processing defect in vitro by the investigational drug VX-809," *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 108, no. 46, pp. 18843–18848, Nov. 2011, doi: 10.1073/pnas.1105787108.
- [57] G. Sette *et al.*, "Therotyping cystic fibrosis in vitro in ALI culture and organoid models generated from patient-derived nasal epithelial conditionally reprogrammed stem cells," *European Respiratory Journal*, vol. 58, no. 6, Dec. 2021, doi: 10.1183/13993003.00908-2021.
- [58] W. Beumer *et al.*, "Evaluation of eluforsen, a novel RNA oligonucleotide for restoration of CFTR function in in vitro and murine models of p. Phe508del cystic fibrosis," *PLoS One*, vol. 14, no. 6, Jun. 2019, doi: 10.1371/journal.pone.0219182.
- [59] S. E. Graham *et al.*, "The power of genetic diversity in genome-wide association studies of lipids," *Nature*, vol. 600, no. 7890, pp. 675–679, Dec. 2021, doi: 10.1038/s41586-021-04064-3.
- [60] T. Yokota *et al.*, "A newly identified gene Ahed plays essential roles in haematopoiesis through RNA splicing Masahiro Tokunaga Suita Municipal Hospital", doi: 10.21203/rs.3.rs-2431052/v1.
- [61] G. Schwank *et al.*, "Functional repair of CFTR by CRISPR/Cas9 in intestinal stem cell organoids of cystic fibrosis patients," *Cell Stem Cell*, vol. 13, no. 6, pp. 653–658, Dec. 2013, doi: 10.1016/j.stem.2013.11.002.
- [62] A. M. Crane *et al.*, "Targeted correction and restored function of the CFTR gene in cystic fibrosis induced pluripotent stem cells," *Stem Cell Reports*, vol. 4, no. 4, pp. 569–577, 2015, doi: 10.1016/j.stemcr.2015.02.005.