

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ



ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

«ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ»

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**«ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΤΙΚΑ ΓΟΝΙΔΙΑ ΤΟΥ ΦΑΙΝΟΤΥΠΟΥ ΤΗΣ ΚΥΣΤΙΚΗΣ
ΙΝΩΣΗΣ»**

ΝΙΚΟΛΕΤΑ ΚΑΤΣΑΡΟΥ

ΦΑΡΜΑΚΟΠΟΙΟΣ

ΛΑΡΙΣΑ

ΙΟΥΛΙΟΣ ,2014

ΔΙΕΥΘΥΝΤΡΙΑ ΤΟΥ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ
ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ Α. ΤΣΕΖΟΥ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Δήμας Κωνσταντίνος, Επ. Καθηγητής ΠΘ
Τζέτη Μαρία, Επ. Καθηγήτρια ΕΚΠΑ
Κυριάκου Δέσποινα, Αν. Καθηγήτρια ΠΘ

(Επιβλέπων)
(Συνεπιβλέπουσα)

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΑΝΤΙ ΠΡΟΛΟΓΟΥ.....	6
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	7
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ	8
ΟΡΙΣΜΟΣ.....	8
ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ.....	9
ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ	10
ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΘΕΣΗ CFTR ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ.....	12
ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ CFTR ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ	14
ΜΕΤΑΛΛΑΞΕΙΣ CFTR ΓΟΝΙΔΙΟΥ	15
ΔΙΑΓΝΩΣΗ	19
ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΟΛΟΓΙΑ.....	20
ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΓΟΝΟΤΥΠΟΥ- ΦΑΙΝΟΤΥΠΟΥ.....	26
ΚΕΦΑΛΑΙΟ Β: ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΤΙΚΑ ΓΟΝΙΔΙΑ ΤΟΥ ΦΑΙΝΟΤΥΠΟΥ ΤΗΣ ΚΥΣΤΙΚΗΣ ΙΝΩΣΗΣ	29
ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΟΣ ΦΑΙΝΟΤΥΠΟΣ.....	29
Μελέτες υποψήφιων γονιδίων	29
Τροποποιητικά γονίδια που εμπλέκονται στην φλεγμονώδη απάντηση του οργανισμού	31
TGFB1	31
Ιντερλευκίνη 8	35
Ιντερλευκίνη-1 βήτα	36
Ιντερλευκίνη 10	37
TNF-α.....	38
Σύστημα HLA.....	40
Άλφα-1 Αντιθρυψίνη	41
AGER.....	42

Τροποποιητικά γονίδια που εμπλέκονται στην απόκριση του οργανισμού σε λοίμωξη .	44
Λεκτίνη Δέσμευσης της Μαννόζης 2- MBL2	44
Υποδοχείς Τύπου Toll	46
CD14.....	47
Τροποποιητικά γονίδια που εμπλέκονται στους μηχανισμούς βλάβης και επιδιόρθωσης του επιθηλιακού ιστού.....	47
Γλουταθειόνη και S-Τρανσφεράση της Γλουταθειόνης.....	48
Συνθάση του Μονοξειδίου του Αζώτου.....	49
Τροποποιητικά γονίδια που εμπλέκονται στην φαρμακογενετική απάντηση του οργανισμού	49
Β2-Αδρενεργικοί Υποδοχείς (β2AR).....	50
Υποδοχείς Γλυκοκορτικοειδών	51
Μελέτες του συνόλου του γονιδιώματος και των εξονίων	51
Μελέτες σύνδεσης (linkage) και συσχέτισμού (GWAS) του συνόλου του γονιδιώματος	51
IFRD1	52
Γενετικός τόπος στην θέση 11p13.....	53
Γενετικός τόπος στην θέση 20q13.2.....	53
Μελέτες συσχέτισμού του συνόλου των εξονίων (exome sequencing)	54
DCTN4.....	54
ΗΠΑΤΙΚΟΣ ΦΑΙΝΟΤΥΠΟΣ	55
SERPINA1	57
ΔΙΑΒΗΤΗΣ ΤΗΣ ΚΥΣΤΙΚΗΣ ΙΝΩΣΗΣ	59
SLC26A9	61
Γονίδια που εμπλέκονται στον Διαβήτη Τύπου 2.....	63
ΕΙΛΕΟΣ ΑΠΟ ΜΗΚΩΝΙΟ	65
ADIPOR2.....	66
SLC4A4	66
CLCA1	67
MSRA	68
ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ	70
Γενετικές περιοχές στα χρωμοσώματα 1, 5 και 16.....	71
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	72
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	73

ΑΝΤΙ ΠΡΟΛΟΓΟΥ

"65 Roses" is what some children with cystic fibrosis (CF) call their disease because the words are much easier for them to pronounce. Mary G. Weiss became a volunteer for the Cystic Fibrosis Foundation in 1965 after learning that her three little boys had CF. Her duty was to call every civic club, social and service organization seeking financial support for CF research. Mary's 4-year old son, Richard, listened closely to his mother as she made each call. After several calls, Richard came into the room and told his Mom, "I know what you are working for." Mary was dumbstruck because Richard did not



know what she was doing, nor did he know that he had cystic fibrosis. With some trepidation, Mary asked, "What am I working for, Richard?" He answered, "You are

working for 65 Roses." Mary was speechless. He could not see the tears running down Mary's cheeks as she stammered, "Yes Richard, I'm working for 65 Roses." Since 1965, the term "65 Roses" has been used by children of all ages to describe their disease. But, making it easier to say does not make CF any easier to live with. The "65 Roses" story has captured the hearts and emotions of all who have heard it. The rose, appropriately the ancient symbol of love, has become a symbol of the Cystic Fibrosis Foundation.

65 Roses® is a registered trademark of the Cystic Fibrosis Foundation.

<http://www.cff.org/aboutcffoundation/about65roses/>

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η κυστική ίνωση είναι η πιο συχνή θανατηφόρα γενετική ασθένεια στους Καυκάσιους και κληρονομείται με αυτοσωμικό υπολειπόμενο τρόπο. Οφείλεται σε μεταλλάξεις του *CFTR* γονιδίου και χαρακτηρίζεται από διαταραχή στη μεταφορά ιόντων Cl (χλωρίου) στην επιφάνεια των επιθηλιακών κυττάρων και τη δημιουργία πυκνόρρευστης βλέννης. Οι κύριες εκδηλώσεις της είναι η παγκρεατική ανεπάρκεια, η αναπνευστική δυσλειτουργία και τα αυξημένα επίπεδα χλωρίου στον ιδρώτα. Οι ασθενείς με κυστική ίνωση έχουν μικρό προσδόκιμο επιβίωσης και η κύρια αιτία θνησιμότητας είναι η πνευμονοπάθεια που αναπτύσσεται. Αν και ανήκει στα μονογονιδιακά νοσήματα χαρακτηρίζεται από μεγάλη φαινοτυπική ετερογένεια, γεγονός που δικαιολογείται από την συμβολή στην διαμόρφωσή της και άλλων παραγόντων όπως είναι τα τροποποιητικά γονίδια και το περιβάλλον. Η παρούσα εργασία έχει σκοπό την βιβλιογραφική ανασκόπηση και παρουσίαση των μελετών που έχουν πραγματοποιηθεί για την ανεύρεση τροποποιητικών γονιδίων της κυστικής ίνωσης. Έχουν βρεθεί και θα περιγραφούν στην συνέχεια της εργασίας γονίδια με ισχυρές ενδείξεις τροποποίησης της σοβαρότητας της κυστικής ίνωσης για τον αναπνευστικό φαινότυπο, την ηπατική νόσο (CFLD), τον διαβήτη της κυστικής ίνωσης (CFRD), τον ειλεό από μηκόνιο και την διατροφική κατάσταση της κυστικής ίνωσης. Ο αναπνευστικός φαινότυπος είναι ο κατ'εξοχήν φαινότυπος που είναι επιρρεπής στην δράση άλλων γονιδίων εκτός του *CFTR* και γι'αυτό δίνεται ιδιαίτερη έμφαση στην ανάλυσή τους. Τα γονίδια αυτά εμπλέκονται στην φλεγμονώδη απάντηση, στην απόκριση του οργανισμού σε λοιμώξεις, στην βλάβη και επιδιόρθωση του επιθηλιακού ιστού, την φαρμακογενετική απάντηση και την μεταφορά ιόντων. Οι μελέτες που έχουν περιγραφεί διακρίνονται γενικά σε μελέτες υποψήφιων γονιδίων και μελέτες ολόκληρου του γονιδιώματος (GWAS).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ

ΟΡΙΣΜΟΣ

Η κυστική ίνωση είναι η πιο κοινή θανατηφόρα γενετική νόσος κληρονομούμενη με αυτοσωμικό υπολειπόμενο τρόπο στον Καυκάσιο πληθυσμό. Εμφανίζεται σε περίπου 1 στα 2500 ζωντανά νεογνά και έχει συχνότητα φορέων γύρω στο 4% (Bhopal and Donaldson 1998; Cutting 2005). Το κύριο παθολογικό χαρακτηριστικό της νόσου είναι η πυκνή βλέννη, που συσσωρεύεται στο επιθήλιο διαφόρων οργάνων όπως στους πνεύμονες (McCarty 2000), στο πάγκρεας (Gray et al. 1995), στο έντερο (Vankeerberghen et al. 2002) και στους όρχεις (Kaplan et al. 1968), η οποία οδηγεί σε απόφραξη, λοίμωξη, φλεγμονή και τελικά σε οργανική ανεπάρκεια. Οι ασθενείς με κυστική ίνωση, αν και ο χρόνος επιβίωσής τους έχει παραταθεί σημαντικά με την βοήθεια νέων θεραπειών, πεθαίνουν σε νεαρή ηλικία (<40 έτη) κυρίως εξαιτίας της χρόνιας πνευμονικής λοίμωξης (π.χ. από *Pseudomonas aeruginosa* και *Burkholderia cepacia*) και φλεγμονής (Cant et al. 2014). Τα κύρια συμπτώματα της κυστικής ίνωσης είναι οι επαναλαμβανόμενες αναπνευστικές λοιμώξεις, η εξωκρινής παγκρεατική ανεπάρκεια και τα αυξημένα επίπεδα ηλεκτρολυτών στον ιδρώτα (Guillot et al. 2014). Η βασική αιτία της εμφάνισης της νόσου είναι μεταλλάξεις στο γονίδιο *CFTR* στο χρωμόσωμα 7 που προκαλούν μείωση στην λειτουργία του CFTR διαύλου ιόντων χλωρίου και κατ'επέκταση έλλειψη ομοιόστασης ιόντων και ύδατος στις επιθηλιακές επιφάνειες (Frizzell 1999; Riordan et al. 1989). Η απουσία της ρύθμισης της ομοιόστασης του ύδατος από την πρωτεΐνη CFTR εξηγεί το αυξημένο ιξώδες της βλέννης στα όργανα που επηρεάζει η νόσος. Η κυστική ίνωση είναι μια νόσος που χαρακτηρίζεται από σημαντική ετερογένεια στον κλινικό φαινότυπο και την σοβαρότητά του. Η ετερογένεια αυτή αποδίδεται, εκτός από τις μεταλλάξεις του *CFTR* γονιδίου, στην δράση άλλων τροποποιητικών γονιδίων και περιβαλλοντικών παραγόντων καθώς και στην αλληλεπίδραση όλων αυτών (Guillot et al. 2014).

ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ

Από τις αρχές του 1900 είχαν αρχίσει να δημοσιεύονται άρθρα σε ιατρικά περιοδικά περιγράφοντας περιπτώσεις βρεφών με παγκρεατικές δυσλειτουργίες και αναπνευστικά προβλήματα, αλλά κανείς δεν θεωρούσε πως τα συμπτώματα αφορούσαν μια μόνο πάθηση εξαιτίας του μεγάλου εύρους της παθολογίας της νόσου. Αντίθετα, οι επιστήμονες θεωρούσαν πως τα συμπτώματα ανήκαν σε διαφορετικές παθήσεις. Η πρώτη περιγραφή της κυστικής ίνωσης ως ασθένεια καταγράφεται το 1928 από τον Ελβετό παιδίατρο Guido Fanconi, ενώ το 1938 η Dorothy Hansine Andersen του Πανεπιστημίου της Columbia δημοσίευσε την πρώτη αναλυτική περιγραφή των συμπτωμάτων της κυστικής ίνωσης. Η Andersen δημοσίευσε το άρθρο "Cystic Fibrosis of the Pancreas and Its Relation to Celiac Disease: a Clinical and Pathological Study" στο περιοδικό *American Journal of Diseases of Children*. Ήταν η πρώτη η οποία εκτός από την περιγραφή των συμπτωμάτων της κυστικής ίνωσης συσχέτισε την πνευμονοπάθεια και την εντερική νόσο με την κυστική ίνωση, υπέθεσε πως πρόκειται για υπολειπόμενη ασθένεια και προχώρησε στην χορήγηση παγκρεατικών ενζύμων για την θεραπεία των παιδιών με τη νόσο. Ακολούθησε πληθώρα ερευνών και αναλύσεων, οι οποίες οδήγησαν στα τέλη της δεκαετίας του 1940 στο συμπέρασμα πως η κυστική ίνωση είναι μία κληρονομική ασθένεια που οφείλεται σε μεταλλάξεις του γονιδίου *CFTR*. Η επισταμένη και ενδελεχής μελέτη της πάθησης οδήγησε το 1952 τον Paul di Sant-Agnese και τους συνεργάτες του στη δημιουργία του τεστ ιδρώτα για την διάγνωση της κυστικής ίνωσης, το οποίο βασίζεται στην διαταραχή των ηλεκτρολυτών στον ασθενή με κυστική ίνωση.

Σημαντικοί σταθμοί στην εξέλιξη της κυστικής ίνωσης στο πέρασμα του χρόνου:

1705 – Αναφορά σε ένα βιβλίο λαογραφικού περιεχομένου ότι ένα παιδί με αλμυρή γεύση είναι μαγεμένο.

1857 - Σε άλλο βιβλίο Παιδικών Τραγουδιών και Παιχνιδιών από την Ελβετία περιγράφεται το μεσαιωνικό γνωμικό: "Αλίμονο στο παιδί που το φιλί στο μέτωπό του έχει γεύση αλμυρή, γιατί είναι μαγεμένο και σύντομα θα πεθάνει".

1938 - Η γιατρός Dorothy Andersen περιγράφει για πρώτη φορά την κυστική ίνωση, ονομάζοντάς την κυστική ίνωση του παγκρέατος.

1946 - Οι di Sant' Agnese και Andersen αναφέρουν για πρώτη φορά τη χρήση αντιβιοτικών κατά πνευμονικών λοιμώξεων σε ασθενείς με κυστική ίνωση.

1953 - Ο di Sant' Agnese και οι συνεργάτες του περιγράφουν την ανωμαλία του ιδρώτα στην κυστική ίνωση.

1955 - Εξετάζεται η χρήση παγκρεατικών ενζύμων.

1959 - Οι Gibson και Cooke περιγράφουν μια ακριβή και ασφαλή μέθοδο για το τεστ ιδρώτα.

1964 - Ο Doershuk, ο Mathews και οι συνεργάτες του περιγράφουν ένα σύγχρονο ολοκληρωμένο πρόγραμμα θεραπείας.

1978 - Χρησιμοποιούνται για πρώτη φορά παγκρεατικά ένζυμα με εντερικό περίβλημα.

1981-1983 – Οι Knowles, Quinton και οι συνεργάτες τους περιγράφουν τις ανωμαλίες στη μεταφορά ηλεκτρολυτών που χαρακτηρίζουν τη νόσο.

1989 – Οι Tsui, Riordan και Collins ανακαλύπτουν το γονίδιο της κυστικής ίνωσης.

1990 – Πραγματοποιείται η διόρθωση του ελαττωματικού κυττάρου στη μεταφορά χλωρίου σε εργαστηριακή καλλιέργεια, με μεταφορά γονιδίων μέσω αδενοϊού.

1992 - Πρώτες δοκιμές γονιδιακής μεταφοράς σε ασθενείς με κυστική ίνωση. (Andersen 1938; Orenstein & Higgins 2005; Davis 2006)

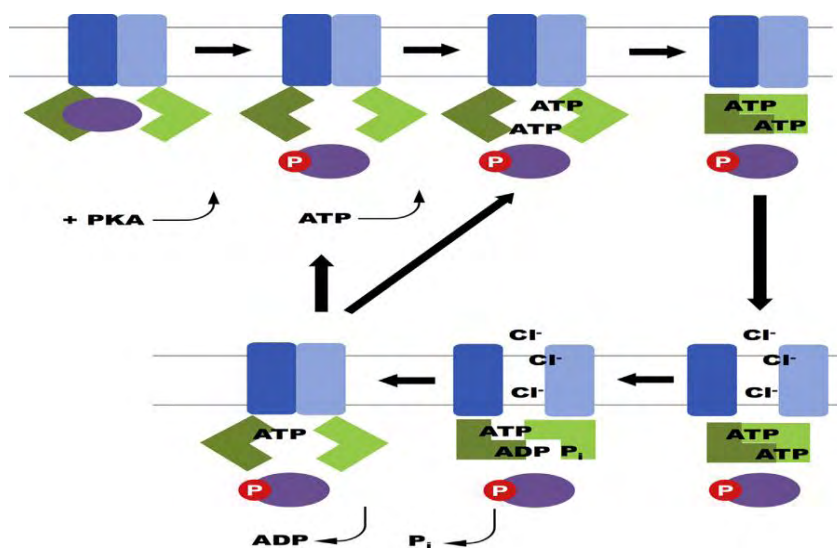
ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Η κυστική ίνωση είναι η πιο κοινή αυτοσωμική υπολειπόμενη νόσος που προκαλεί μειωμένο προσδόκιμο επιβίωσης σε άτομα ευρωπαϊκής καταγωγής (Tobias et al. 2011). Στις ΗΠΑ, σχεδόν 30000 άτομα πάσχουν από κυστική ίνωση, η πλειοψηφία των οποίων έχει διαγνωστεί μέχρι την ηλικία των 6 μηνών. Στον Καναδά υπάρχουν περίπου 4000 άτομα με κυστική ίνωση. Σχεδόν 1 στους 25 ανθρώπους ευρωπαϊκής καταγωγής και 1 στους 30 καυκασιανούς αμερικανούς (Cystic Fibrosis Foundation) είναι φορείς μιας μετάλλαξης της κυστικής ίνωσης. Αν και η νόσος είναι λιγότερο συχνή σε αυτούς τους πληθυσμούς, σχεδόν 1 στους 46 ισπανόφωνους, 1 στους 65

αφρικανούς και 1 στους 90 ασιάτες φέρουν τουλάχιστον ένα μη φυσιολογικό *CFTR* γονίδιο (Rosenstein and Cutting 1998; Hamosh et al. 1998). Η Ιρλανδία έχει την μεγαλύτερη σε παγκόσμιο επίπεδο επίπτωση της κυστικής ίνωσης με 1 στους 1353 (Farrell et al. 2007). Αν και τεχνικά η κυστική ίνωση είναι μια σπάνια ασθένεια, κατατάσσεται ανάμεσα στις πιο διαδεδομένες γενετικές ασθένειες που μειώνουν το προσδόκιμο επιβίωσης. Είναι πιο συχνή ανάμεσα σε έθνη του δυτικού κόσμου. Εξαιρέση αποτελεί η Φινλανδία όπου μόνο 1 στους 80 φέρει μια μετάλλαξη της κυστικής ίνωσης (Hytönen et al. 2001). Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (ΠΟΥ) δηλώνει ότι “1 στα 2000-3000 νεογνά διαγιγνώσκονται με κυστική ίνωση (WHO “Genes and Human Disease”). Στις ΗΠΑ 1 στα 3500 παιδιά γεννιούνται με κυστική ίνωση (Russell 2011). Το 1997, 1 στα 3300 καυκάσια παιδιά στις ΗΠΑ γεννήθηκαν με κυστική ίνωση σε αντίθεση με μόλις 1 στα 15000 παιδιά αφροαμερικανικής καταγωγής που υποφέρει από τη νόσο ενώ και στον πληθυσμό των Ασιατών της Αμερικής η συχνότητα ήταν ακόμα μικρότερη 1 στους 32000 (NIH Consensus Development Conference Statement, 1997). Η κυστική ίνωση διαγιγνώσκεται εξίσου σε άνδρες και γυναίκες. Για λόγους που παραμένουν άγνωστοι δεδομένα έχουν δείξει πως οι άνδρες τείνουν να έχουν μεγαλύτερο προσδόκιμο επιβίωσης από τις γυναίκες (Rosenfeld et al. 1997; Coakley et al. 2008) αν και πρόσφατες μελέτες υποδεικνύουν ότι αυτή η διαφορά με βάση το φύλο ίσως πλέον να μην υπάρχει λόγω βελτιώσεων στις εγκαταστάσεις υγειονομικής περίθαλψης (Verma et al. 2005; Moran et al. 2009). Μια πρόσφατη μελέτη από την Ιρλανδία εντόπισε έναν σύνδεσμο ανάμεσα στα οιστρογόνα των γυναικών με χειρότερη έκβαση της κυστικής ίνωσης (The Irish Times 2010). Η κατανομή των αλληλομόρφων της κυστικής ίνωσης ποικίλει ανάμεσα στους πληθυσμούς. Η συχνότητα των φορέων της μετάλλαξης F508del έχει υπολογιστεί να είναι 1:200 στην βόρεια Σουηδία, 1:143 στην Λιθουανία και 1:38 στη Δανία. Η κυστική ίνωση εντοπίζεται μόνο σε 20 οικογένειες (γενεαλογικά δέντρα) στην Φινλανδία (Kere et al. 1990). Η πλέον κοινή μετάλλαξη F508del παρουσιάζει ελάττωση συχνότητας στην Ευρώπη από τον βορρά προς το νότο (30-90%) με αποτέλεσμα την αύξηση στη συχνότητα άλλων μεταλλάξεων στο παθολογικό γονίδιο. Οι πιο κοινές μεταλλάξεις σε όλες τις πληθυσμιακές ομάδες σε συχνότητα >1% είναι οι εξής:

επάνω τμήμα της μεμβράνης των επιθηλιακών κυττάρων (Anderson et al. 1992) ενώ το 77% της πρωτεΐνης βρίσκεται στο κυτταρόπλασμα, το 19% στις διαμεμβρανικές περιοχές και το 4% στις εξωκυτταρικές περιοχές του κυττάρου (Rosenberg et al. 2011). Όπως συμβαίνει και με άλλες μεμβρανικές γλυκοπρωτεΐνες, η διαμόρφωση της CFTR πρωτεΐνης ξεκινά με την αναδίπλωση της πρόδρομης μορφής στο ενδοπλασματικό δίκτυο (ΕΔ) (Cheng et al. 1990; Hammond and Helenius 1995). Η αναδίπλωση των πρωτεϊνών στο ενδοπλασματικό δίκτυο γίνεται σε συνεργασία με μια ομάδα πρωτεϊνών που λέγονται πρωτεΐνες συνοδοί (Martin and Hartl 1997) και στην περίπτωση της CFTR είναι οι εξής: οι κυτταροπλασματικές Hsp70 και Hsp90 καθώς και η καλνεξίνη η οποία είναι συνδεδεμένη στη μεμβράνη του ΕΔ. Η αλληλεπίδραση της CFTR πρωτεΐνης με τις πρωτεΐνες συνοδούς συμβάλλει στην καλύτερη αναδίπλωσή της (άρα ωριμάζει σωστά) και επιπλέον την προστατεύει από τις πρωτεάσες (Pind et al. 1994; Korito 1999). Ένα 20-40% της πρόδρομης CFTR φτάνει στην πλήρη ωρίμανσή της στο σύστημα Golgi στο οποίο προστίθενται και οι υπόλοιποι ολιγοσακχαρίτες. Η ώριμη γλυκοζυλιωμένη πρωτεΐνη με τη βοήθεια των κυστιδίων του συστήματος Golgi μεταφέρεται στην κυτταροπλασματική μεμβράνη έτοιμη να δράσει ως διάυλος ιόντων χλωρίου (Korito 1999). Η CFTR πρωτεΐνη περιέχει 1480 αμινοξέα και έχει μοριακό βάρος 170kD. Έχει την τυπική αρχιτεκτονική ενός ABC μεταφορέα με 2 διαμεμβρανικές περιοχές-TMDs (Transmembrane Domain) και 2 ενδοκυττάριας περιοχές δέσμευσης ATP-NBDs (Nucleotide Binding Domain) (Higgins 1992). Η κάθε διαμεμβρανική περιοχή της πρωτεΐνης αποτελείται από 6 έλικες που διαπερνούν την μεμβράνη και σχηματίζουν έναν πόρο από τον οποίο διακινούνται ιόντα (Gadsby et al. 2006; Riordan 2008). Επιπλέον, η CFTR πρωτεΐνη έχει μια ρυθμιστική περιοχή R-domain καθώς και μακριές N- και C- επεκτάσεις 80 και 30 καταλοίπων αντιστοίχως (Hunt et al. 2013). Οι περιοχές της πρωτεΐνης διατάσσονται στον χώρο από το N- προς το C- άκρο με την εξής σειρά: TMD1-NBD1-R-TMD2-NBD2 (Dean and Allikmets 2001).

Sheppard and Welsh 1999). Μπορεί να ρυθμιστεί και από άλλες κινάσες όπως π.χ. πρωτεϊνική κινάση C και CK2 (Chappe et al. 2003; Venerando et al. 2013). Πιο αναλυτικά, η πρωτεΐνη είναι ένας διάυλος χλωρίου που ενεργοποιείται από την παρουσία cAMP, την μέσω PKA φωσφορυλίωση της R ρυθμιστικής περιοχής και την υδρόλυση του ATP από τις περιοχές NBDs. Η φωσφορυλίωση της ρυθμιστικής περιοχής οδηγεί σε αλλαγές στην διαμόρφωση της περιοχής αυτής η οποία απομακρύνεται από τον πόρο του διαύλου και έτσι επιτρέπει την ροή του χλωρίου διαμέσου του διαύλου (φωσφορυλίωση R περιοχής οδηγεί σε άνοιγμα του διαύλου). Η υδρόλυση του ATP γίνεται στις περιοχές δέσμευσης του ATP (NBDs) και πιο συγκεκριμένα η υδρόλυση στην NBD-1 ανοίγει τον διάυλο ενώ στην NBD-2 τον κλείνει. Η ρύθμιση της δραστηριότητας του διαύλου ελέγχεται από τα επίπεδα ενδοκυττάριου cAMP (Cant et al. 2014).



Εικόνα 3: Μοριακός μηχανισμός λειτουργίας της CFTR πρωτεΐνης (Cant N, Pollock N, Ford RC. CFTR structure and cystic fibrosis. Int J Biochem Cell Biol. Jul;52C:15-25, 2014)

ΜΕΤΑΛΛΑΞΕΙΣ CFTR ΓΟΝΙΔΙΟΥ

Μέχρι στιγμής, έχουν βρεθεί 1970 διαφορετικές μεταλλάξεις του γονιδίου *CFTR* και συνεχώς προστίθενται κι άλλες. Ωστόσο, 70-80% των περιπτώσεων στην Βόρεια Ευρώπη και 30-54% στη Νότια Ευρώπη αφορούν μια συγκεκριμένη μετάλλαξη, την F508del, η οποία προκύπτει από την

διαγραφή τριών νουκλεοτιδίων στο εξόνιο 10 με συνέπεια αυτού να προκύπτει απώλεια του αμινοξέος φαινυλαανίνη στην θέση 508 (Cystic Fibrosis Mutations Database, διαθέσιμη στον ιστότοπο <http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/>; 02/06/2014; Riordan et al. 1989). Όλοι οι ασθενείς της κυστικής ίνωσης φέρουν δύο μεταλλάξεις του *CFTR* γονιδίου, ενώ οι ετεροζυγώτες δεν εμφανίζουν διαταραγμένο φαινότυπο (Riordan et al. 1989; Cutting 2005). Σε περίπτωση που συνυπάρχουν δύο μεταλλάξεις σε θέση cis (στο ίδιο αλληλόμορφο), η δεύτερη μετάλλαξη επηρεάζει την έκφραση της βασικής μετάλλαξης και τροποποιεί το φαινότυπο. Έτσι για παράδειγμα η in cis παρουσία των μεταλλάξεων 1) F508del + R553Q και 2) 102T>A + S549R προκαλεί βελτίωση του φαινοτύπου και αντίθετα η παρουσία των μεταλλάξεων 1) R347H + D979A και 2) R1070Q + S466X επιβάρυνση του φαινοτύπου. Επίσης έχουν βρεθεί αλληλόμορφα με περισσότερες της μίας μετάλλαξης στο ίδιο χρωμόσωμα (Salvatore et al. 2002). Οι μεταλλάξεις του *CFTR* γονιδίου κατατάσσονται σε 6 κλάσεις ανάλογα με την επίπτωσή τους στην πρωτεΐνη. Σε γενικές γραμμές οι μεταλλάξεις των κλάσεων I-III προκαλούν σοβαρό φαινότυπο ενώ αυτές των κλάσεων IV, V και VI προκαλούν πιο ήπια νόσο (Cant et al. 2014).

Κλάση I: Οι μεταλλάξεις αυτής της κλάσης καταλήγουν σε ελαττωματική ή μηδενική πρωτεϊνική σύνθεση. Αλλιώς λέγονται και μηδενικές μεταλλάξεις γιατί οδηγούν σε πλήρη απουσία λειτουργικής CFTR πρωτεΐνης. Ως αποτέλεσμα, αυτές οι μεταλλάξεις συσχετίζονται με πιο σοβαρές κλινικές εκδηλώσεις. Ανερμηνεύσιμες μεταλλάξεις και μεταλλάξεις αλλαγής πλαισίου ανάγνωσης ανήκουν στην κλάση αυτή καθώς και κάποιες μεταλλάξεις ματίσματος και μεταλλάξεις που αλλάζουν το κωδικόνιο έναρξης (Zielenski 2000). Η μετάλλαξη p.G542X είναι η πιο συχνή παγκοσμίως μετάλλαξη αυτής της κλάσης επηρεάζοντας τουλάχιστον ένα αλληλόμορφο στο 4% των ασθενών με κυστική ίνωση κυρίως στους Βορειο-Ευρωπαϊκούς πληθυσμούς (Fanen et al. 2014).

Κλάση II: Οι μεταλλάξεις αυτής της κλάσης οδηγούν σε ανώμαλη επεξεργασία και διακίνηση της CFTR πρωτεΐνης. Τροποποιούν την ικανότητα

της πρωτεΐνης να γλυκοζυλιωθεί σωστά και να μεταφερθεί στην μεμβράνη. Η φαινοτυπική έκφραση αυτών των μεταλλάξεων είναι λιγότερο σταθερή αν και είναι συνήθως φαινοτυπικά σοβαρές αφού καταλήγουν σε έλλειψη της πρωτεΐνης στην μεμβράνη. Η πιο συχνή *CFTR* μετάλλαξη, F508del, ανήκει στην κλάση αυτή και οδηγεί σε σοβαρή νόσο (Zielenski 2000). Αντίθετα, η μετάλλαξη A455E η οποία επίσης σχετίζεται με κατακράτηση της πρωτεΐνης στο κυτταρόπλασμα συνδέεται με ηπιότερη πνευμονοπάθεια. Η F508del μετάλλαξη αποσταθεροποιεί την δομή και την αναδίπλωση της πρωτεΐνης (Lewis et al. 2005). Κατά την πρωτεϊνοσύνθεση, η μεταλλαγμένη πρωτεΐνη στοχεύεται από το μονοπάτι αποδόμησης ERAD (Endoplasmic-reticulum-associated protein degradation) και καταστρέφεται ενώ μόνο το 1% της πρωτεΐνης φτάνει στην πλασματική μεμβράνη (Korito 1999; Ward et al. 1995).

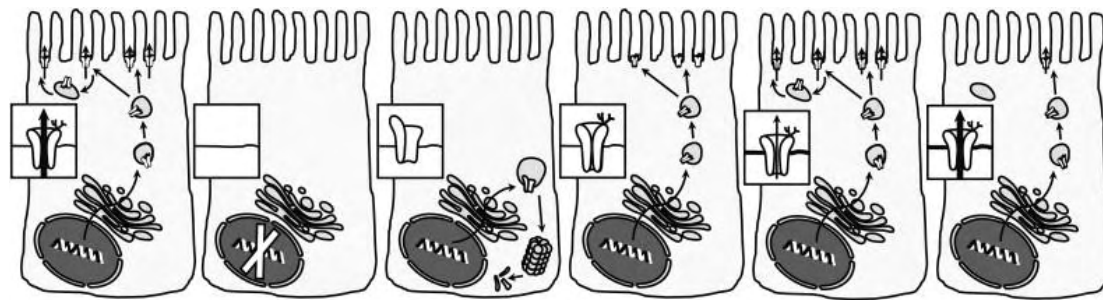
Κλάση III: Οι μεταλλάξεις αυτής της κλάσης καταλήγουν σε ελαττωματική ρύθμιση του διαύλου. Η *CFTR* πρωτεΐνη παράγεται και επεξεργάζεται σωστά αλλά δεν αντιδρά στα ερεθίσματα ενεργοποίησής της προκειμένου να επιτρέψει την ροή των ιόντων χλωρίου κατά μήκος της πλασματικής μεμβράνης. Τέτοιες μεταλλάξεις τροποποιούν την σύνδεση του ATP στις περιοχές δέσμευσης NBDs, γεγονός απαραίτητο για την ενεργοποίηση του διαύλου χλωρίου και συνήθως αναφέρονται ως μεταλλάξεις πύλης (gating mutations) Είναι παρερμηνεύσιμες μεταλλάξεις. Το κύριο παράδειγμα είναι η μετάλλαξη p.Gly551Asp η οποία μειώνει την πιθανότητα να είναι ανοιχτός ο δίαυλος κατά 100 φορές σε σχέση με το φυσιολογικό (Anderson and Welsh 1992) ενώ άλλες μεταλλάξεις της κλάσης αυτής είναι οι συχνές μεταλλάξεις p.Arg560Thr και p.Gly970Arg (Seibert et al. 1996; Zielenski 2000).

Κλάση IV: Οι μεταλλάξεις αυτής της κλάσης καταλήγουν σε μειωμένη αγωγιμότητα των ιόντων χλωρίου. Η *CFTR* πρωτεΐνη παράγεται και επεξεργάζεται φυσιολογικά. Κυκλοφορεί φυσιολογική ποσότητα της πρωτεΐνης αλλά έχει περιορισμένη λειτουργία στην άνω μεμβράνη των επιθηλιακών κυττάρων. Τέτοιες μεταλλάξεις οδηγούν συνήθως σε πιο ήπιο φαινότυπο καθώς υπάρχει μικρή ποσότητα λειτουργικής δραστηριότητας του

διαύλου χλωρίου (Zielenski 2000). Αυτές οι μεταλλάξεις βρίσκονται κυρίως στις περιοχές που διαπερνούν την μεμβράνη (MSD ή TMD) οι οποίες εμπλέκονται στην σύσταση του πόρου του διαύλου. Η μετάλλαξη p.Arg117His είναι η πιο καλά χαρακτηρισμένη μετάλλαξη της κατηγορίας (Fanen et al. 2014).

Κλάση V: Οι μεταλλάξεις αυτής της κλάσης προκαλούν μείωση στην σύνθεση και επηρεάζουν το μάτισμα του pre-mRNA. Αυτές οι μεταλλάξεις στις θέσεις ματίσματος μπορεί να επάγουν πλήρη ή μερική αποκοπή ενός εξονίου. Στην τελευταία περίπτωση, διατηρείται παραγωγή φυσιολογικού mRNA αλλά σε μικρότερες ποσότητες. Η πρωτεΐνη παράγεται, επεξεργάζεται και είναι λειτουργική αλλά σε μικρότερη ποσότητα από αυτήν που χρειάζεται για να αποτραπούν τα συμπτώματα της κυστικής ίνωσης. Το αποτέλεσμα αυτών των μεταλλάξεων είναι μειωμένη ποσότητα λειτουργικής CFTR στην άνω μεμβράνη των κυττάρων, γεγονός που οδηγεί σε πιο ήπιο φαινότυπο. Οι πιο κοινές μεταλλάξεις της κλάσης αυτής είναι αυτή που προκύπτει από τον πολυμορφισμό IVS8-5T και η 3849+10KbC>T (Zielenski 2000).

Κλάση VI: Οι μεταλλάξεις αυτής της κλάσης οδηγούν σε μειωμένη πρωτεϊνική σταθερότητα. Η CFTR πρωτεΐνη παράγεται, επεξεργάζεται και λειτουργεί αλλά εξαιτίας αστάθειας αδυνατεί να παράγει επαρκή δραστηριότητα του διαύλου χλωρίου. Οδηγούν σε πιο σοβαρό φαινότυπο (Zielenski 2000). Έχουν ως αποτέλεσμα μειωμένο χρόνο ημιζωής της πρωτεΐνης λόγω αστάθειας ενώ μπορούν επίσης να επηρεάσουν αρνητικά την ρύθμιση γειτονικών CFTR διαύλων στην κυτταρική επιφάνεια (Quintana-Gallego et al. 2014).



Normal CFTR	Class I	Class II	Class III	Class IV	Class V
	Defective Synthesis	Defective Processing or Maturation	Defective Regulation	Defective Conductance	Reduced Function and Synthesis
	Read-through Therapy Potentiators NMD Inhibitors <i>e.g. ataluren, aminoglycosides</i>	Proteostasis Strategy Correctors (+ potentiators) <i>e.g. lumacaftor, VX-661</i>	Potentiators <i>e.g. ivacaftor</i>	Potentiators <i>e.g. ivacaftor</i>	Splicing Modulators Potentiators
	G542X, W1282X, R553X, R1162X, E822X, 1717-1G>A, 711+1G>T, 621+1G>T	F508del, N1303K, I507del, R1066C, S549R, G85E	G178R, G551D, G551S, R560T, V520F, G970R, G1244E, S1255P, G1349D	R117H, R334W, R347P, R1070W	3272-26A>G, 3849+10kbC>T, A455E, D565G

Εικόνα 4: Κατηγοριοποίηση και περιγραφή των μεταλλάξεων της κυστικής ίνωσης σύμφωνα με την δομή της πρωτεΐνης CFTR και την λειτουργικότητά της. Απεικόνιση της περιοχής εντοπισμού της μετάλλαξης στο κύτταρο καθώς και του ελλείμματος δραστηριότητας που δημιουργεί. Συνήθεις μεταλλάξεις της κάθε κατηγορίας και πιθανές θεραπείες (Fanen P et al. Genetics of cystic fibrosis: CFTR mutation classifications toward genotype-based CF therapies. Int J Biochem Cell Biol, Jul;52:94-102, 2014)

ΔΙΑΓΝΩΣΗ

Η διάγνωση της κυστικής ίνωσης τίθεται με βάση τα κλινικά (φαινοτυπικά) χαρακτηριστικά σε συνδυασμό με βιοχημικούς και γενετικούς δείκτες για την δυσλειτουργία της CFTR πρωτεΐνης. Στον παρακάτω πίνακα φαίνονται τα διαγνωστικά κριτήρια για την κυστική ίνωση συγκεντρωτικά (De Boeck et al. 2006; Farrell et al. 2008).

Μία ή περισσότερες φαινοτυπικές κλινικές εκδηλώσεις
ή ιστορικό ΚΙ σε αδερφό
ή θετικός έλεγχος νεογνών (newborn screening)

και

Εργαστηριακή επιβεβαίωση διαταραχής CFTR: δύο θετικά τεστ ιδρώτα
>60meq/L

ή ανεύρεση δύο μεταλλάξεων σε θέση trans
ή παθολογική τιμή διαφοράς ρινικού δυναμικού

Η διάγνωση της ΚΙ πραγματοποιείται κατά μέσο όρο τους πρώτους 7 μήνες της ζωής σε ποσοστό 66% των ασθενών (FitzSimmons 1993). Αντίθετα σε ένα ποσοστό 3-17% των περιπτώσεων, αν και στις μισές από αυτές προϋπάρχουν τα κλασικά συμπτώματα της ασθένειας πριν τη συμπλήρωση του 1ου έτους, η διάγνωση καθυστερεί και πραγματοποιείται σε μεγαλύτερη ηλικία (Polu et al. 1990). Αυτό οφείλεται στο ότι η ΚΙ σε κάποιους ασθενείς εμφανίζεται με έναν άτυπο φαινότυπο που χαρακτηρίζεται, είτε από φυσιολογική παγκρεατική λειτουργία, είτε από ήπια συμπτώματα από το αναπνευστικό, είτε ακόμα και από οριακά (40-60mm/L) ή και φυσιολογικά (<40mm/L) επίπεδα ηλεκτρολυτών στον ιδρώτα. Έτσι κάποια περιστατικά διαφεύγουν της έγκαιρης διάγνωσης (Gaskin et al. 1982). Ο έλεγχος νεογνών γίνεται μέσω μέτρησης των επιπέδων ανοσοδραστικής τρυψίνης στο αίμα των νεογνών όπου σε περίπτωση κυστικής ίνωσης είναι αυξημένα. Το τεστ ιδρώτα με ποσοτική ιοντοφόρηση με πιλοκαρπίνη είναι ο βασικός έλεγχος για την επιβεβαίωση της διάγνωσης. Τιμές > 60meq/L σε τουλάχιστον 2 τεστ θέτουν την διάγνωση της κυστικής ίνωσης σε συνδυασμό πάντα και με τα υπόλοιπα κριτήρια που τέθηκαν παραπάνω (Rosenstein 1998; Rosenstein and Cutting 1998).

ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΟΛΟΓΙΑ

Οι κλινικές εκδηλώσεις της κυστικής ίνωσης έχουν μεγάλη μεταβλητότητα καθώς εμφανίζονται κάθε όλη την διάρκεια ζωής του ασθενούς ενώ ποικίλλει η ηλικία έναρξης κάποιων συμπτωμάτων καθώς και η σοβαρότητά τους.

Γαστρεντερικό σύστημα

Περίπου το 15% των βρεφών με κυστική ίνωση έχουν γεννηθεί με ειλεό από μηκώνιο, μια αποφρακτική δευτεροπαθή κατάσταση όπου το παχύ και λεπτό έντερο αποφράζονται από μαύρη, παχύρρευστη ουσία. Το 85-90% των βρεφών με κυστική ίνωση παρουσιάζουν ανεπαρκή και μη αποτελεσματική ανάπτυξη της εξωκρινούς μοίρας του παγκρέατος, η οποία μπορεί να είναι παρούσα είτε από την γέννηση είτε να εξελιχθεί κατά το πρώτο έτος της βρεφικής ανάπτυξης. Τα τυπικά συμπτώματα της ανεπαρκούς παγκρεατικής λειτουργίας είναι οι λιπαρές κενώσεις, το φούσκωμα και ο μετεωρισμός. Η

ανεπαρκής αποτελεσματικότητα της λειτουργίας του παγκρέατος οδηγεί σε στεατόρροια, μη απορρόφηση λιποδιαλυτών βιταμινών και τον υποσιτισμό (Ratjen and Doring 2003; Turcios 2005). Όταν η νόσος αναγνωρίστηκε για πρώτη φορά το 1938, το προσδόκιμο ζωής των ασθενών έφτανε μόλις μερικούς μήνες και ο θάνατος ακολουθούσε εξαιτίας του υποσιτισμού. Εφόσον ξεκίνησε να εφαρμόζεται η θεραπεία για την υποκατάσταση των παγκρεατικών ενζύμων, ο υποσιτισμός μπόρεσε να τεθεί υπό έλεγχο, ωστόσο η επαρκής πρόσληψη θερμίδων και η απορρόφηση των λιποδιαλυτών βιταμινών παραμένουν σημαντικές εκκρεμότητες για τον πλήρη έλεγχο των ασθενών. Οι πυκνότερες εντερικές εκκρίσεις, η δυσαπορρόφηση και η μειωμένη εντερική κινητικότητα μπορεί να οδηγήσουν σε άνω εντερική απόφραξη ή χρόνια δυσκοιλιότητα σε μεγαλύτερους ασθενείς. Η κακή απορρόφηση των λιποδιαλυτών βιταμινών (A, D, E και K) μπορεί να οδηγήσει σε δερματίτιδα, νευροπάθεια, απώλεια νυχτερινής όρασης, οστεοπόρωση. Οι ασθενείς βρίσκονται σε κίνδυνο απόφραξης των χοληφόρων που προκαλεί κώλυμα στην ροή της χολής ενώ η ατρησία των ενδοηπατικών χοληφόρων εμφανίζεται μόνο στο 15% των ασθενών, και συνήθως μέχρι την ηλικία των 15 ετών (Ratjen and Doring 2003; Feranchak 2004; Milla 1998; Mickle and Cutting 1998; Riedel 1997).

Αναπνευστικό σύστημα

Οι πνεύμονες των παιδιών που πάσχουν από κυστική ίνωση είναι υγιείς στην όψη κατά την γέννηση, ωστόσο γρήγορα μολύνονται και παρουσιάζουν στοιχεία φλεγμονής εξαιτίας των πολυμορφοπύρηνων κυττάρων που απαντώνται στο βρογχοκυψελικό έκπλυμα ακόμα και των μη συμπτωματικών παιδιών. Οι χρόνιες λοιμώξεις των αεραγωγών, που σε ορισμένες περιπτώσεις οδηγούν σε βρογχεκτασίες, υποξαιμία και οξεία υπερκαπνία, είναι το σήμα κατατεθέν της νόσου. Άλλες κλινικές εκδηλώσεις είναι ο χρόνιος παραγωγικός βήχας, η χρόνια παραρρινοκολπίτιδα και οι πολύποδες του ρινικού βλεννογόνου. Οι παθήσεις του πνεύμονα ευθύνονται για τουλάχιστον το 80% των θανάτων σε ασθενείς με κυστική ίνωση (Buzzetti et al. 2009). Συνήθως τα παιδιά με κυστική ίνωση μολύνονται ραγδαία από *Haemophilus influenzae* ή *Staphylococcus aureus* ή και από τα δύο, και μέσα σε μικρό

χρονικό διάστημα γίνονται οι κυρίαρχοι οργανισμοί στις αεροφόρους οδούς. Η εμμένουσα λοίμωξη οδηγεί στην παραγωγή και έκκριση κυτοκινών, οι οποίες στρατολογούν μεγάλο αριθμό ουδετερόφιλων πολυμορφοπύρηνων κυττάρων στις αεροφόρους οδούς. Η *P. aeruginosa* αυξάνει την μόλυνση και την φλεγμονή απελευθερώνοντας τοξίνες και άλλες ουσίες που διασπούν την επιφάνεια των πολυμορφοπύρηνων. Τα κύτταρα αυτά στην συνέχεια απελευθερώνουν τις δικές τους πρωτεΐνες οι οποίες επιδεινώνουν την όποια ήδη υπάρχουσα βλάβη έχει προκληθεί στα πολυμορφοπύρηννα στην συγκεκριμένη περιοχή. Στη συνέχεια, οι βακτηριακές τοξίνες και τα προϊόντα των κατεστραμμένων ουδετερόφιλων ωθούν την περαιτέρω στρατολόγηση των πολυμορφοπύρηνων, αυξάνουν την φλεγμονή και την βλάβη των ιστών. Το κατεστραμμένο DNA, προϊόν των κατεστραμμένων πολυμορφοπύρηνων οδηγεί στην αύξηση της παραγωγής πτυέλων (Khan et al. 1995; Rosenfeld et al. 2003). Οι αεροφόροι των ασθενών με κυστική ίνωση είναι επιρρεπείς στην ανάπτυξη της *P. aeruginosa* για διάφορους λόγους όπως: το ανεκτικό περιβάλλον εξαιτίας των προσκολλημένων βλεννώδων πλακών, η αυξημένη προσκόλληση βακτηριδίων στο επιθήλιο, η μειωμένη ανοσοποιητική απάντηση εναντίον του βακτηριακού φορέα. Υπό κανονικές συνθήκες η *P. aeruginosa* αναπτύσσεται ως ένα μη βλεννώδες στέλεχος το οποίο μπορεί να εξαιρεθεί από τον ίδιο τον ξενιστή ή με την χρήση αντιβιοτικών. Με τον καιρό, οι αποικίες της *P. aeruginosa* αναπτύσσουν ένα αλγινικό κάλυμμα και σχηματίζουν βίο-στρώματα. Αυτά τα βίο-στρώματα, μόλις αναπτυχθούν, είναι δύσκολο ή σχεδόν απίθανο να καταπολεμηθούν με απλά αντιβιοτικά. Υπάρχει επιβεβαιωμένα μεγαλύτερη πιθανότητα επιβίωσης για τους ασθενείς οι οποίοι δεν θα προσβληθούν από *P. aeruginosa*. Για αυτόν τον λόγο οι υπό ανάπτυξη θεραπείες στοχεύουν στο να πετύχουν προστασία από την μόλυνση με την χρήση εισπνεόμενων αντιβιοτικών με ή χωρίς την χρήση κινολονών (Hoiby et al. 2005; Taccetti et al. 2005; Treggiari et al. 2011). Επιπλέον, η μόλυνση των αεροφόρων οδών μπορεί να προκληθεί από άλλα παθογόνα, όπως *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *methicillin-resistant S aureus (MRSA)*, και άτυπα μυκοβακτήρια. Πολλά είδη *Burkholderia* έχουν αναπτύξει ανοχή στα αντιβιοτικά και μεταδίδονται εύκολα από άτομο σε άτομο. Η μόλυνση με *Burkholderia* είναι ικανή να προκαλέσει άμεση

πνευμονική δυσλειτουργία και να επιφέρει θάνατο. Σε ορισμένες περιπτώσεις μπορεί να προκληθεί θανατηφόρα βακτηριαιμία. Η *Burkholderia cenocepacia*, ένα στέλεχος της *Burkholderia*, είναι εξαιρετικά μεταδοτικό ενώ η λοίμωξη που προκαλεί συνδέεται με μια εντυπωσιακή επιδείνωση της υγείας, ίσως λόγω της ικανότητας να προκαλεί μια ισχυρή ανοσοαπόκριση από τον ξενιστή σε σχέση με άλλα είδη (Steinkamp et al. 2005). Περίπου το 15-20% των ασθενών με κυστική ίνωση είναι φορείς του *MRSA* και αυτή η αποικιοκρατία σχετίζεται με την υπολειτουργία των πνευμόνων. Η *S. maltophilia* έχει βρεθεί σε ένα μεγάλο ποσοστό ασθενών, ωστόσο δεν έχει αποδειχθεί καμία αρνητική επίδραση στην πνευμονική λειτουργικότητα ή την γενικότερη κλινική εικόνα. Άτυπα μυκοβακτήρια βρίσκονται μερικές φορές στις πνευμονικές εκκρίσεις των ασθενών, αλλά είναι ακόμα μη σαφές εάν αυτό αντιπροσωπεύει υπάρχουσα μόλυνση σε όλες τις περιπτώσεις ή σε ορισμένες απλά αποικία σαπροφάγων (Dasenbrook et al. 2008). Ένας άλλος οργανισμός ικανός να σχηματίσει αποικίες χωρίς όμως να επιφέρει λοίμωξη είναι ο *Aspergillus fumigatus*. Μια έντονη αλλεργική αντίδραση από αυτόν τον μύκητα ονομαζόμενη βρογχοπνευμονική ασπεργίλλωση, η οποία παρατηρείται σε 1-15% των ασθενών αλλά το ποσοστό ποικίλει ανάλογα με την γεωγραφική θέση (Stevens et al. 2003; Mastella et al. 2000).

Ενδοκρινικές διαταραχές

Η παγκρεατική δυσλειτουργία οφείλεται στην απόφραξη των ενδοπαγκρεατικών αγωγών εξαιτίας των παχύρρευστων εκκρίσεων. Η κανονική παγκρεατική λειτουργία βασίζεται στη σωστή λειτουργία της πρωτεΐνης CFTR, η οποία προάγει μέσω cAMP την ρύθμιση στην έκκριση του διττανθρακικού οξέος HCO_3^- κάνοντας τις παγκρεατικές εκκρίσεις πιο αραιές και αλκαλικές. Δυσλειτουργία του διαύλου CFTR έχει ως αποτέλεσμα μείωση της έκκρισης διττανθρακικού οξέος και μείωση των εκκρίσεων προκαλώντας διαταραχή στην εξωκρινή μοίρα του παγκρέατος και απόφραξη των παγκρεατικών πόρων με πρωτεϊνικά μόρια (Noone and Knowles 2001). Με τον καιρό το πάγκρεας υφίσταται αυτόλυση που σημαίνει αντικατάσταση των παγκρεατικών κυττάρων από λίπος. Όταν ένα συγκεκριμένο ποσοστό των κυττάρων πάψει να είναι λειτουργικό, ο ασθενής αναπτύσσει μη ανοχή στους

υδατάνθρακες καθώς η παραγωγή της ινσουλίνης δεν θα είναι επαρκής. Ο διαβήτης που σχετίζεται με την κυστική ίνωση (CFRD) δεν είναι ίδιος με τον τυπικό διαβήτη τύπου 1 ή 2. Πολλοί παράγοντες που σχετίζονται με την νόσο μπορούν να προκαλέσουν την μεταβολή του μεταβολισμού της γλυκόζης, μεταξύ άλλων η αυξημένη κατανάλωση ενέργειας, οξεία και χρόνια λοίμωξη, ανεπάρκεια γλυκαγόνης, ηπατική δυσλειτουργία, μειωμένη εντερική λειτουργικότητα. Καθώς η κυστική ίνωση εξελίσσεται με την ηλικία, οι γηραιότεροι ασθενείς είναι πιθανότερο να αναπτύξουν διαβήτη σχετιζόμενο με την νόσο ενώ το 30% των ασθενών ηλικίας πάνω των 25 έχει βρεθεί ότι παρουσιάζουν την νόσο. Παρόλα αυτά, σε μία έρευνα είχε βρεθεί πως σχεδόν το 40% των έφηβων ασθενών, οι οποίοι δεν είχαν διαγνωσθεί προηγουμένως πως πάσχουν από διαβήτη, βρέθηκαν να έχουν ανώμαλα αποτελέσματα στο τεστ ανοχής της γλυκόζης. Αξίζει να σημειωθεί πως οι γυναίκες ασθενείς, που έχουν εν εξελίξει διαβήτη, παρουσιάζουν χειρότερο προσδόκιμο ζωής από τους αντίστοιχους άντρες ασθενείς (Marshall et al. 2005). Υπάρχει μια συσχέτιση μεταξύ του διαβήτη και των σοβαρότερων πνευμονοπαθειών. Εξαιτίας αυτού, κάθε ασθενής ανεξαρτήτου ηλικίας ο οποίος παρουσιάζει πιο συχνές πνευμονικές παροξύνσεις και έχει ένα μη ικανοποιητικό διατροφικό προφίλ θα πρέπει να εξετάζεται για διαβήτη. Ο περιοδικός έλεγχος όλων των ασθενών με κυστική ίνωση που θα καταγράφει την τυχαία συγκέντρωση της γλυκόζης θα έπρεπε να γίνεται, όπως επίσης και ένας ετήσιος έλεγχος ανοχής στην γλυκόζη για τους ασθενείς από δέκα ετών και άνω (Elder et al. 2007; Milla et al. 2005). Η οστεοπόρωση οφειλόμενη στην έλλειψη της απορρόφησης βιταμίνης D, οι χρόνιες φλεγμονές και η θεραπευτική χρήση κορτικοστεροειδών αναγνωρίζονται όλο και πιο συχνά ως επιπλοκές της κυστικής ίνωσης. Η οστεοπενία ξεκινά στην παιδική ηλικία αλλά γενικότερα εκδηλώνεται στην ενήλικη ζωή. Η απορρόφηση των οστών τείνει να ξεπεράσει τον σχηματισμό νέων οστών ακόμα και σε κλινικά σταθερούς ασθενείς (Aris et al. 2005).

Αναπαραγωγικό σύστημα

Ο σπερματικός πόρος στους άρρενες ασθενείς είναι πολύ επιρρεπής στην δυσλειτουργία της CFTR πρωτεΐνης. Σχεδόν όλοι οι άντρες ασθενείς (~98%),

πάσχοντες από την κλασική μορφή της κυστικής ίνωσης, παρουσιάζουν αζωοσπερμία και είναι στείροι εξαιτίας της ατροφίας ή απόφραξης του σπερματικού πόρου, κάτι το οποίο συναντάται και σε ασθενείς που φέρουν μόνο μία μετάλλαξη στο γονίδιο *CFTR*. Παρόλα αυτά η σπερματογένεση συνεχίζει να γίνεται κανονικά. Οι γυναίκες ασθενείς είναι αναπαραγωγικές. Ωστόσο υπάρχουν κάποιες διαφωνίες σχετικά με την επίδραση της ασθένειας στην εγκυμοσύνη και αφορούν το κατά πόσο μία γυναίκα με μη επαρκή θρεπτικά συστατικά και αποθέματα οξυγόνου μπορεί να ολοκληρώσει την εγκυμοσύνη ενώ μπορεί να παρατηρηθεί και υπογονιμότητα λόγω διαταραχής σύστασης της τραχηλικής βλέννης (Boyle 2003; Yankaskas et al. 2004).

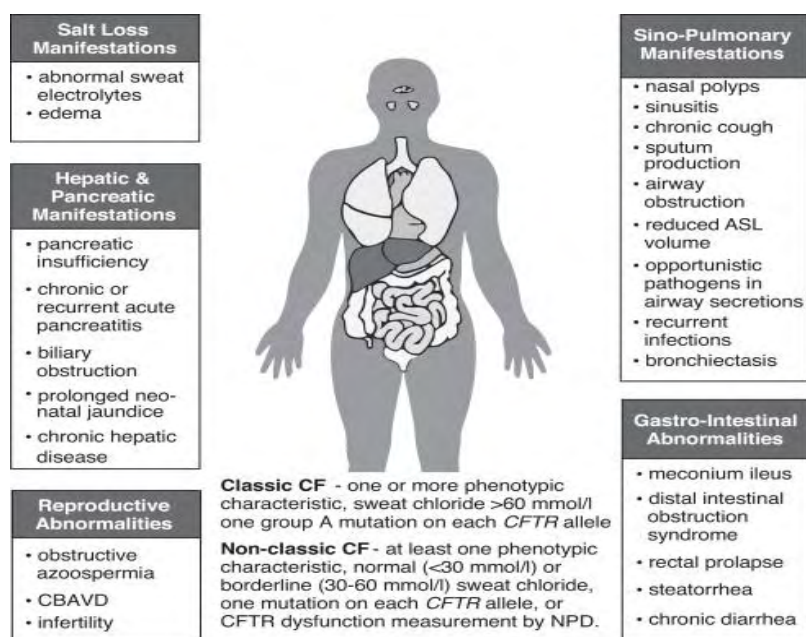
Ιδρωτοποιοί αδένες

Ο ιδρώτας των ασθενών με κυστική ίνωση έχει υψηλή συγκέντρωση χλωρίου και νατρίου, περίπου πέντε φορές πάνω από τα φυσιολογικά όρια. Αυτή η ιδιαιτερότητα είναι το κλειδί για την καθιέρωση του τεστ ιδρώτα ως διαγνωστικού στοιχείου για την πάθηση. Σε θερμά κλίματα οι υπερβολικές απώλειες άλατος στον οργανισμό μπορεί να οδηγήσουν σε μεταβολική αλκάλωση και θερμική εξάντληση (αφυδάτωση) (Buzzetti et al. 2009; Farrell et al. 2008).

Άτυπες μορφές κυστικής ίνωσης

Παραδείγματα μονοσυμπτωματικών μορφών της νόσου αποτελούν η ανδρική στειρότητα εξαιτίας συγγενούς αμφοτερόπλευρης έλλειψης των σπερματικών πόρων (CBAVD), η ιδιοπαθής χρόνια ή οξεία παγκρεατίτιδα (ICP και ARP), η παραρρινοκολπίτιδα, οι διάχυτες βρογχεκτασίες, η χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια και το άσθμα. Ασθενείς με αυτές τις μορφές της κυστικής ίνωσης συνήθως εμφανίζουν παγκρεατική επάρκεια (Kanavakis et al. 1998; Tzetzis et al. 2001; Noone and Knowles 2001; Clausters 2005; Ahmed et al. 2005). Άτομα με άτυπες μορφές της κυστικής ίνωσης έχουν φυσιολογικά ή οριακά αποτελέσματα στο τεστ ιδρώτα και συχνά είναι διπλοί ετεροζυγώτες μιας βαριάς και μιας ήπιας μετάλλαξης (των ομάδων 4 και 5) ή είναι ομοζυγώτες για τον πολυμορφισμό IVS8-5T. Κοντά στο 3' άκρο του ιντρονίου 8 στην θέση αποδέκτη υπάρχει μια σειρά από 5, 7 ή 9 θυμιδίνες (5T, 7T ή 9T).

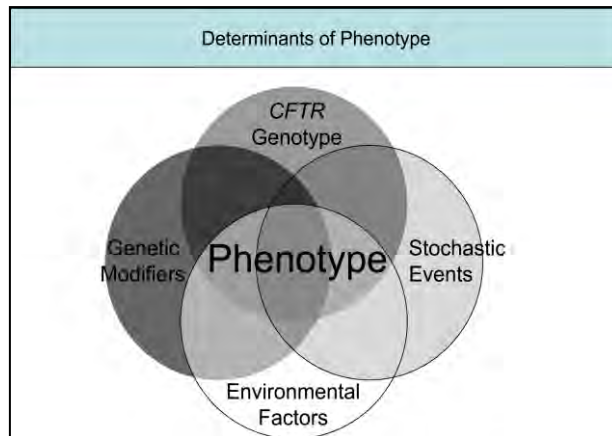
Όταν υπάρχουν 7 ή 9 θυμιδίνες γίνεται σωστά το μάτισμα του εξονίου 9 και παράγεται φυσιολογικό mRNA. Όταν, όμως, υπάρχουν 5 θυμιδίνες (πολυμορφισμός IVS8-5T), εμποδίζεται η παραμονή του εξονίου 9 στο *CFTR* γονίδιο και παράγεται μόνο 5-10% φυσιολογικό λειτουργικό mRNA. Η κωδικοποιούσα περιοχή 9 του γονιδίου είναι σημαντική για την παραγωγή λειτουργικής πρωτεΐνης (Strong et al. 1993). Ο συγκεκριμένος πολυμορφισμός συναντάται συχνά σε μορφές ανδρικής στειρότητας (CBAVD) αλλά και σε άλλες άτυπες μορφές της νόσου (Groman et al. 2004).



Εικόνα 5: Κλινικό φάσμα εκδηλώσεων της κυστικής ίνωσης (Fanen P et al. Genetics of cystic fibrosis: *CFTR* mutation classifications toward genotype-based CF therapies. Int J Biochem Cell Biol Jul;52:94-102, 2014)

ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΓΟΝΟΤΥΠΟΥ- ΦΑΙΝΟΤΥΠΟΥ

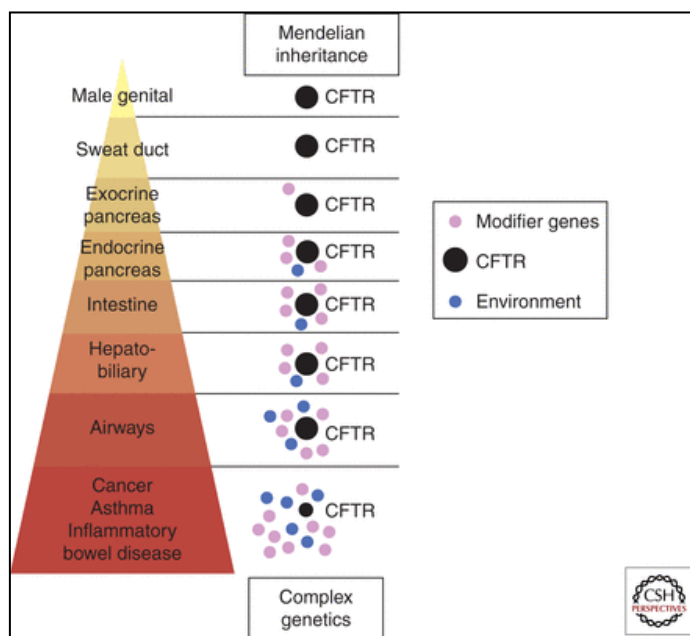
Η κυστική ίνωση είναι ένα μονογονιδιακό νόσημα το οποίο παρουσιάζει μεγάλη κλινική ετερογένεια. Αυτή η ετερογένεια δεν μπορεί να δικαιολογηθεί αποκλειστικά και μόνο από τις μεταλλάξεις και τους πολυμορφισμούς του υπεύθυνου *CFTR* γονιδίου. Γι' αυτόν τον λόγο έχει προταθεί ένα μοντέλο σύμφωνα με το οποίο στην διαμόρφωση του φαινοτύπου της νόσου εμπλέκονται τροποποιητικά γονίδια, περιβαλλοντικοί παράγοντες καθώς και ο συνδυασμός όλων αυτών των παραγόντων (Knowles and Drumm 2012)



Εικόνα 6: Πολλοί παράγοντες συνεισφέρουν στην καθιέρωση του φαινοτύπου της ΚΙ (Collaco and Cutting. Update on gene modifiers in cystic fibrosis. *Curr Opin Pulm Med.*; 14(6): 559–566, 2008)

Πιο αναλυτικά, ο βαθμός συσχέτισης μεταξύ του CFTR γονότυπου και του φαινότυπου διαφέρει ανάλογα με το οργανικό σύστημα (Mickle and Cutting 2000). Το όργανο που είναι πιο ευαίσθητο στην CFTR δυσλειτουργία είναι ο σπερματικός πόρος και αυτό φαίνεται καθώς άτομα που φέρουν ήπιες μεταλλάξεις των κλάσεων IV ή V (κυρίως την R117H) εμφανίζουν συγγενή αμφοτερόπλευρη έλλειψη του σπερματικού πόρου (CBAVD) ως το μόνο σύμπτωμα της νόσου (Wolfenden and Schechter 2009). Οι μεταλλάξεις του CFTR γονιδίου διακρίνονται σε ήπιες (κλάσεις IV ή V), οι οποίες συσχετίζονται με υπολειπόμενη CFTR λειτουργία και οδηγούν σε παγκρεατική επάρκεια και λιγότερο υψηλά επίπεδα χλωρίου στον ιδρώτα και σε σοβαρές (κλάσεις I–III και VI) οι οποίες σχετίζονται με πλήρη ή σχεδόν πλήρη έλλειψη της CFTR λειτουργίας (<3%) και οδηγούν σε παγκρεατική ανεπάρκεια, υψηλότερα ποσοστά πνευμονικής λοίμωξης και μεγαλύτερη θνησιμότητα (Kubesch et al. 1993; Koch et al. 2001; Ahmed et al. 2003; McKone et al. 2003; Green et al. 2010). Η παγκρεατική λειτουργία εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τον CFTR γονότυπο σε αντίθεση με τον αναπνευστικό φαινότυπο για τον οποίο η συσχέτιση γονότυπου-φαινότυπου είναι χαμηλή. Αυτό συμβαίνει γιατί επηρεάζεται και από άλλους παράγοντες γενετικούς (τροποποιητικά γονίδια) και μη (περιβάλλον) (Ferec and Cutting 2012). Μελέτες διδύμων και αδερφών με κυστική ίνωση επιβεβαίωσαν την υπόθεση ότι γενετικοί παράγοντες συνεισφέρουν ουσιαστικά στην διακύμανση της πνευμονικής λειτουργίας

(Mekus et al. 2000; Vanscoy et al. 2007). Πολλές μελέτες έχουν γίνει για την εύρεση τροποποιητικών γονιδίων του φαινοτύπου της κυστικής ίνωσης ακολουθώντας διάφορες μεθόδους έρευνας. Επιπλέον, οι μελέτες διδύμων που δεν μοιράζονται το ίδιο περιβάλλον έδειξαν ότι μη γενετικοί (περιβαλλοντικοί και στοχαστικοί) παράγοντες συμβάλλουν εξίσου στην διακύμανση του αναπνευστικού φαινότυπου (Collaco et al. 2010). Τέτοιοι περιβαλλοντικοί παράγοντες είναι το φύλο, το κοινωνικοοικονομικό επίπεδο, η έκθεση σε καπνό και άλλους ρύπους, η έκθεση σε λοιμώξεις, η ηλικία διάγνωσης και η αυτοδιαχείριση της νόσου από τον κάθε ασθενή (Wolfenden and Schechter 2009).



Εικόνα 7: Σχηματική απεικόνιση του μεγέθους της επίδρασης του CFTR γονότυπου σε σχέση με περιβαλλοντικούς παράγοντες και τροποποιητικά γονίδια (Knowles M and Drumm M. The influence of genetics on cystic fibrosis phenotypes. Cold Spring Harb Perspect Med ;2:a009548, 2012)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Β: ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΤΙΚΑ ΓΟΝΙΔΙΑ ΤΟΥ ΦΑΙΝΟΤΥΠΟΥ ΤΗΣ ΚΥΣΤΙΚΗΣ ΙΝΩΣΗΣ

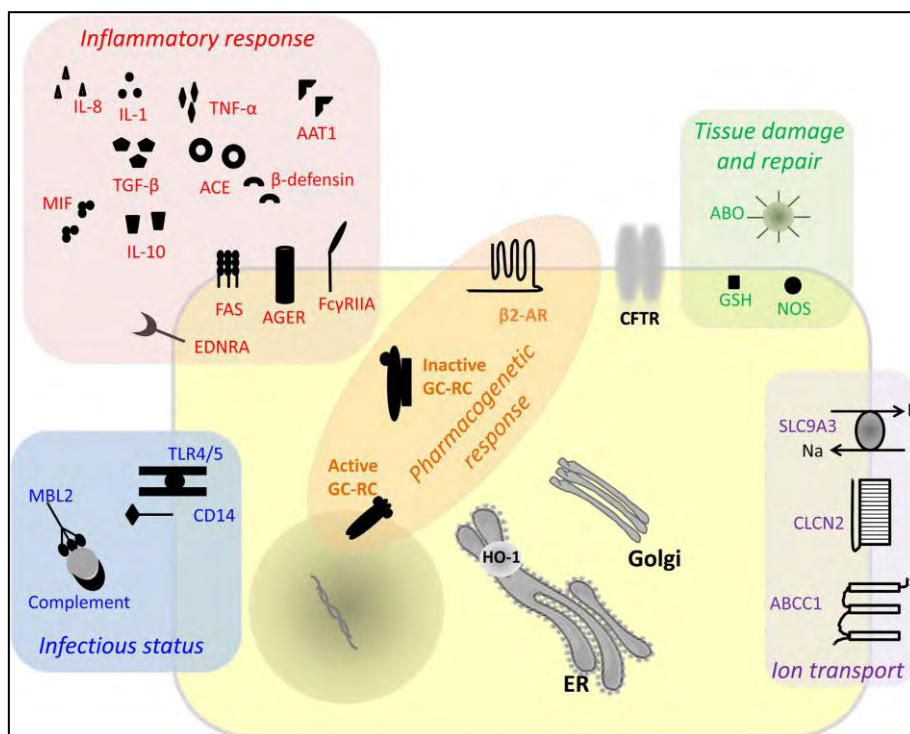
ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΟΣ ΦΑΙΝΟΤΥΠΟΣ

Ένας από τους πιο μελετημένους φαινοτύπους της κυστικής ίνωσης είναι η πνευμονοπάθεια καθώς η αναπνευστική δυσλειτουργία είναι η βασική αιτία θνητότητας και θνησιμότητας στην κυστική ίνωση. Μέχρι στιγμής οι μελέτες ακολουθούν δύο γενετικές προσεγγίσεις: 1) την “a priori” προσέγγιση, δηλαδή τις μελέτες υποψήφιων γονιδίων όπου τα γονίδια που επιλέγονται για διερεύνηση συσχετίζονται εκ των προτέρων με την παθοφυσιολογία της κυστικής ίνωσης και 2) την “without a priori” προσέγγιση, δηλαδή αναλύσεις ολόκληρου του γονιδιώματος που γίνονται μέσω μελετών σύνδεσης (linkage) και μελετών συσχέτισης ολόκληρου του γονιδιώματος (genome-wide association studies-GWAS) ή αναλύσεις του συνόλου των εξονίων μέσω exome sequencing (Guillot et al. 2014).

Μελέτες υποψήφιων γονιδίων

Τα κλινικά χαρακτηριστικά της κυστικής ίνωσης χαρακτηρίζονται ως χρόνια λοίμωξη και φλεγμονή των αεραγωγών, παγκρεατική ανεπάρκεια και αύξηση στην συγκέντρωση των ηλεκτρολυτών στον ιδρώτα (Davis et al. 1996). Είναι πλέον γνωστό ότι η CFTR πρωτεΐνη λειτουργεί ως δίαυλος ιόντων χλωρίου και εμπλέκεται στην διατήρηση ισορροπίας υγρών και ηλεκτρολυτών στο επιθήλιο. Η μείωση της λειτουργίας της πρωτεΐνης έχει ως αποτέλεσμα αυξημένη απορρόφηση νατρίου και μειωμένη έκκριση χλωρίου στο αναπνευστικό επιθήλιο, γεγονός που οδηγεί σε αφυδατωμένη, κολλώδη βλέννη στους αεραγωγούς. Αυτό το περιβάλλον δημιουργεί τις κατάλληλες συνθήκες ανάπτυξης βακτηρίων. Οι αεραγωγοί είναι ιδιαίτερα επιδεκτικοί σε λοίμωξη από την *Pseudomonas aeruginosa* αλλά και από άλλα μικρόβια όπως *Staphylococcus aureus* (*S.Aureus*) και *Aspergillus fumigatus* (*A. fumigatus*). Ο ξενιστής αποκρίνεται στην λοίμωξη μέσω της φλεγμονής. Η φλεγμονή χαρακτηρίζεται από διήθηση από ουδετερόφιλα, τα οποία

απελευθερώνουν μεγάλες ποσότητες DNA, ακτίνης, οξειδωτικών προϊόντων και πρωτεασών όπως είναι η ελαστάση. Οι φυσικοί αντιοξειδωτικοί και αντιπρωτεασικοί μηχανισμοί των πνευμόνων δεν μπορούν να ανταποκριθούν σωστά και έτσι προκύπτει βλάβη των εμπλεκόμενων ιστών. Οι πνεύμονες αντιδρούν στην βλάβη αυτή σηματοδοτώντας την ανακατασκευή των ιστών μέσω της παραγωγής εξωκυττάριας ουσίας. Αυτό οδηγεί σε έναν φαύλο κύκλο λοίμωξης των αεραγωγών, φλεγμονής και αλλοίωσης των ιστών ο οποίος είναι τελικά ο υπεύθυνος για την πρόκληση πνευμονοπάθειας και κατ'επέκταση την θνησιμότητα της κυστικής ίνωσης (Davis et al. 1996; Chmiel et al. 2002). Γενικά, αυτά τα δεδομένα της παθοφυσιολογίας του αναπνευστικού φαινοτύπου εξηγούν την επιλογή ως υποψήφιων τροποποιητικών γονιδίων, γονιδίων που εμπλέκονται στην φλεγμονώδη απάντηση, στην απόκριση του οργανισμού σε λοίμωξη, στην βλάβη και επιδιόρθωση του επιθηλιακού ιστού, την φαρμακογενετική απάντηση και την μεταφορά ιόντων. Στην εικόνα που ακολουθεί φαίνονται σχηματικά οι κατηγορίες των τροποποιητικών γονιδίων καθώς και τα κυριότερα γονίδια που τροποποιούν τον αναπνευστικό φαινότυπο στην κυστική ίνωση (Guillot et al. 2014).



Εικόνα 8: Υποψήφια τροποποιητικά γονίδια του αναπνευστικού φαινοτύπου της ΚΙ και φυσιοπαθολογικοί μηχανισμοί. Τα γονίδια έχουν κατηγοριοποιηθεί στις εξής κατηγορίες: φλεγμονώδης απάντηση, απάντηση σε λοιμώξεις, φαρμακογενετική απόκριση, βλάβες και επιδιόρθωση ιστών και μεταφορά ιόντων (Guillot L et al. Lung disease modifier genes in cystic fibrosis. Int J Biochem Cell Biol <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocel.2014.02.011>, 2014)

Τροποποιητικά γονίδια που εμπλέκονται στην φλεγμονώδη απάντηση του οργανισμού

Γενικά, η αποδιοργάνωση της φλεγμονώδους απάντησης (με μια συνολική αύξηση σε προφλεγμονώδεις και μείωση σε αντιφλεγμονώδεις αποκρίσεις) θεωρείται το κλειδί στην διαμόρφωση της πνευμονικής παθοφυσιολογίας στην κυστική ίνωση (Stecenko et al. 2001; Corvol et al. 2003). Τα τροποποιητικά γονίδια αυτής της κατηγορίας διακρίνονται σε δύο υποκατηγορίες: τις κυτοκίνες, στις οποίες περιλαμβάνονται ο αυξητικός παράγοντας μετασχηματισμού Β1 (TGFB1), οι ιντερλευκίνες 8, 1Β, 10 και ο παράγοντας νέκρωσης όγκων-α (TNF-α) καθώς και άλλα γονίδια που σχετίζονται με την φλεγμονή όπως τα γονίδια του συστήματος HLA, η α-1 αντιθρυψίνη και ο υποδοχέας AGER.

TGFB1

Το γονίδιο *TGFB1* βρίσκεται στην θέση 19q13.1-q13.3 και κωδικοποιεί την αντίστοιχη πρωτεΐνη TGFβ1 (transforming growth factor beta 1). Ο παράγοντας TGFβ1 είναι μία πρωτεΐνη που εμπλέκεται σε διάφορες διαδικασίες όπως κυτταρική ανάπτυξη και διαφοροποίηση, φλεγμονή και ίνωση των ιστών (Blöbe et al. 2000; Bartram και Speer 2004). Μελέτες σε πειραματόζωα και ανθρώπους έχουν δείξει ότι αυξημένη παραγωγή του παράγοντα TGFβ1 σχετίζεται με ανάπτυξη ίνωσης των πνευμόνων σε απάντηση σε διάφορους φλεγμονώδεις μεσολαβητές (El-Gamel et al. 1999; Liu et al. 2001). Εκτός από την κυστική ίνωση, ο παράγοντας TGFβ1 έχει αποδειχθεί πως τροποποιεί τον κίνδυνο και για άλλες ασθένειες του αναπνευστικού, όπως το άσθμα και η χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια (Pulley et al. 2001; Wu et al. 2004; Silverman et al. 2004). Ο παράγοντας TGFβ1 συνδέεται βιολογικά με την κυστική ίνωση με διάφορους τρόπους. Τα

λευκοκύτταρα εκκρίνουν TGFβ1 ως απάντηση σε μολυσματικούς παράγοντες. Ο TGFβ1 συμμετέχει στην ανοσοποιητική διαδικασία ρυθμίζοντας την παραγωγή κυτοκινών και γενικά θεωρείται προφλεγμονώδης στην φύση (Omer et al. 2003). Ο TGFβ1 επίσης αυξάνει τον σχηματισμό εξωκυττάριου ιστού κατά την επιδιόρθωση βλαβών αυξάνοντας την παραγωγή συνδετικού ιστού τροποποιώντας την γονιδιακή ρύθμιση. Η επιδιόρθωση μετά από τραυματισμό του πνεύμονα είναι μια λεπτή διαδικασία όπου ανεπαρκής αναδιαμόρφωση οδηγεί σε μη σωστή επούλωση, ενώ υπερβολική αναδιαμόρφωση οδηγεί σε παθολόγο ίνωση και ουλές. Υπάρχουν ισχυρά δεδομένα που υποστηρίζουν ότι οι διαφορές στα αποτελέσματα αυτά σχετίζονται έστω και μερικώς με τα επίπεδα έκφρασης του παράγοντα TGFβ1 (Bartram and Speer 2004). Μια πρόσφατη μελέτη έδειξε έναν άλλο μηχανισμό με τον οποίο συνδέεται ο TGFβ1 με την πνευμονοπάθεια της κυστικής ίνωσης μέσω διαφοροποίησης μυοϊνοβλαστών. Στην κυστική ίνωση η σηματοδότηση του TGFβ1 και η διαφοροποίηση των μυοϊνοβλαστών είναι αυξημένες. Σε φυσιολογικές καταστάσεις οι μυοϊνοβλάστες συμβάλλουν στην επούλωση και έπειτα υπόκεινται σε απόπτωση. Εάν συνεχιστεί η έκφρασή τους προκύπτει ίνωση και μπορεί με αυτόν τον τρόπο να συμβάλλουν στην τροποποίηση της πνευμονοπάθειας στην κυστική ίνωση (Harris et al. 2013). Πολλές μελέτες έχουν γίνει για τον ρόλο του TGFβ1 στην κυστική ίνωση αλλά μόνο μία κατάφερε να εξάγει συμπεράσματα με στατιστική σημαντικότητα λόγω μεγάλου πληθυσμού συμμετεχόντων (Bremer et al. 2008). Η ομάδα του Bremer το 2008 μελέτησε την συσχέτιση μεταξύ πολυμορφισμών του γονιδίου του *TGFB1* και της σοβαρότητας της κλινικής εικόνας ασθενών με κυστική ίνωση στο αναπνευστικό σύστημα και πιο συγκεκριμένα στην πνευμονική λειτουργία. Ασχολήθηκε με διάφορους πολυμορφισμούς του συγκεκριμένου γονιδίου αλλά συσχέτιση βρέθηκε μόνο για τους εξής δύο: rs1800469 ή '509C>T' στον υποκινητή και rs1982073 ή 'κωδικόνιο 10'. Πιο συγκεκριμένα, ο γονότυπος -509TT σχετίζεται τόσο με την σοβαρότητα όσο και με την διάγνωση του άσθματος (Pulleyn et al. 2001; Silverman et al. 2004) ενώ οι πολυμορφισμοί -509C και κωδικόνιο 10T έχουν προστατευτική δράση έναντι της χρόνιας αποφρακτικής πνευμονοπάθειας (Wu et al. 2004; Celedon et al. 2004; van Diemen et al. 2006). Οι δύο παραπάνω πολυμορφισμοί έχουν

συσχετιστεί με μεγαλύτερη γονιδιακή και πρωτεϊνική έκφραση του *TGFB1* (Yamada et al. 1998; Grainger et al. 1999; Suthanthiran et al. 2000; Luedeking et al. 2000; Dunning et al. 2003; Shah et al. 2006) ο οποίος προωθεί την ινογένεση προάγοντας την παραγωγή εξωκυττάριας ουσίας (Igotz et al. 1986) και αναστέλλοντας την αποδόμησή της (Overall et al. 1989). Η πνευμονοπάθεια συσχετίζεται με την διατροφική κατάσταση του ασθενούς, όμως η μελέτη της ομάδας του Bremer έδειξε συσχέτιση του γονιδίου *TGFB1* μόνο με την σοβαρότητα της πνευμονοπάθειας και όχι με την διατροφική κατάσταση του ασθενούς. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν πως τα αλληλόμορφα -509T και κωδικόνιο 10C οδηγούν σε μειωμένο FEV₁ (Forced Expiratory Volume in 1 second) και χαμηλότερη αναπνευστική λειτουργία, γεγονός που εναρμονίζεται με τα αποτελέσματα προγενέστερης μελέτης του Drumm (Drumm et al. 2005; Bremer et al. 2008). Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός πως το γονίδιο *TGFB1* έχει μεγαλύτερη τροποποιητική δράση σε ασθενείς ομοζυγώτες για άλλες μεταλλάξεις πλην της πλέον συχνής F508del. Αυτό υποδεικνύει πως η ομοζυγωτία για την μετάλλαξη F508del δημιουργεί περιβάλλον στους πνεύμονες όχι τόσο δεκτικό στην δράση του τροποποιητικού γονιδίου *TGFB1*. Το πιο εντυπωσιακό ωστόσο εύρημα της μελέτης του Bremer είναι η ανακάλυψη ενός απλότυπου που οδηγεί σε ηπιότερη πνευμονοπάθεια σε ασθενείς με ΚΙ. Πιο συγκεκριμένα, αποδείχτηκε πως ο απλότυπος -509C- κωδικόνιο 10T- ιντρόνιο 5C (αλλιώς rs8179181) οδηγεί σε καλύτερη πνευμονική λειτουργία σε ασθενείς ομοζυγώτες για άλλες μεταλλάξεις πλην της F508del (Bremer et al. 2008). Αξίζει να σημειωθεί και μια μελέτη οικογενειών που συσχέτισε την αλληλεπίδραση ενός περιβαλλοντικού παράγοντα όπως η έκθεση σε παθητικό κάπνισμα με το *TGFB1* γονίδιο και την αναπνευστική λειτουργία στην κυστική ίνωση. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν πως το παθητικό κάπνισμα οδηγεί σε μείωση κατά 22,7% της πνευμονικής λειτουργίας σε άμεσο χρόνο σε ασθενείς με τον γονότυπο TT στον πολυμορφισμό -509 στον υποκινητή του *TGFB1* σε σχέση πάντα με τους ομοζυγώτες για το TT που δεν εκτέθηκαν σε κάπνισμα. Επιπλέον, βρέθηκε πως οι ομοζυγώτες για τον γονότυπο CC του κωδικονίου 10 στο γονίδιο *TGFB1* που εκτέθηκαν σε παθητικό κάπνισμα υφίστανται μείωση της πνευμονικής λειτουργίας κατά 20,3 ποσοστιαίες μονάδες σε σχέση

με τους μη εκτιθέμενους (Collaco et al. 2008). Γενικά, έχουν πραγματοποιηθεί πολλές μελέτες του ρόλου του γονιδίου *TGFB1* στον αναπνευστικό φαινότυπο της ΚΙ (Arkwright et al. 2000, 2003; Brazova et al. 2006; Bremer et al. 2008; Corvol et al. 2008; Drumm et al. 2005; De Faria et al. 2009) και παρόλα τα αντικρουόμενα αποτελέσματα, το *TGFB1* γονίδιο έχει καθιερωθεί ως τροποποιητικό γονίδιο της πνευμονοπάθειας στην ΚΙ (Weiler and Drumm 2013). Στον παρακάτω πίνακα εμφανίζονται συγκεντρωτικά τα ευρήματα από τις κύριες μελέτες για το γονίδιο *TGFB1* (Guillot et al. 2014).

ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΙ <i>TGFB1</i>	ΑΡΙΘΜΟΣ ΑΣΘΕΝΩΝ/ΓΟΝΟΤΥ- ΠΟΣ CFTR	ΦΑΙΝΟΤΥΠΟΣ	ΑΝΑΦΟΡΕΣ
c.869T	171 (F508del)	Αυξημένος ρυθμός μείωσης FEV ₁	Arkwright et al. (2000)
c.915C	261 (ποικίλος)	Πιο σοβαρή πνευμονοπά- θεια	Arkwright et al. (2003)
c.869C και -509T	808 (F508del)	Πιο σοβαρή πνευμονοπά- θεια	Drumm et al. (2005)
c.869C και c.915C	118 (ποικίλος)	Όχι συσχέτιση με βαρύτητα πνευμονοπάθε- ιας	Brazova et al. (2006)
ΑΠΛΟΤΥΠΟΣ [-509C; ιντρόνιο 5 C; 869T]	472 trios (ποικίλος)	Αύξηση FEV ₁	Bremer et al. (2008)
869TC ετεροζυγώτες	329 (ποικίλος)	Αυξημένος ρυθμός μείωσης FEV ₁	Corvol et al. (2008)
869TC	105 (ποικίλος)	Αύξηση FEV ₁	De Faria et

ετεροζυγώτες			al. (2009)
--------------	--	--	------------

Πίνακας: Ευρήματα από τις βασικές μελέτες για το γονίδιο *TGFB1* (Arkwright et al. 2000, 2003; Drumm et al. 2005; Brazova et al. 2006; Bremer et al. 2008; Corvol et al. 2008; de Faria et al. 2009; Guillot et al. 2014).

Ιντερλευκίνη 8

Η ιντερλευκίνη 8 είναι μια χημειοκίνη, μέλος της οικογένειας χημειοκινών CXC, που παράγεται από το αντίστοιχο γονίδιο *IL8* το οποίο εδράζεται στην θέση 4q13-21. Παράγεται από μακροφάγα και άλλα κύτταρα όπως τα επιθηλιακά κύτταρα, τα λεία μυϊκά κύτταρα των αεραγωγών και τα ενδοθηλιακά (Hedges et al. 2000; Modi et al. 1990). Η *IL-8* είναι ισχυρότατος χημειοτακτικός παράγοντας ουδετερόφιλων με δύο βασικές λειτουργίες. Πρώτον, επάγει την χημειοταξία σε κύτταρα στόχους κυρίως των ουδετερόφιλων αλλά και άλλων κοκκιοκυττάρων προκαλώντας την μετανάστευσή τους στην περιοχή της λοίμωξης και δεύτερον, επάγει την φαγοκυττάρωσή τους μετά την άφιξή τους στο σημείο (Modi et al. 1990). Στην κυστική ίνωση παρατηρούνται αυξημένα επίπεδα ιντερλευκίνης 8 (Bonfield et al. 1999; Bonfield et al. 1995). Η Hillian και οι συνεργάτες της με μελέτη που δημοσίευσαν το 2008 έδειξαν πως τρεις πολυμορφισμοί του γονιδίου της ιντερλευκίνης 8 συσχετίζονται με τον βαθμό σοβαρότητας της πνευμονοπάθειας στην κυστική ίνωση, οι οποίοι είναι οι εξής: rs4073 (*IL8* -251T/A) στον υποκινητή του γονιδίου και rs2227306 (*IL8* 781C/T) και rs2227307 (*IL8* 396T/G) σε ιντρόνια (Hillian et al. 2008). Η μελέτη αυτή έδειξε ότι το αλληλόμορφο rs4073A διαδραματίζει προστατευτικό ρόλο στην αναπνευστική κατάσταση των ασθενών με ΚΙ ενώ το rs4073T σχετίζεται με χειρότερο αναπνευστικό φαινότυπο. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός πως τα αποτελέσματα βρέθηκαν να είναι χειρότερα για τους άρρηνες ασθενείς, χωρίς ωστόσο να έχει βρεθεί κάποια εξήγηση για αυτήν την διαφορά στα δύο φύλα. Πιο συγκεκριμένα, στους πληθυσμούς που μελετήθηκαν ο σχετικός κίνδυνος για πιο σοβαρή πνευμονοπάθεια για ασθενείς ομοζυγώτες για το επιβαρυντικό αλληλόμορφο του πολυμορφισμού rs4073 είναι 1,7 (P=0,04) ενώ αυξάνει στο 2,25 (P=0,001) όταν αναφερόμαστε αποκλειστικά σε άρρηνες ασθενείς. Επιπλέον, το αλληλόμορφο rs4073T επάγει 2 με 3 φορές αύξηση

στην μεταγραφική δραστηριότητα σε σχέση με το rs4073A αλληλόμορφο. Αυτή η αύξηση ίσως να μην φαίνεται βιολογικά σημαντική, όμως πρέπει να συνυπολογιστεί το γενικότερο πλαίσιο που δημιουργεί η κυστική ίνωση. Όπως έχει ήδη αναφερθεί, η ιντερλευκίνη 8 είναι αυξημένη στην κυστική ίνωση. Εάν λάβουμε υπόψη ένα σενάριο κατά το οποίο αυξημένα επίπεδα IL-8 συνδέονται με σοβαρή πνευμονοπάθεια, τότε έχει απόλυτη βάση η υπόθεση ότι μια μέτρια αλλά σημαντική και χρόνια αύξηση της ιντερλευκίνης 8 μπορεί να οδηγήσει σε μια πιο σοβαρή πνευμονοπάθεια (Hillian et al. 2008). Άλλη μελέτη της Corvol το 2008 έδειξε πως οι παραπάνω πολυμορφισμοί που η Hillian συσχέτισε με χειρότερη αναπνευστική κατάσταση συνδέονται με τον χρόνιο αποικισμό των αεραγωγών από την *P. Aeruginosa*, παρόλο που μετά από διόρθωση δεν διατηρήθηκε η στατιστική σημαντικότητα της μελέτης (Corvol et al. 2008). Αυτή είναι η πρώτη μελέτη που συσχέτισε πολυμορφισμούς στο γονίδιο IL8 με την βακτηριακή λοίμωξη στην κυστική ίνωση και πρέπει να ακολουθήσουν και άλλες για περαιτέρω διερεύνηση της σχέσης αυτής. Το σημαντικό εύρημα της μελέτης είναι πως οι τρεις γονότυποι του γονιδίου *IL8* -251TT, +396TT και +781CC μπορεί να συσχετίζονται με την εκδήλωση του χρόνιου αποικισμού της *P. aeruginosa* στην κυστική ίνωση (Corvol et al. 2008).

Ιντερλευκίνη-1 βήτα

Η ιντερλευκίνη 1-βήτα (αλλιώς καταβολίνη) είναι μια κυτοκίνη η οποία κωδικοποιείται από το αντίστοιχο γονίδιο *IL1B* στην θέση 2q14 (Auron et al. 1984; March et al. 1985; Clark et al. 1986; Bensi et al. 1987). Ανήκει στην οικογένεια των ιντερλευκινών 1 των ευρύτερων κυτοκινών. Η ιντερλευκίνη-1β παράγεται από ενεργοποιημένα μακροφάγα με την μορφή προ-πρωτεΐνης η οποία επεξεργάζεται πρωτεολυτικά προς την ενεργή μορφή της με την κασπάση 1 (CASP1/ICE). Η IL1-β συνιστά σημαντικό μεσολαβητή της φλεγμονώδους απάντησης του οργανισμού και εμπλέκεται σε μια σειρά κυτταρικών δραστηριοτήτων, όπως κυτταρικό πολλαπλασιασμό, διαφοροποίηση και απόπτωση (Entrez Gene: IL1B interleukin 1, beta). Η Corvol και οι συνεργάτες της σε μελέτη που δημοσιεύτηκε το 2008 διερεύνησε, μεταξύ άλλων, πιθανή σχέση ανάμεσα σε δύο πολυμορφισμούς

του γονιδίου *IL1B* rs1143627 και rs16944 (αντιστοίχως *IL1B* -31T/C και *IL1B*-511C/T) και την σοβαρότητα της πνευμονοπάθειας στην κυστική ίνωση χωρίς ωστόσο να βρεθεί κάποια συσχέτιση (Corvol et al. 2008). Αντίθετα, ένα χρόνο αργότερα το 2009 η Levy και οι συνεργάτες της ανέφεραν μια συσχέτιση με άλλους πολυμορφισμούς του γονιδίου *IL1B* σε μια ομάδα 808 ασθενών με κυστική ίνωση και επιπροσθέτως κατάφεραν να επαναλάβουν τα αποτελέσματα αυτά σε δεύτερη μελέτη γεγονός που αυξάνει την σημασία των ευρημάτων. Πραγματοποίησαν αρχικά μελέτες πασχόντων-μαρτύρων και για επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων προχώρησαν σε μελέτες οικογενειών. Πιο συγκεκριμένα, εντόπισαν πως δύο πολυμορφισμοί, οι rs1143634 (στο εξόνιο 5) και rs1143639 (στο ιντρόνιο 6), υπερεκφράζονται σε στατιστικά σημαντικό επίπεδο στους ασθενείς κυστικής ίνωσης με σοβαρό αναπνευστικό φαινότυπο και χαμηλότερη πνευμονική λειτουργία αλλά δεν βρέθηκε συσχέτιση με τον αποικισμό με *P. Aeruginosa* (Levy et al. 2009). Αυτά τα ευρήματα επιβεβαιώθηκαν περαιτέρω μέσω μιας οικογενειακής μελέτης ευρωπαϊκής κλίμακας που διεξήχθη με επικεφαλή την Labenski το 2011. Η Labenski μελέτησε τρεις άλλους πολυμορφισμούς οι οποίοι είναι οι εξής: rs3917356, rs4848306 και rs1143643. Αξίζει να επισημανθεί πως και οι δύο μελέτες, ακολουθώντας διαφορετικές τεχνικές και χρησιμοποιώντας διαφορετικές πηγές συμμετεχόντων, εντόπισαν πολυμορφισμούς στην ίδια γενετική περιοχή 4 kb, γεγονός που ενδυναμώνει ακόμα περισσότερο την υπόθεση ότι το γονίδιο *IL1B* είναι τροποποιητικό γονίδιο του αναπνευστικού φαινότυπου της κυστικής ίνωσης (Labenski et al. 2011).

Ιντερλευκίνη 10

Το γονίδιο *IL10*, το οποίο εδράζεται στην θέση 1q32, κωδικοποιεί την ιντερλευκίνη 10 ή αλλιώς CSIF (human cytokine synthesis inhibitory factor) η οποία εμπλέκεται στην τροποποιημένη πνευμονική φλεγμονώδη απάντηση και απόκριση στη λοίμωξη στην κυστική ίνωση (Noah et al. 1997; Osika et al. 1999). Όπως έχει ήδη αναφερθεί, χαρακτηριστικό γνώρισμα της κυστικής ίνωσης αποτελεί η αυξημένη παραγωγή προφλεγμονωδών κυτοκινών (π.χ. *IL*-8) και παράλληλα η μειωμένη παραγωγή αντιφλεγμονωδών κυτοκινών (π.χ. *IL*-10). Η παραγωγή των προφλεγμονωδών κυτοκινών προωθείται από

τον μεταγραφικό παράγοντα NF-κB ο οποίος διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ενδοκυτταρική σηματοδότηση της παραγωγής τους. Η βασική δραστηριότητα της ιντερλευκίνης 10 είναι η αύξηση της παραγωγής του IκB που λειτουργεί ως αναστολέας του παράγοντα NF-κB. Έτσι, μειωμένα επίπεδα IL-10 έχουν ως αποτέλεσμα μειωμένη αναστολή του NF-κB άρα αυξημένη παραγωγή προφλεγμονωδών κυτοκινών (Barnes et al. 1997). Μελέτες έχουν δείξει ότι ένας πολυμορφισμός στον υποκινητή του γονιδίου IL-10 στην θέση -1082G/A (rs1800896) τροποποιεί την παραγωγή της ιντερλευκίνης 10. Έχουν παρατηρηθεί αυξημένα ή μειωμένα επίπεδα της κυτοκίνης με την παρουσία αντιστοίχως των αλληλόμορφων -1082G ή -1082A (Turner et al. 1997). Σε άλλη μελέτη με επικεφαλής τον Brouard το 2005 διαπιστώθηκε ότι ο γονότυπος -1082GG που συνεπάγεται αυξημένη παραγωγή της IL-10 συσχετίζεται με εμφάνιση αλλεργικής ασπεργίλλωσης και αποικισμό των αεραγωγών με *A. fumigatus* (Brouard et al. 2005). Επιπλέον, υψηλότερα επίπεδα ιντερλευκίνης 10 στον ορό έχουν καταγραφεί σε ασθενείς με πνευμονοπάθεια σχετιζόμενη με τον μύκητα *A. fumigatus* ενώ οι διάφοροι γονότυποι του γονιδίου *IL10* δεν έχουν σχετιστεί με τον αποικισμό από την *P.aeruginosa*. Εν κατακλείδι, παρόλα τα παραπάνω ευρήματα, καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι δεν υπάρχει κάποια συσχέτιση των πολυμορφισμών του γονιδίου *IL10* με την πνευμονική λειτουργία της κυστικής ίνωσης (Corvol et al. 2008; Tesse et al. 2008b).

TNF-α

Το γονίδιο *TNF*, που εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 6p21.3, κωδικοποιεί μια προφλεγμονώδη κυτοκίνη που εκκρίνεται από τα μακροφάγα, τα λεμφοκύτταρα και τα επιθηλιακά κύτταρα των αεραγωγών σε απάντηση σε ερεθίσματα φλεγμονής και μόλυνσης. Ο παράγοντας νέκρωσης όγκου-άλφα (tumor necrosis factor alpha-TNFα) ή αλλιώς καχεκτίνη είναι μια αδιποκίνη εμπλεκόμενη στην συστηματική φλεγμονή και μέλος μιας ομάδας κυτοκινών που διεγείρουν την αντίδραση οξείας φάσης. Ο TNF-α είναι χημειοτακτικός για τα ουδετερόφιλα συμβάλλοντας στην έντονη φλεγμονή των αεραγωγών στην κυστική ίνωση η οποία χαρακτηρίζεται από την δράση και παρουσία των ουδετερόφιλων. Επιπλέον, έχει καταδειχθεί πως η πνευμονική λειτουργία και

τα επίπεδα TNF-α στα πτύελα συσχετίζονται αρνητικά με την κυστική ίνωση (Greally et al. 1993; Guillot et al. 2014). Διάφοροι πολυμορφισμοί του γονιδίου TNFα έχουν συνδεθεί με σοβαρές αναπνευστικές παθήσεις όπως το άσθμα και η χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια (Castro-Giner et al. 2008). Στην κυστική ίνωση έχουν μελετηθεί ποικίλοι πολυμορφισμοί από διάφορες ομάδες είτε στον υποκινητή του γονιδίου (-851C/T, -308G/A, -238G/A) είτε στο ιντρόνιο 1 (691G ins/del) με μεταβλητά αποτελέσματα (Guillot et al. 2014). Από αυτούς, ο πολυμορφισμός -308G/A έχει εκτενώς μελετηθεί σε αρκετές αναπνευστικές παθήσεις και φαίνεται από μελέτες να τροποποιεί την παραγωγή του TNF-α (Kaluzza et al. 2000). Υπάρχουν ενδείξεις ότι η επιρροή των πολυμορφισμών του γονιδίου *TNF-α* στην κυστική ίνωση συνδέεται με μεγάλη ή μικρή παραγωγή του παράγοντα TNF στους φορείς διάφορων γονοτύπων. Αυτή η υπόθεση βρίσκει βάση σε ευρήματα μελετών σύμφωνα με τα οποία το αλληλόμορφο TNF-308A συνδέεται με υψηλά επίπεδα γονιδιακής μεταγραφής και παραγωγής του TNF-α (Bouma et al. 1996; Wilson et al. 1997). Ο Hull και οι συνεργάτες του με μελέτη τους το 1998 έδειξαν αρνητική συσχέτιση μεταξύ του αλληλόμορφου TNF-308A και την κλινική κατάσταση της κυστικής ίνωσης (Hull and Thomson 1998) χωρίς ωστόσο αυτά τα αποτελέσματα να επαναληφθούν σε μεταγενέστερες μελέτες (Arkwright et al. 2003; Corvol et al. 2008; Drumm et al. 2005; Schmitt-Grohe et al. 2006). Βέβαια, μια πρόσφατη μελέτη της Sanchez-Dominguez και συνεργατών της σε μεξικανικό πληθυσμό έδειξε πως ο πολυμορφισμός TNF-308A συσχετίζεται σημαντικά με την κυστική ίνωση στο Μεξικό (Sanchez-Dominguez et al. 2014). Η Shmarina και οι συνεργάτες της με μελέτη που διεξήχθη στη Ρωσία έδειξε πως οι φορείς του πολυμορφισμού TNF-308A έχουν αυξημένη πιθανότητα να παρουσιάσουν άσθμα σε σχέση με το φυσιολογικό αλληλόμορφο TNF-308G. Σημαντικό εύρημα της μελέτης αυτής είναι επίσης πως ο απλότυπος TNF-α-308A και LT-α+252G, όπου LT-άλφα είναι το γονίδιο TNF-βήτα, συνδέεται με καλύτερη πνευμονική λειτουργία στην κυστική ίνωση (Shmarina et al. 2013). Ο Yarden και οι συνεργάτες του μελέτησαν τους τέσσερις πολυμορφισμούς του *TNF-α* γονιδίου που αναφέρθηκαν παραπάνω σε 180 ασθενείς με κυστική ίνωση ομόζυγους για την μετάλλαξη F508del (Yarden et al. 2005). Τα ευρήματα της μελέτης έδειξαν

ότι το αλληλόμορφο +691Gdel είναι πιο πιθανό να σχετίζεται με καλύτερη πνευμονική λειτουργία καθώς και καθυστερημένη εμφάνιση της λοίμωξης με *P. aeruginosa*, η οποία είναι και η πλέον συνήθης στην κυστική ίνωση. Η εξέλιξη της νόσου επιταχύνει ιδιαίτερος έπειτα από τον αποικισμό της *P. aeruginosa* στους πνεύμονες (Parad et al. 1999) και έτσι γίνεται κατανοητό πως όσο αργότερα εμφανίζεται η λοίμωξη τόσο καλύτερη και βραδύτερη εξέλιξη θα έχει η πνευμονοπάθεια σε ασθενείς με κυστική ίνωση. Επιπλέον, παρατήρησαν ότι ο γονότυπος -851CC συσχετίζεται με αυξημένη σοβαρότητα της πνευμονοπάθειας στην κυστική ίνωση (Yarden et al. 2005). Κλείνοντας, ο πολυμορφισμός του *TNF* -238G/A συνδέεται με την επιβίωση των ασθενών καθώς επηρεάζει άλλες εκδηλώσεις της νόσου που μειώνουν το προσδόκιμο ζωής (Buranawuti et al. 2007; Stanke et al. 2006).

Σύστημα HLA

Το σύστημα HLA (Human Leukocytes Antigen), το οποίο είναι το ανθρώπινο MHC (Major Histocompatibility Complex), περιλαμβάνει γονίδια που κωδικοποιούν τα αντίστοιχα αντιγόνα στο βραχύ σκέλος του χρωμοσώματος 6. Τα αντιγόνα HLA που εκφράζονται από τα αντίστοιχα γονίδια *HLA* παίρνουν μέρος στην ενδοκυττάρια μεταφορά, παρουσίαση και αναγνώριση του αντιγόνου πεπτιδίου, κατά την ανάπτυξη της ειδικής ανοσιακής απάντησης. Τα ανθρώπινα HLA αντιγόνα είναι ουσιώδη για τη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος, και ειδικότερα για την αναγνώριση και τη διάκριση των κυττάρων του ίδιου του οργανισμού και τη διάκρισή τους από μη φυσιολογικά κύτταρα (καρκινικά) αλλά και «ξένους» εισβολείς, όπως παθογόνοι μικροοργανισμοί. Τα γονίδια διακρίνονται σε τρεις τάξεις και είναι εξαιρετικά πολυμορφικά σε βαθμό που ενδέχεται να είναι μοναδικά για τον κάθε άνθρωπο. Στο σύστημα αυτό υπάρχει ένας απλότυπος που λέγεται αρχέγονος απλότυπος και είναι ιδιαίτερα επικρατής ανάμεσα στους Καυκάσιους. Λέγεται αρχέγονος γιατί είναι ιδιαίτερα διατηρημένος στο πέρασμα του χρόνου και προέρχεται από έναν κοινό απομακρυσμένο πρόγονο (Price et al. 1999). Είναι ο απλότυπος 8.1AH (ancestral haplotype) και περιλαμβάνει μια σειρά από συνδεόμενα αλληλόμορφα, τα οποία είναι τα εξής; LTA +252A/G (Lymphotoxin A), TNF -308G/A, HSP70-2 +1267A/G

(Heat shock πρωτεΐνη) και RAGE –429T/C (Receptor for Advanced Glycation Endproducts), και διαδραματίζουν καίριο ρόλο στην φλεγμονώδη απάντηση όπως είναι για παράδειγμα το γονίδιο *TNF-α* (Laki et al. 2006). Σχετικά με την κυστική ίνωση, οι Laki και οι συνεργάτες της έδειξαν με μελέτη τους πως ο απλότυπος 8.1AH συσχετίζεται με καθυστερημένη εμφάνιση του αναπνευστικού αποικισμού με *S. aureus* και *P. aeruginosa* (Laki et al. 2006). Πρόσφατη μελέτη της Corvol οδήγησε στην διαπίστωση συσχέτισης του προηγούμενου απλοτύπου με την πνευμονοπάθεια στην κυστική ίνωση, καθώς βρέθηκε πως οι φορείς του απλοτύπου έχουν σημαντικά χαμηλότερη πνευμονική λειτουργία. Πιο συγκεκριμένα, παρατηρήθηκαν μειωμένα επίπεδα του δείκτη FEV₁ κατά 6.4% στους φορείς του απλοτύπου σε σχέση με τους μη φορείς, συμπέρασμα με σημασία λαμβάνοντας υπόψη την διευρυμένη επικράτηση του απλοτύπου στον πληθυσμό. Αξίζει να σημειωθεί και το γεγονός πως οι Corvol και συνεργάτες μελέτησαν πολυμορφισμούς στα γονίδια του απλοτύπου χωριστά χωρίς όμως να βρεθεί κάποια συσχέτιση με την κυστική ίνωση (Corvol et al. 2012). Άλλος απλότυπος του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας (MHC complex), ο DR7/DQA*0201, έχει συσχετισθεί με αυξημένα επίπεδα IgE καθώς και συχνότητα του αποικισμού της *P.aeruginosa* στην κυστική ίνωση (Aron et al. 1999b). Κλείνοντας, στην κυστική ίνωση, όπως και στο άσθμα, τα αλληλόμορφα HLA-DR4 και DR7 συνδέονται ισχυρά με την αλλεργική βρογχοπνευμονική ασπεργίλλωση (ABPA). Η αλλεργική ασπεργίλλωση, στην οποία ο μύκητας *Aspergillus* αποικίζει τους βρόγχους χωρίς να διεισδύει στον παρακείμενο ιστό, εμφανίζεται στο 1% με 2% των ασθματικών ασθενών και στο 7% με 10% των ασθενών με κυστική ίνωση. Επιπλέον, αντισώματα για τον *Aspergillus* παρατηρούνται στο 25% των ασθενών με άσθμα και στο 60% αυτών με ΚΙ (Aron et al. 1999a).

Άλφα-1 Αντιθρυψίνη

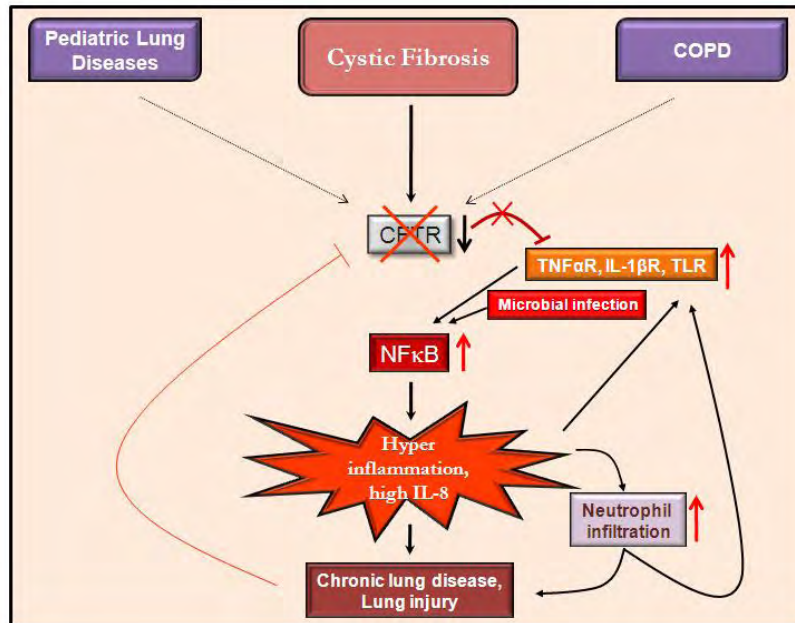
Το γονίδιο *SERPINA1*, που εδράζεται στην θέση 14q32.13, κωδικοποιεί την άλφα-1 αντιθρυψίνη (AAT) η οποία είναι κύριος αναστολέας πρωτεάσης σερίνης πλάσματος. Η κύρια ανασταλτική της δράση αφορά την ουδετερόφιλη ελαστάση, η οποία διασπά την ελαστίνη των τοιχωμάτων των κυψελίδων.

Στον πνεύμονα, η ανεπάρκεια της α-1 αντιθρυψίνης οδηγεί σε διάφορες ασθένειες όπως το εμφύσημα, το άσθμα και/ή βρογχεκτασία (Eriksson 1965; King et al. 1996). Στην κυστική ίνωση, έχουν περιγραφεί υψηλά επίπεδα της ουδετερόφιλης ελαστάσης στους αεραγωγούς και έχει παρατηρηθεί ανισορροπία μεταξύ της α-1 αντιθρυψίνης και της ελαστάσης (O'Connor et al. 1993). Μέχρι στιγμής, έχουν μελετηθεί οι εξής τρεις πολυμορφισμοί του γονιδίου *SERPINA1*: τα αλληλόμορφα Z και S (και τα δύο οδηγούν σε μειωμένα επίπεδα της α-1 αντιθρυψίνης στο πλάσμα) και ο πολυμορφισμός 1237 A/G στην 3' περιοχή του ενισχυτή ο οποίος τροποποιεί την ρύθμιση της α-1 αντιθρυψίνης μέσω IL6 κατά τη διάρκεια της λοίμωξης (Morgan et al. 1997, Guillot et al. 2014). Από τις διάφορες μελέτες που έχουν γίνει μέχρι στιγμής τα αποτελέσματα που προκύπτουν είναι αντικρουόμενα (Courtney et al. 2006; Doring et al. 1994; Drumm et al. 2005; Frangolias et al. 2003; Henry et al. 2001; Mahadeva et al. 1998b; Meyer et al. 2002). Εν συντομία, μια μελέτη έδειξε συσχέτισμό μεταξύ των αλληλόμορφων Z και S και της ηλικίας εμφάνισης της λοίμωξης στον πνεύμονα από *P. aeruginosa* (Doring, 1994) χωρίς ωστόσο να έχει επαναληφθεί αυτό το αποτέλεσμα από άλλες μελέτες (Meyer et al. 2002). Ο ίδιος πολυμορφισμός έχει συσχετισθεί με καλύτερη πνευμονική λειτουργία σύμφωνα με άλλες μελέτες (Mahadeva et al. 1998a,b) χωρίς όμως το αποτέλεσμα αυτό να είναι επαναλήψιμο από μεταγενέστερες μελέτες (Drumm et al. 2005; Frangolias et al. 2003). Παρομοίως, ενώ κάποιοι ερευνητές αναφέρουν πως ο πολυμορφισμός 1237 A/G έχει προστατευτικό ρόλο (Courtney et al. 2006; Henry et al. 2001), κάποιοι άλλοι δεν παρουσιάζουν στοιχεία που να υποστηρίζουν αυτόν τον συσχέτισμό (Drumm et al. 2005; Frangolias et al. 2003). Αξιοπερίεργο είναι επίσης το στοιχείο ότι οι μελέτες που έχουν χρησιμοποιήσει το μεγαλύτερο δείγμα δεν έχουν βρει καμία συσχέτιση ανάμεσα στους τρεις μελετημένους πολυμορφισμούς και την σοβαρότητα της πνευμονοπάθειας στην κυστική ίνωση (Drumm et al. 2005; Frangolias et al. 2003).

AGER

Ο υποδοχέας RAGE (receptor for advanced glycation endproducts-υποδοχέας για τα τελικά προϊόντα προχωρημένης γλυκοζυλίωσης) είναι μέλος

των υποδοχέων κυτταρικής επιφάνειας της υπεροικογένειας των ανοσοσφαιρινών καθώς και ένας προφλεγμονώδης μεσολαβητής που εκφράζεται ιδιαίτερα στον πνεύμονα. Κωδικοποιείται από το γονίδιο *AGER* που βρίσκεται στο χρωμόσωμα 6 μέσα στο μείζον σύμπλεγμα ιστοσυμβατότητας (MHC). Για αυτό το γονίδιο αρκετοί πολυμορφισμοί έχουν περιγραφεί μεταξύ των οποίων ο πολυμορφισμός *AGER*-429T/C στον υποκινητή (Guillot et al. 2014). Πρόσφατη μελέτη σε μεγάλη ομάδα 967 ασθενών ομοζυγών για την μετάλλαξη F508del, μέρος του γαλλικού προγράμματος για τα τροποποιητικά γονίδια (French Gene Modifier Genes), έδειξε ότι ο πολυμορφισμός *AGER*-429T/C σχετίζεται με την σοβαρότητα του αναπνευστικού φαινότυπου στην κυστική ίνωση και επιπροσθέτως, μπορεί να τροποποιήσει την έκφραση του RAGE in vitro. Πιο συγκεκριμένα βρέθηκε πως το αλληλόμορφο -429C είναι αυτό που συνδέεται τόσο με χειρότερη αναπνευστική κατάσταση όσο και με μεγαλύτερη έκφραση του RAGE (Beucher et al. 2012). Ο RAGE ενεργοποιεί την παραγωγή δραστικών μορίων οξυγόνου καθώς και μονοπάτια μεταγωγής σήματος όπως NF-κB, AP-1 και MAPKs που είναι απορυθμισμένα στα επιθηλιακά κύτταρα στην κυστική ίνωση (Vazzana et al. 2009; Saadane et al. 2011). Ως αποτέλεσμα, μπορούμε να υποθέσουμε πως η υπερέκφραση του RAGE που παρατηρείται στην παρουσία του -429C αλληλόμορφου θα μπορούσε να οδηγήσει σε αυξημένη φλεγμονή των αεραγωγών επιτείνοντας έτσι την σοβαρότητα της πνευμονοπάθειας στην κυστική ίνωση (Beucher et al. 2012).



Εικόνα 9: Ρόλος της CFTR πρωτεΐνης στην εγγενή ανοσολογική απόκριση στην κυστική ίνωση και άλλες πνευμονοπάθειες (Bodas M, Vij N. The NF-kappaB signaling in cystic fibrosis lung disease: pathophysiology and therapeutic potential. *Discov. Med.* 9, 346–356, 2010)

Τροποποιητικά γονίδια που εμπλέκονται στην απόκριση του οργανισμού σε λοίμωξη

Τα εμπλεκόμενα γονίδια διακρίνονται σε δύο κατηγορίες: αυτά που κωδικοποιούν διαλυτούς μεσολαβητές και υποδοχείς.

Λεκτίνη Δέσμησης της Μαννόζης 2- MBL2

Η πρωτεΐνη λεκτίνη δέσμησης της μαννόζης 2, η οποία κωδικοποιείται από το αντίστοιχο γονίδιο στο χρωμόσωμα 10q11.2-q21, είναι μια πρωτεΐνη της εγγενούς ανοσίας που παράγεται στο ήπαρ και συσσωρεύεται στους πνεύμονες στην φάση της οξείας φλεγμονής. Διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στις μολυσματικές παθήσεις και προσδένεται σε διάφορα βακτήρια μεταξύ των οποίων είναι και τα εξής: *S. aureus* και *P.aeruginosa*. Πιο αναλυτικά, η πρωτεΐνη MBL είναι υποδοχέας αναγνώρισης προτύπων ο οποίος δεσμεύεται με γλυκοσυζεύγματα που περιέχουν μαννόζη, φουκόζη ή N-ακετυλογλυκοζαμίνη που βρίσκονται σε διάφορα βακτήρια, ιούς και μύκητες (Moller-Kristensen et al. 2006). Μετά την σύνδεση, ενεργοποιεί το μονοπάτι

της λεκτίνης στο συμπλήρωμα μέσω ειδικών πρωτεασών MASP2 (MBL-associated serine protease 2) οδηγώντας σε ενεργοποίηση του συμπληρώματος με επακόλουθη οψωνινοποίηση ή άμεση λύση του στόχου (Wallis and Lynch 2007). Επιπλέον, η MBL πρωτεΐνη αλληλεπιδρά και ανεξάρτητα από τις πρωτεάσες MASP με υποδοχείς σε φαγοκύτταρα και διεγείρει την φαγοκυττάρωση μέσω αλληλεπίδρασης φαγοκυττάρων με μικροοργανισμούς ή αποπτωτικά κύτταρα (Shiratsuchi et al. 2008; Hodge et al. 2010). Ένας συγκεκριμένος απλότυπος του γονιδίου στο εξόνιο 1 (στα κωδικόνια 52, 54 και 57) έχει εκτενώς μελετηθεί. Αυτός ο απλότυπος έχει ταξινομηθεί ως “MBL2-A” αν και οι τρεις πολυμορφισμοί είναι άγριου τύπου και “MBL2-O” αν έστω και ένας από τους πολυμορφισμούς δεν είναι άγριου τύπου. Οι μεταλλαγμένες πρωτεΐνες δεν μπορούν να σχηματίσουν ολιγομερή υψηλής τάξης ενώ χαρακτηρίζονται από μειωμένο χρόνο ημιζωής. Άτομα με δύο μεταλλάξεις (O/O) έχουν δραματικά μειωμένα επίπεδα της πρωτεΐνης MBL, ενώ στους ετεροζυγώτες παρατηρούνται ενδιάμεσα επίπεδα (Garred et al. 2006). Στην κυστική ίνωση, πολλές ερευνητικές ομάδες έχουν μελετήσει τον ρόλο της ανεπάρκειας των *MBL2* αλληλόμορφων στην σοβαρότητα της πνευμονοπάθειας και πιο συγκεκριμένα την επίδρασή της στην πνευμονική λειτουργία και τη λοιμώδη κατάσταση του οργανισμού (Buranawuti et al. 2007; Davies et al. 2004; Dorfman et al. 2008; Gabolde et al. 1999; Garred et al. 1999; Muhlebach et al. 2006; Yarden et al. 2004). Αν και τα αποτελέσματα των μελετών είναι αντικρουόμενα, η πλειοψηφία των μελετών επιβεβαίωσε την δυσμενή επίδραση των αλληλόμορφων που οδηγούν σε ανεπάρκεια της πρωτεΐνης MBL στον αναπνευστικό φαινότυπο της κυστικής ίνωσης με τρόπο εξαρτώμενο από την ηλικία (Buranawuti et al. 2007; Garred et al. 1999). Καποιοι μάλιστα έχουν προτείνει πως η δυσμενής επίδραση αυτών των αλληλόμορφων ίσως γίνεται εμφανής σε ένα όριο ηλικίας που αντιστοιχεί στην εφηβεία (Muhlebach et al. 2006). Πράγματι, ο Chalmers και οι συνεργάτες του με μετα-μελέτες που διεξήγαγαν έδειξαν ότι τα παραπάνω αλληλόμορφα όντως συνδέονται με πρόωρη εγκαθίδρυση λοίμωξης με *P. aeruginosa* ($P < 0.0001$), μειωμένη αναπνευστική λειτουργία σε ενήλικες ($P < 0.0001$ για FEV_1) καθώς και αυξημένο ποσοστό θανάτων ή ανάγκης για μεταμόσχευση πνεύμονα (OR 3.69; $P = 0.02$) (Chalmers et al. 2011). Αξίζει να σημειωθεί μια

μελέτη του Dorfman και άλλων οι οποίοι διερεύνησαν την αλληλεπίδραση των μηδενικών αλληλόμορφων του γονιδίου *MBL2* με πολυμορφισμούς του κωδικονίου 10 του γονιδίου *TGFB1*. Παρατήρησαν πως οι ασθενείς με τα μηδενικά αλληλόμορφα του *MBL2* και τον γονότυπο *TGFB1* CC παρουσίασαν πρόωρη εγκαθίδρυση της λοίμωξης με *P. aeruginosa*. Επιχείρησαν να εξηγήσουν το εύρημα αυτό θέτοντας την υπόθεση ότι η ρύθμιση της *MBL2* πρωτεΐνης από τα αλληλόμορφα του *TGFB1* γονιδίου οδηγεί σε διαταραγμένη βακτηριακή κάθαρση των αεραγωγών εξαιτίας της απενεργοποίησης των μακροφάγων που προκαλείται από υψηλά επίπεδα *TGFB1* (Dorfman et al. 2008).

Υποδοχείς Τύπου Toll

Οι υποδοχείς τύπου Toll (TLRs) είναι μια οικογένεια διαμεμβρανικών υποδοχέων που διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην εγγενή ανοσολογική απόκριση εντοπίζοντας μια πιθανή λοίμωξη και ενεργοποιώντας ακολούθως φλεγμονώδη απάντηση. Διάφορα μικροβιακά μόρια, όπως είναι οι λιποπρωτεΐνες και οι λιποπολυσακχαρίτες (LPS), προσδένονται ειδικά στους υποδοχείς TLRs οι οποίοι ενεργοποιούν ενδοκυτταρική σηματοδότηση και οδηγούν σε αυξημένη έκφραση προφλεγμονωδών κυτοκινών. Έχουν μελετηθεί διάφοροι πολυμορφισμοί στα γονίδια *TLR4* και *TLR5* χωρίς ωστόσο να έχουν βρεθεί στοιχεία συσχέτισης με την πνευμονοπάθεια στην κυστική ίνωση. Το γονίδιο για τον υποδοχέα *TLR4* εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 9q33.1 και για τον υποδοχέα *TLR5* στο χρωμόσωμα 1q41-q42. Ενώ ο Urquhart και οι συνεργάτες του έδειξαν ότι ο πολυμορφισμός D299G του γονιδίου *TLR4* διακόπτει την LPS σηματοδότηση μέσω *TLR4* (Muzio και Mantovani 2001), δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση με την πνευμονική λειτουργία, το εκατοστημόριο βάρους-ηλικίας ή την ηλικία της πρώτης λοίμωξης με *P. aeruginosa* σε ομάδα 100 παιδιών με κυστική ίνωση (Urquhart et al. 2006). Παρόμοια αρνητικά αποτελέσματα έλλειψης συσχέτισης διάφορων SNPs του *TLR4* γονιδίου παρατηρήθηκαν και σε μεταγενέστερη μελέτη (Park et al. 2011). Ο *TLR5* είναι ο υποδοχέας για τα μαστίγια που εκφράζονται από βακτηριακά παθογόνα όπως είναι η *P. aeruginosa* (Hayashi et al. 2001). Αναστολή του υποδοχέα *TLR5* ομαλοποιεί την φλεγμονώδη

απάντηση που προκαλείται από τα επιθηλιακά κύτταρα των αεραγωγών της κυστικής ίνωσης μετά από έκθεση στην *P. aeruginosa* (Blohmke et al. 2008). Ο πολυμορφισμός c.1174C>T (rs5744168) παράγει ένα πρόωρο κωδικόνιο λήξης στην περιοχή σύνδεσης του συνδέτη του TLR5. Τα ευρήματα που έχουν βρεθεί για την τροποποιητική δράση του SNP c.1174C>T στην πνευμονική λειτουργία τόσο σε παιδιά όσο και σε ενήλικες ασθενείς με κυστική ίνωση δεν χαρακτηρίζονται ως σημαντικά (Blohmke et al. 2010).

CD14

Το γονίδιο *CD14* εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 5q31.1. Κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη που εκφράζεται στις μεμβράνες των λευκών αιμοσφαιρίων και συμμετέχει στην ανοσολογική και φλεγμονώδη απάντηση του οργανισμού. Αυτό επιτυγχάνεται καθώς λειτουργεί ως υποδοχέας για λιποπολυσακχαρίδια, που είναι συστατικά της μεμβράνης των gram-αρνητικών βακτηρίων μεταξύ των οποίων και η *P. aeruginosa*. Μια παραλλαγή του υποκινητή του γονιδίου *CD14* (-159C/T) έχει συσχετισθεί με χαμηλότερα επίπεδα κυκλοφορούντος *CD14* σε υγιή παιδιά (Alexis et al. 2001). Ο Martin και οι συνεργάτες του το 2005 έδειξε σε δείγμα 45 παιδιών με κυστική ίνωση ότι οι φορείς της παραλλαγής -159CC αποκτούν νωρίτερα λοίμωξη από την *P. aeruginosa* (Martin et al. 2005). Επιπλέον, παιδιά χωρίς λοίμωξη με *P. aeruginosa* είχαν υψηλότερα επίπεδα *CD14* στο πλάσμα συγκριτικά με παιδιά με λοίμωξη. Ακόμη, σε μια ομάδα 105 ασθενών με κυστική ίνωση και αντίστοιχων μαρτύρων, παρατηρήθηκε υψηλότερη συχνότητα του γονότυπου *CD14* -159TT, που συνεπάγεται αύξηση στα επίπεδα του *CD14*, στους ασθενείς με κυστική ίνωση ενώ δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση με την σοβαρότητα της πνευμονοπάθειας (De Faria et al. 2009).

Τροποποιητικά γονίδια που εμπλέκονται στους μηχανισμούς βλάβης και επιδιόρθωσης του επιθηλιακού ιστού

Γλουταθειόνη και S-Τρανσφεράση της Γλουταθειόνης

Η γλουταθειόνη (GSH) είναι ένα τριπεπτίδιο που διαδραματίζει έναν σημαντικό ρόλο στην προστασία του πνεύμονα από βλάβες οφειλόμενες σε οξειδωτικά μέσα. Η ανεπάρκεια της πρωτεΐνης CFTR οδηγεί σε μειωμένη μεταφορά γλουταθειόνης που οδηγεί σε συστημική ανεπάρκεια της GSH σε ασθενείς με κυστική ίνωση (Hudson 2001). Η S-τρανσφεράση της γλουταθειόνης (GST) είναι μια οικογένεια υπεργονιδίων που αποτελείται από διαφορετικές τάξεις αποτοξινωτικών ενζύμων που καταλύουν την σύζευξη ποικιλίας ηλεκτρονιόφιλων και ξενοβιοτικών με την γλουταθειόνη. Έτσι, αλλαγές στις δραστηριότητες της GST είναι πιθανό να επηρεάζουν αρκετά την ικανότητα των κυττάρων να αντιστέκονται στο οξειδωτικό stress. Οι GSTs εκφράζονται διαφορικά και είναι ενεργές σε πολλά όργανα. Οι GSTP1 και M3 είναι οι πιο συχνές τρανσφεράσες στον πνεύμονα και ακολουθούν οι GSTM1 και T1. Η μεγαλύτερη μελέτη που διερεύνησε την επίδραση των παραλλαγών των GSTs στην πνευμονική λειτουργία στην κυστική ίνωση δεν βρήκε κάποια συσχέτιση για κανέναν από τους γονότυπους *GSTM1*, *GSTP1* ή *GSTT1* (Feuillet-Fieux et al. 2009). Ο Hull και οι συνεργάτες του, ωστόσο, πρότειναν έναν συσχετισμό μεταξύ των αλληλόμορφων *GSTM1* 0/0 και συνολικής χειρότερης κλινικής κατάστασης στην κυστική ίνωση (Hull και Thomson 1998) ενώ έχει αναφερθεί πως μια παραλλαγή του *GSTM3* γονιδίου που περιλαμβάνει διαγραφή 3 βάσεων συνδέεται με αυξημένη σοβαρότητα της πνευμονοπάθειας στην κυστική ίνωση (Flamant et al. 2004). Ένας άλλος μηχανισμός μειορύθμισης γλουταθειόνης είναι μέσω του σχηματισμού της γ-γλουταμιλοκουστεΐνης που καταλύεται από την λιγάση γλουταμινικού-κουστεΐνης (GCL). Μια παραλλαγή της παραπάνω λιγάσης, μια GAG τρινουκλεοτιδική επανάληψη (TNR), έχει βρεθεί να συσχετίζεται με ποικίλα επίπεδα γλουταθειόνης in vitro. Πιο συγκεκριμένα, 7 GAG επαναλήψεις σχετίζονται με χαμηλά GSH επίπεδα, 8 GAG επαναλήψεις σχετίζονται με ενδιάμεσα επίπεδα και 9 επαναλήψεις με υψηλά επίπεδα. Ο McKone και οι συνεργάτες του διερεύνησαν το κατά πόσο αυτή η παραλλαγή συνδέεται με την πνευμονική λειτουργία σε μια ομάδα 440 ασθενών με κυστική ίνωση με διάφορες *CFTR* μεταλλάξεις. Παρατήρησαν συσχέτιση μόνο για τους ασθενείς με ήπιες *CFTR* μεταλλάξεις (McKone et al. 2006). Γενικά, στους ασθενείς με ήπιες

μεταλλάξεις του *CFTR* γονιδίου παρατηρείται μέτρια ποσότητα της *CFTR* έκφρασης. Έτσι, γενετικές παραλλαγές στην λιγάση *GCL* που οδηγούν σε βελτίωση των οξειδωτικών αμυντικών μηχανισμών μπορούν να καταλήξουν σε ήπιο φαινότυπο της κυστικής ίνωσης (Guillot et al. 2014)

Συνθάση του Μονοξειδίου του Αζώτου

Το μονοξείδιο του αζώτου συντίθεται από την L-αργινίνη μέσω της συνθάσης του NO (NOS). Οι τρεις γνωστές ισομορφές της NOS (1, 2 και 3) εκφράζονται στην αναπνευστική οδό. Αν και τα εκπνεόμενα επίπεδα μονοξειδίου του αζώτου των αεραγωγών (FENO) είναι αυξημένα σε φλεγμονώδεις πνευμονοπάθειες όπως το άσθμα ή βρογχεκτασία, στην κυστική ίνωση είναι μειωμένα (Dotsch et al. 2002). Το γονίδιο *NOS1*, που εδράζεται στο χρωμόσωμα 12q24, περιλαμβάνει τον επαναλαμβανόμενο σε ιντρόνια πολυμορφισμό AAT ο οποίος φαίνεται να διαμορφώνει τα επίπεδα FENO (Wechsler et al. 2000). Έχει συσχετισθεί με χαμηλότερο ρίσκο αποικισμού με *P. aeruginosa* και *A. fumigatus* (Grasemann et al. 2000, 2002) και με πιο ήπια συνολική εξέλιξη της πνευμονοπάθειας στην κυστική ίνωση (Texereau et al. 2004). Το γονίδιο *NOS3*, που εδράζεται στο χρωμόσωμα 7q35-36, περιλαμβάνει έναν G/T πολυμορφισμό στην θέση 894G/T στο εξώνιο 7 (Marsden et al. 1993). Ο Grasemann και οι συνεργάτες του δεν βρήκαν διαφορές στον δείκτη FEV_1 ή στην συχνότητα αποικισμού από την *P. aeruginosa* μεταξύ των διαφόρων γονοτύπων του *NOS3* γονιδίου στο σύνολο της ομάδας ασθενών με κυστική ίνωση που μελέτησαν. Ωστόσο, μια υπο-ανάλυση στον γυναικείο πληθυσμό αποκάλυψε ότι οι φορείς 894T έχουν υψηλότερα επίπεδα FENO, μειωμένο κίνδυνο αποικισμού από *P. aeruginosa* και τείνουν να έχουν καλύτερους δείκτες FEV_1 (Grasemann et al. 2003b).

Τροποποιητικά γονίδια που εμπλέκονται στην φαρμακογενετική απάντηση του οργανισμού

B2-Αδρενεργικοί Υποδοχείς (β2AR)

Οι β2-αδρενεργικοί υποδοχείς εκφράζονται στα λεία μυϊκά κύτταρα των αεραγωγών και συνεντοπίζονται με τον δίαυλο CFTR στην άνω μεμβράνη του επιθηλίου. Έχει βρεθεί *in vitro* ότι διέγερση των β2AR οδηγεί σε αυξημένη έκφραση της CFTR πρωτεΐνης (Taouil et al. 2003). Η πρόσδεση των ενδογενών κατεχολαμινών ή εξωγενών β2-αγωνιστών (π.χ. σαλβουταμόλη ή αλβουτερόλη) διεγείρει τους β2AR και οδηγεί σε βρογχοδιαστολή (Weiss et al. 2006). Επιπλέον, οι β-αγωνιστές επηρεάζουν και άλλες λειτουργίες των αεραγωγών και πιο συγκεκριμένα μειώνουν την απελευθέρωση φλεγμονωδών μεσολαβητών, την χολινεργική νευροδιαβίβαση και την αγγειακή διαπερατότητα ενώ αυξάνουν την κάθαρση του βλεννοκροσσώτου επιθηλίου (Barnes 1995). Οι παραπάνω δράσεις των β2-αγωνιστών δικαιολογούν την επιλογή τους στην αντιμετώπιση των συμπτωμάτων της κυστικής ίνωσης. Το γονίδιο β2AR εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 5q31-q32 και είναι ιδιαίτερα πολυμορφικό με πάνω από 55 μονονουκλεοτιδικούς πολυμορφισμούς (SNPs) καταγεγραμμένους σε δημόσιες βάσεις δεδομένων (Reihnsaus et al. 1993). Αρκετά από αυτά τα SNPs αλλάζουν την δομή της πρωτεΐνης προκαλώντας αλλαγές σε αμινοξέα: Arg16Gly, Arg19Cys, Glu27Gln, Val34Met και Thr164Ile (Hall 2006). Έχουν εκτενώς μελετηθεί στο άσθμα προς αναζήτηση φαρμακογενετικών συσχετισμών μεταξύ γενετικών παραλλαγών και της βρογχοδιασταλτικής απόκρισης (Corvol και Burchard 2008). Αναφορικά με την κυστική ίνωση, διάφορες ομάδες έχουν μελετήσει την σχέση των παραλλαγών Arg16Gly (c.46A>G) και Glu27Gln (c.79C>G) με την απόκριση των αεραγωγών παρατηρώντας είτε σημαντική συσχέτιση (Buscher et al. 2002; Marson et al. 2012b) είτε όχι (Buscher et al. 2002; Steagall et al. 2007). Αξίζει να σημειωθεί επίσης πως οι συχνότητες των παραλλαγών έχουν βρεθεί να είναι υψηλότερες σε ασθενείς σε σχέση με τους μάρτυρες με έναν χρονοεξαρτώμενο τρόπο, υψηλότερες σε ενήλικες ασθενείς σε σχέση με τα παιδιά (Buscher et al. 2002; Steagall et al. 2007). Πρόσφατα, ο πολυμορφισμός Arg16Gly συσχετίστηκε περαιτέρω με την σοβαρότητα της πνευμονοπάθειας στην κυστική ίνωση (Marson et al. 2012b).

Υποδοχείς Γλυκοκορτικοειδών

Διαφορές στην ευαισθησία στα γλυκοκορτικοειδή έχουν συσχετισθεί με πολυμορφισμούς στο γονίδιο *NR3C1* των υποδοχέων των γλυκοκορτικοειδών (GR) στο χρωμόσωμα 5. Ο πολυμορφισμός N363S στο εξώνιο 2 του γονιδίου, ο οποίος τροποποιεί τη Ν-τελική περιοχή διενεργοποίησης, έχει αναφερθεί πως σχετίζεται με την υπερευαισθησία στα γλυκοκορτικοειδή. Άλλος πολυμορφισμός στο εξώνιο 2, που περιλαμβάνει σημειακές μεταλλάξεις στα κωδικόνια 22 και 23, έχει συσχετισθεί με μειωμένη απόκριση στην δεξαμεθαζόνη. Στην 5' αμετάφραστη περιοχή, ο πολυμορφισμός TthIII έχει συσχετισθεί με την βασική έκκριση κορτιζόλης, ενώ ο πολυμορφισμός Bcl1 στο ιντρόνιο 2 με αυξημένη ευαισθησία στα κορτικοστεροειδή. Αυτοί οι τέσσερις πολυμορφισμοί έχουν μελετηθεί σε 255 ασθενείς με κυστική ίνωση και τα αποτελέσματα δείχνουν πως ο Bcl1 πολυμορφισμός συνδέεται με πιο γρήγορη εξέλιξη της πνευμονοπάθειας. Πιο συγκεκριμένα, ασθενείς που φέρουν τον γονότυπο Bcl1 GG έχουν πιο έντονο ρυθμό μείωσης του δείκτη FEV₁ (Corvol et al. 2007). Αναφορικά με τις παραλλαγές του πολυμορφισμού TthIII ER22/23EK και N363S, αναλύσεις των δεδομένων FEV₁ ή FVC αποκαλύπτουν μη σημαντική διαφορά ανάμεσα στους διαφορετικούς γονότυπους (Corvol et al. 2007).

Μελέτες του συνόλου του γονιδιώματος και των εξονίων

Μελέτες σύνδεσης (linkage) και συσχετισμού (GWAS) του συνόλου του γονιδιώματος

Οι μελέτες ολόκληρου του γονιδιώματος εξάγουν συμπεράσματα αναφορικά με ολόκληρες γενετικές περιοχές που συσχετίζονται με τροποποίηση του αναπνευστικού φαινοτύπου της κυστικής ίνωσης και δευτερευόντως με συγκεκριμένα γονίδια. Σε αυτές τις μελέτες δεν υπάρχει προγενέστερη γνώση για πιθανά τροποποιητικά γονίδια με γνώμονα τον μηχανισμό τροποποίησης του φαινοτύπου και γι' αυτό τον λόγο δεν είναι γνωστός ο μηχανισμός δράσης των γονιδίων που ανακαλύπτονται με αυτές τις μεθόδους και απαιτούνται περαιτέρω μελέτες για την διαλεύκανσή τους. Έχουν οργανωθεί παγκοσμίως

δύο κύριες κοινοπραξίες ερευνητών που πραγματοποιούν τέτοιες μελέτες, μία στην Γαλλία και μία στην Βόρεια Αμερική. Στην Βόρεια Αμερική δραστηριοποιήθηκαν τρεις ομάδες: μια στο Τορόντο του Καναδά, μια στο Πανεπιστήμιο Johns Hopkins της Βαλτιμόρης και μια στα πανεπιστήμια University of North Carolina at Chapel Hill (UNC) και Case Western Reserve University της Βόρειας Καρολίνας (Guillot et al. 2014).

IFRD1

Οι τρεις παραπάνω ομάδες ένωσαν τις δυνάμεις τους και δημιούργησαν μια μεγάλη κοινοπραξία της Βόρειας Αμερικής που πραγματοποίησε μελέτες σύνδεσης και συσχέτισμού ολόκληρου του γονιδιώματος (GWAS). Σε μια πιλοτική μελέτη GWAS σε 320 ασθενείς με κυστική ίνωση ομόζυγους για την μετάλλαξη F508del και με ακραίους αναπνευστικούς φαινότυπους (σοβαρός-ήπιος) βρήκαν ένα ακόμα πιθανό τροποποιητικό γονίδιο, το γονίδιο *IFRD1* (Gu et al. 2009). Το γονίδιο που βρίσκεται στην θέση 7q31.1 κωδικοποιεί την αντίστοιχη πρωτεΐνη IFRD1 (Interferon-Related Developmental Regulator 1). Εκφράζεται στα ώριμα ουδετερόφιλα (Gu et al. 2009; Theilgaard-Monch et al. 2005) και έχει βρεθεί να αλληλεπιδρά με ένζυμα που λειτουργούν ως αποακετυλάσες ιστονών (HDAC) ρυθμίζοντας έτσι την κυτταρική διαφοροποίηση και το οξειδωτικό στρες (Vietor and Huber 2007; Adcock et al. 2005). Είναι γνωστό ότι η πνευμονοπάθεια της κυστικής ίνωσης χαρακτηρίζεται από αυξημένο οξειδωτικό στρες και φλεγμονή με κύριο μεσολαβητή τα ουδετερόφιλα (Montuschi et al. 2000). Γι'αυτόν τον λόγο, η ρύθμιση μέσω IFRD1 των αποακετυλασών HDAC ίσως διαδραματίζει ρόλο-κλειδί στην χαρακτηριζόμενη από ουδετερόφιλα φλεγμονή. Ο Gu και οι συνεργάτες του το 2009 παρατήρησαν ότι πολυμορφισμοί του *IFRD1* μπορεί να συσχετίζονται με την σοβαρότητα της πνευμονοπάθειας στην κυστική ίνωση μέσω της ρύθμισης της λειτουργίας των ουδετερόφιλων. Ο απλότυπος CCC που προέρχεται από 3 SNPs του *IFRD1* (rs7817, rs807213 και rs6968084) συνδέεται με υψηλότερα επίπεδα TNF-α. Επιπλέον, έδειξαν ότι ποντίκια με έλλειψη του IFRD1 είχαν καθυστερημένη βακτηριακή κάθαρση από τους αεραγωγούς και λιγότερη φλεγμονή. Κλείνοντας, αξίζει να αναφερθεί μία ακόμη μελέτη του Hector και των συνεργατών του που δημοσιεύτηκε το

2013 η οποία ενίσχυσε την θέση του *IFRD1* ως τροποποιητικό γονίδιο της κυστικής ίνωσης. Πιο αναλυτικά, η μελέτη έδειξε ότι στην κυστική ίνωση τα επίπεδα της *IFRD1* στα ουδετερόφιλα είναι αυξημένα στο περιφερικό αίμα ενώ είναι μειωμένα στους αεραγωγούς. In vitro μελέτες έδειξαν ότι τα υγρά των αεραγωγών στην κυστική ίνωση καθώς και οι χυμοκίνες *CXCL8* και *CXCL2* μειώνουν την έκφραση του *IFRD1* στα ουδετερόφιλα με τρόπο που εξαρτάται από τον *CXCR2*. Συμπεραίνουμε έτσι πως προφλεγμονώδεις κυτοκίνες μειώνουν τα επίπεδα της *IFRD1* στους πνεύμονες στην κυστική ίνωση. Τέλος, η *IFRD1* συνδέεται με την παραγωγή ROS άρα και με το οξειδωτικό στρες (Hector et al. 2013).

Γενετικός τόπος στην θέση 11p13

Ο Wright και οι συνεργάτες του πραγματοποίησαν το 2011 μια μεγάλη μελέτη σύνδεσης και GWAS σε 3500 ασθενείς με κυστική ίνωση χαρακτηριζόμενη από παγκρεατική ανεπάρκεια στην Βόρεια Αμερική (Wright et al. 2011). Εντόπισαν 7 περιοχές που μπορεί να συσχετίζονται με την πνευμονοπάθεια της κυστικής ίνωσης κοντά στα εξής γονίδια: *APIP/EHF*, *AGTR2*, *HLA-DRA*, *EEA1*, *SLC8A3*, *AHRR* και *CDH8*. Από αυτές τις περιοχές, την πιο ισχυρή συσχέτιση είχε η περιοχή που περιλαμβάνει τα γονίδια *EHF* και *APIP* στην θέση 11p13 ($P > 10^{-9}$). Το γονίδιο *APIP* κωδικοποιεί την πρωτεΐνη Araf-1-interacting protein η οποία φαίνεται να καταστέλλει την απόπτωση παρουσία υποξίας (Cho et al. 2007). Η πρωτεΐνη για την οποία κωδικοποιεί το γονίδιο *EHF* (ETS homologous factor) είναι μέλος των Ets μεταγραφικών παραγόντων ειδικών για το επιθήλιο και συμμετέχει στην ρύθμιση της διαφοροποίησης των επιθηλιακών κυττάρων σε συνθήκες στρες και φλεγμονής (Wright et al. 2011).

Γενετικός τόπος στην θέση 20q13.2

Η μελέτη σύνδεσης σε 486 ζεύγη αδερφών από μια οικογενειακή μελέτη αναγνώρισε ένα ακόμα QTL (quantitative trait locus) στο χρωμόσωμα 20q13.2. Αυτή η περιοχή περιλαμβάνει αρκετά γονίδια μεταξύ των οποίων τα εξής: το *MC3R* που κωδικοποιεί τον υποδοχέα μελανοκορτίνης 3, το *CBLN4*

(cerebellin-like4 precursor), το *CASS4* (Crk-associated substrate scaffolding 4) και το *AURKA* που κωδικοποιεί την κινάση Aurora A (Weiler and Drumm 2013). Ο *MC3R* είναι ένας υποδοχέας που εμπλέκεται στον μεταβολικό έλεγχο ενώ μέχρι στιγμής λίγα είναι γνωστά για τα άλλα γονίδια (Wright et al. 2011).

Μελέτες συσχέτισμού του συνόλου των εξονίων (exome sequencing)

Μέχρι στιγμής στην κυστική ίνωση, η αλληλούχιση των εξονίων έχει χρησιμοποιηθεί μόνο στη μελέτη της χρονικής στιγμής εμφάνισης λοίμωξης με την *P. aeruginosa* (Emond et al. 2012). Αυτή η τεχνική έχει αποδειχθεί ως μια ισχυρή και αποτελεσματική στρατηγική για την ανακάλυψη γονιδίων που είναι υπεύθυνα για μεντελιανές διαταραχές (Bamshad et al. 2011). Ωστόσο, η συμβολή της στην αναγνώριση παραλλαγών που σχετίζονται με πολύπλοκα χαρακτηριστικά είναι μια πρόκληση, εν μέρει γιατί απαιτούνται μεγάλα δείγματα για να αποκτήσουν ισχύ τα αποτελέσματά της. Μια στρατηγική για να αυξηθεί η ισχύς των μελετών αυτών είναι η σύγκριση των αλληλουχιών εξονίων ασθενών με “ακραίους φαινοτύπους”.

DCTN4

Εφαρμόζοντας την παραπάνω προσέγγιση, οι ερευνητές ανακάλυψαν ένα γονίδιο, το *DCTN4* (που κωδικοποιεί την δυνακίνη 4) στο χρωμόσωμα 5q33.1 το οποίο εμφανίζει ισχυρή συσχέτιση με τον χρόνο εμφάνισης της χρόνιας λοίμωξης με *P. aeruginosa* ($P = 0.025$). Έτσι, οι Emond και συνεργάτες συνέκριναν ασθενείς που μολύνθηκαν με *P. aeruginosa* σε πολύ νεαρή ηλικία (πριν τα 5 έτη, $n = 43$) με ασθενείς που δεν είχαν ακόμα μολυνθεί σε ηλικία 14 ετών ($n = 48$). Βρήκαν ότι 12 από τους 43 ασθενείς που μολύνθηκαν σε ιδιαίτερα νεαρή ηλικία έφεραν μια παρερμηνεύσιμη παραλλαγή στο γονίδιο *DCTN4*. Πιο συγκεκριμένα, 9 έφεραν μια *rhe349Ieu* υποκατάσταση (F349L; rs11954652) και 3 έφεραν μια *tyr270cys* υποκατάσταση (Y270C; rs35772018). Αντίστοιχα, κανένας από τους 48 ασθενείς που μολύνθηκαν αργότερα δεν έφερε παρερμηνεύσιμη παραλλαγή στο *DCTN4*. Τα αρχικά αυτά αποτελέσματα επιβεβαιώθηκαν με μια

ανεξάρτητη μελέτη σε ομάδα 696 ασθενών με κυστική ίνωση με διάφορους *CFTR* γονότυπους. Τα αποτελέσματα της μελέτης ήταν τα εξής: 78 ασθενείς ήταν ετεροζυγώτες και 9 ομοζυγώτες για την μετάλλαξη F349L, 15 ετερόζυγοι για την μετάλλαξη Y270C και 1 βρέθηκε ετερόζυγος και για τις δύο μεταλλάξεις. Η παρουσία έστω και μιας παρερμηνεύσιμης *DCTN4* παραλλαγής συσχετίστηκε με νεαρή ηλικία παρουσίας της πρώτης καλλιέργειας θετικής για την *P. aeruginosa* καθώς και πρώιμη ηλικία έναρξης της χρόνιας λοίμωξης από *P. aeruginosa*. Η δυνακίνη 4 είναι μια υπομονάδα του συμπλέγματος της δυνακίνης που εμπλέκεται στην εξαρτώμενη από μικροσωληνίσκους φυσαλιδώδη μεταφορά, στην συναρμολόγηση της ατράκτου και την κυτταρική διαίρεση. Ένας εξαρτώμενος από την δυνεΐνη μηχανισμός εμπλέκεται στην διαδικασία της αυτοφαγίας καθώς κινεί τα αυτοφαγοσώματα κατά μήκος των μικροσωληνίσκων μέσα στα λυσοσώματα για αποδόμηση των κατεστραμμένων πρωτεϊνών και μικροβίων. Η αυτοφαγία είναι γνωστό πως διαδραματίζει βασικό ρόλο στην κάθαρση της *P. aeruginosa*. Στην κυστική ίνωση, η ενδοκυττάρια συσσώρευση της πρωτεΐνης *CFTR* που φέρει την μετάλλαξη F508del συνδέεται με μειωμένη μακροαυτοφαγική ροή μέσω αναστολής του σχηματισμού αυτοφαγοσωμάτων. Οι ερευνητές υπέθεσαν ότι στην κυστική ίνωση οι ισομορφές της δυνακίνης 4 επηρεάζουν την λοίμωξη από *P. aeruginosa* μειώνοντας την αναπνευστική κάθαρση μέσω αυτοφαγίας των βακτηρίων (Emond et al. 2012). Αυτή είναι μέχρι στιγμής η πρώτη μελέτη αλληλούχισης εξονίων που έχει πραγματοποιηθεί για την κυστική ίνωση.

ΗΠΑΤΙΚΟΣ ΦΑΙΝΟΤΥΠΟΣ

Μια άλλη κλινική εκδήλωση της κυστικής ίνωσης είναι η ηπατική νόσος σχετιζόμενη με την κυστική ίνωση (CFLD-Cystic Fibrosis related Liver Disease). Η ηπατική νόσος στην κυστική ίνωση περιλαμβάνει ποικίλες ηπατικές ανωμαλίες όπως νεογνική χολόσταση, ηπατική στεάτωση, εστιακή χολική κίρρωση, πολυλοβώδη κίρρωση και ηπατική ανεπάρκεια (Flass and Narkewicz 2013; Gaskin et al. 1988; Potter et al. 1997; Lindblad et al. 1999; Blanc and Di Sant'Agnesse 1956; Vawter and Schwachman 1979; Colombo et al. 2002; Lamireau et al. 2004; Efrati et al. 2003; Rowland et al. 2011). Η

νεογνική χολόσταση είναι η πρώτη εκδήλωση ηπατικής βλάβης στην ΚΙ και ο ειλεός από μηκύνιο αποτελεί παράγοντα κινδύνου για την ανάπτυξη της (Diwakar et al. 2001; Herrmann et al. 2010; Flass and Narkewicz 2013). Η στεάτωση αποτελεί την πιο κοινή ηπατική βλάβη στους ασθενείς με κυστική ίνωση (Gaskin et al. 1988; Potter et al. 1997; Lindblad et al. 1999) ενώ σχετίζεται με έμμεσο τρόπο με την CFTR πρωτεΐνη καθώς επίσης με τον υποσιτισμό και την έλλειψη απαραίτητων λιπαρών οξέων, καρνιτίνης και χολίνης (Colombo 2007; Flass and Narkewicz 2013). Η εστιακή χολική κίρρωση είναι το παθολογικό ηπατικό χαρακτηριστικό της κυστικής ίνωσης. Προκύπτει από απόφραξη των χοληφόρων και προοδευτική περιπυλαία ίνωση. Ιστολογικά χαρακτηρίζεται από διάσπαρτες περιοχές πυλαίας ίνωσης, χολόσταση, πολλαπλασιασμό του χοληδόχου πόρου και απόφραξη των χοληφόρων από ηωσινοφιλικό υλικό (Feranchak 2004). Η εστιακή χολική κίρρωση ενώ δεν έχει εμφανή κλινικά συμπτώματα, μπορεί να εξελιχθεί σταδιακά σε πολυλοβώδη κίρρωση η οποία διαφέρει από την εστιακή στην παρουσία πολλών αναγεννητικών οζιδίων και συμμετοχή μεγάλου τμήματος του ήπατος (Flass and Narkewicz 2013; Lindblad et al. 1999; Scott-Jupp et al. 1991; Feigelson et al. 1993). Από το 2007 το ίδρυμα U.S. CF Foundation έχει επαναπροσδιορίσει τον ορισμό της CFLD νόσου ώστε να περιλαμβάνει μόνο την ηπατική νόσο που εκδηλώνεται με κίρρωση ή πυλαία υπέρταση (Flass and Narkewicz 2013). Η παθογένεση της CFLD είναι πολύπλοκη και δεν έχει πλήρως διαλευκανθεί. Σύγχρονες μελέτες υποδεικνύουν ότι η νόσος CFLD σχετίζεται με το έλλειμμα της CFTR πρωτεΐνης στα χοληφόρα. Στο ηπατοχολικό σύστημα η CFTR πρωτεΐνη εκφράζεται αποκλειστικά στα χοληφόρα και όχι στα ηπατοκύτταρα ή άλλα κύτταρα του ήπατος (Cohn et al. 1993). Η τροποποιημένη λειτουργία της CFTR πρωτεΐνης στην άνω μεμβράνη των χοληφόρων σε συνδυασμό με τις αλλαγές στην μεταφορά της χολής στην ηπατική νόσο της κυστικής ίνωσης οδηγούν σε κατακράτηση τοξικών χολικών οξέων συμπεριλαμβανομένου του ταυροχολικού οξέος (Lamireau et al. 2003; Smith et al. 2004; Ramm et al. 2009). Το ταυροχολικό οξύ επάγει την έκφραση μιας σημαντικής για την ίνωση χημειοκίνης, της χημειοτακτικής πρωτεΐνης των μονοκυττάρων (MCP-1) στα ηπατοκύτταρα και τα χοληφόρα. Η MCP-1 και άλλες χημειοκίνες επάγουν την χημειοταξία των ηπατικών

αστεροειδών κυττάρων (HSC) στις περιοχές γύρω από τον χοληδόχο πόρο. Τα αστεροειδή κύτταρα μετά ενεργοποιούνται προς ειδικά κύτταρα τύπου μυσιοβλάστη που σχετίζονται με την δημιουργία ίνωσης (Lamireau et al. 2003; Ramm et al. 2009). Τα ενεργοποιημένα αστεροειδή κύτταρα παράγουν υπερβολικό κολλαγόνο το οποίο οδηγεί στην χαρακτηριστική εστιακή χολική κίρρωση της ηπατικής νόσου στην ΚΙ (Ramm et al. 2009; Lewindon et al. 2002). Με άλλα λόγια, εγγενείς ανωμαλίες στο ήπαρ ασθενών με ΚΙ αντανακλούν απώλεια της λειτουργίας του διαύλου CFTR στην άνω μεμβράνη των χοληφόρων (Cohn et al. 1993; Kinnman et al. 2000). Αυτή η δυσλειτουργία αναμένεται να οδηγήσει σε ελλιπή (βραδεία) ροή της χολής και σχετίζεται με μια επαγόμενη από τα χοληφόρα φλεγμονώδη απάντηση με ενεργοποίηση και πολλαπλασιασμό των ηπατικών αστεροειδών κυττάρων, κατάσταση που οδηγεί σε χολαγγειίτιδα και ίνωση των εστιακών πυλαίων οδών (Colombo 2007; Feranchak and Sokol 2001; Schuppan and Afdhal 2008; Tsukada et al. 2006).

SERPINA1

Έχει αποδειχθεί πως το γονίδιο *SERPINA1* είναι τροποποιητικό γονίδιο της ηπατικής νόσου σε ασθενείς με κυστική ίνωση και πιο συγκεκριμένα το Z αλληλόμορφο του γονιδίου σχετίζεται σε μεγάλο βαθμό με τη νόσο αυτή καθώς και με πυλαία υπέρταση (Bartlett et al. 2009). Το γονίδιο *SERPINA1* κωδικοποιεί την α1-αντιθρυψίνη (ή αλλιώς α1-αντιπρωτεάση) και εδράζεται στο χρωμόσωμα 14q32.1 (Frangolias et al. 2003). Ο πολυμορφισμός Z (G4627A) είναι σχετικά σπάνιος στην ΚΙ (2,2% των ασθενών είναι φορείς) αλλά ο λόγος πιθανοτήτων της συσχέτισης με σοβαρή ηπατική νόσο είναι σχετικά μεγάλος (Bartlett et al. 2009). Ο μηχανισμός με τον οποίο το αλληλόμορφο Z του γονιδίου *SERPINA1* δρα ως δυσμενής τροποποιητικός παράγοντας της ηπατικής νόσου στην κυστική ίνωση (CFLD) πιθανότατα αντανακλά την διπλή διέγερση των ηπατικών αστεροειδών κυττάρων μέσω φλεγμονωδών μεσολαβητών όπως τα χοληφόρα με έλλειψη της CFTR πρωτεΐνης και τα ηπατοκύτταρα που περιέχουν την προβληματική *SERPINA1* πρωτεΐνη. Αυτά τα φλεγμονώδη ερεθίσματα επάγουν την μετανάστευση και πολλαπλασιασμό των ηπατικών αστεροειδών κυττάρων στον χοληδόχο πόρο

προδιαθέτοντας έτσι για ίνωση (Colombo 2007; Feranchak and Sokol 2001; Schuppan and Afdhal 2008; Tsukada et al. 2006; Feranchak 2004; Eigenbrodt et al. 1997; Fischer et al. 2000; Graziadei et al. 1998; Lawless et al. 2004; Perlmutter 2006). Σε ομόζυγα PiZ ποντίκια έχει παρατηρηθεί ότι απολίνωση του χοληδόχου πόρου που καταλήγει σε χολόσταση επάγει πιο ενεργοποιημένα αστεροειδή κύτταρα και ίνωση στο ήπαρ, παρατήρηση που είναι συμβατή με τον προτεινόμενο μηχανισμό δράσης του αλληλόμορφου Z στην ηπατική νόσο της κυστικής ίνωσης (Mencin et al. 2007). Περαιτέρω μελέτες απαιτούνται βεβαίως για την αποσαφήνιση του παθογενετικού μηχανισμού του Z αλληλόμορφου στην ηπατική νόσο (Bartlett et al. 2009). Το Z αλληλόμορφο προκαλεί λανθασμένη αναδίπλωση της πρωτεΐνης SERPINA1 γεγονός που αποφέρει συσσώρευση της πρωτεΐνης στα ηπατοκύτταρα. Παρόλο που και η μετάλλαξη F508del προκαλεί λανθασμένη αναδίπλωση της CFTR πρωτεΐνης και εκφράζεται κυρίως στα χοληφόρα του ήπατος, δεν θεωρείται πιθανό πως οι δύο αυτές μεταλλάξεις δρουν συνεργιστικά προς εμφάνιση ενός περισσότερο αρνητικού αποτελέσματος γιατί τα δύο γονίδια εκφράζονται σε διαφορετικούς κυτταρικούς τύπους στο ήπαρ (Cohn et al. 1993; Kinnman et al. 2000; Colombo 2007; Feranchak and Sokol 2001; Schuppan and Afdhal 2008; Tsukada et al. 2006; Eigenbrodt et al. 1997; Fischer et al. 2000; Graziadei et al. 1998; Lawless et al. 2004; Perlmutter 2006). Η ετεροζυγωτία για το Z αλληλόμορφο συνδέεται με διάφορες ηπατικές παθήσεις όπως κρυπτογενή κίρρωση, ατρησία χοληφόρων, ιογενή ηπατίτιδα, αλκοολική κίρρωση και μη αλκοολική λιπώδη νόσο του ήπατος (Lawless et al. 2004; Perlmutter 2006; Regev et al. 2006). Από μελέτες που έχουν διεξαχθεί γνωρίζουμε πλέον πως η ηπατική νόσος είναι πιο συχνή και διαγιγνώσκεται νωρίτερα σε άρρηνες ασθενείς με κυστική ίνωση ενώ δεν υπάρχει κάποια συσχέτιση των CFTR μεταλλάξεων με τη νόσο, αν και οι μεταλλάξεις που προσδίδουν παγκρεατική επάρκεια στους ασθενείς είναι σπάνιες σε άτομα με CFLD. Επιπλέον, η θρομβοκυτταροπενία ως αποτέλεσμα του υπερσπληνισμού είναι συχνή σε άτομα με πυλαία υπέρταση εξαιτίας της ηπατικής νόσου, τα βιοχημικά τεστ για το ήπαρ δεν είναι καλοί προγνωστικοί δείκτες για σοβαρή ηπατική νόσο και πυλαία υπέρταση στην ΚΙ, η οποία αναπτύσσεται σε παιδιατρικούς ασθενείς στην

ηλικία των 10 με 12 ετών (Castaldo et al. 2001; Colombo et al. 1994; Feranchak 2004; Wilschanski et al. 1999; Colombo et al. 2002; Corbett et al. 2004; Debray et al. 1999; Lamireau et al. 2004). Ιδιαίτερα ενδιαφέρουσα είναι η παρατήρηση αναφορικά με την ηλικιακή κατανομή της διάγνωσης σοβαρής ηπατικής νόσου ότι δεν αυξάνεται η επικράτησή της σε ενήλικες με ΚΙ παρά το ολοένα αυξανόμενο προσδόκιμο επιβίωσης (Bartlett et al. 2009).

ΔΙΑΒΗΤΗΣ ΤΗΣ ΚΥΣΤΙΚΗΣ ΙΝΩΣΗΣ

Ο διαβήτης της κυστικής ίνωσης (Cystic Fibrosis-related Diabetes *CFRD*) είναι μια επιπλοκή της νόσου σχετιζόμενη με την ηλικία και εμφανίζεται στο 19% των εφήβων και το 40-50% των ενηλίκων ασθενών με κυστική ίνωση (Moran et al. 2010). Σχετίζεται με χειρότερου βαθμού πνευμονοπάθεια, με υποσιτισμό και θνησιμότητα (Finkelstein et al. 1988) ενώ η αντιμετώπισή της οδηγεί σε βελτίωση αυτών των αποτελεσμάτων (Moran et al. 2010; Hameed et al. 2011). Ενήλικες ασθενείς με *CFRD* δεν πεθαίνουν από τις τυπικές μακροαγγειακές επιπλοκές του διαβήτη αν και ενδέχεται να εμφανίσουν μικροαγγειακές επιπλοκές (αμφιβληστροειδοπάθεια, νευροπάθεια, νεφροπάθεια) και γι'αυτό πρέπει να ελέγχονται για τις διαταραχές αυτές (Andersen et al. 2006; Schwarzenberg et al. 2007; Van den Berg et al. 2008; Lind-Ayres et al. 2011). Ο βασικός προβληματισμός είναι πως ο διαβήτης της ΚΙ αυξάνει την θνητότητα από αναπνευστική ανεπάρκεια και πνευμονοπάθεια (Milla et al. 2005). Αυτή η αύξηση εικάζεται πως οφείλεται σε έναν συνδυασμό της καταβολικής δράσης της ανεπάρκειας της ινσουλίνης και της φλεγμονώδους και παθογόνου δράσης της υπεργλυκαιμίας (Moran et al. 2010). Σε παιδιά με κυστική ίνωση ο διαβήτης και η μη φυσιολογική αντοχή στην ινσουλίνη πιστεύεται πως συσχετίζεται με μειωμένη λειτουργία των πνευμόνων και διατροφική κατάσταση, γεγονός που συμβάλλει στην αυξημένη θνητότητα και θνησιμότητα από τον διαβήτη της ΚΙ σε μεγαλύτερη ηλικία (Alicandro et al. 2012). Ο ρυθμός επιδείνωσης των αναπνευστικών προβλημάτων σε βάθος 4 ετών έχει συσχετιστεί με το βαθμό της αρχικής ανεπάρκειας της ινσουλίνης (Milla et al. 2005). Παράγοντες κινδύνου του διαβήτη της ΚΙ είναι η ανεπάρκεια της εξωκρινούς μοίρας του παγκρέατος (Lanng et al. 1991), το θήλυ φύλο (Marshall et al. 2005) και η ηπατική νόσος

(Minicucci et al. 2007). Το κύριο παθολογικό χαρακτηριστικό του διαβήτη της ΚΙ είναι η ανεπαρκής έκκριση ινσουλίνης. Ασθενείς με κυστική ίνωση τείνουν να αποκτούν μειωμένη έκκριση ινσουλίνης με τον χρόνο, ακόμα και με φυσιολογική ανοχή γλυκόζης (Lombardo et al. 2003; Street et al. 2012). Η ευαισθησία στην ινσουλίνη είναι γενικά φυσιολογική ή λίγο μόνο μειωμένη εκτός από τις περιπτώσεις οξείας ασθένειας ή θεραπείας με γλυκοκορτικοειδή όταν υπάρχει σοβαρή ανοχή στην ινσουλίνη (Lombardo et al. 2003; Street et al. 2012; Yung et al. 2002; Elder et al. 2007). Η βάση για την κατανόηση της παθοφυσιολογίας του διαβήτη στην κυστική ίνωση έχει εξελιχθεί από την πρώτη περιγραφή του διαβήτη σε ασθενείς με ΚΙ την δεκαετία του 1950 (Caldwell and Mcnamara 1958). Αρχικά η διαταραχή θεωρήθηκε πως οφείλεται σε παράπλευρη ζημιά στην ενδοκρινή μοίρα του παγκρέατος έπειτα από την δημιουργία ουλών και ίνωσης στην εξωκρινή μοίρα του παγκρέατος. Οι συγκεντρώσεις των άλλων ορμονών των νησιδίων εκτός της ινσουλίνης, όπως είναι η γλυκαγόνη, είναι επίσης διαταραγμένες σε ενήλικες ασθενείς με CFRD, γεγονός που υποστηρίζει την θεωρία ότι τα νησιδία καταστρέφονται από την ίνωση (Moran et al. 1998). Όμως, αν και όλοι οι ασθενείς με κυστική ίνωση φαίνεται να έχουν ουσιώδη έλλειψη β-κυττάρων με αυτόν τον μηχανισμό, αυτό δεν μπορεί να αποτελεί την μοναδική αιτία του διαβήτη στην ΚΙ καθώς αποτελέσματα από ιστοπαθολογικές μελέτες έχουν δείξει ότι ασθενείς με ΚΙ με διαβήτη δεν έχουν απαραίτητα περισσότερη παγκρεατική ίνωση από ασθενείς με ΚΙ χωρίς διαβήτη (Moran et al. 1998). Επιπλέον, στοιχεία υποδεικνύουν πως η ελαττωματική CFTR πρωτεΐνη μπορεί να εμπλέκεται στη τροποποιημένη έκκριση της ινσουλίνης. Το *CFTR* γονίδιο εκφράζεται στα α και β κύτταρα στο πάγκρεας των ποντικών αν και ο ρόλος του σε αυτά τα κύτταρα είναι ακόμα άγνωστος (Boom et al. 2007). Αξίζει να σημειωθεί πως η απόθεση του αμυλοειδούς πολυπεπτιδίου των νησιδίων (αμυλίνη-IAPP), που είναι χαρακτηριστικό στοιχείο του διαβήτη τύπου 2, έχει βρεθεί σε αυτοψία στο 69% των ασθενών με κυστική ίνωση με διαβήτη και όχι σε ασθενείς χωρίς διαβήτη. Αυτό υποδεικνύει έναν κοινό παθολογικό μηχανισμό μεταξύ των δύο διαφορετικών τύπων διαβήτη (Couce et al. 1996). Οι μεταλλάξεις του *CFTR* γονιδίου δεν εξηγούν τον κίνδυνο ανάπτυξης διαβήτη και γι'αυτό ο κίνδυνος έχει αποδοθεί στη δράση άλλων γονιδίων

(Blackman et al. 2009). Ο Blackman και οι συνεργάτες του έχουν δείξει ότι γονίδια υπεύθυνα για διαβήτη τύπου 2 είναι πιο συχνά σε ασθενείς με CFRD σε σχέση με ασθενείς με ΚΙ χωρίς διαβήτη, γεγονός που υποδεικνύει ότι ο διαβήτης της κυστικής ίνωσης και ο διαβήτης τύπου 2 εμφανίζουν παρόμοια εγγενή ελαττώματα των β κυττάρων (Blackman et al. 2009; Blackman et al. 2009). Επιπλέον, μελέτη του Blackman και των συνεργατών του το 2013 έδειξε συνολικά 5 γενετικές περιοχές σε διάφορα γονίδια, που συσχετίζονται με τον διαβήτη τύπου 2 ή όχι, τα οποία συνολικά θεωρούνται υπεύθυνα για το 8,3% της διακύμανσης της νόσου CFRD (Blackman et al. 2013). Πιο αναλυτικά, πολυμορφισμοί στο 5' άκρο του γονιδίου *SLC26A9* καθώς και στα γονίδια *TCF7L2*, *CDKAL1*, *CDKN2A/B* και *IGF2BP2* που εμπλέκονται στον διαβήτη τύπου 2 έχουν βρεθεί πως τροποποιούν και επηρεάζουν τη νόσο CFRD.

SLC26A9

Ανάλυση των GWAS μελετών ανέδειξε δύο πολυμορφισμούς στο χρωμόσωμα 1 που σχετίζονται με την έναρξη του διαβήτη της κυστικής ίνωσης. Οι πολυμορφισμοί βρίσκονται στο 5' άκρο του γονιδίου *SLC26A9* και είναι οι εξής: rs4077468 και rs4077469. Αυτοί οι πολυμορφισμοί δεν τροποποιούν την αλληλουχία της πρωτεΐνης αλλά πιθανολογείται ότι επηρεάζουν το μάτισμα και την έκφραση του γονιδίου. Κάθε A αλληλόμορφο του πολυμορφισμού rs4077468 συνεπάγεται αυξημένο κίνδυνο για CFRD (Blackman et al. 2013). Η πρωτεΐνη *SLC26A9* (solute carrier family 26 member 9) είναι ένας επιθηλιακός διάυλος χλωρίου/διττανθρακικού που αλληλεπιδρά με την πρωτεΐνη CFTR. Υπάρχουν αρκετές θεωρίες γύρω από τον μηχανισμό δράσης της πρωτεΐνης στη νόσο αλλά μέχρι στιγμής ο επικρατέστερος αναφέρεται σε αλλαγές στα επίπεδα και/ή στην ιστοειδικότητα της λειτουργικής *SLC26A9* από SNPs του γονιδίου. Πολλά στοιχεία υποδεικνύουν φυσικές αλληλεπιδράσεις που επηρεάζουν την λειτουργία και των δύο διαύλων CFTR και *SLC26A9*. Οι φυσικές αλληλεπιδράσεις συμβαίνουν μεταξύ της R περιοχής της πρωτεΐνης CFTR και μιας ειδικής για την *SLC26A9* περιοχής STAS (Ko et al. 2004; Chang et al. 2009). Σε ιστούς

που εκφράζονται και οι δύο πρωτεΐνες η SLC26A9 πρωτεΐνη μπορεί να λειτουργήσει ως εναλλακτικό μονοπάτι για την μεταφορά του χλωρίου και του διττανθρακικού, αντισταθμίζοντας έτσι την απώλεια της λειτουργίας του διαύλου CFTR. Όταν εκφράζονται στα ίδια κύτταρα, η SLC26A9 μπορεί να αλληλεπιδρά με την μεταλλαγμένη CFTR οδηγώντας σε σταθεροποίηση και μετρίαση του φαινοτύπου (Avella et al. 2011). Αν και η F508del-CFTR πρωτεΐνη έχει μικρή υπολειπόμενη λειτουργία, μια μικρή αύξηση στη λειτουργία της μπορεί να είναι αρκετή για να αλλάξει την κίνηση των ιόντων στο επιθήλιο που έχει θιγεί. Ιστοί που εκφράζουν και τις δύο πρωτεΐνες είναι ο πνεύμονας, το στομάχι και το λεπτό έντερο αν και δεν έχει εντοπιστεί κυτταρική συνεντόπιση. Έλλειψη συσχέτισης των SNPs του γονιδίου *SLC26A9* με τον αναπνευστικό φαινότυπο υποδεικνύει πως οι επιδράσεις αυτών των SNPs μπορεί να είναι είτε ιστοειδικές είτε μπορεί να είναι περισσότερο σημαντικές όταν υπάρχει μικρή υπολειπόμενη λειτουργία της CFTR πρωτεΐνης. Βέβαια, η μελέτη αυτή αποκλείει την πιθανότητα μεγαλύτερες αλλαγές στην δραστηριότητα του διαύλου SLC26A9 να επηρεάζουν άλλες επιπλοκές της κυστικής ίνωσης (Blackman et al. 2013). Μια άλλη πιθανότητα είναι ότι η δραστηριότητα του SLC26A9 από μόνη της θα μπορούσε να διαδραματίσει κάποιο ρόλο στον μεταβολισμό της γλυκόζης (ρυθμίζοντας για παράδειγμα την έκκριση της ινσουλίνης) και σε αυτήν την περίπτωση πολυμορφισμοί στο γονίδιο που επηρεάζουν την έκφραση της πρωτεΐνης μπορεί να τροποποιούν τον κίνδυνο ανάπτυξης διαβήτη. Το γονίδιο *SLC26A9* θα μπορούσε να είναι πιο σημαντικό για τον διαβήτη της ΚΙ (συγκριτικά με τον διαβήτη τύπου 2) εάν αυτό το μονοπάτι έχει ήδη διαταραχθεί από την αλληλεπίδραση F508del-CFTR (Bertrand et al. 2009; Ousingawatt et al. 2012). Αυτό το σενάριο υποστηρίζεται από την συσχέτιση των πολυμορφισμών του *SLC26A9* με τον διαβήτη τύπου 2 αν και τα αντίθετα αλληλόμορφα συσχετίστηκαν με αυξημένο κίνδυνο. Θεωρητικά, οι ίδιες αλλαγές στην δραστηριότητα του SLC26A9 διαύλου μπορούν να ομαλοποιούν ή να επιδεινώνουν τις ανωμαλίες στην μεταφορά των ιόντων ανάλογα με το αν είναι λειτουργικός ο CFTR δίαυλος. Παρόμοια παράδοξη συσχέτιση έχει φανεί και για τα αντίθετα αλληλόμορφα των SNPs στο γονίδιο *TGFB1* που σχετίζονται με πνευμονοπάθεια σε πληθυσμούς με κυστική ίνωση και χρόνια

αποφρακτική πνευμονοπάθεια (Drumm et al. 2005). Μια ενδιαφέρουσα ερώτηση είναι το κατά πόσο αυτά τα γονίδια εκφράζονται στα β-κύτταρα του παγκρέατος, γεγονός που θα μπορούσε να υποστηρίξει τα νησίδια του παγκρέατος ως τόπος δράσης τους (Stalvey et al. 2006). Αναφορές έκφρασης του *CFTR* στα β-κύτταρα είναι ασυνεπείς (Polychronakos et al. 2004; Boom et al. 2007) και ενώ το *SLC26A9* εκφράζεται σε πολλούς ιστούς, συμπεριλαμβανομένου του βρογχικού επιθηλίου (Lohi et al. 2002; Xu et al. 2008), δεν έχει αναφερθεί ωστόσο έκφρασή του στα β-κύτταρα. Η αγωγιμότητα του χλωρίου (Henquin et al. 2009) σχετίζεται με την απελευθέρωση της ινσουλίνης από τα β-κύτταρα όπως διαφαίνεται από την αναστολή ή εκτομή του *SLC12A1* ($\text{Na}^+\text{K}^+\text{Cl}^-$ συμμεταφορέας 1) (Majid et al. 2001; Best et al. 2005; Alshahrani and Fulvio 2012). Έτσι, δεν είναι αδικαιολόγητο να υποθέσουμε πως αλλαγή στην έκφραση του *CFTR* ή του *SLC26A9* (ή και των δύο) μπορεί να επηρεάσει την λειτουργία των β-κυττάρων άμεσα τροποποιώντας την ροή του χλωρίου ή του διττανθρακικού (ή και των δύο), υπόθεση που είναι ελκυστική γιατί συνδυάζει όλους τους αξιωματικούς μηχανισμούς (Blackman et al. 2013).

Γονίδια που εμπλέκονται στον Διαβήτη Τύπου 2

Εκτός από το γονίδιο *SLC26A9* τα γονίδια που επηρεάζουν τον διαβήτη τύπου 2 και έχει βρεθεί συσχέτιση και με τον διαβήτη της κυστικής ίνωσης είναι τα εξής: *TCF7L2*, *CDKAL1*, *CDKN2A/B* και *IGF2BP2* (Blackman et al. 2013). Το γονίδιο της πρωτεΐνης *TCF7L2* (Transcription factor 7-like 2) που λειτουργεί ως μεταγραφικός παράγοντας βρίσκεται στην θέση 10q25.3. Ο πολυμορφισμός rs7903146 είναι ο πιο γνωστός γενετικός δείκτης για τον διαβήτη τύπου 2 (Castrop et al. 1992; Vaquero et al. 2012). Ο μεταγραφικός παράγοντας *TCF7L2* επηρεάζει την μεταγραφή πολλών γονιδίων και κατ'επέκταση πολλές λειτουργίες μέσα στο κύτταρο. Είναι μέλος του σηματοδοτικού μονοπατιού Wnt, διέγερση του οποίου οδηγεί σε αλληλεπίδραση της β-κατενίνης με την πρωτεΐνη BCL9, μετατόπιση στον πυρήνα και αλληλεπίδραση με τον παράγοντα *TCF7L2* (Lee et al. 2006) ο οποίος με την σειρά του ενεργοποιεί τα γονίδια-στόχους του Wnt

καταστέλλοντας την σύνθεση του προγλυκαγόνου στα ενδοκρινή κύτταρα του εντερικού συστήματος (Jin and Liu 2008). Κάθε T αλληλόμορφο του πολυμορφισμού rs7903146 του γονιδίου *TCF7L2* έχει συνδεθεί με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης διαβήτη στην κυστική ίνωση και επιπλέον με μικρότερη ηλικία διάγνωσης της νόσου (Blackman et al. 2009). Μειωμένη λειτουργία των β-κυττάρων είναι ορόσημο στον διαβήτη στην ΚΙ (Moran et al. 1999; Bismuth et al. 2008) έτσι η συμμετοχή του *TCF7L2* στην ΚΙ υποστηρίζει τον υποτιθέμενο ρόλο της πρωτεΐνης στον πολλαπλασιασμό των β-κυττάρων και/ή στην έκκριση της ινσουλίνης (Liu et al. 2008; Wegner et al. 2008). Επιπλέον, ο Blackman και οι συνεργάτες του έδειξαν πως ένας περιβαλλοντικός παράγοντας όπως είναι η θεραπεία με κορτικοστεροειδή από τη συστηματική κυκλοφορία μπορεί να επηρεάσει την επίδραση του γονιδίου *TCF7L2* στον κίνδυνο ανάπτυξης διαβήτη (Blackman et al. 2009). Τέλος, έχει αναφερθεί πως πολυμορφισμοί στο γονίδιο *CDKAL1* βλάπτουν την μετάφραση της προϊνσουλίνης και διεγείρουν την εξαρτώμενη από το ενδοπλασματικό δίκτυο απάντηση στο στρες (Wei et al. 2011) που προωθεί την απόπτωση (Laybutt et al. 2007). Το γονίδιο που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη *CDKAL1* (CDK5 regulatory subunit associated protein 1-like 1) βρίσκεται στην θέση 6p22.3 και είναι μέλος της οικογένειας των μεθυλοθειοτρανσφερασών. Η λειτουργία του γονιδίου δεν είναι ακόμα γνωστή αλλά μελέτες GWAS έχουν συσχετίσει SNPs του γονιδίου με διαβήτη τύπου 2 (Pierrel et al. 2004). Το ογκοκατασταλτικό γονίδιο *CDKN2A/B* βρίσκεται στην θέση 9p21.3 και η πρωτεΐνη που κωδικοποιεί είναι η p16 ή αλλιώς *CDKN2A/B* (cyclin-dependent kinase inhibitor 2A, multiple tumor suppressor 1) (Stone et al. 1995). Ένα τελευταίο γονίδιο που έχει βρεθεί να έχει κάποια σχέση με τον διαβήτη της ΚΙ είναι το γονίδιο *IGF2BP2* που βρίσκεται στην θέση 3q27.2. Κωδικοποιεί την πρωτεΐνη *IGF2BP2* (insulin-like growth factor 2 mRNA-binding protein 2) (Nielsen et al. 1999). Συμμετοχή του *TCF7L2*, που ενδέχεται να επηρεάζει την μάζα των β-κυττάρων και την επεξεργασία της προϊνσουλίνης (Liu et al. 2008; Loos et al. 2007) και του *CDKN2A/B*, που είναι ογκοκατασταλτικό γονίδιο με ρόλο στην κυτταρική γήρανση και την έκκριση ινσουλίνης (Guo et al. 2011; Pascoe et al. 2012) υποδεικνύει πιθανούς ρόλους της ανάπτυξης/απόπτωσης και της επεξεργασίας της

ινσουλίνης στον διαβήτη της κυστικής ίνωσης. Περαιτέρω μελέτες πρέπει να διεξαχθούν για να διαλευκανθεί ο ρόλος αυτών των γονιδίων στη νόσο CFRD.

ΕΙΛΕΟΣ ΑΠΟ ΜΗΚΩΝΙΟ

Σε ορισμένες περιπτώσεις νεογέννητων με κυστική ίνωση, που φέρουν τυπικά δύο βαριές μεταλλάξεις του *CFTR* γονιδίου, παρατηρείται εντερική απόφραξη εξαιτίας ειλεού από μηκόνιο. Ο ειλεός από μηκόνιο αναπτύσσεται στη μήτρα από εντερική απόφραξη στον περιφερικό ειλεό και στο τυφλό έντερο και εμφανίζεται με τη γέννηση ως αδυναμία αποβολής του μηκωνίου και έμετο. Επέμβαση απαιτείται όταν υπάρχουν στοιχεία ενδομήτριων επιπλοκών όπως διάτρηση, συστροφή ή ατρησία ειλεού. Σε νεογνά χωρίς ιδιαίτερες επιπλοκές η χορήγηση ενός κλύσματος μπορεί να είναι αρκετή για να ανακουφιστεί το νεογνό από την απόφραξη. Εάν το κλύσμα αποτύχει, τότε απαιτείται χειρουργική επέμβαση. Ο ειλεός από μηκόνιο είναι ένα πρώτο διαγνωστικό σημάδι της κυστικής ίνωσης γιατί εμφανίζεται στο 15–20% των ασθενών με ΚΙ στην γέννα ενώ δεν είναι συχνός σε νεογνά χωρίς ΚΙ (Dorfman et al. 2009). Σύμφωνα πάντως με πρόσφατες μελέτες, ο ειλεός από μηκόνιο δεν οδηγεί και δεν σχετίζεται με χειρότερη εξέλιξη της διατροφικής κατάστασης και του αναπνευστικού φαινοτύπου της κυστικής ίνωσης ούτε με αυξημένη θνησιμότητα σε σχέση πάντα με τους ασθενείς που δεν εμφάνισαν ειλεό με την γέννησή τους (Munck et al. 2006; Efrati et al. 2010; Johnson et al. 2010). Καθορίζεται ξεκάθαρα από γενετικούς παράγοντες, γεγονός που διαφαίνεται από τα αποτελέσματα μιας μεγάλης μελέτης διδύμων όπου παρατηρήθηκε πως τα μονοζυγωτικά δίδυμα εμφανίζουν σημαντικά μεγαλύτερη συμφωνία για ειλεό από μηκόνιο συγκριτικά με τα διζυγωτικά. Ένας τέτοιος παράγοντας είναι ο γονότυπος του γονιδίου *CFTR* και πιο συγκεκριμένα η επικρατέστερη μετάλλαξη F508del η οποία συνδέεται ισχυρά με την εμφάνιση ειλεού (Blackman et al. 2006). Οι πιο συχνές μεταλλάξεις του γονιδίου *CFTR* σε ασθενείς με ειλεό από μηκόνιο είναι οι εξής: F508del, G542X, W1282X, R553X και G551D (Cystic Fibrosis Foundation 2010). Άλλα τροποποιητικά γονίδια εκτός του *CFTR* επηρεάζουν επίσης τον κίνδυνο ανάπτυξης ειλεού και κατά περιόδους έχει βρεθεί συσχέτιση με αρκετά από αυτά χωρίς ωστόσο να έχει αποδειχθεί κάποια αδιάσειστη απόδειξη συσχέτισης μεταξύ ενός

τροποποιητικού γονιδίου και του ειλεού (van der Doef et al. 2010; Blackman et al. 2006; Zielenski et al. 1999; Dorfman et al. 2009; Rozmahel et al. 1996). Η ομάδα του Rozmahel ήταν η πρώτη που ανέφερε μια τροποποιητική περιοχή για τον ειλέο από μηκόνιο (*Cfm1*) στο χρωμόσωμα 7 σε μοντέλα ποντικών ειδικά για την ΚΙ (Rozmahel et al. 1996). Μεταγενέστερα, αρκετοί δείκτες βρέθηκαν στο αντίστοιχο χρωμόσωμα 19 στον άνθρωπο σε μελέτες αδερφών (Zielenski et al. 1999) αν και η συσχέτιση του γονιδίου *CFM1* με τον ειλέο δεν μπόρεσε να επαναληφθεί σε genome-wide μελέτες σε πάνω από 1000 ασθενείς (Blackman et al. 2006). Έτσι, δεν θεωρείται πλέον πιθανό το γονίδιο *CFM1* να διαδραματίζει κάποιο ρόλο στην ανάπτυξη του ειλεού. Ο Dorfman και η ομάδα του με μελέτες που πραγματοποίησαν βρήκαν μια περιοχή που σχετίζεται με τον ειλέο από μηκόνιο στο χρωμόσωμα 12p13.3 και πιο συγκεκριμένα το γονίδιο *ADIPOR2* και μια προστατευτική περιοχή στο χρωμόσωμα 4q13.3, πιο συγκεκριμένα το γονίδιο *SLC4A4* (Dorfman et al. 2009).

ADIPOR2

Το γονίδιο *ADIPOR2* κωδικοποιεί τον έναν από τους δύο υποδοχείς της αδιπνεκτίνης. Η αδιπνεκτίνη εμπλέκεται σε μια μεγάλη γκάμα μεταβολικών διεργασιών συμπεριλαμβανομένου του μεταβολισμού των λιπιδίων και γλυκόζης (Kadowaki and Yamauchi 2005; Oh et al. 2007) ενώ παίζει και αντιφλεγμονώδη ρόλο (Ouchi and Walsh 2007). Εξαιτίας της ευρείας έκφρασης του γονιδίου *ADIPOR2* σε διάφορους ιστούς και την παρουσία της αδιπνεκτίνης στην κυκλοφορία του αίματος, δεν είναι πλήρως ξεκάθαρο πώς το μονοπάτι σηματοδότησης της αδιπνεκτίνης επηρεάζει τον ειλέο από μηκόνιο στην κυστική ίνωση. Μια εξήγηση μπορεί να είναι πως η διακοπή της αντιφλεγμονώδους δραστηριότητας της αδιπνεκτίνης συμβάλλει σε αυξημένο κίνδυνο ειλεού από μηκόνιο (Ouchi and Walsh 2007).

SLC4A4

Ένα άλλο πιθανό υποψήφιο γονίδιο για τον ειλέο από μηκόνιο είναι το γονίδιο *SLC4A4/NBC1* το οποίο εικάζεται πως ασκεί προστατευτική δράση για

την εμφάνιση του ειλεού από μηκόνιο. Το γονίδιο αυτό βρίσκεται στο χρωμόσωμα 4 και κωδικοποιεί την αντίστοιχη πρωτεΐνη SLC4A4 (electrogenic sodium bicarbonate cotransporter 1) η οποία λειτουργεί ως συμμεταφορέας διττανθρακικού νατρίου που ρυθμίζει την έκκριση διττανθρακικού σε πολλά όργανα όπως στα κύτταρα του παγκρεατικού αγωγού και το έντερο (Soleimani and Burnham 2001). Το επίπεδο έκφρασης και ο ρυθμός ενδοκύτωσης για διάφορους μεταφορείς συμπεριλαμβανομένου του SLC4A4 εξαρτώνται από τα επίπεδα της CFTR πρωτεΐνης (Lee et al. 2001; Shumaker et al. 1999; Shumaker and Soleimani 1999; Soleimani 2001). Πρόσφατα, έχει προταθεί η άποψη πως οι βλεννίνες με ελαττωματική έκκριση διττανθρακικού είναι λιγότερο διαλυτές και έχουν την τάση να συγκεντρώνονται σε όργανα που επηρεάζει η κυστική ίνωση (Quinton 2008). Έτσι, μια gain-of-function μετάλλαξη ή υψηλότερα επίπεδα έκφρασης του *SLC4A4* θα μπορούσαν να βελτιώσουν την έκκριση διττανθρακικού προσδίδοντας με αυτόν τον τρόπο προστασία έναντι του ειλεού από μηκόνιο. Μελέτες FBAT (Family Based Association Tests) έδειξαν πως το υπολειπόμενο αλληλόμορφο του πολυμορφισμού rs1453458 στο γονίδιο *SLC4A4* υπερεκφράζεται σε οικογένειες με κυστική ίνωση που δεν εμφάνισαν ειλεό από μηκόνιο. Αξιοπεριεργό είναι πως τα loss-of-function αλληλόμορφα του γονιδίου σχετίζονται με νεφρική οξέωση (Romero 2005). Περαιτέρω μελέτες απαιτούνται προκειμένου να διαπιστωθεί εάν το υπολειπόμενο αλληλόμορφο του rs1453458 σχετίζεται με αυξημένη πρωτεϊνική έκφραση. Γενικά, ενώ τα αποτελέσματα για το γονίδιο *ADIPOR2* επαναλήφθηκαν και με άλλες μελέτες, τα αποτελέσματα για το γονίδιο *SLC4A4* χρειάζονται περαιτέρω μελέτες για επιβεβαίωση (Dorfman et al. 2009).

CLCA1

Άλλο γονίδιο που έχει μελετηθεί για επίδραση στην ανάπτυξη ειλεού από μηκόνιο στην κυστική ίνωση είναι το γονίδιο *CLCA1*. Η πρωτεΐνη *CLCA1* (calcium-activated chloride channel regulator 1) κωδικοποιείται από το αντίστοιχο γονίδιο *CLCA1* το οποίο εδράζεται στην περιοχή 1p22.3 (Gruber et al. 1999). Αρχικά θεωρήθηκε πως το γονίδιο *CLCA1* και το ορθόλογο γονίδιο *Cica3* στο ποντίκι κωδικοποιούν έναν ενεργοποιούμενο με ασβέστιο δίαυλο

χλωρίου (Loewen and Forsyth 2005), μεταγενέστερες όμως μελέτες αμφισβήτησαν αυτά τα στοιχεία υποστηρίζοντας πως είναι διαλυτές σφαιρικές πρωτεΐνες που πιθανόν εμπλέκονται σε πρωτεϊνικές αλληλεπιδράσεις και εξωκυττάρια σηματοδότηση (Gibson et al. 2005; Mundhenk et al. 2006). Διάφορες μελέτες δείχνουν σημαντικό ρόλο για τα γονίδια *CLCA1/Clca3* στην εντερική απόφραξη στην κυστική ίνωση. Πιο συγκεκριμένα, βρέθηκε πως η έκφραση του *Clca3* στο έντερο ποντικών με κυστική ίνωση, τα οποία πεθαίνουν από εντερική απόφραξη, είναι μειωμένη (Brouillard et al. 2005; Young et al. 2007) ενώ αντίθετα αυξημένη έκφρασή του οδηγεί σε βελτιωμένη εντερική κατάσταση και καλύτερη επιβίωση (Young et al. 2007). Επιπλέον, πρόσφατα παρατηρήθηκε συσχέτιση μεταξύ ενός πολυμορφισμού στο γονίδιο *CLCA1* και του ειλεού από μηκόνιο σε ευρωπαίους ασθενείς με κυστική ίνωση και πιο συγκεκριμένα του πολυμορφισμού p.S357N. Αυτή η αλλαγή στο αμινοξύ της θέσης 357 ίσως επηρεάζει τις φυσικοχημικές ιδιότητες της *CLCA1* πρωτεΐνης και κατ'επέκταση την λειτουργία και/ή την έκφρασή της. Βρέθηκε ότι ο γονότυπος S357S υπερεκφράζεται σε ασθενείς με κυστική ίνωση που εμφανίζουν ειλεό από μηκόνιο και εκδηλώνουν βαρύ φαινότυπο ή φέρουν την μετάλλαξη F508del. Αυτό υποδεικνύει πως το γονίδιο *CLCA1* έχει εξίσου σημαντικό ρόλο στην εντερική απόφραξη στην κυστική ίνωση στους ανθρώπους όπως συμβαίνει και στα *Cftr*^{-/-} ποντίκια. Αυτή αποτελεί την πρώτη μελέτη που δείχνει κάποιου είδους συσχέτιση μεταξύ του *CLCA1* και του ειλεού από μηκόνιο στην κυστική ίνωση (van der Doef et al. 2010).

MSRA

Τέλος, αξίζει να σημειωθεί ένα νέο πιθανό τροποποιητικό γονίδιο σύμφωνα με πρόσφατη μελέτη το οποίο φάνηκε να ασκεί προστατευτική δράση στην εμφάνιση ειλεού από μηκόνιο. Το γονίδιο αυτό είναι το γονίδιο *MSRA* (methionine sulfoxide reductase A) το οποίο εδράζεται στην θέση 8p23.1 και κωδικοποιεί το ένζυμο peptide methionine sulfoxide reductase (Kuschel et al. 1999). Πιο αναλυτικά, η Henderson και οι συνεργάτες της με μελέτη που πραγματοποίησαν το 2012 βρήκαν διάφορους πολυμορφισμούς (SNPs) και κυρίως απλότυπους που τροποποιούν τον κίνδυνο εμφάνισης ειλεού από μηκόνιο σε νεογνά με κυστική ίνωση και μάλιστα βρέθηκε προστατευτική

δράση έναντι του ειλεού (Henderson et al. 2012). Αρχικά, πρέπει να αναφέρουμε πως η απώλεια της λειτουργίας του *CFTR* γονιδίου οδηγεί σε συνδυασμό διαταραγμένης παγκρεατικής έκκρισης πρωτεολυτικών ενζύμων και ελλιπούς αυλικής ενυδάτωσης του μηκωνίου (Berschneider et al. 1988; Taylor et al. 1988). Το μηκόνιο, το εντερικό περιεχόμενο του αναπτυσσόμενου εντέρου που θα σχηματίσει την πρώτη κένωση του εντέρου, έχει ιδιαίτερως υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες σε νεογνά με κυστική ίνωση γεγονός που πιθανολογείται ότι οφείλεται σε ελαττωματική πρωτεόλυση (Schutt and Isles 1968; Brock and Barron 1986; Hsieh and Berry 1988). Έχει προταθεί πως οι διαταραγμένες βισκοελαστικές ιδιότητες του μηκωνίου προδιαθέτει τα έμβρυα και τα νεογνά με κυστική ίνωση για εντερική απόφραξη (Green et al. 1958). Το γονίδιο *MSRA* κωδικοποιεί ένα αντιοξειδωτικό ένζυμο που τροποποιεί την δραστηριότητα συγκεκριμένων πρωτεϊνών μειώνοντας τα κατάλοιπα μεθειονίνης (Oien and Moskovitz 2008). Εκφράζεται στο έντερο και άλλους ιστούς και πιο συγκεκριμένα στο ήπαρ, νεφρό και εγκέφαλο (Kuschel et al. 1999; Moskovitz et al. 1996; Moskovitz et al. 1996). Μια πιθανή συσχέτιση μεταξύ του *MSRA* και του ειλεού από μηκόνιο είναι πως το γονίδιο *MSRA* μπορεί να τροποποιεί την δραστηριότητα πρωτεολυτικών ενζύμων (Weissbach et al. 2005). Η μεγιστοποίηση της δραστηριότητας των υπολειπόμενων ενζύμων που παράγονται από το πάγκρεας των εμβρύων θα μπορούσε να συμβάλλει στην αποδόμηση των εντερικών πρωτεϊνών στη μήτρα μειώνοντας έτσι τον κίνδυνο της απόφραξης. Η μελέτη της Henderson και των συνεργατών της ανέδειξε κάποιους απλότυπους στο ιντρόνιο 3 του γονιδίου *MSRA* οι οποίοι έπειτα και από επαναληπτικές μελέτες σε διαφορετικό πληθυσμό βρέθηκε να συνδέονται με προστατευτικό ρόλο στην εμφάνιση του ειλεού. Οι απλότυποι με την μεγαλύτερη στατιστική σημαντικότητα είναι οι εξής: rs10903323 T – rs4840475 G – rs17151637 A και rs4840475 G – rs17151637 A – rs6601427 C. Η αναγνώριση του γονιδίου *MSRA* ως τροποποιητικό γονίδιο του ειλεού από μηκόνιο στην κυστική ίνωση μας παρέχει νέα δεδομένα και νέες προοπτικές στην προσπάθειά μας να κατανοήσουμε σε βάθος τους μηχανισμούς που εμπλέκονται στην εντερική απόφραξη σε άτομα χωρίς λειτουργία του *CFTR* γονιδίου (Henderson et al. 2012).

ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ

Μια άλλη παράμετρος που επηρεάζει και διαμορφώνει την εξέλιξη της νόσου είναι η διατροφική κατάσταση των ασθενών. Σωστή διατροφή τα πρώτα χρόνια ζωής των ασθενών με κυστική ίνωση έχει συσχετισθεί με καλύτερη πνευμονική λειτουργία αργότερα στη ζωή τους (Lai et al. 2009; Matel 2012; Zemel et al. 2000; Konstan et al. 2003). Η διατροφική κατάσταση δεν συσχετίζεται σε μεγάλο βαθμό με τον *CFTR* γονότυπο (Salvatore et al. 2002; McKone et al. 2006), γεγονός που υποδεικνύει πως επηρεάζεται από άλλους παράγοντες περιβαλλοντικούς, γενετικούς ή στοχαστικούς (Cutting 2005). Μη γενετικοί παράγοντες περιλαμβάνουν την διάγνωση της κυστικής ίνωσης μέσω του ελέγχου των νεογέννητων (newborn screening) και επιβολή γαστροστομίας ενώ σχετίζονται με βελτιωμένη διατροφική κατάσταση στους ασθενείς με ΚΙ (Southern et al. 2009; Bradley et al. 2012). Αντιθέτως, η παγκρεατική ανεπάρκεια και ο ειλεός από μηκύνιο επηρεάζουν αρνητικά την διατροφική κατάσταση και την ανάπτυξη στην κυστική ίνωση (Lai et al. 2000; Cohen et al. 2005). Σε εναρμόνιση με τις συστάσεις του Cystic Fibrosis Foundation (CFF), ο Δείκτης Μάζας Σώματος (ΔΜΣ) (σε kg/m^2) χρησιμοποιείται ως δείκτης της διατροφικής κατάστασης (Stallings et al. 2008) καθώς ο ΔΜΣ προβλέπει καλύτερα την διατροφική ανεπάρκεια στην κυστική ίνωση σε σχέση με άλλους συμβατικούς ανθρωπομετρικούς δείκτες όπως είναι το εκατοστημόριο ύψους-ηλικίας, το εκατοστημόριο βάρους-ηλικίας και το ποσοστό του ιδανικού σωματικού βάρους (Zhang and Lai 2004; Wiedemann et al. 2007). Επειδή ο ΔΜΣ διαφέρει στην παιδική και εφηβική ηλικία, έχει επιλεγεί να χρησιμοποιείται το ηλικιακό εύρος 5-10 ετών γιατί θεωρείται μια σταθερή περίοδος κατά την εξέλιξη της νόσου κατά την οποία έχει ήδη γίνει η διάγνωση αλλά δεν έχουν εμφανισθεί ακόμα επιπλέον συνοσηρότητες όπως είναι ο διαβήτης της κυστικής ίνωσης (Haeusler et al. 1994; Cystic Fibrosis Foundation Patient Registry 2009). Επιπλέον, μελέτες έχουν δείξει πως υπάρχουν και άλλα γονίδια εκτός του *CFTR* γονιδίου που καθορίζουν την διατροφική κατάσταση στην ΚΙ (Blackman et al. 2009a).

Γενετικές περιοχές στα χρωμοσώματα 1, 5 και 16

Σύμφωνα με την μελέτη της ομάδας του Bradley το 2012 βρέθηκαν περιοχές στα χρωμοσώματα 1 και 5 που επηρεάζουν την διατροφική κατάσταση στην κυστική ίνωση η οποία εκφράζεται μέσω του ΔΜΣ. Πιο συγκεκριμένα οι περιοχές που εμπλέκονται είναι οι εξής: 1p36.1 και 5q14. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως τροποποιητικά γονίδια στην περιοχή 1p36.1 επηρεάζουν τόσο το διατροφικό προφίλ όσο και την πνευμονική λειτουργία στην κυστική ίνωση ενώ τα τροποποιητικά γονίδια της περιοχής 5q14 επηρεάζουν το διατροφικό προφίλ της ΚΙ που είναι ανεξάρτητο της αναπνευστικής λειτουργίας (Bradley et al. 2012). Επιπλέον, διαπιστώθηκε πως τα γονίδια που επηρεάζουν την διατροφική κατάσταση και εντοπίζονται στο χρωμόσωμα 1p36.1 είναι πιο ειδικά για την κυστική ίνωση μέσω της εμπλοκής τους στην πρωτεϊνική επεξεργασία ενώ τα γονίδια της περιοχής 5q14 επηρεάζουν τον ΔΜΣ τόσο στους ασθενείς με ΚΙ όσο και στον γενικό πληθυσμό (Bell et al. 2004; Cheng et al. 2009; Patwari et al. 2011). Στην περιοχή 5q14 υπάρχει το γονίδιο *ARRCD3* (arrestin domain-containing 3 gene) το οποίο έχει συσχετισθεί με τη μάζα σώματος και την ενεργειακή δαπάνη στους άνδρες γενικά (Patwari et al. 2011) και μπορεί να θεωρηθεί ως πιθανό τροποποιητικό γονίδιο της διατροφικής κατάστασης και στην κυστική ίνωση (Bradley et al. 2012). Τέλος, ένα άλλο γονίδιο σχετιζόμενο με τον ΔΜΣ στον γενικό πληθυσμό στο χρωμόσωμα 16p11.2 βρέθηκε σε μελέτες να έχει κάποιου βαθμού συσχέτιση με τον ΔΜΣ στην κυστική ίνωση (Bradley et al. 2012).

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η παρούσα εργασία είχε ως σκοπό την βιβλιογραφική ανασκόπηση των μελετών που έχουν πραγματοποιηθεί για την ανεύρεση τροποποιητικών γονιδίων του φαινοτύπου της κυστικής ίνωσης. Έχουν πραγματοποιηθεί πολλές μελέτες και έχει βρεθεί πληθώρα γονίδια που τροποποιούν με κάποιο τρόπο τον φαινότυπο της νόσου. Αρχικά, οι μελέτες επικεντρώνονταν σε πιθανά υποψήφια γονίδια για τα οποία προϋπήρχε η γνώση πως συμμετέχουν με κάποιο τρόπο στην παθοφυσιολογία της κυστικής ίνωσης. Μετέπειτα, με την βοήθεια των νέων τεχνικών, πραγματοποιήθηκαν μελέτες σε ολόκληρο το γονιδίωμα για την ανεύρεση γενετικών τόπων και αλλά και συγκεκριμένων γονιδίων χωρίς προηγούμενη γνώση για πιθανή εμπλοκή τους στη νόσο. Ωστόσο, πρέπει να επισημανθεί πως τα αποτελέσματα πολλών μελετών είναι αντικρουόμενα, γεγονός που δείχνει πως η ανεύρεση κάποιου οριστικού τροποποιητικού γονιδίου δεν είναι εύκολη υπόθεση. Αυτό συμβαίνει γιατί ο σχεδιασμός της μελέτης είναι ελλιπής και υπάρχει δυσκολία συγκέντρωσης μεγάλου δείγματος ασθενών σε μια μελέτη ώστε να αποκτήσουν τα αποτελέσματά της στατιστική σημαντικότητα, ενώ επιπροσθέτως υπάρχει πρόβλημα επαναληψιμότητάς τους από μελέτες άλλων ερευνητών. Οι μελέτες ολόκληρου του γονιδιώματος (GWAS) ή του συνόλου των εξονίων (exome sequencing) δίνουν νέα προοπτική στην πορεία των ερευνητών στον αγώνα για ανεύρεση τροποποιητικών γονιδίων. Η κυστική ίνωση είναι μια πολύπλοκη νόσος στην οποία εμπλέκονται και μη γενετικοί παράγοντες (περιβάλλον). Συμπληρωματικές μελέτες για την αλληλεπίδραση των γονιδίων μεταξύ τους αλλά και με το περιβάλλον θα μπορέσουν στο μέλλον να διαλευκάνουν το πολύπλοκο υπόβαθρο της κυστικής ίνωσης. Μόνο τότε θα μπορέσουν οι επιστήμονες να εφαρμόσουν εξατομικευμένη θεραπεία στον κάθε ασθενή με βάση το ιδιαίτερο γενετικό προφίλ του καθενός ώστε να επιτευχθεί όσο το δυνατόν καλύτερο θεραπευτικό αποτέλεσμα. Αυτή η θεραπευτική προσέγγιση ίσως οδηγήσει σε καλύτερη ποιότητα ζωής και αύξηση του προσδόκιμου επιβίωσης για τους ασθενείς με κυστική ίνωση.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Adcock IM, Ito K, Barnes PJ. Histone deacetylation: an important mechanism in inflammatory lung diseases. *COPD* 2:445–455, 2005
- Ahmed N, Corey M, Forstner G, Zielenski J, Tsuilc, Ellis L et al. Molecular consequences of cystic fibrosis transmembrane regulator (CFTR) gene mutations in the exocrine pancreas. *Gut* 52:1159–1164, 2003
- Alexis N, Eldridge M, Reed W, Bromberg P, Peden DB. CD14-dependent airway neutrophil response to inhaled LPS: role of atopy. *J Allergy Clin Immunol* 107:31–5, 2001
- Alicandro G, Battezzati PM, Battezzati A et al. Insulin secretion, nutritional status and respiratory function in cystic fibrosis patients with normal glucose tolerance. *Clin Nutr* 31: 118–23, 2012
- Alshahrani S, Di Fulvio M. Enhanced insulin secretion and improved glucose tolerance in mice with homozygous inactivation of the Na(+)/K(+)-ATPase co-transporter 1. *J Endocrinol* 215:59–70, 2012
- Andersen DH. Cystic fibrosis of the pancreas and its relation to celiac disease: a clinical and pathological study. *Am J Dis Child* 56: 344–399, 1938
- Andersen HU, Lanng S, Pressler T, Laugesen CS, Mathiesen ER. Cystic fibrosis-related diabetes: the presence of microvascular diabetes complications. *Diabetes Care* 29: 2660–63, 2006
- Anderson MP, Sheppard DN, Berger HA, Welsh MJ. Chloride channels in the apical membrane of normal and cystic fibrosis airway and intestinal epithelia. *Am J Physiol* 263:L1–14, 1992
- Anderson MP, Welsh MJ. Regulation by ATP and ADP of CFTR chloride channels that contain mutant nucleotide-binding domains. *Science* 257:1701–4, 1992
- Aris RM, Merkel PA, Bachrach LK et al. Guide to bone health and disease in cystic fibrosis. *J Clin Endocrinol Metab* 90(3):1888–1896, 2005
- Arkwright PD, Laurie S, Super M, Pravica V, Schwarz MJ, Webb AK et al. TGF-beta(1) genotype and accelerated decline in lung function of patients with cystic fibrosis. *Thorax* 55:459–62, 2000

Arkwright PD, Pravica V, Geraghty PJ, Super M, Webb AK, Schwarz M et al. End-organ dysfunction in cystic fibrosis: association with angiotensin I converting enzyme and cytokine gene polymorphisms. *Am J Respir Crit Care Med* 167:384–9, 2003

Aron Y, Bienvenu T, Hubert D, Dusser D, Dall’Ava J, Polla BS. HLA-DR polymorphism in allergic bronchopulmonary aspergillosis. *J Allergy Clin Immunol* 104:891–2, 1999a

Aron Y, Polla BS, Bienvenu T, Dall’ava J, Dusser D, Hubert D. HLA class II polymorphism in cystic fibrosis. A possible modifier of pulmonary phenotype. *Am J Respir Crit Care Med* 159:1464–8, 1999b

Auron Webb AC, Rosenwasser LJ, Mucci SF, Rich A, Wolff SM, Dinarello CA. Nucleotide sequence of human monocyte interleukin 1 precursor cDNA. *Proc Natl Acad Sci U S A* 81 (24): 7907–11, 1984

Avella M, Lorient C, Boulukos K, Borgese F, Ehrenfeld J. SLC26A9 stimulates CFTR expression and function in human bronchial cell lines. *J Cell Physiol* 226:212–223, 2011

Bamshad MJ, Ng SB, Bigham AW, Tabor HK, Emond MJ, Nickerson DA et al. Exome sequencing as a tool for Mendelian disease gene discovery. *Nat Rev Genet* 12:745–55, 2011

Barnes PJ, Karin M. Nuclear factor-kappaB pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases. *N Engl J Med* 336:1066 – 71, 1997

Barnes PJ. Beta-adrenergic Receptors and Their Regulation. *Am J Respir Crit Care Med* 152(3):838–860, 1995

Bartlett JR, Friedman KJ, Ling SC et al. Genetic Modifiers of Liver Disease in Cystic Fibrosis. *JAMA* 302(10):1076-1083, 2009

Bartram U, Speer CP. The role of transforming growth factor beta in lung development and disease. *Chest* 125: 754–765, 2004

Bell CG, Benzinou M, Siddiq A, Lecoecur C, Dina C, Lemainque A, Clement K, Basdevant A, Guy-Grand B, Mein CA et al. Genome-wide linkage analysis for severe obesity in french caucasians finds significant susceptibility locus on chromosome 19q. *Diabetes* 53:1857–65, 2004

Bensi G, Raugei G, Palla E, Carinci V, Tornese Buonamassa D, Melli M. Human interleukin-1 beta gene. *Gene* 52 (1): 95–101, 1987

Berger HA, Anderson MP, Gregory RJ, Thompson S, Howard PW, Maurer RA et al. Identification and regulation of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator-generated chloride channel. *J Clin Investig* 88:1422–31, 1991

Berschneider HM, Knowles MR, Azizkhan RG, Boucher RC, Tobey NA et al. Altered intestinal chloride transport in cystic fibrosis. *FASEB J* 2: 2625–2629, 1988

Bertrand CA, Zhang R, Pilewski JM, Frizzell RA. SLC26A9 is a constitutively active, CFTR-regulated anion conductance in human bronchial epithelia. *J Gen Physiol* 133:421–438, 2009

Best L. Glucose-induced electrical activity in rat pancreatic beta-cells: dependence on intracellular chloride concentration. *J Physiol* 568:137–144, 2005

Beucher J, Boelle PY, Busson PF, Muselet-Charlier C, Clement A, Corvol H. AGER-429T/C is associated with an increased lung disease severity in cystic fibrosis. *PLoS One* 7:e41913, 2012

Bhopal R, Donaldson L. European, Western, Caucasian, or what? Inappropriate labeling in research on race, ethnicity, and health. *Am J Public Health* 88:1303–7, 1998

Bismuth E, Laborde K, Taupin P et al. Glucose tolerance and insulin secretion, morbidity, and death in patients with cystic fibrosis. *J Pediatr* 152(540–5):545, 2008

Blackman SM, Deering-Brose R, McWilliams R et al. Relative contribution of genetic and nongenetic modifiers to intestinal obstruction in cystic fibrosis. *Gastroenterology* 131:1030–9, 2006

Blackman SM, Hsu S, Ritter SE, et al. A susceptibility gene for type 2 diabetes confers substantial risk for diabetes complicating cystic fibrosis. *Diabetologia* 52: 1858–65, 2009b

Blackman SM, Hsu S, Vanscoy LL et al. Genetic modifiers play a substantial role in diabetes complicating cystic fibrosis. *J Clin Endocrinol Metab* 94:1302–1309, 2009a

Blackman SM, Commander CW, Watson C, Arcara KM, Strug LJ, Stonebraker JR, Wright FA, Rommens JM, Sun L, Pace RG, Norris

SA, Durie PR, Drumm ML, Knowles MR, Cutting GR. Genetic modifiers of cystic fibrosis-related diabetes. *Diabetes*. Oct;62(10):3627-35, 2013

Blanc WA, Di Sant'Agnese PA. A distinctive type of biliary cirrhosis of the liver associated with cystic fibrosis of the pancreas; recognition through signs of portal hypertension. *Pediatrics* 18:387–409, 1956

Blobe GC, Schiemann WP, Lodish HF. Role of transforming growth factor beta in human disease. *N Engl J Med* 342: 1350–1358 b, 2000

Blohmke CJ, Park J, Hirschfeld AF, Victor RE, Schneiderman J, Stefanowicz D et al. TLR5 as an anti-inflammatory target and modifier gene in cystic fibrosis. *J Immunol* 185:7731–8, 2010

Blohmke CJ, Victor RE, Hirschfeld AF, Elias IM, Hancock DG, Lane CR et al. Innate immunity mediated by TLR5 as a novel antiinflammatory target for cystic fibrosis lung disease. *J Immunol* 180:7764–73, 2008

Bobadilla JL, Macek MJR, Fine JP, Farrell PM. Cystic fibrosis: A worldwide analysis of CFTR mutations: Correlation with incidence data and application to screening. *Hum Mutat* 19:575–606, 2002

Bodas M, Vij N. The NF-kappaB signaling in cystic fibrosis lung disease: pathophysiology and therapeutic potential. *Discov. Med.* 9, 346–356, 2010

Bonfield TL, Konstan MW, Berger M. Altered respiratory epithelial cell cytokine production in cystic fibrosis. *J Allergy Clin Immunol* 104: 72–78, 1999

Bonfield TL, Panuska JR, Konstan MW, Hilliard KA, Hilliard JB, Ghnaim H et al. Inflammatory cytokines in cystic fibrosis lungs. *Am J Respir Crit Care Med* 152: 2111–2118, 1995

Boom A, Lybaert P, Pollet J-F et al. Expression and localization of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator in the rat endocrine pancreas. *Endocrine* 32: 197–205, 2007

Bouma G, Xia B, Crusius JB, Bioque G, Koutroubakis I, Von Blumberg BM, Meuwissen SG, Peña AS. Distribution of four polymorphisms in the tumour necrosis factor (TNF) genes in patients with inflammatory bowel disease (IBD). *Clin Exp Immunol* 103:391–396, 1996

Boyle MP. Nonclassic cystic fibrosis and CFTR-related diseases. *Curr Opin Pulm Med* 9:498–503, 2003

Bradley GM, Carson KA, Leonard AR, Mogayzel PJ Jr, Oliva-Hemker M. Nutritional outcomes following gastrostomy in children with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 47:743–8, 2012

Brazova J, Sismova K, Vavrova V, Bartosova J, Macek M Jr, Lauschman H et al. Polymorphisms of TGF-beta1 in cystic fibrosis patients. *Clin Immunol* 121:350–7, 2006

Bremer LA, Blackman SM, Vanscoy LL, McDougal KE, Bowers A, Naughton KM et al. Interaction between a novel TGFB1 haplotype and CFTR genotype is associated with improved lung function in cystic fibrosis. *Hum Mol Genet* 17:2228–37, 2008

Brock DJ, Barron L. Biochemical analysis of meconium in fetuses presumed to have cystic fibrosis. *Prenat Diagn* 6: 291–298, 1986

Brouard J, Knauer N, Boelle PY, Corvol H, Henrion-Caude A, Flamant C et al. Influence of interleukin-10 on *Aspergillus fumigatus* infection in patients with cystic fibrosis. *J Infect Dis* 191:1988–91, 2005

Brouillard F, Bensalem N, Hinzpeter A et al. Blue native/SDS-PAGE analysis reveals reduced expression of the mCICA3 protein in cystic fibrosis knock-out mice. *Mol Cell Proteomics* 4:1762–75, 2005

Buranawuti K, Boyle MP, Cheng S, Steiner LL, McDougal K, Fallin MD et al. Variants in mannose-binding lectin and tumour necrosis factor alpha affect survival in cystic fibrosis. *J Med Genet* 44:209–14, 2007

Buscher R, Eilmes KJ, Grasemann H, Torres B, Knauer N, Sroka K et al. beta2 adrenoceptor gene polymorphisms in cystic fibrosis lung disease. *Pharmacogenetics* 12:347–53, 2002

Buzzetti R, Salvatore D, Baldo E et al. An overview of international literature from cystic fibrosis registries: 1. Mortality and survival studies in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros* 8:229–237, 2009

Caldwell DM, Mcnamara DH. Fibrocystic disease of the pancreas and diabetes in an adult with unusual pulmonary manifestations. *Calif Med* 89: 280–84, 1958

Cant N, Pollock N, Ford RC. CFTR structure and cystic fibrosis. *Int J Biochem Cell Biol*. Jul;52C:15-25, 2014

Casals T, De Gracia J, Gallego M, Dorca J, RodriguezSanchoz B, Ramos MD et al. Bronchiectasis in adult patients: An expression of heterozygosity for CFTR gene mutations? *Clin Genet* 65:490–495, 2004

Castaldo G, Fuccio A, Salvatore D et al. Liver expression in cystic fibrosis could be modulated by genetic factors different from the cystic fibrosis transmembrane regulator genotype. *Am J Med Genet* 98(4):294-297, 2001

Castro-Giner F, Kogevinas M, Machler M, de Cid R, Van Steen K, Imboden M et al. TNFA -308G>A in two international population-based cohorts and risk of asthma. *Eur Respir J* 32:350–61, 2008

Castrop J, van Norren K, Clevers H. A gene family of HMG-box transcription factors with homology to TCF-1. *Nucleic Acids Res* 20 (3): 611, 1992

Celedon JC, Lange C, Raby BA, Litonjua AA, Palmer LJ, Demeo DL, Reilly JJ, Kwiatkowski DJ, Chapman HA, Laird N et al. The transforming growth factor-beta1 (TGFB1) gene is associated with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *Hum. Mol. Genet* 13, 1649–1656, 2004

“CF worse for women due to effect of estrogen”. *The Irish Times*. August 8, 2010

Chalmers JD, Fleming GB, Hill AT, Kilpatrick DC. Impact of mannose-binding lectin sufficiency on the course of cystic fibrosis: a review and meta-analysis. *Glycobiology* 21:271–82, 2011

Chang MH, Plata C, Sindic A et al. Slc26a9 is inhibited by the R-region of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator via the STAS domain. *J Biol Chem* 284:28306–28318, 2009

Chappe V, Hinkson DA, Zhu T, Chang XB, Riordan JR, Hanrahan JW. Phosphorylation of protein kinase C sites in NBD1 and the R domain control CFTR channel activation by PKA. *J Physiol* 548:39–52, 2003

Cheng CY, Kao WH, Patterson N, Tandon A, Haiman CA, Harris TB, Xing C, John EM, Ambrosone CB, Brancati FL et al. Admixture mapping of 15,280 African Americans identifies obesity susceptibility loci on chromosomes 5 and X. *PLoS Genet* 5:e1000490, 2009

Cheng SH, Gregory RJ, Marshall J et al. Defective intracellular transport and processing of CFTR is the molecular basis of most cystic fibrosis. *Cell* 63(4):827–834, 1990

Chmiel JF, Berger M, Konstan MW. The role of inflammation in the pathophysiology of CF lung disease. *Clin Rev Allergy Immunol* Aug;23(1):5-27, 2002

Cho DH, Lee HJ, Kim HJ, Hong SH, Pyo JO, Cho C et al. Suppression of hypoxic cell death by AIP-induced sustained activation of AKT and ERK1/2. *Oncogene* 26:2809–14, 2007

Choi JY, Lee MG, Ko S, Muallem S. Cl(-)-dependent HCO₃-transport by cystic fibrosis transmembrane conductance regulator. *JOP* 2:243–6, 2001

Clark BD, Collins KL, Gandy MS, Webb AC, Auron PE. Genomic sequence for human prointerleukin 1 beta: possible evolution from a reverse transcribed prointerleukin 1 alpha gene. *Nucleic Acids Res* 14 (20): 7897–1914, 1986

Claustres M. Symposium: Genetic aspects of male (in)fertility. Molecular pathology of the CFTR locus in male infertility. *Reprod BioMedicine Online* 10:14–41, 2005

Coakley RD, Sun H, Clunes LA et al. 17beta-Estradiol inhibits Ca²⁺-dependent homeostasis of airway surface liquid volume in human cystic fibrosis airway epithelia. *J. Clin. Invest.* 118 (12): 4025–35. December 2008

Cohen JR, Schall JI, Ittenbach RF, Zemel BS, Stallings VA. Fecal elastase: pancreatic status verification and influence on nutritional status in children with cystic fibrosis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 40:438–44, 2005

Cohn JA, Strong TV, Picciotto MR, Nairn AC, Collins FS, Fitz JG. Localization of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator in human bile duct epithelial cells. *Gastroenterology* 105:1857–64, 1993

Collaco JM, Blackman SM, McGready J, Naughton KM, Cutting GR. Quantification of the relative contribution of environmental and genetic factors to variation in cystic fibrosis lung function. *J Pediatr* 157: 802–807, 2010

Collaco JM, Cutting GR. Update on gene modifiers in cystic fibrosis. *Curr Opin Pulm Med* 14: 559–566, 2008

Collaco JM, Vanscoy L, Bremer L, McDougal K, Blackman SM, Bowers A et al. Interactions between secondhand smoke and genes that affect cystic fibrosis lung disease. *JAMA* 299:417–24, 2008

Colombo C, Apostolo MG, Ferrari M et al. Analysis of risk factors for the development of liver disease associated with cystic fibrosis. *J Pediatr* 124(3):393-399, 1994

Colombo C, Battezzati PM, Crosignani A, Morabito A, Costantini D, Padoan R. Liver disease in cystic fibrosis: a prospective study on incidence, risk factors and outcome. *Hepatology* 36:1374–82, 2002

Colombo C. Liver disease in cystic fibrosis. *Curr Opin Pulm Med* 13:529–36, 2007

Corbett K, Kelleher S, Rowland M et al. Cystic fibrosis-associated liver disease: a population-based study. *J Pediatr* 145(3):327-332, 2004

Corvol H, Beucher J, Boelle PY, Busson PF, Muselet-Charlier C, Clement A et al. Ancestral haplotype 8.1 and lung disease severity in European cystic fibrosis patients. *J Cyst Fibros* 11:63–7, 2012

Corvol H, Boelle PY, Brouard J, Knauer N, Chadelat K, Henrion-Caude A et al. Genetic variations in inflammatory mediators influence lung disease progression in cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 43:1224–32, 2008

Corvol H, Burchard EG. Pharmacogenetic response to albuterol among asthmatics. *Pharmacogenomics* 9:505–10, 2008

Corvol H, Fitting C, Chadelat K, Jacquot J, Tabary O, Boule M et al. Distinct cytokine production by lung and blood neutrophils from children with cystic fibrosis. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 284: L997–1003, 2003

Corvol H, Nathan N, Charlier C, Chadelat K, Le Rouzic P, Tabary O et al. Glucocorticoid receptor gene polymorphisms associated with progression of lung disease in young patients with cystic fibrosis. *Respir Res* 8:88, 2007

Couce M, O'Brien TD, Moran A, Roche PC, Butler PC. Diabetes mellitus in cystic fibrosis is characterized by islet amyloidosis. *J Clin Endocrinol Metab* 81: 1267–1272, 1996

Courtney JM, Plant BJ, Morgan K, Rendall J, Gallagher C, Ennis M et al. Association of improved pulmonary phenotype in Irish cystic fibrosis patients with a 3-enhancer polymorphism in alpha-1-antitrypsin. *Pediatr Pulmonol* 41:584–91, 2006

Cutting GR. Modifier genetics: cystic fibrosis. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 6:237–60, 2005

Cystic Fibrosis Foundation – Genetic Carrier Testing. Updated 07/09/07

Cystic Fibrosis Foundation Patient Registry. 2009 annual data report. Bethesda, MD: Cystic Fibrosis Foundation, 2009.

Cystic Fibrosis Foundation. Cystic Fibrosis Foundation Patient Registry Annual Data Report 2010. Bethesda, MD: Cystic Fibrosis Foundation; 2010

Cystic fibrosis genetic analysis consortium. Cystic fibrosis mutation database. Available at: <http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/StatisticsPage.html>.

Dasenbrook EC, Merlo CA, Diener-West M et al. Persistent methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and rate of FEV₁ decline in cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 178:814–21, 2008

Davies JC, Turner MW, Klein N. Impaired pulmonary status in cystic fibrosis adults with two mutated MBL-2 alleles. *Eur Respir J* 24:798–804, 2004

Davis PB, Drumm M, Konstan MW. Cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*. Nov;154(5):1229-56, 1996

Davis PB. Cystic fibrosis since 1938. *Am J Respir Crit Care Med* 173:475–482, 2006

De Boeck K, Wilschanski M, Castellani C, Taylor C, Cuppens H, Dodge J et al. Cystic fibrosis: terminology and diagnostic algorithms. *Thorax* 61(7):627–35, 2006

De Faria EJ, de Faria IC, Ribeiro JD, Ribeiro AF, Hessel G, Bertuzzo CS. Association of MBL2, TGF-beta1 and CD14 gene polymorphisms with lung disease severity in cystic fibrosis. *J Bras Pneumol* 35:334–42, 2009

Dean M, Allikmets R. Complete characterization of the human ABC gene family. *JBioenergy Biomembr* 33:475–9, 2001

Debray D, Lykavieris P, Gauthier F et al. Outcome of cystic fibrosis-associated liver cirrhosis: management of portal hypertension. *J Hepatol* 31(1):77-83, 1999

Diwakar V, Pearson L, Beath S. Liver disease in children with cystic fibrosis. *Paediatr Respir Rev* 2:340–9. 9, 2001

Dorfman R, Li W, Sun L, et al. Modifier gene study of meconium ileus in cystic fibrosis: statistical considerations and gene mapping results. *Hum Genet Hum Genet* 126(6): 763–778, 2009

Dorfman R, Sandford A, Taylor C, Huang B, Frangolias D, Wang Y et al. Complex two-gene modulation of lung disease severity in children with cystic fibrosis. *J Clin Invest* 118:1040–9, 2008

Doring G, Krogh-Johansen H, Weidinger S, Hoiby N. Allotypes of alpha 1-antitrypsin patients with cystic fibrosis, homozygous and heterozygous for deltaF508. *Pediatr Pulmonol* 18:3–7, 1994

Doring G. The role of neutrophil elastase in chronic inflammation. *Am J Respir CritCare Med* 150:S114–7, 1994

Dotsch J, Puls J, Klimek T, Rascher W. Reduction of neuronal and inducible nitric oxide synthase gene expression in patients with cystic fibrosis. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 259:222–6, 2002

Drumm ML, Konstan MW, Schluchter MD, Handler A, Pace R, Zou F et al. Genetic modifiers of lung disease in cystic fibrosis. *N Engl J Med* 353:1443–53, 2005

Dunning AM, Ellis PD, McBride S, Kirschenlohr HL, Healey CS, Kemp PR, Luben RN, Chang-Claude J, Mannermaa A, Kataja V et al. A transforming growth factorbeta1 signal peptide variant increases secretion in vitro and is associated with increased incidence of invasive breast cancer. *Cancer Res.* 63, 2610–2615, 2003

Efrati O, Barak A, Modan-Moses D, Augarten A, Vilozni D, Katznelson D et al. Liver cirrhosis and portal hypertension in cystic fibrosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 15:1073–8, 2003

Efrati O, Nir J, Fraser D et al. Meconium ileus in patients with cystic fibrosis is not a risk factor for clinical deterioration and survival: the Israeli Multicenter Study. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 50:173-8, 2010

Eigenbrodt ML, McCashland TM, Dy RM, Clark J, Galati J. Heterozygous alpha 1-antitrypsin phenotypes in patients with end stage liver disease. *Am J Gastroenterol* 92(4):602-607, 1997

Elder DA, Wooldridge JL, Dolan LM, D'Alessio DA. Glucose tolerance, insulin secretion, and insulin sensitivity in children and adolescents with cystic fibrosis and no prior history of diabetes. *J Pediatr* 151: 653–58, 2007

El-Gamel A, Sim E, Hasleton P, Hutchinson J, Yonan N, Egan J et al. Transforming growth factor beta (TGF-beta) and obliterative bronchiolitis

following pulmonary transplantation. *J Heart Lung Transplant* 18:828–37, 1999

Emond MJ, Louie T, Emerson J, Zhao W, Mathias RA, Knowles MR et al. Exome sequencing of extreme phenotypes identifies DCTN4 as a modifier of chronic *Pseudomonas aeruginosa* infection in cystic fibrosis. *Nat Genet* 44:886–9, 2012

“Entrez Gene: IL1B interleukin 1, beta”

Eriksson S. Studies in alpha 1-antitrypsin deficiency. *Acta Med Scand Suppl* 432:1–85, 1965

Estivill X, Bancells C, Ramos C. Geographic distribution and regional origin of 272 cystic fibrosis mutations in European populations. The Biomed CF Mutation Analysis Consortium. *Hum Mutat* 10:135–154, 1997

Fanen P, Wohlhuter-Haddad A, Hinzpeter A. Genetics of cystic fibrosis: CFTR mutation classifications toward genotype-based CF therapies. *Int J Biochem Cell Biol*. Jul;52:94-102, 2014

Farrell PM, Joffe S, Foley L, Canny GJ, Mayne P, Rosenberg M. Diagnosis of cystic fibrosis in the Republic of Ireland: epidemiology and costs. *Ir Med J*. 100(8):557–560, 2007

Farrell PM, Rosenstein BJ, White TB, Accurso FJ, Castellani C, Cutting GR, Durie PR, LeGrys VA, Massie J, Parad RB, Rock MJ, Campbell PW III. Guidelines for Diagnosis of Cystic Fibrosis in Newborns through Older Adults: Cystic Fibrosis Foundation Consensus Report. *J Pediatr*. 14(2):S4–S1, 2008

Feigelson J, Anagnostopoulos C, Poquet M, Pecaue Y, Munck A, Navarro J. Liver cirrhosis in cystic fibrosis—therapeutic implications and long term follow up. *Arch Dis Child* 68:653–7, 1993

Feranchak AP, Sokol RJ. Cholangiocyte biology and cystic fibrosis liver disease. *Semin Liver Dis* 21(4):471-488, 2001

Feranchak AP. Hepatobiliary complications of cystic fibrosis. *Curr Gastroenterol Rep* 6:231–9, 2004

Ferec C, Cutting GR: Assessing the disease-liability of mutations in CFTR. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2:a009480, 2012

Feuillet-Fieux MN, Nguyen-Khoa T, Lorient MA, Kelly M, de Villartay P, Sermet I et al. Glutathione S-transferases related to *P. aeruginosa* lung infection in cystic fibrosis children: preliminary study. *Clin Biochem* 42:57–63, 2009

Finkelstein SM, Wielinski CL, Elliott GR et al. Diabetes mellitus associated with cystic fibrosis. *J Pediatr* 112:373–377, 1988

Fischer HP, Ortiz-Pallardo ME, Ko Y, Esch C, Zhou H. Chronic liver disease in heterozygous alpha1-antitrypsin deficiency PiZ. *J Hepatol* 33(6):883-892, 2000

FitzSimmons SC. The changing epidemiology of cystic fibrosis. *J Pediatr* 122: 1–9, 1993

Flamant C, Henrion-Caude A, Boelle PY, Bremont F, Brouard J, Delaisi B et al. Glutathione-S-transferase M1, M3, P1 and T1 polymorphisms and severity of lung disease in children with cystic fibrosis. *Pharmacogenetics* 14:295–301, 2004

Flass T, Narkewicz MR. Cirrhosis and other liver disease in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros* 12:116–24, 2013

Frangolias DD, Ruan J, Wilcox PJ, Davidson AG, Wong LT, Berthiaume Y et al. Alpha1-antitrypsin deficiency alleles in cystic fibrosis lung disease. *Am J Respir CellMol Biol* 29:390–6, 2003

Frizzell RA. Ten years with CFTR. *Physiol Rev* 79:S1–2, 1999

Gabolde M, Guilloud-Bataille M, Feingold J, Besmond C. Association of variant alleles of mannose binding lectin with severity of pulmonary disease in cystic fibrosis: cohort study. *BMJ* 319:1166–7, 1999

Gadsby DC, Vergani P, Csanády L. The ABC protein turned chloride channel whose failure causes cystic fibrosis. *Nature* 440:477–83, 2006

Garred P, Larsen F, Seyfarth J, Fujita R, Madsen HO. Mannose-binding lectin and its genetic variants. *Genes Immun* 7:85–94, 2006

Garred P, Pressler T, Madsen HO, Frederiksen B, Svejgaard A, Hoiby N et al. Association of mannose-binding lectin gene heterogeneity with severity of lung disease and survival in cystic fibrosis. *J Clin Invest* 104:431–7, 1999

Gaskin K, Gurwitz D, Durie P, Corey M, Levison H, Forstner G. Improved respiratory prognosis in patients with cystic fibrosis with normal fat absorption. *J Pediatr* 100: 857–862, 1982

Gaskin KJ, Waters DL, Howman-Giles R, de Silva M, Earl JW, Martin HC et al. Liver disease and common-bile-duct stenosis in cystic fibrosis. *N Engl J Med* 318:340–6. 14, 1988

NIH. Consensus Development Conference Statement. April 14–16, 1997. Retrieved on November 20, 2009

Gibson A, Lewis AP, Affleck K et al. hCLCA1 and mCLCA3 are secreted non-integral membrane proteins and therefore are not ion channels. *J Biol Chem* 280:27205-12, 2005

Grainger DJ, Heathcote K, Chiano M, Snieder H, Kemp PR, Metcalfe JC, Carter ND and Spector TD. Genetic control of the circulating concentration of transforming growth factor type beta1. *Hum. Mol. Genet.* 8, 93–97, 1999

Grasemann H, Knauer N, Buscher R, Hubner K, Drazen JM, Ratjen F. Airway nitric oxide levels in cystic fibrosis patients are related to a polymorphism in the neuronal nitric oxide synthase gene. *Am J Respir Crit Care Med* 162:2172–6, 2000

Grasemann H, Storm van's Gravesande K, Buscher R, Knauer N, Silverman ES, Palmer LJ et al. Endothelial nitric oxide synthase variants in cystic fibrosis lung disease. *Am J Respir Crit Care Med* 167:390–4, 2003b

Grasemann H, Storm van's Gravesande K, Gartig S, Kirsch M, Buscher R, Drazen JM et al. Nasal nitric oxide levels in cystic fibrosis patients are associated with a neuronal NO synthase (NOS1) gene polymorphism. *Nitric Oxide* 6:236–41, 2002

Gray MA, Winpenny JP, Verdon B, McAlroy H, Argent BE. Chloride channels and cystic fibrosis of the pancreas. *Biosci Rep* 15:531–41, 1995

Graziadei IW, Joseph JJ, Wiesner RH, Therneau TM, Batts KP, Porayko MK. Increased risk of chronic liver failure in adults with heterozygous alpha1-antitrypsin deficiency. *Hepatology* 28(4):1058-1063, 1998

Greally P, Hussein MJ, Cook AJ, Sampson AP, Piper PJ, Price JF. Sputum tumour necrosis factor-alpha and leukotriene concentrations in cystic fibrosis. *Arch Dis Child* 68:389–92, 1993

Green DM, McDougal KE, Blackman SM, Sosnay PR, Henderson LB, Naughton KM, Collaco JM, Cutting GR. Mutations that permit residual CFTR

function delay acquisition of multiple respiratory pathogens in CF patients. *Respir Res* 11: 140, 2010

Green MN, Clarke JT, Shwachman H. Studies in cystic fibrosis of the pancreas; protein pattern in meconium ileus. *Pediatrics* 21: 635–641, 1958

Groman JD, Hefferon TW, Casals T, Bassas L, Estivill X, Des Georges M et al. Variation in a repeat sequence determines whether a common variant of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene is pathogenic or benign. *Am J Hum Genet* 74:176–179, 2004

Gruber AD, Elble RC, Ji HL, Schreur KD, Fuller CM, Pauli BU. Genomic cloning, molecular characterization, and functional analysis of human CLCA1, the first human member of the family of Ca²⁺-activated Cl⁻ channel proteins. *Genomics* 54 (2): 200–14, 1999

Gu Y, Harley IT, Henderson LB, Aronow BJ, Vietor I, Huber LA, Harley JB, Kilpatrick JR, Langefeld CD, Williams AH et al. Identification of IFRD1 as a modifier gene for cystic fibrosis lung disease. *Nature* 458:1039–1042, 2009

Guillot L, Beucher J, Tabary O, Le Rouzic P, Clement A, Corvol H. Lung disease modifier genes in cystic fibrosis. *Int J Biochem Cell Biol Jul;52C:83-93*, 2014

Guo N, Parry EM, Li LS et al. Short telomeres compromise β -cell signaling and survival. *PLoS ONE* 6:e17858, 2011

Haeusler G, Frisch H, Waldhor T, Gotz M. Perspectives of longitudinal growth in cystic fibrosis from birth to adult age. *Eur J Pediatr* 153:158–63, 1994

Hall IP. Pharmacogenetics of asthma. *Chest* 130:1873–8, 2006

Hameed S, Jaffé A, Verge CF. Cystic fibrosis related diabetes (CFRD)—the end stage of progressive insulin deficiency. *Pediatr Pulmonol* 46:747–760, 2011

Hammond C, Helenius A. Quality control in the secretory pathway. *Curr Opin Cell Biol* 7: 523–529, 1995

Hamosh A, FitzSimmons SC, Macek M, Knowles MR, Rosenstein BJ, Cutting GR. Comparison of the clinical manifestations of cystic fibrosis in black and white patients. *J. Pediatr.* 132 (2): 255–9, Feb 1998

Harris WT, Kelly DR, Zhou Y, Wang D, Macewen M et al. Myofibroblast Differentiation and Enhanced Tgf-B Signaling in Cystic Fibrosis Lung Disease. *PLoS ONE* 8(8): e70196, 2013

Hayashi F, Smith KD, Ozinsky A, Hawn TR, Yi EC, Goodlett DR et al. The innate immune response to bacterial flagellin is mediated by Toll-like receptor 5. *Nature* 410:1099–103, 2001

Hector A, Kormann M, Kammermeier J, Burdi S, Marcos V, Rieber N, Mays L, Illig T, Klopp N, Falkenstein F, Kappler M, Riethmueller J, Graepler-Mainka U, Stern M, Eickmeier O, Serve F, Zielen S, Döring G, Griese M, Hartl D. Expression and regulation of interferon-related development regulator-1 in cystic fibrosis neutrophils. *Am J Respir Cell Mol Biol.* Jan;48(1):71-7, 2013

Hedges JC, Singer CA, Gerthoffer WT. Mitogen-activated protein kinases regulate cytokine gene expression in human airway myocytes. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 23 (1): 86–94, 2000

Henderson LB, Doshi VK, Blackman SM, Naughton KM, Pace RG et al. Variation in MSRA Modifies Risk of Neonatal Intestinal Obstruction in Cystic Fibrosis. *PLoS Genet* 8(3): e1002580, 2012

Henquin JC, Nenquin M, Ravier MA, Szollosi A. Shortcomings of current models of glucose-induced insulin secretion. *Diabetes Obes Metab* 11(Suppl. 4):168–179, 2009

Henry MT, Cave S, Rendall J, O'Connor CM, Morgan K, FitzGerald MX et al. An alpha1-antitrypsin enhancer polymorphism is a genetic modifier of pulmonary outcome in cystic fibrosis. *Eur J Hum Genet* 9:273–8, 2001

Herrmann U, Dockter G, Lammert F. Cystic fibrosis-associated liver disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 24:585–92, 2010

Higgins C. ABC transporters: from microorganisms to man. *Annu Rev Cell Biol* 8:67–113, 1992

Hillian AD, Londono D, Dunn JM, Goddard KA, Pace RG, Knowles MR et al. Modulation of cystic fibrosis lung disease by variants in interleukin-8. *Genes Immun* 9:501–8, 2008

Hodge S, Matthews G, Dean MM, Ahern J, Djukic M, Hodge G, Jersmann H, Holmes M, Reynolds PN. Therapeutic role for mannose-binding lectin in

cigarette smoke-induced lung inflammation? Evidence from a murine model. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 42:235–242, 2010

Hoiby N, Frederiksen B, Pressler T. Eradication of early *Pseudomonas aeruginosa* infection. *J Cyst Fibros* 4(Suppl 2):49–54, 2005

Hsieh MC, Berry HK. Protease inhibitor and defective proteolysis in cystic fibrosis. *Dig Dis Sci* 33: 282–288, 1988

Hudson VM. Rethinking cystic fibrosis pathology: the critical role of abnormal reduced glutathione (GSH) transport caused by CFTR mutation. *Free Radic BiolMed* 30:1440–61, 2001

Hull J, Thomson AH. Contribution of genetic factors other than CFTR to disease severity in cystic fibrosis. *Thorax* 53:1018–21, 1998

Hunt JF, Wang C, Ford RC. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (ABCC7) structure. *Cold Spring Harb Perspect Med* 3:a009514, 2013

Hytönen M, Patjas M, Vento SI et al. Cystic fibrosis gene mutations deltaF508 and 394delTT in patients with chronic sinusitis in Finland. *Acta Otolaryngol.* 121 (8): 945–7, December 2001

Ignatz RA and Massague J. Transforming growth factor-beta stimulates the expression of fibronectin and collagen and their incorporation into the extracellular matrix. *J. Biol. Chem.* 261, 4337–4345, 1986

Jin T, Liu L The Wnt signaling pathway effector TCF7L2 and type 2 diabetes mellitus. *Mol. Endocrinol.* 22 (11): 2383–92, 2008

Johnson JA, Bush A, Buchdahl R. Does presenting with meconium ileus affect the prognosis of children with cystic fibrosis? *Pediatr Pulmonol* 45:951-8, 2010

Kadowaki T, Yamauchi T. Adiponectin and adiponectin receptors. *Endocr Rev* 26:439–451, 2005

Kaluza W, Reuss E, Grossmann S, Hug R, Schopf RE, Galle PR et al. Different transcriptional activity and in vitro TNF-alpha production in psoriasis patients carrying the TNF-alpha 238A promoter polymorphism. *J Invest Dermatol* 114:1180–3, 2000

Kanavakis E, Efthymiadou A, Strofalis S, Doudounakis S, Traeger-Synodinos J, Tzetis M. Cystic fibrosis in Greece: Molecular diagnosis, haplotypes,

prenatal diagnosis and carrier identification amongst high-risk individuals. *Clin Genet* 63:400–409, 2003

Kanavakis E, Tzetis M, Antoniadis TH, Pistofidis G, Milligos S, Kattamis C. Cystic fibrosis mutation screening in CBAVD patients and men with obstructive azoospermia or severe oligospermia. *Mol Hum Reprod* 4:333–337, 1998

Kanavakis E, Tzetis M. Screening for cystic fibrosis mutations: Methods for molecular diagnosis, prenatal diagnosis and carrier identification amongst high-risk individuals – the Greek experience. *Archives of Hellenic Medicine* 23(5):455–472, 2006

Kaplan E, Shwachman H, Perlmutter AD, Rule A, Khaw KT, Holsclaw DS. Reproductive failure in males with cystic fibrosis. *N Engl J Med* 279:65–9, 1968

Kere J, Savilahti E, Norio R, Estivill X, de la Chapelle A. Cystic fibrosis mutation delta F508 in Finland: other mutations predominate. *Hum. Genet.* 85 (4): 413–5, Sep 1990

Khan TZ, Wagener JS, Bost T, Martinez J, Accurso FJ et al. Early pulmonary inflammation in infants with cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 151: 1075–108, 1995

King MA, Stone JA, Diaz PT, Mueller CF, Becker WJ, Gadek JE. Alpha 1-antitrypsin deficiency: evaluation of bronchiectasis with CT. *Radiology* 199:137–41, 1996

Kinnman N, Lindblad A, Housset C et al. Expression of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator in liver tissue from patients with cystic fibrosis. *Hepatology.* 32(2):334-340, 2000

Knowles M, Drumm M: The influence of genetics on cystic fibrosis phenotypes. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2:a009548, 2012

Ko SB, Zeng W, Dorwart MR et al. Gating of CFTR by the STAS domain of SLC26 transporters. *Nat Cell Biol* 6:343–350, 2004

Koch C, Cuppens H, Rainisio M, Madessani U, Harms H, Hodson M, Mastella G, Navarro J, Strandvik B, McKenzie S. European Epidemiologic Registry of Cystic Fibrosis (ERCF): Comparison of major disease manifestations between patients with different classes of mutations. *Pediatr Pulmonol* 31: 1–12, 2001

Konstan MW, Butler SM, Wohl ME, Stoddard M, Matousek R, Wagener JS, Johnson CA, Morgan WJ. Growth and nutritional indexes in early life predict pulmonary function in cystic fibrosis. *J Pediatr* 142:624–30, 2003

Kopito RR. Biosynthesis and Degradation of CFTR. *Physiol Rev* 79: S167–S173, 1999

Kubesch P, Dork T, Wulbrand U et al. Genetic determinants of airways' colonization with *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis. *Lancet*. 341:189–93, 1993

Kuschel L, Hansel A, Schonherr R, Weissbach H, Brot N et al. Molecular cloning and functional expression of a human peptide methionine sulfoxide reductase (hMsrA). *FEBS Lett* 456: 17–21, 1999

Labenski H, Hedtfeld S, Becker T, Tummler B, Stanke F. Initial interrogation, confirmation and fine mapping of modifying genes: STAT3, IL1B and IFNGR1 determine cystic fibrosis disease manifestation. *Eur J Hum Genet* 19:1281–8, 2011

Lai HC, Kosorok MR, Laxova A, Davis LA, FitzSimmon SC, Farrell PM. Nutritional status of patients with cystic fibrosis with meconium ileus: a comparison with patients without meconium ileus and diagnosed early through neonatal screening. *Pediatrics* 105:53–61, 2000

Lai HJ, Shoff SM, Farrell PM. Recovery of birth weight z score within 2 years of diagnosis is positively associated with pulmonary status at 6 years of age in children with cystic fibrosis. *Pediatrics* 123:714–22, 2009

Laki J, Laki I, Nemeth K, Ujhelyi R, Bede O, Endreffy E et al. The 8.1 ancestral MHC haplotype is associated with delayed onset of colonization in cystic fibrosis. *Int Immunol* 18:1585–90, 2006

Lamireau T, Monnereau S, Martin S, Marcotte JE, Winnock M, Alvarez F. Epidemiology of liver disease in cystic fibrosis: a longitudinal study. *J Hepatol*. 41(6):920-925, 2004

Lamireau T, Zoltowska M, Levy E, Yousef I, Rosenbaum J, Tuchweber B et al. Effects of bile acids on biliary epithelial cells: proliferation, cytotoxicity, and cytokine secretion. *Life Sci* 72:1401–11, 2003

Lanng S, Thorsteinsson B, Erichsen G, Nerup J, Koch C. Glucose tolerance in cystic fibrosis. *Arch Dis Child* 66:612–616, 1991

Lawless MW, Greene CM, Mulgrew A, Taggart CC, O'Neill SJ, McElvaney NG. Activation of endoplasmic reticulum-specific stress responses associated with the conformational disease Z alpha 1-antitrypsin deficiency. *J Immunol* 172 (9):5722-5726, 2004

Laybutt DR, Preston AM, Akerfeldt MC et al. Endoplasmic reticulum stress contributes to beta cell apoptosis in type 2 diabetes. *Diabetologia* 50:752–763, 2007

Lee JM, Dedhar S, Kalluri R, Thompson EW. The epithelial-mesenchymal transition: new insights in signaling, development, and disease. *J. Cell Biol.* 172 (7): 973–81, 2006

Lee MG, Ahn W, Lee JA, Kim JY, Choi JY, Moe OW, Milgram SL, Muallem S, Kim KH. Coordination of pancreatic HCO₃-secretion by protein–protein interaction between membrane transporters. *JOP* 2:203–206, 2001

Levy H, Murphy A, Zou F, Gerard C, Klanderman B, Schuemann B et al. IL1B polymorphisms modulate cystic fibrosis lung disease. *Pediatr Pulmonol* 44:580–93, 2009

Lewindon PJ, Pereira TN, Hoskins AC, Bridle KR, Williamson RM, Shepherd RW et al. The role of hepatic stellate cells and transforming growth factor-b1 in cystic fibrosis liver disease. *Am J Pathol* 160:1705–15, 2002

Lewis HA, Zhao X, Wang C, Sauder JM, Rooney I, Noland BW et al. Impact of the deltaF508 mutation in first nucleotide-binding domain of human cystic fibrosis transmembrane conductance regulator on domain folding and structure. *J BiolChem* 280:1346–53, 2005

Lind-Ayres M, Thomas W, Holme B, Mauer M, Caramori ML, Moran A. Microalbuminuria in patients with cystic fibrosis. *Diabetes Care* 34: 1526–28, 2011

Lindblad A, Glaumann H, Strandvik B. Natural history of liver disease in cystic fibrosis. *Hepatology* 30:1151–8, 1999

Liu JY, Sime PJ, Wu T, Warshamana GS, Pociask D, Tsai SY et al. Transforming growth factor-beta(1) overexpression in tumor necrosis factor-alpha receptor knockout mice induces fibroproliferative lung disease. *Am J Respir Cell Mol Biol* 25:3–7, 2001

Liu Z, Habener JF. Glucagon-like peptide-1 activation of TCF7L2-dependent Wnt signaling enhances pancreatic beta-cell proliferation. *J Biol Chem* 283(13):8723–8735, 2008

Loewen ME, Forsyth GW. Structure and function of CLCA proteins. *Physiol Rev* 85: 1061-92, 2005

Lohi H, Kujala M, Makela S et al. Functional characterization of three novel tissue-specific anion exchangers SLC26A7, -A8, and -A9. *J Biol Chem* 277:14246–14254, 2002

Lombardo F, De Luca F, Rosano M et al. Natural history of glucose tolerance, β -cell function and peripheral insulin sensitivity in cystic fibrosis patients with fasting euglycemia. *Eur J Endocrinol* 149: 53–59, 2003

Loos RJ, Franks PW, Francis RW et al. TCF7L2 polymorphisms modulate proinsulin levels and beta-cell function in a British European population. *Diabetes* 56:1943–1947, 2007

Luedecking EK, DeKosky ST, Mehdi H, Ganguli M and Kamboh MI .Analysis of genetic polymorphisms in the transforming growth factor-beta1 gene and the risk of Alzheimer's disease. *Hum. Genet.* 106, 565–569, 2000

Mahadeva R, Stewart S, Bilton D, Lomas DA. Alpha-1 antitrypsin deficiency alleles and severe cystic fibrosis lung disease. *Thorax* 53:1022–4, 1998a

Mahadeva R, Westerbeek RC, Perry DJ, Lovegrove JU, Whitehouse DB, Carroll NR et al. Alpha1-antitrypsin deficiency alleles and the Taq-I G→A allele in cystic fibrosis lung disease. *Eur Respir J* 11:873–9, 1998b

Majid A, Speake T, Best L, Brown PD. Expression of the Na⁺K⁺-2Cl⁻ co transporter in alpha and beta cells isolated from the rat pancreas. *Pflugers Arch* 442:570–576, 2001

March CJ, Mosley B, Larsen A, Cerretti DP, Braedt G, Price V, Gillis S, Henney CS, Kronheim SR, Grabstein K. Cloning, sequence and expression of two distinct human interleukin-1 complementary DNAs. *Nature* 315 (6021): 641–7, 1985.

Marsden PA, Heng HH, Scherer SW, Stewart RJ, Hall AV, Shi XM et al. Structure and chromosomal localization of the human constitutive endothelial nitric oxide synthase gene. *J Biol Chem* 268:17478–88, 1993

Marshall BC, Butler SM, Stoddard M, Moran AM, Liou TG et al. Epidemiology of cystic fibrosis-related diabetes. *J Pediatr* 146: 681–68, 2005

Marson FA, Bertuzzo CS, Ribeiro AF, Ribeiro JD. Polymorphisms in ADRB2 gene can modulate the response to bronchodilators and the severity of cystic fibrosis. *BMC Pulm Med* 12:50, 2012b

Martin AC, Laing IA, Zhang G, Brennan S, Winfield K, Sly PD et al. CD14 C-159T and early infection with *Pseudomonas aeruginosa* in children with cystic fibrosis. *Respir Res* 6:63, 2005

Martin J, Hartl FU. Chaperone-assisted protein folding. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 7:41–52, 1997

Mastella G, Rainisio M, Harms HK et al. Allergic bronchopulmonary aspergillosis in cystic fibrosis. A European epidemiological study. Epidemiologic Registry of Cystic Fibrosis. *European Respiratory Journal* 16(3):464–471, 2000

Matel JL. Nutritional management of cystic fibrosis. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 36:60S–7S, 2012

McCarty NA. Permeation through the CFTR chloride channel. *J Exp Biol* 203:1947–62, 2000

McKone EF, Emerson SS, Edwards KL, Aitken ML. Effect of genotype on phenotype and mortality in cystic fibrosis: A retrospective cohort study. *Lancet* 361:1671–1676, 2003

McKone EF, Goss CH, Aitken ML. CFTR genotype as a predictor of prognosis in cystic fibrosis. *Chest* 130:1441–7, 2006

McKone EF, Shao J, Frangolias DD, Keener CL, Shephard CA, Farin FM et al. Variants in the glutamate-cysteine-ligase gene are associated with cystic fibrosis lung disease. *Am J Respir Crit Care Med* 174:415–9, 2006

Mekus F, Ballmann M, Bronsveld I, Bijman J, Veeze H, Tummler B. Categories of deltaF508 homozygous cystic fibrosis twin and sibling pairs with distinct phenotypic characteristics. *Twin Res.* 3, 277–293.10.1375/136905200320565256, 2000

Mencin A, Seki E, Osawa Y et al. Alpha-1 antitrypsin Z protein (PiZ) increases hepatic fibrosis in a murine model of cholestasis. *Hepatology* 46(5):1443–1452, 2007

Meyer P, Braun A, Roscher AA. Analysis of the two common alpha-1-antitrypsin deficiency alleles PiMS and PiMZ as modifiers of *Pseudomonas aeruginosa* susceptibility in cystic fibrosis. *Clin Genet* 62:325–7, 2002

Mickle JE, Cutting GR. Clinical implications of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator mutations. *Clin Chest Med* 19: 443–458, 1998

Mickle JE, Cutting GR. Genotype-phenotype relationships in cystic fibrosis. *Med Clin North Am* 84: 597–607, 2000

Milla CE, Billings J, Moran A. Diabetes is associated with dramatically decreased survival in female but not male subjects with cystic fibrosis. *Diabetes Care* 28: 2141–44, 2005

Milla, P. J. Cystic fibrosis: present and future. *Digestion* 59:579-88, 1998

Minicucci L, Lorini R, Giannattasio A et al. Liver disease as risk factor for cystic fibrosis-related diabetes development. *Acta Paediatr* 96:736–739, 2007

Modi WS, Dean M, Seuanez HN, Mukaida N, Matsushima K, O'Brien SJ. Monocyte-derived neutrophil chemotactic factor (MDNCF/IL-8) resides in a gene cluster along with several other members of the platelet factor 4 gene superfamily. *Hum. Genet.* 84 (2): 185–7, 1990

Moller-Kristensen M, Ip WK, Shi L, Gowda LD, Hamblin MR, Thiel S, Jensenius JC, Ezekowitz RA, Takahashi K. Deficiency of mannose binding lectin greatly increases susceptibility to postburn infection with *Pseudomonas aeruginosa*. *J Immunol* 176:1769–1775, 2006

Montuschi P, Kharitonov SA, Ciabattini G, Corradi M, van Rensen L, Geddes DM, Hodson ME, Barnes PJ. Exhaled 8-isoprostane as a new non-invasive biomarker of oxidative stress in cystic fibrosis. *Thorax* 55:205–209, 2000

Moran A, Doherty L, Wang X, Thomas W. Abnormal glucose metabolism in cystic fibrosis. *J Pediatr* 133: 10–17, 1998

Moran A, Dunitz J, Nathan B, Saeed A, Holme B, Thomas W. Cystic fibrosis-related diabetes: current trends in prevalence, incidence, and mortality. *Diabetes Care* 32 (9): 1626–31, September 2009

Moran A, Hardin D, Rodman D et al. Diagnosis, screening and management of cystic fibrosis related diabetes mellitus: a consensus conference report. *Diabetes Res Clin Pract* 45:61–73, 1999

- Moran A, Becker D, Casella SJ et al. CFRD Consensus Conference Committee. Epidemiology, pathophysiology, and prognostic implications of cystic fibrosis-related diabetes: a technical review. *Diabetes Care* 33:2677–2683, 2010
- Morgan K, Scobie G, Marsters P, Kalsheker NA. Mutation in an alpha1-antitrypsin enhancer results in an interleukin-6 deficient acute-phase response due to loss of cooperativity between transcription factors. *Biochim Biophys Acta* 1362:67–76, 1997
- Moskovitz J, Jenkins NA, Gilbert DJ, Copeland NG, Jursky F et al. Chromosomal localization of the mammalian peptide-methionine sulfoxide reductase gene and its differential expression in various tissues. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93: 3205–3208, 1996b
- Moskovitz J, Weissbach H, Brot N. Cloning the expression of a mammalian gene involved in the reduction of methionine sulfoxide residues in proteins. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93: 2095–2099, 1996a
- Muhlebach MS, MacDonald SL, Button B, Hubbard JJ, Turner ML, Boucher RC et al. Association between mannan-binding lectin and impaired lung function in cystic fibrosis may be age-dependent. *Clin Exp Immunol* 145:302–7, 2006
- Munck A, Gerardin M, Alberti C et al. Clinical outcome of cystic fibrosis presenting with or without meconium ileus: a matched cohort study. *J Pediatr Surg* 41:1556-60, 2006
- Mundhenk L, Alfalah M, Eible RC et al. Both cleavage products of the mCLCA3 protein are secreted soluble proteins. *J Biol Chem* 281:30072-80, 2006
- Muzio M, Mantovani A. The Toll receptor family. *Allergy* 56:103–8, 2001
- Nielsen J, Christiansen J, Lykke-Andersen J, Johnsen AH, Wewer UM, Nielsen FC. A family of insulin-like growth factor II mRNA-binding proteins represses translation in late development. *Mol Cell Biol* 19 (2): 1262–70, 1999
- Noah TL, Black HR, Cheng PW, Wood RE, Leigh MW. Nasal and bronchoalveolar lavage fluid cytokines in early cystic fibrosis. *J Infect Dis* 175:638–47, 1997

Noone PG, Knowles MR. 'CFTR-opathies': disease phenotypes associated with cystic fibrosis transmembrane regulator gene mutations. *Respir. Res* 2:328–332, 2001

O'Connor CM, Gaffney K, Keane J, Southey A, Byrne N, O'Mahoney S et al. Alpha 1-Proteinase inhibitor, elastase activity, and lung disease severity in cystic fibrosis. *Am Rev Respir Dis* 148:1665–70, 1993

O'Sullivan BP, Freedman SD. Cystic fibrosis. *Lancet* 373:1891–1904, 2009

Oh DK, Ciaraldi T, Henry RR. Adiponectin in health and disease. *Diabetes Obes Metab* 9:282–289, 2007

Oien DB, Moskovitz J. Substrates of the methionine sulfoxide reductase system and their physiological relevance. *Curr Top Dev Biol* 80: 93–133, 2008

Omer FM, deSouza JB and Riley EM. Differential induction of TGF-beta regulates proinflammatory cytokine production and determines the outcome of lethal and nonlethal *Plasmodium yoelii* infections. *J. Immunol* 171, 5430–5436, 2003

Orenstein DM, Higgins LW. Update on the role of exercise in cystic fibrosis. *Curr Opin Pulm Med.* 11(6):519–523, 2005

Osika E, Cavaillon JM, Chadelat K, Boule M, Fitting C, Tournier G et al. Distinct sputum cytokine profiles in cystic fibrosis and other chronic inflammatory airway disease. *Eur Respir J* 14:339–46, 1999

Ouchi N, Walsh K. Adiponectin as an anti-inflammatory factor. *Clin Chim Acta.* 380:24–30, 2007

Ousingsawat J, Schreiber R, Kunzelmann K. Differential contribution of SLC26A9 to Cl(-) conductance in polarized and non-polarized epithelial cells. *J Cell Physiol* 227:2323–2329, 2012

Overall CM, Wrana JL and Sodek J. Independent regulation of collagenase, 72-kDa progelatinase, and metalloendoproteinase inhibitor expression in human fibroblasts by transforming growth factor-beta. *J. Biol. Chem.* 264, 1860–1869, 1989

Parad RB, Gerard CJ, Zurakowski D, et al. Pulmonary outcome in cystic fibrosis is influenced primarily by mucoid *Pseudomonas aeruginosa* infection and immune status and only modestly by genotype. *Infect Immun* 67:4744–50, 1999

Park JE, Yung R, Stefanowicz D, Shumansky K, Akhabir L, Durie PR et al. Cystic fibrosis modifier genes related to *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Genes Immun* 12:370–7, 2011

Pascoe J, Hollern D, Stamateris R et al. Free fatty acids block glucose induced β -cell proliferation in mice by inducing cell cycle inhibitors p16 and p18. *Diabetes* 61:632–641, 2012

Patwari P, Emilsson V, Schadt EE, Chutkow WA, Lee S, Marsili A, Zhang Y, Dobrin R, Cohen DE, Larsen PR et al. The arrestin domain containing 3 protein regulates body mass and energy expenditure. *Cell Metab* 14:671–83, 2011

Perlmutter DH. Pathogenesis of chronic liver injury and hepatocellular carcinoma in alpha-1-antitrypsin deficiency. *Pediatr Res* 60(2):233-238, 2006

Pierrel F, Douki T, Fontecave M & Atta M. MiaB protein is a bifunctional radical-S-adenosylmethionine enzyme involved in thiolation and methylation of tRNA. *J Biol Chem* 279,47555–63, 2004

Pind S, Riordan JR, Williams DB. Participation of the endoplasmic reticulum chaperone calnexin (p88, IP90) in the biogenesis of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator. *J Biol Chem*. 269:12784–12788, 1994

Polu JM, Lesur O, Delorme N. Cystic fibrosis in adults. *Rev. Prat.* 40, 1580-1586, 1990

Polychronakos C. Early onset diabetes mellitus. Tip or iceberg? *Pediatr Diabetes* 5:171–173, 2004

Potter CJ, Fishbein M, Hammond S, McCoy K, Qualman S. Can the histologic changes of cystic fibrosis-associated hepatobiliary disease be predicted by clinical criteria? *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 25:32–6. 15, 1997

Price P, Witt C, Allcock R, Sayer D, Garlepp M, Kok CC, French M, Mallal S, Christiansen F. The genetic basis for the association of the 8.1 ancestral haplotype (A1, B8, DR3) with multiple immunopathological diseases. *Immunol Rev.* 167:257–274, 1999

Pulleyn LJ, Newton R, Adcock IM and Barnes PJ. TGFbeta1 allele association with asthma severity. *Hum. Genet.* 109, 623–627, 2001

- Quintana-Gallego E, Delgado-Pecellín I, Calero Acuña C. Tratamientos reparadores de la proteína CFTR en la fibrosis quística. *Arch Bronconeumol.* 50:146–150, 2014
- Quinton PM. Cystic fibrosis: impaired bicarbonate secretion and mucoviscidosis. *Lancet* 372:415–417, 2008
- Ramm GA, Shepherd RW, Hoskins AC, Greco SA, Ney AD, Pereira TN et al. Fibrogenesis in pediatric cholestatic liver disease: role of taurocholate and hepatocyte-derived monocyte chemotaxis protein-1 in hepatic stellate cell recruitment. *Hepatology* 49:533–44, 2009
- Ratjen F, Doring G. Cystic fibrosis. *Lancet* 361: 681–68, 2003
- Regev A, Guaqueta C, Molina EG et al. Does the heterozygous state of alpha-1 antitrypsin deficiency have a role in chronic liver diseases? interim results of a large case-control study. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 43(suppl 1):S30-S35, 2006
- Reihnsaus E, Innis M, MacIntyre N, Liggett SB. Mutations in the gene encoding for the beta 2-adrenergic receptor in normal and asthmatic subjects. *Am J Respir Cell Mol Biol* 8:334–9, 1993
- Riedel BD. Gastrointestinal manifestations of cystic fibrosis. *Pediatr Ann* Apr;26(4):235-41, 1997
- Riordan J, Rommens J, Kerem B, Alon N, Rozmahel R, Grzelczak Z, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. *Science* 245:1066–73, 1989
- Riordan JR. CFTR function and prospects for therapy. *Annu Rev Biochem* 77:701–26, 2008
- Romero MF. Molecular pathophysiology of SLC4 bicarbonate transporters. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 14:495–501, 2005
- Rosenberg MF, O’Ryan LP, Hughes G, Zhao Z, Aleksandrov LA, Riordan JR, Ford RC. The cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR): three-dimensional structure and localization of a channel gate. *J Biol Chem* 286:42647–42654, 2011
- Rosenfeld M, Davis R, FitzSimmons S, Pepe M, Ramsey B. Gender gap in cystic fibrosis mortality. *Am. J. Epidemiol.* 145 (9): 794–803, May 1997

- Rosenfeld M, Ramsey BW, Gibson RL. Pseudomonas acquisition in young patients with cystic fibrosis: pathophysiology, diagnosis, and management. *Curr Opin Pulm Med* 9(6):492–497, 2003
- Rosenstein BJ, Cutting GR. The diagnosis of cystic fibrosis: a consensus statement. Cystic Fibrosis Foundation Consensus Panel. *J Pediatr*. 132(4):589-95, 1998
- Rosenstein BJ. What is a cystic fibrosis diagnosis? *Clin Chest Med*. 19(3):423-41, 1998
- Rowland M, Gallagher CG, O’Laoide R, Canny G, Broderick A, Hayes R et al. Outcome in cystic fibrosis liver disease. *Am J Gastroenterol* 106:104–9, 2011
- Rozmahel R, Wilschanski M, Matin A et al. Modulation of disease severity in cystic fibrosis transmembrane conductance regulator deficient mice by a secondary genetic factor. *Nat Genet*. 12:280–7, 1996
- Russell P. *Biology: the dynamic science*. (2nd ed.). Belmont, CA: Brooks/Cole, Cengage Learning. p. 304. ISBN 978-0-538-49372-7, 2011
- Saadane A, Eastman J, Berger M, Bonfield TL. Parthenolide inhibits ERK and AP-1 which are dysregulated and contribute to excessive IL-8 expression and secretion in cystic fibrosis cells. *J Inflamm (Lond)* 8: 26, 2011
- Salvatore F, Scudiero O, Castaldo G. Genotype-phenotype correlation in cystic fibrosis: the role of modifier genes. *Am J Med Genet* 111:88–95, 2002
- Sanchez-Dominguez CN, Reyes-Lopez MA, Bustamante A, Cerda-Flores RM, Villalobos-Torres MdC et al. The Tumor Necrosis Factor α (-308 A/G) Polymorphism Is Associated with Cystic Fibrosis in Mexican Patients. *PLoS ONE* 9(3), 2014
- Schmitt-Grohe S, Stuber F, Book M, Bargon J, Wagner TO, Naujoks C et al. TNF-alpha promoter polymorphism in relation to TNF-alpha production and clinical status in cystic fibrosis. *Lung* 184:99–104, 2006
- Schuppan D, Afdhal NH. Liver cirrhosis. *Lancet*. 371(9615):838-851, 2008
- Schutt WH, Isles TE. Protein in meconium from meconium ileus. *Arch Dis Child* 43: 178–181, 1968
- Schwarzenberg SJ, Thomas W, Olsen TW et al. Microvascular complications in cystic fibrosis-related diabetes. *Diabetes Care* 30: 1056–61, 2007

Scott-Jupp R, Lama M, Tanner MS. Prevalence of liver disease in cystic fibrosis. *Arch Dis Child* 66:698–701, 1991

Seibert FS, Linsdell P, Loo TW, Hanrahan JW, Riordan JR, Clarke DM. Cytoplasmic loop three of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator contributes to regulation of chloride channel activity. *J Biol Chem* 271:27493–9, 1996

Shah R, Hurley CK and Posch PE. A molecular mechanism for the differential regulation of TGF-beta1 expression due to the common SNP -509C-T (c-1347C.T). *Hum. Genet.* 120, 461–469, 2006

Sheppard DN, Welsh MJ. Structure and function of the CFTR chloride channel. *Physiol Rev* 79:S23–45, 1999

Shiratsuchi A, Watanabe I, Ju JS, Lee BL, Nakanishi Y. Bridging effect of recombinant human mannose-binding lectin in macrophage phagocytosis of *Escherichia coli*. *Immunology* 124:575–583, 2008

Shmarina G, Pukhalsky A, Petrova N, Zakharova E, Avakian L et al. TNF gene polymorphisms in cystic fibrosis patients: contribution to the disease progression. *J Transl Med* 11: 19, 2013

Shumaker H, Amlal H, Frizzell R, Ulrich CD II, Soleimani M. CFTR drives $\text{Na}^+/\text{nHCO}_3^-$ cotransport in pancreatic duct cells: a basis for defective HCO_3^- secretion in CF. *Am J Physiol* 276:C16–C25, 1999

Shumaker H, Soleimani M. CFTR upregulates the expression of the basolateral $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$ cotransporter in cultured pancreatic duct cells. *Am J Physiol* 277:C1100–C1110, 1999

Silverman ES, Palmer LJ, Subramaniam V, Hallock A, Mathew S, Vallone J, Faffe DS, Shikanai T, Raby BA, Weiss ST et al. Transforming growth factor-beta1 promoter polymorphism C-509T is associated with asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 169, 214–219, 2004

Smith JL, Lewindon PJ, Hoskins AC, Pereira TN, Setchell KDR, O'Connell NC. Endogenous ursodeoxycholic acid and cholic acid in liver disease due to cystic fibrosis. *Hepatology* 39:1673–82, 2004

Soleimani M, Burnham CE. $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ cotransporters (NBC): cloning and characterization. *J Membr Biol* 183:71–84, 2001

Soleimani M. Impaired pancreatic ductal bicarbonate secretion in cystic fibrosis. *JOP* 2:237–242, 2001

Southern KW, Merelle MM, Dankert-Roelse JE, Nagelkerke AD. Newborn screening for cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst Rev* CD001402, 2009

Stallings VA, Stark LJ, Robinson KA, Feranchak AP, Quinton H. Evidence-based practice recommendations for nutrition-related management of children and adults with cystic fibrosis and pancreatic insufficiency: results of a systematic review. *J Am Diet Assoc* 108:832–9, 2008

Stalvey MS, Muller C, Schatz DA, et al. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator deficiency exacerbates islet cell dysfunction after beta-cell injury. *Diabetes* 55:1939–1945, 2006

Stanke F, Becker T, Cuppens H, Kumar V, Cassiman JJ, Jansen S et al. The TNF alpha receptor TNFRSF1A and genes encoding the amiloride-sensitive sodium channel ENaC as modulators in cystic fibrosis. *Hum Genet* 119:331–43, 2006

Steagall WK, Barrow BJ, Glasgow CG, Mendoza JW, Ehrmantraut M, Lin JP et al. Beta-2-adrenergic receptor polymorphisms in cystic fibrosis. *Pharmacogenet Genom* 17:425–30, 2007

Stecenko AA, King G, Torii K, Breyer RM, Dworski R, Blackwell TS et al. Dysregulated cytokine production in human cystic fibrosis bronchial epithelial cells. *Inflammation* 25: 145–155, 2001

Steinkamp G, Wiedemann B, Rietschel E, Krahl A, Gielen J, Bärmeier H, Ratjen F. Emerging Bacteria Study Group 2005. Prospective evaluation of emerging bacteria in cystic fibrosis. *J. Cyst. Fibros.* 4:41–48, 2005

Stevens DA, Moss RB, Kurup VP, Knutsen AP, Greenberger P, Judson MA, Denning DW, Cramer R, Brody AS, Light M, Skov M, Maish WA, Mastella G. Allergic bronchopulmonary aspergillosis in cystic fibrosis—state of the art: cystic fibrosis foundation consensus conference. *Clin Infect Dis* 4(Suppl 3):S225–S264, 2003

Stone S, Jiang P, Dayananth P, Tavtigian SV, Katcher H, Parry D, Peters G, Kamb A. Complex structure and regulation of the P16 (MTS1) locus. *Cancer Res.* 55(14): 2988–94, 1995

Street ME, Spaggiari C, Ziveri MA et al. Insulin production and resistance in cystic fibrosis: effect of age, disease activity, and genotype. *J Endocrinol Invest* 35: 246–53, 2012

Strong TV, Wilkinson DJ, Mansoura MK, Devor DC, Henze K, Yang Y et al. Expression of an abundant alternatively spliced form of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) gene is not associated with a cAMP activated chloride conductance. *Hum Mol Genet* 2:225–230, 1993

Stutts MJ, Canessa CM, Olsen JC et al. CFTR as a cAMP-dependent regulator of sodium channels. *Science* 269: 847–50, 1995

Suthanthiran M, Li B, Song JO, Ding R, Sharma VK, Schwartz JE and August P. Transforming growth factor-beta 1 hyperexpression in African-American hypertensives: a novel mediator of hypertension and/ or target organ damage. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 97, 3479–3484, 2000

Taccetti G, Campana S, Festini F, Mascherini M, Doring G. Early eradication therapy against *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis patients. *Eur Respir J* 26(3):458–61, 2005

Taouil K, Hinnrasky J, Hologne C, Corlieu P, Klossek JM, Puchelle E. Stimulation of beta2-adrenergic receptor increases cystic fibrosis transmembrane conductance regulator expression in human airway epithelial cells through a cAMP/protein kinase A-independent pathway. *J Biol Chem* 278:17320–7, 2003

Taylor CJ, Baxter PS, Hardcastle J, Hardcastle PT. Failure to induce secretion in jejunal biopsies from children with cystic fibrosis. *Gut* 29: 957–962, 1988

Tesse R, Cardinale F, Santostasi T, Polizzi A, Mappa L, Manca A et al. Association of interleukin-10 gene haplotypes with *Pseudomonas aeruginosa* airway colonization in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros* 7:329–32, 2008b

Texereau J, Marullo S, Hubert D, Coste J, Dusser DJ, Dall’Ava-Santucci J et al. Nitric oxide synthase 1 as a potential modifier gene of decline in lung function in patients with cystic fibrosis. *Thorax* 59:156–8, 2004

Theilgaard-Monch K, Jacobsen LC, Borup R, Rasmussen T, Bjerregaard MD, Nielsen FC, Cowland JB, Borregaard N. The transcriptional program of terminal granulocytic differentiation. *Blood* 105: 1785–1796, 2005

The Irish Times 2010

Tobias E. et al. Essential Medical Genetics. John Wiley & Sons. P.312. ISBN 1-118-29370-3, 2011

Treggiari MM, Retsch-Bogart G, Mayer-Hamblett N et al. Comparative efficacy and safety of 4 randomized regimens to treat early *Pseudomonas aeruginosa* infection in children with cystic fibrosis. *Archives of Pediatrics and Adolescent Medicine* 165(9):847–856, 2011

Tsukada S, Parsons CJ, Rippe RA. Mechanisms of liver fibrosis. *Clin Chim Acta* 364(1-2):33-60, 2006

Turcios NL. Cystic fibrosis, an overview. *J Clin Gastroenterol.* 34:307–17, 2005

Turner DM, Williams DM, Sankaran D, Lazarus M, Sinnott PJ, Hutchinson IV. An investigation of polymorphism in the interleukin-10 gene promoter. *Eur J Immunogenet* 24:1–8, 1997

Tzetis M, Efthymiadou A, Strofalis S, Psychou P, Dimakou A, Pouliou E et al. CFTR gene mutations –including three novel nucleotide substitutions– and haplotype background in patients with asthma, disseminated bronchiectasis and chronic obstructive pulmonary disease. *Hum Genet* 108:216–221, 2001

Urquhart DS, Allen J, Elrayess M, Fidler K, Klein N, Jaffe A. Modifier effect of the Toll-like receptor 4 D299G polymorphism in children with cystic fibrosis. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 54:271–6, 2006

Van den Berg JMW, Morton AM, Kok SW, Pijl H, Conway SP, Heijerman HGM. Microvascular complications in patients with cystic fibrosis-related diabetes (CFRD). *J Cyst Fibr* 7: 515–19, 2008

Van der Doef HP, Slieker MG, Staab D et al. Association of the CLCA1 p.S357N variant with meconium ileus in European patients with cystic fibrosis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 50:347–9, 2010

Van Diemen CC, Postma DS, Vonk JM, Bruinenberg M, Nolte IM and Boezen HM. Decorin and TGF-beta1 polymorphisms and development of COPD in a general population. *Respir. Res* 7, 89, 2006

Vankeerberghen A, Cuppens H, Cassiman JJ. The cystic fibrosis transmembrane conductance regulator: an intriguing protein with pleiotropic functions. *J Cyst Fibros* 1:13–29, 2002

Vanscoy LL, Blackman SM, Collaco JM, Bowers A, Lai T et al. Heritability of lung disease severity in cystic fibrosis. *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.* 175:1036–1043, 2007

Vaquero AR, Ferreira NE, Omae SV, Rodrigues MV, Teixeira SK, Krieger JE, Pereira AC. Using gene-network landscape to dissect genotype effects of TCF7L2 genetic variant on diabetes and cardiovascular risk. *Physiol Genomics* Oct 2;44(19):903-14, 2012

Vawter GF, Schwachman H. Cystic fibrosis in adults, an autopsy study. *Pathol Annu* 14:357–82, 1979

Vazzana N, Santilli F, Cuccurullo C, Davi G. Soluble forms of RAGE in internal medicine. *Intern Emerg Med* 4: 389–401, 2009

Venerando A, Franchin C, Cant N, Cozza G, Pagano MA, Tosoni K et al. Detection of phospho-sites generated by protein kinase CK2 in CFTR: mechanistic aspects of Thr-1471 phosphorylation. *PLoS One* 8:e74232, 2013

Verma N, Bush A, Buchdahl R. Is there still a gender gap in cystic fibrosis?. *Chest* 128 (4): 2824–34, October 2005

Vietor I, Huber LA. Role of TIS7 family of transcriptional regulators in differentiation and regeneration. *Differentiation* 75:891–89, 2007

Wallis R, Lynch NJ. Biochemistry and genetics of the collectins. In: Kilpatrick D, editor. *Collagen-related lectins in innate immunity*. Kerala, India: Research Signpost pp. 33–56, 2007

Ward CL, Omura S, Kopito RR. Degradation of CFTR by the ubiquitin-proteasome pathway. *Cell* 83:121–7, 1995

Wechsler ME, Grasemann H, Deykin A, Silverman EK, Yandava CN, Israel E, et al. Exhaled nitric oxide in patients with asthma: association with NOS1 genotype. *Am J Respir Crit Care Med* 162:2043–7, 2000

Wegner L, Hussain MS, Pilgaard K et al. Impact of TCF7L2 rs7903146 on insulin secretion and action in young and elderly Danish twins. *J Clin Endocrinol Metab* 93:4013–4019, 2008

Wei FY, Suzuki T, Watanabe S et al. Deficit of tRNA(Lys) modification by Cdkal1 causes the development of type 2 diabetes in mice. *J Clin Invest* 121:3598–3608, 2011

Weiler CA, Drumm ML. Genetic influences on cystic fibrosis lung disease severity. *Front Pharmacol* 4:40, 2013

Weiss ST, Litonjua AA, Lange C, Lazarus R, Liggett SB, Bleecker ER et al. Overview of the pharmacogenetics of asthma treatment. *Pharmacogenomics J* 6:311–26, 2006

Weissbach H, Resnick L, Brot N. Methionine sulfoxide reductases: history and cellular role in protecting against oxidative damage. *Biochim Biophys Acta* 1703: 203–212, 2005

“WHO | Genes and human disease”. Who. int. 2010-12-07. Retrieved 2013-01-23

Wiedemann B, Paul KD, Stern M, Wagner TO, Hirche TO. Evaluation of body mass index percentiles for assessment of malnutrition in children with cystic fibrosis. *Eur J Clin Nutr* 61:759–68, 2007

Wilschanski M, Rivlin J, Cohen S et al. Clinical and genetic risk factors for cystic fibrosis-related liver disease. *Pediatrics* 103(1):52-57, 1999

Wilson AG, Symons JA, McDowell TL, McDevitt HO, Duff GW. Effects of a polymorphism in the human tumor necrosis factor alpha promoter on transcriptional activation. *Proc Natl Acad Sci USA* 94:3195–3199, 1997

Wolfenden LL, Schechter MS: Genetic and non-genetic determinants of outcomes in cystic fibrosis. *Paediatr Respir Rev* 10: 32–36, 2009

Wright FA, Strug LJ, Doshi VK, Commander CW, Blackman SM, Sun L et al. Genome-wide association and linkage identify modifier loci of lung disease severity in cystic fibrosis at 11p13 and 20q13.2. *Nat Genet* 43:539–46, 2011

Wu L, Chau J, Young RP, Pokorny V, Mills GD, Hopkins R, McLean L. and Black PN. Transforming growth factor-beta1 genotype and susceptibility to chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 59, 126–129, 2004

Xu J, Song P, Miller ML et al. Deletion of the chloride transporter *Slc26a9* causes loss of tubulovesicles in parietal cells and impairs acid secretion in the stomach. *Proc Natl Acad Sci USA* 105:17955–17960, 2008

Yamada Y, Miyauchi A, Goto J, Takagi Y, Okuizumi H, Kanematsu M, Hase M, Takai H, Harada A and Ikeda K. Association of a polymorphism of the transforming growth factor-beta1 gene with genetic susceptibility to

osteoporosis in postmenopausal Japanese women. *J. Bone Miner. Res.* 13, 1569–1576, 1998

Yankaskas JR, Marshall BC, Sufian B, Simon RH, Rodman D. Cystic fibrosis adult care: consensus conference report. *Chest.* 125:1S–39S, 2004

Yarden J, Radojkovic D, De Boeck K, Macek M Jr, Zemkova D, Vavrova V et al. Association of tumour necrosis factor alpha variants with the CF pulmonary phenotype. *Thorax* 60:320–5, 2005

Yarden J, Radojkovic D, De Boeck K, Macek M Jr, Zemkova D, Vavrova V et al. Polymorphisms in the mannose binding lectin gene affect the cystic fibrosis pulmonary phenotype. *J Med Genet* 41:629–33, 2004

Young FD, Newbigging S, Choi C, et al. Amelioration of cystic fibrosis intestinal mucous disease in mice by restoration of mCLCA3. *Gastroenterology* 133:1928–37, 2007

Yung B, Noormohamed FH, Kemp M, Hooper J, Lant AF, Hodson ME. Cystic fibrosis-related diabetes: the role of peripheral insulin resistance and β -cell dysfunction. *Diabet Med* 19: 221–26, 2002

Zemel BS, Jawad AF, Fitzsimmons S, Stallings VA. Longitudinal relationship among growth, nutritional status, and pulmonary function in children with cystic fibrosis: analysis of the cystic fibrosis foundation national CF patient registry. *J Pediatr* 137:374–80, 2000

Zhang Z, Lai HJ. Comparison of the use of body mass index percentiles and percentage of ideal body weight to screen for malnutrition in children with cystic fibrosis. *Am J Clin Nutr* 80:982–91, 2004

Zielenski J, Corey M, Rozmahel R et al. Detection of a cystic fibrosis modifier locus for meconium ileus on human chromosome 19q13. *Nat Genet* 22:128–9, 1999

Zielenski J. Genotype and phenotype in cystic fibrosis. *Respiration.* 67(2):117-33, 2000