Downloaded from tumj.tums.ac.ir at 8:27 IRST on Sunday December 6th 2020

سیستیک فیبروزیز از ژنوتیپ تا فنوتیپ: *مقاله مروری*

محمد صدرا مدرسی[۱]، آرتا امیر جمشیدی[۲*]، محمد رضا مدرسی[۳]

۱- گروه بیوتکنولوژی، پردیس علوم، دانشگاه تهران، تهران، ایران.
۲- آزمایشگاه تحقیقاتی پیشرفته سیستم‌های زیستی و سرطان، دانشکده ریاضی آمار و علوم کامپیوتر، پردیس علوم، دانشگاه تهران، تهران، ایران.
۳- گروه ریه و بیماری‌های تنفسی کودکان، مرکز طبی کودکان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

*نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه تهران، پردیس علوم، دانشکده ریاضی آمار و علوم کامپیوتر، آزمایشگاه تحقیقاتی پیشرفته سیستم‌های زیستی و سرطان.
تلفن: ٦١١١٢٤٨٤-٠٢١
E-mail: arta.jamshidi@ut.ac.ir

دریافت: ۱۳۹۹/۰۱/۱٦ ویرایش: ۱۳۹۹/۰۱/۲۳ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۸/۰۱ آنلاین: ۱۳۹۹/۰۸/۰۷

چکیده

بیماری سیستیک فیبروزیز (CF)، شایع‌ترین بیماری ژنتیکی اتوزوم مغلوب بوده و با نقص در ژن Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) بروز می‌کند. ژن CFTR یک کانال پروتیینی انتقال‌دهنده کلر را به شکل گسترده بر روی سطوح اپی‌تلیالی بدن مثل ریه، پانکراس، روده، کبد و پوست بیان می‌کند. از جمله اثراتی که ژن معیوب CFTR بر روی پروتیین CFTR می‌گذارد می‌توان به نقص در انتقال کلر و کاهش کانال‌های کلر بر سطح سلول اشاره کرد. بروز مشکلات ذکر شده در کانال CFTR باعث بسته شدن و عفونت‌های مکرر مجاری هوایی، ترشح ناکافی غدد برون‌ریز و بدجذبی مواد غذایی می‌شود. دانشمندان تحقیقات بسیاری را در راستای شناخت بیشتر بیماری CF و راه‌کارهای بهبود کیفیت زندگی مبتلایان به این بیماری انجام داده‌اند. علیرغم پیشرفت‌های صورت گرفته، به‌دلیل پیچیدگی زیاد این بیماری و درگیری گسترده اندام‌های مختلف بدن هنوز درمان قطعی برای این بیماری یافت نشده است. مطالعه و بررسی این بیماری در تمام سطوح می‌تواند دریچه‌ای را در یافتن روش‌های جدید درمانی بگشاید. در چند سال گذشته داروهای ترکیبی برای تصحیح و تقویت عملکرد کانال CFTR معرفی شده که تاثیر به سزایی در کاهش علایم این بیماری دارند. افزون‌بر دارو، با پیشرفت گسترده روش‌های مهندسی ژنتیک و افزایش دقت ابزارهای دستکاری ژنتیک، به‌طور مستقیم ژن معیوب CFTR تصحیح شده و علایم بیماری از بین می‌رود. این مقاله با بررسی بیماری CF در حوزه‌ی ژنتیک و تاثیر آن بر روی سطوح پروتیینی و فیزیولوژیک، تصویر جامعی از این بیماری را به نمایش گذاشته و به معرفی درمان‌های معمول و جدید می‌پردازد.

کلمات کلیدی: سیستیک فیبروزیس، تنظیم کننده تراغشایی فیبروز سیستیک، ژنوتیپ، فنوتیپ، فیزیولوژی، فیزیوپاتولوژی، درمان.

سیستیک فیبروزیز از دیرباز مورد توجه مردم و پزشکان بوده است. در بعضی از مقالات مربوط به قرن ۱۸ به برخی از جنبه‌های این بیماری از جمله بوسه شور به‌دلیل دفع نمک از پوست اشاره شده است.[۱] در سال ۱۹۳۸ برای اولین بار Andersen با انتشار مقاله‌ای به توضیح ویژگی‌های سیستیک فیبروزیز در پانکراس و ارتباط آن با مشکلات ریوی و روده‌ای پرداخت. وی برای اولین بار مغلوب بودن این بیماری را از نظر توارث مطرح کرد و همچنین با تجویز آنزیم آنزیم‌های پانکراسی و آنتی‌بیوتیک‌های مناسب اولین راه‌کارهای کنترلی این بیماری را ارایه کرد.[۲] ۵۰ سال بعد، Eiberg نشان داد یک مکان ژنتیکی (Genetic locus) مسئول بیماری CF می‌باشد. پس از پژوهش‌های فراوان اولین جهش CF با نام F508del توسط Collins, L-C Tsui, Riordan بر روی کروموزوم ۷ یافت شد.[۳-۵]

این بیماری در اثر جهش در CFTR بروز می‌کند. ژن CFTR از جمله ژن‌های Housekeeping می‌باشد که به‌طور پیوسته در بدن

Downloaded from tumj.tums.ac.ir at 8:27 IRST on Sunday December 6th 2020

موجودات مختلف بیان می‌شود و نقص و یا عدم حضور این ژن، احتمال بقای موجود زنده را تا حد زیادی کاهش می‌دهد.[٦] این ژن فرآیندهای رونویسی و تغییرات پس از رونویسی خاصی را دنبال می‌کند، که در بخش " ژن CFTR " به آن خواهیم پرداخت. ژن CFTR در نهایت یک کانال غشایی از خانواده ناقلین ABC را بیان می‌کند. دومین‌های (Domain) درون سلولی این کانال با اتصال به ATP و تغییر در کنفورماسیون کلی کانال سبب انتقال یون کلر از داخل سلول به خارج سلول می‌شوند. در بخش" پروتیین CFTR" به‌طور دقیق به بررسی ساختار و اجزای تشکیل‌دهنده این کانال می‌پردازیم. این بیماری دستگاه‌ها و اندام‌های گوناگونی، از جمله دستگاه تنفسی، دستگاه گوارش، پانکراس و کبد را درگیر می‌کند. شدت و میزان درگیری هر بافت بستگی به ژنوتیپ CFTR و ژن‌های تغییر دهنده (Modifier Genes) دارد. جهش‌ها بسته به این که در کدام ناحیه از ژن واقع شده‌اند فنوتیپ‌های متفاوتی را از خود بروز می‌دهند. دانشمندان برای مطالعه راحت‌تر این بیماری جهش‌ها را بر اساس فنوتیپ به شش کلاس دسته‌بندی کرده‌اند. این کانال وظایف مهمی را از جمله مرطوب کردن و تسهیل حرکت مایعات در مجاری اپی‌تلیالی بدن و تنظیم عملکرد دیگر کانال‌ها غشایی بر عهده دارد. ژن معیوب CFTR در نهایت منجر به تولید کانال غیرعملکردی شده و سطوح اپی‌تلیالی دچار کمبود آب می‌شود. در پی این نقص، انسداد (Obstruction) و عفونت (Infection) در بعضی از مجاری اپی‌تلیالی سبب التهاب و تخریب بافت می‌شود. به‌دلیل اهمیت بالای کانال CFTR در عملکرد ریه‌ها، حدود ۸۰٪ مرگ‌ومیر در این بیماران به علت مشکلات ریوی می‌باشد.[٧] به‌طورکلی حدود ۸۵۰۰۰ نفر در سراسر جهان از بیماری سیستیک فیبروزیز رنج می‌برند که البته آمار دقیقی از تعداد مبتلایان به این بیماری در کشورهای آسیایی در دسترس نیست.[٨و٩] عملکرد و پراکندگی این کانال بر روی سلول‌های سطوح ریوی، رطوبت راه‌های هوایی را تامین کرده و در صورت نقص دراین کانال راه‌های هوایی دچار کم آبی شده و مخاط بسیار غلیظ و چسبنده در ریه تشکیل می‌شود. مخاط غلیظ ریوی به‌دلیل عدم تخلیه از روی سطوح راه‌های هوایی مستعد رشد انواع میکروارگانیسم‌ها، التهاب و تخریب بافت ریه می‌شود. در بخش "پاتوفیزیولوژی بیماری سیستیک فیبروزیز" به شکل جزیی‌تر به بررسی موارد بیان شده در بالا می‌پردازیم.

تاکنون راهکارهای متعددی برای درمان این بیماری پیشنهاد شده است که اغلب آن‌ها براساس روش‌های مراقبتی بوده و بیماران با کنترل و مراقبت پیوسته توسط یک تیم متخصص در حوزه‌های مختلف به زندگی خود ادامه می‌دهند. در طی چهار سال اخیر داروهای جدیدی برای کنترل بیماری سیستیک فیبروزیز با ژنوتیپ‌های مختلف ارایه شده است، که تا حد بسیار خوبی عملکرد اندام‌های درگیر در این بیماری را بهبود می‌بخشید. به‌تازگی دسته‌ی دیگری از درمان‌ها با پیشرفت علم مهندسی ژنتیک و ابداع روش‌های جدید ژن درمانی به تصحیح ژن معیوب CFTR می‌پردازد. روش‌های متنوعی برای دستکاری ژن CFTR بکار گرفته شده است که جدیدترین و دقیق‌ترین روش Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeat (CRISPR) می‌باشد. در بخش "درمان سیستیک فیبروزیز" به بررسی جزیی‌تر روش‌های درمانی ذکر شده خواهیم پرداخت.

ژن CFTR: ژن CFTR نه تنها در انسان، بلکه در موجودات دیگری مثل دوزیستان (Xenopus) و ماهی‌ها (Kilifish) به‌دلیل اهمیت بالای خود در تکوین و فیزیولوژی جانوران بسیار محافظت شده می‌باشد.[١٠] این مشابهت بالا در گونه‌های مختلف سبب شده مکانیسم‌های رونویسی و بیان این ژن به راحتی مورد مطالعه قرار گیرد و به‌نحوی بتوان با مطالعات تکمیلی به مکانیسم‌های انسانی پی برد. در انسان ژن CFTR با طول ۱۸۹،۰۰۰ جفت باز بر روی بازوی بلند کروموزوم ۷ قرار دارد. این ژن شامل ۲۷ اگزون بوده، که به یک mRNA به طول ٦٥۰۰ باز، رونویسی می‌شود.[١١] ژن CFTR براساس اینکه در کدام سلول و در چه اندامی قرار گیرد، دارای بیان‌های متنوعی می‌باشد. رونویسی از CFTR در ناحیه‌ای غنی از C+G از ۸۰ جفت باز بالاتر از نقطه شروع ترجمه آغاز می‌شود. برای آغاز رونویسی فاکتور رونویسی sp1 به ناحیه‌ی G+C متصل شده و فرآیند رونویسی را پایه‌ریزی می‌کند. افزون‌بر فاکتورهای تنظیمی فرآیند رونویسی، شواهدی وجود دارد که microRNAها در میزان رونوشت‌های در دسترس CFTR نقش کلیدی دارند.[١٢]

در پژوهش‌های گسترده‌ای الگوی برش ژن CFTR با تکنیک واکنش زنجیره‌ای ترنسکریپتاز معکوس به دست‌آمد. برش ناصحیح Aberrant Splicing در نتیجه‌ی ورود توالی‌های نوکلئوتیدی غیرعادی در نواحی سیگنال برش می‌باشد. برای مثال تنوع در طول قطعه

Downloaded from tumj.tums.ac.ir at 8:27 IRST on Sunday December 6th 2020

پلی‌تیمیدین در انتهای ۳' اینترون ۹ ارتباط مستقیمی با میزان mRNA دارای برش صحیح می‌باشد. نسخه‌های طولانی از این قطعه مثل 9T و 7T، در نهایت برش صحیحی خواهند داشت. نسخه‌های کوتاه‌تر این قطعه مثل 5T سبب کاهش اساسی در طول mRNA نهایی خواهد شد. به‌طورکلی در انواع دیگر ژن‌ها، کوتاهی توالی پلی‌تیمیدین در انتهای اینترون پیشین بر روی اگزون بعدی تاثیری ندارد، ولی در ژن CFTR این توالی به شکل استثنائی تاثیرگذار است، که این خود نشان دهنده شرایط ویژه این ژن می‌باشد. بنابراین توالی‌های احاطه کننده اگزون ۹، مثل توالی‌های خاموش کننده برش در اینترون ۹ سبب برش ناصحیح می‌شود.[۱۳]

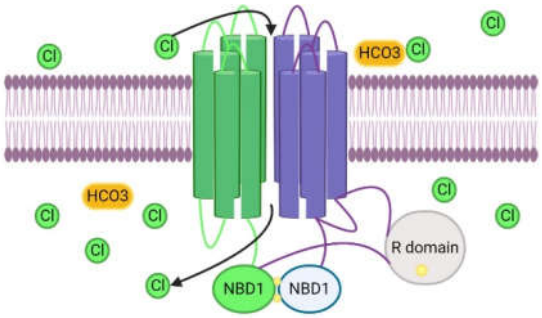
نکته‌ی قابل توجه دیگر این است که، رونویسی از ژن CFTR حامل 5T در بافت‌های مختلف متفاوت می‌باشد.[۱۴] افراد حمل کننده واریته‌های 5T علایم متنوعی از حالت سالم تا مبتلا به CF غیرکلاسیک را بروز می‌دهند. این واریته‌های مختلف به‌دلیل حضور ناحیه‌ای غنی از دی‌نوکلئوتید TG در مجاورت ناحیه‌ی پلی‌تیمیدینی می‌باشد.[۱۵] هنوز تاثیر ناحیه TG بر روی ناحیه‌ی پلی تیمیدینی به‌طور کامل مشخص نیست. البته گمان‌هایی مبنی بر اینکه ناحیه TG محلی برای اتصال پروتیین‌های خاموش کننده فرآیند برش مثل TDP-43 و SR و یا ایجاد ساختار ثانویه باشد، وجود دارد.[۱۶-۱۸]

از دیگر انواع برش ناصحیح می‌توان به خارج شدن اگزون‌های ۲۳ و ۲۴ از mRNA بالغ اشاره کرد که در نهایت سبب ساخت پروتیین غیرعملکردی می‌شود.[۱۹] افزون‌بر توالی‌های سیگنال برش، فاکتورهای پروتیینی تنظیم کننده برش مثل پروتیین‌های غنی از سرین-آرژنین و Heterogeneous Nuclear Ribonucleoprotein A1 در نحوه برش تاثیرگذار می‌باشد.[۲۰]

با تمام تلاش‌هایی که در راستای یافتن مکانیسم‌های تنظیم‌کننده بیان ژن CFTR انجام شده است ولی هنوز نادانسته‌های بسیاری در فرآیند رونویسی و تغییرات پس از رونویسی وجود دارد. افزون‌بر ژن CFTR ژن‌های دیگری با نام ژن‌های تغییر دهنده (Modifier genes) وجود دارند که به شکل مستقیم و یا غیرمستقیم بر نحوه ساخت و عملکرد CFTR تاثیر داشته و سبب تغییر شدت این بیماری در بیماران مختلف می‌شوند. تاثیر این ژن‌ها در بافت‌های مختلف درگیر در بیماری سیستیک فیبروزیز مثل ریه و پانکراس تعیین‌کننده است.[۲۱و۲۲]

پروتیین CFTR: در ابتدا دانشمندان با مقایسه‌ی توالی‌های نوکلئوتیدی موجود در پایگاه داده‌های مختلف شباهت بسیار زیاد ژن CFTR با ژن‌های متعلق به گروه ABC Transporter Superfamily یا همان Multidrug resistant (MDR) را نشان دادند. سپس پژوهش‌های بعدی ساختاری و عملکردی نتیجه‌ی حاصل از مقایسه توالی‌ها را تایید کرد. پروتیین CFTR از یک توالی پلی‌پپتیدی به طول ۱۴۸۰ آمینواسید ساخته شده، که در نهایت یک پروتیین گذرنده از غشا را تشکیل می‌دهد. توپولوژی پروتیین در غشاء سلول گویای دو ناحیه متقارن با شش دومین گذرنده از غشاء و دو دومین متصل شونده به نوکلئوتید Nucleotide binding domain (NBD) و یک دومین R در ناحیه درون سلول می‌باشد. CFTR از لحاظ وجود یک دومین مرکزی R، که غنی از نواحی فسفریله شونده است، منحصر به فرد می‌باشد (شکل ۱). این نواحی می‌توانند به وسیله کینازهای C و A فسفریله شوند. دو دومین متصل شونده به نوکلئوتید و دومین R به شکل مستقیم با هم ارتباط دارند، به شکلی که فسفریله شدن دومین R سبب باز شدن سوراخ کانال کلر شده و همچنین این احتمال وجود دارد که قدرت اتصال NBD به ATP را تحت تاثیر قرار دهد.[۲۳]

هیدرولیز ATP در NBD1 در نهایت سبب باز شدن کانال و هیدرولیز در NBD2 به بسته شدن کانال منتهی می‌شود. این کانال توانایی انتقال کلر، هم به داخل و هم به بیرون سلول را دارا می‌باشد. CFTR به‌وسیله‌ی cAMP تنظیم شده و به‌طور عمده کلر را به بیرون سلـول هدایـت می‌کند. یکی دیگر از نقش‌هـای مهم این کانال تنظیم



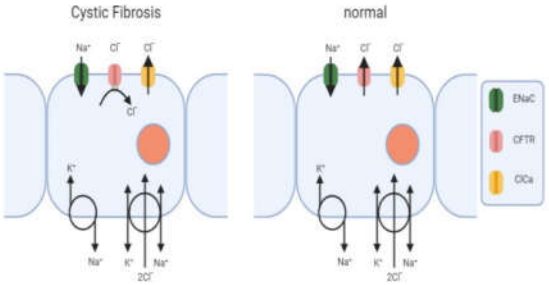
شکل ۱: ساختار پروتیین CFTR[۲۴]

Downloaded from tumj.tums.ac.ir at 8:27 IRST on Sunday December 6th 2020

فعالیت کانال‌های کلر دیگر (Outwardly rectifying chloride channel, ORCC) می‌باشد. معمولا ORCCها عملکرد دیگر کانال‌هایی یونی را به شکل گسترده‌ای تنظیم می‌کنند. در نتیجه می‌توان گفت ژن CFTR به‌طور غیرمستقیم عملکرد دیگر کانال‌های یونی را تحت تاثیر قرار می‌دهد. از جمله ORCCها می‌توان به کانال کلر فعال شده به‌وسیله کلسیم (CaCC) و Clc-2 اشاره کرد.

هنگامی که CFTR دچار نقص می‌شود، ORCCها نمی‌توانند عملکرد انتقال یون‌ها را به درستی انجام دهند.[۲۷-۲۵] کانال سدیم اپی‌تلیالی ENaC از معدود کانال‌هایی است که به شکل مستقیم به‌وسیله کانال CFTR تنظیم می‌شود. در شکل ۲ وابستگی عملکردی ORCCها و ENaC به CFTR به نمایش در آمده است. افزون‌بر عملکردهای بیان شده برای CFTR، عملکردهای دیگری از جمله انتقال نوکلئوتید و اسیدهای چرب نیز گزارش شده که به شکل قطعی تایید نشده‌اند.

پلی‌پپتید CFTR از ترجمه mRNA در شبکه آندوپلاسمیک (Endoplasmic Reticulum) حاصل می‌شود. رونوشت در نهایت یک زنجیره آمینواسیدی خطی را با دومین‌های هیدروفیل و هیدروفوب تشکیل می‌دهد. پلی‌پپتیدهای حاصل با همراهی چاپرون‌های موجود در درون و بیرون شبکه آندوپلاسمیک ساختار سوم خود را تکمیل کرده و در حین تاخوردگی دومین‌های گذرنده از غشاء در درون غشاء شبکه آندوپلاسمیک جایگیری می‌کند. در نهایت کانال CFTR بسته به این‌که در چه سلولی بیان می‌شود به سرنوشت‌های متفاوتی دچار می‌شود. CFTR در سلول‌های وحشی می‌تواند در صورت



شکل ۲: ارتباط عملکردی CFTR با دیگر کانال‌ها[۲۸]

نامناسب بودن کنفورماسیون پروتیین با انتخاب مسیر پروتئازوم، یوبی کوییتینه (Ubiquitination) شده و تجزیه شود و یا اینکه با جوانه زدن از غشای شبکه آندوپلاسمی و پیوستن به دستگاه گلژی، به غشا بپیوندد.[۲۹و۳۰] میزان انتقال کافی آنیون کلر در سطح غشاء سلول به ویژگی‌های سوراخ کانال و فسفریلاسیون و هیدرولیز کامل ATP بستگی دارد که همه‌ی این موارد به تاخوردگی صحیح پروتیین بستگی دارد.

برای عملکرد موثر کانال CFTR افزون‌بر تاخوردگی صحیح می‌بایست تعداد کانال‌ها و نرخ بازیافت آن در سطح سلول کنترل شده و کافی باشد. CFTR به شکل فعال از سطح سلول گردآوری شده و با CFTRهای جدید جایگزین می‌شود که به این فرآیند بازیافت CFTR گفته می‌شود.[۳۱]

از ژنوتیپ تا فنوتیپ: ژنوتیپ‌های مختلف ایجاد کننده CF با توجه به فنوتیپی که از خود بروز می‌دهند به شش کلاس تقسیم‌بندی شده‌اند.[۳۲] این دسته‌بندی‌ها برای بررسی ارتباطات و شدت اثر بیماری در ریه، پانکراس و غدد عرقی و یافتن درمان‌های موثرتر بسیار مفید می‌باشد. ممکن است بعضی از ژنوتیپ‌ها از جمله F508del در بیش از یک گروه تقسیم‌بندی شوند ولی اغلب جهش‌ها در یک گروه طبقه‌بندی می‌شوند.[۳۳و۳۴] در ادامه به بررسی ژنوتیپ و اثرات فنوتیپی هر دسته می‌پردازیم.

ژنوتیپ‌های مربوط به کلاس I با تاثیر در فرآیند رونویسی در سنتز CFTR تداخل ایجاد می‌کند. محل اثر این کلاس ژنوتیپ‌ها در درون هسته می‌باشد. این کلاس اکثر اوقات به دلیل ایجاد یک کدون پایان نابه‌جا در اثر تغییر قالب یا تبدیل یک کدون به کدون Nonsense ایجاد می‌شود. بعضی از ژنوتیپ‌های این دسته مثل G542X، mRNA را در فرآیند Nonsense-mediated mRNA Decay تجزیه می‌کنند.[۳۵]

ژنوتیپ‌های کلاس II بر روی پردازش CFTR اثر می‌گذارد.[۳۶] مثال معروف این گروه ژنوتیپ F508del می‌باشد که در اثر حذف ریشه فنیل آلانین در آمینواسید ۵۰۸ام واقع در ناحیه اتصال ATP بروز می‌کند.[۳۷] CFTR دارای فولدینگ نامناسب به‌وسیله چاپرون‌ها شناسایی و به مسیرهای تجزیه پروتیین هدایت می‌شوند.[۳۸] پژوهش‌ها نشان داده است در صورت کاهش دمای محیط از ۳۷ °C به ۲۱ °C پروتیین CFTR فولد صحیحی را به خود می‌گیرد.[۳۹] کانال دارای

Downloaded from tumj.tums.ac.ir at 8:27 IRST on Sunday December 6th 2020

نقص F508del دارای عملکرد مناسبی در انتقال یون کلر می‌باشد، ولی برخلاف CFTR سالم به سرعت از غشاء حذف می‌شود.[۴۰]

ژنوتیپ‌های کلاس III تنظیم عملکرد این پروتیین را تحت تاثیر قرار می‌دهد. همانطور که پیش‌تر اشاره شد اتصال ATP به Nucleotide binding domain (NBD) برای فعالیت CFTR مورد نیاز می‌باشد. ژنوتیپ‌هایی که اتصال ATP را به NBD تحت تاثیر قرار می‌دهند، عملکرد پروتیین را با چالش مواجه می‌کنند.[۴۱] برای مثال در ژنوتیپ G551D که متعلق به کلاس III می‌باشد، گلایسین در کدون ۵۵۱ با آسپارتیک‌اسید جایگزین شده است. در G551D، پروتیین سالم در غشای سلول شکل می‌گیرد، ولی سلول قادر به فعال کردن آن نیست.[۴۲]

کلاس IV ویژگی‌های مربوط به هدایت کلرید از CFTR را تحت تاثیر قرار داده و گاهی اوقات بر روی قدرت انتخابی و اختصاصیت سوراخ کانال تاثیر می‌گذارد.[۴۳و۴۴] غالب تغییرات در ژنوتیپ‌های کلاس IV در دومین‌های گذرنده از غشا اتفاق می‌افتد. بسته به نوع ژنوتیپ، فنوتیپ می‌تواند سبب توقف کامل جریان یون‌ها و یا کاهش فعالیت کانال شود.

بیماران حامل ژنوتیپ‌های کلاس V درگیر انواع خفیف‌تری از CF هستند. در این کلاس به‌دلیل جهش در ناحیه برش، برش اینترون‌ها و اگزون‌ها به شکل صحیحی انجام نمی‌شود و در نتیجه میزان پروتیین‌های سالم بر سطح سلول کاهش می‌یابد. مثال بارز این کلاس جهش ۳۸۴۹+۱۰kb C >T می‌باشد. این جهش که در اینترون ۲۲ اتفاق می‌افتد، در فاصله ۱۰ کیلوبازی از نزدیک‌ترین جایگاه برش اگزون ۲۲ قرار دارد و در نهایت سبب برش ناصحیح و تولید پروتیین غیرعملکردی می‌شود.[۴۵] در مواردی امکان دارد تعداد کمی از رونوشت‌ها صحیح برش خورده و پروتیین کامل و دارای عملکرد مناسب را بسازد. به‌همین دلیل افراد حامل ژنوتیپ‌های این گروه فنوتیپ خفیف‌تری را نسبت به بقیه بروز می‌دهند. همانطور که پیش‌تر نیز اشاره شد، CFTR عملکرد دیگر کانال‌های یونی مثل ENaC و ORCC را تنظیم می‌کند.[۴۶] مثلا جهش‌هایی که NBD را تحت تاثیر قرار می‌دهند، بر روی عملکرد دیگر کانال‌های یونی تنظیم شونده به‌وسیله‌ی CFTR نیز اثر می‌گذارند.[۴۷]

ژنوتیپ‌های دیگری نیز وجود دارد که در هیچکدام از کلاس‌های موجود قرار نمی‌گیرند و تحت عنوان کلاس‌های VIB و کلاس VIA دسته‌بندی می‌شوند. از جمله این ژنوتیپ‌ها می‌توان به تغییر در C ترمینال و N ترمینال پروتیین اشاره کرد که بر روی نقل و انتقالات یونی، قرارگیری و پایداری CFTR در غشاء تاثیرگذار می‌باشد.[۴۸] تغییرات در ENaC نیز می‌تواند سبب سیستیک فیبروزیز غیرعادی (Atypical Cystic Fibrosis) شود. علیرغم اینکه در این دسته، ژن ENaC تحت تاثیر قرار گرفته اما به دلیل همکاری تنگاتنگ با کانال CFTR علایم مشابهی را با بیماری سیستیک فیبروزیز بروز می‌دهد.[۴۹]

بیش از ۲۰۰۰ ژنوتیپ مختلف از ژن CFTR در سایت (http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr) گزارش شده است. از این تعداد حدود ۳۰۰ ژنوتیپ منجر به نقص در روند ساخت و شکل‌گیری نهایی پروتیین CFTR و بروز بیماری سیستیک فیبروزیز می‌شود. همانطور که اشاره شد F508del شایع‌ترین جهش CFTR بوده که حدود ۷۰٪ الل‌های موجود در اروپای شمالی را به خود اختصاص داده است. البته این جهش در مناطق مختلف قاره اروپا شیوع متفاوتی دارد، چنانکه میزان آن در جنوب اروپا ۵۰٪ و در دانمارک به ۸۸٪ می‌رسد. در قاره‌های آفریقا و آسیا جهش F508del شیوع بسیار پایین‌تری نسبت به اروپا دارد. دومین جهش شایع CFTR، در اقوام آفریقایی-آمریکایی و با ژنوتیپ 3120+1GA مشاهده می‌شود. این جهش از شایع‌ترین جهش‌ها در آفریقا می‌باشد. انواع دیگری از جهش‌های حذفی نیز در جمعیت‌های آسیایی دیده شده که در جمعیت‌های اروپایی و آفریقایی یافت نمی‌شود.[۵۰]

پاتوفیزیولوژی بیماری سیستیک فیبروزیز: در حالت سالم، CFTR جذب سدیم را از طریق کانال ENaC کنترل کرده و کاهش می‌دهد.[۵۱و۵۲] اما در بیماران مبتلا به CF کاهش انتقال کلر به خارج از سلول با جذب بیش از اندازه سدیم توسط سلول‌ها همراه می‌باشد که به دنبال این پدیده آب نیز به سلول بازجذب شده و سطوح راه‌های اپی‌تلیالی دچار کم آبی و یا انسداد می‌شوند. دیگر اعضا درگیر در بیماری مثل اندام‌های گوارشی، کبد و پانکراس نیز با مشکلات مشابهی درگیر هستند. CFTR در اندام‌های دیگری مثل قلب و کلیه نیز بیان می‌شود ولی باعث بیماری در این اندام‌ها نمی‌شود. عدم بروز بیماری CF در قلب و کلیه به دلیل بیان بالای انواع دیگر کانال‌های کلر در این اندام‌ها می‌باشد که نقص CFTR را جبران می‌کند.[۵۳و۵۴] در ادامه به بررسی جداگانه علایم و اندام‌های درگیر در این بیماری می‌پردازیم.

Downloaded from tumj.tums.ac.ir at 8:27 IRST on Sunday December 6th 2020

ریه: آمار نشان می‌دهد حدود ۸۰٪ مرگ‌ومیر در این بیماران به علت درگیری‌های ریوی که عامل اصلی آن کم آبی سطوح راه‌های هوایی می‌باشد صورت می‌گیرد.[۵۵] مایع سطوح راه‌های هوایی (Airway surface liquid, ASL) سطوح راه‌های هوایی فوقانی و تحتانی را پوشانده است. از علایم شایع و با اهمیت در بیماری CF، کم‌آبی سطوح راه‌های هوایی، افزایش غلظت و اختلال در عملکرد سطوح مژکی–مخاطی که وظیفه پاکیزه کردن سطوح راه‌های هوایی را بر عهده دارند، می‌باشد. در بیماری CF ارتفاع ASL کاهش پیدا کرده و در نتیجه مژک‌ها به شکل نامناسبی موکوس را به سمت راه‌های هوایی بالایی هدایت می‌کنند. تاثیر دیگر CFTR معیوب ترشح غیرطبیعی موکوس از غدد اپی‌تلیالی می‌باشد. افزایش غلظت موکوس‌ها، به مرور سبب کلونیزه شدن باکتری‌ها و التهاب سطوح راه‌های هوایی می‌شود. علت اصلی عفونت در راه‌های هوایی، نقص CFTR به خصوص در نواحی Lipid raft می‌باشد.[۵۶]

نوزادان مبتلا به CF با ریه سالم به دنیا می‌آیند و به مرور علایم ریوی را بروز می‌دهند. علایم اولیه ریوی در نوزادان مبتلا به CF انسداد راه‌های هوایی کوچک به‌وسیله‌ی ترشحات مخاطی غیرطبیعی می‌باشد. التهاب راه‌های هوایی (برونشیولیت) ثانویه به همراه انسداد راه‌های هوایی سبب ایجاد برونشکتازی (گشادی راه‌های هوایی) می‌شود. راه‌های هوایی در پی برونشکتازی، به دلیل ترشح بیشتر موکوس، دچار عفونت‌های مزمن می‌شوند. در طی عفونت، راه‌های هوایی تبدیل به مخزنی برای ترشحات Mucopurulent عفونتی می‌شوند. راه‌های هوایی در ابتدا به‌وسیله *Staphylococcus areus* و *Haemophilus influenzae* آلوده شده و سپس عامل پاتوژنیک *Pseudomonas aeruginosa* سبب عفونت می‌شود. عامل پاتوژن *S.aureus* و *H.influenzae* به شکل معمول در ناحیه‌ی حلقی بیماران مبتلا به CF رشد می‌کنند.[۵۷] اگرچه این دو عامل باکتریایی به شکل جدی سبب بیماری‌زایی نمی‌شود، ولی تیتر آنتی‌بادی در پاسخ به آن‌ها افزایش می‌یابد. *P.aeruginosa* پاتوژن دیگری است که پس از تولد، امکان بروز و تکثیر آن در زمان‌های مختلف وجود دارد. این عامل پاتوژنیک، با ایجاد هاله‌ی موکوییدی در اطراف خود، در برابر عوامل آنتی‌باکتریالی مثل آنتی بیوتیک‌ها مقاومت می‌کند. همانطور که شواهد نشان می‌دهند ریه از یک جمعیت میکروبی پیچیده تشکیل شده که غالب آن‌ها در محیط آزمایشگاه قابل کشت نیستند. پیچیدگی جمعیت‌های میکروبی با افزایش سن بیماران CF کاهش پیدا می‌کند.[۵۸] به‌طورکلی عفونت تنفسی پیش رونده است و باید توسط پزشکان معالج به صورت مداوم بررسی شود، چرا که پس از هر بار عفونت، عملکرد و ظرفیت ریه در تبادل اکسیژن کاهش می‌یابد (Acute Exacerbation) و التهاب به‌وجود آمده در پی عفونت، شرایط سطوح اپی‌تلیالی را بدتر می‌کند.[۵۹] نوتروفیل‌های موجود در سطوح اپی‌تلیالی در پاسخ به ترشح IL-8 در مخاط نفوذ کرده و با عوامل میکروبی مبارزه می‌کنند. پس از مدتی نوتروفیل‌ها مرده و با آزادسازی محتوای DNA خود، سبب ویسکوز شدن موکوس راه‌های هوایی می‌شود.

در کنار روش‌های عکسبرداری CT scan و رادیوگرافی، اسپیرومتری بهترین روش برای سنجش میزان عملکرد ریه در این بیماران می‌باشد.[۶۰و۶۱] تست اسپیرومتری در مراحل اولیه بیماری، انسداد و در مراحل پیشرفته‌تر کاهش میزان حجم هوای خروجی با فشار زیاد در ثانیه اول (Forced Expiratory Volume in 1 second, FEV1) را نشان می‌دهد. حجم هوای باقیمانده (Residual volume) در ریه به دلیل از بین رفتن ساختار ریه و گیر افتادن هوا در ساختارهای تخریب شده افزایش می‌یابد. با بهبود ریه شاخص‌هایی مثل FEV1 افزایش یافته و Residual volume کاهش می‌یابد.

در بیماران CF مسیرهای بالایی هوایی مثل سینوس‌ها نیز دچار درگیری می‌شود. پانسینوزیت مزمن یکی از علایم رایجی است که در حدود ۹۹٪ بیماران مشاهده می‌شود. این پدیده در اثر افزایش تعداد غدد موکوسی (Mucous Gland Hyperplasia)، انتقال نامناسب کلر توسط سلول‌های اپی‌تلیالی سینوس‌ها و تکثیر باکتری‌ها به وجود می‌آید. سینوس‌های عفونی همانند مخزنی از عوامل پاتوژن محتوای خود را به راه‌های هوایی پایین‌تر منتقل می‌کنند. درگیری سینوس‌ها در ۴۰٪ موارد با پولیپ بینی (Nasal polyposis) همراه می‌باشد.[۲۸]

دستگاه گوارشی: بیماری‌های گوارشی در دوران جنینی و از پانکراس آغاز می‌شود. در پانکراس به دلیل عملکرد معیوب CFTR ترشحات برون‌ریز بی‌کیفیت تولید می‌شود که سبب بسته شدن لوله‌های پانکراسی می‌شود. ترشح نامناسب آنزیم‌های پانکراسی منجر به عدم جذب چربی‌ها، پروتیین‌ها و کربوهیدرات‌ها پس از تولد می‌شود. در حدود ۸۵٪ بیماران عملکرد پانکراس به کلی از بین می‌رود. غالبا بیماران دارای فعالیت محدود پانکراسی، دچار التهاب پانکراس می‌شوند. علایم کلینیکی التهاب پانکراس در بیماران CF با

Downloaded from tumj.tums.ac.ir at 8:27 IRST on Sunday December 6th 2020

التهاب پانکراس معمولی متفاوت می‌باشد. مطالعات ارتباط التهاب‌های پانکراسی Idiopathic (باعلت ناشناخته) با CFTR را اثبات کرده است.[۶۲]

ترشح نامناسب آنزیم‌های پروتئولایتیک و ترشح موکوپروتیین‌های غیرطبیعی از سلول‌های گابلت منجر به انسداد روده کوچک و مدفوع چرب می‌شود. حدود ۱۵٪ از نوزادان مبتلا به CF با انسداد روده‌ای یا Meconium ileus به‌دنیا می‌آیند. در صورتی‌که انسداد ادامه پیدا کند، می‌تواند به سندرم انسداد مکونیوم (Meconium obstruction syndrome) منجر شود. در افراد مسن‌تر سندرم انسداد روده تحتانی (DIOS) در اثر ترشح نامناسب موکوس و کاهش زمان عبور مواد در روده، پدید می‌آید.[۲۸]

بیماری‌های کبدی می‌توانند در بیماران مبتلا به CF در نتیجه‌ی انسداد مجرای صفراوی و التهاب ایجاد شود. در حالت سالم، CFTR بر سطح Apical غشای سلولی قرار دارد و با کنترل غلظت، به حرکت طبیعی صفرا در مجاری صفراوی کمک می‌کند. در نتیجه‌ی نقص در کانال CFTR و انسداد مجاری صفراوی، ٪۲۰-۱۰ از نوزادان یک ساله و ٪۸۰ از بزرگسالان دچار سیروز صفراوی می‌شوند.[۶۳] این بیماران به دلایلی که بیان شد، معمولا وزن‌گیری مناسبی ندارند و چربی‌های زیرپوستی و بافت‌های ماهیچه‌ای آن‌ها تحلیل رفته و کالری روزانه آن‌ها تامین نمی‌شود.

نازایی: لوله‌های تولید مثلی مردان به نقص در عملکرد CFTR بسیار حساس می‌باشد به‌طوری‌که در افراد حامل یک ژن معیوب CFTR نیز امکان نازایی وجود دارد. Azoospermia یا بی‌نطفگی در بیماران CF نتیجه‌ی انسداد یا عدم شکل‌گیری مجرای Vas Deferens در دوران جنینی می‌باشد که به آن Congenital bilateral absence of the vas deferens (CBAVD) گفته می‌شود. حدود ۹۸٪ مردان مبتلا به CF به دلیل این پدیده نازا می‌شوند.[۶۴] نازایی در حدود ۲۰٪ از زنان مبتلا به CF به دلیل ترشحات غلیظ رحمی و سوء تغذیه مشاهده می‌شود.[۶۵]

غدد عرق: در سال ۱۹۵۳، Paul A. di Sant'Agnese به غیرطبیعی بودن ترکیب الکترولیت عرق در بیماران مبتلا به سیستیک فیبروزیز پی برد که در دهه‌های بعد بر مبنای همین پژوهش، روش تشخیص سیستیک فیبروزیز براساس تست عرق بنا نهاده شد.[۶۶] در حالت طبیعی بر سطح پوست کانال‌های ENaC و CFTR، به‌صورت مستمر یون‌های کلر و سدیم را جذب کرده و به‌دنبال آن سبب باز جذب آب می‌شوند. نقص در CFTR باعث اختلال در باز جذب یون‌های سدیم و کلر و دفع آب می‌شود. عرق بیماران مبتلا به CF، در مقایسه با غلظت نمک پلاسما ایزوتونیک بوده و پوست نوزادان CF به دلیل باز جذب نامناسب نمک، شور می‌باشد. ورزش سنگین در هوای گرم و مرطوب در این بیماران می‌تواند منجر به افزایش دفع نمک و کم‌آبی شدید شود. برای سال‌ها استاندارد طلایی (Gold standard) برای تشخیص بیماری سیستیک فیبروزیز سنجش میزان کلرید عرق، با گردآوری عرق از پوست افراد به‌وسیله Pilocarpine Iontophoresis بوده است.[۶۷] روش‌های جدیدتری مثل سنجش تفاوت پتانسیل سلول‌های بینی (Nasal potential differentiation) می‌تواند با دقت بیشتری نسبت به تست عرق بیماری را تشخیص دهد.[۶۸]

درمان سیستیک فیبروزیز: در طی دهه‌های اخیر پیشرفت‌های قابل توجهی در افزایش میزان طول عمر اتفاق افتاده است. برای مدت‌ها این بیماران تنها با درمان و کنترل تبعات نقص در CFTR مثل عفونت‌های ریوی، نقص در پاکسازی سطوح راه‌های هوایی و سوء تغذیه به زندگی خود ادامه داده‌اند. در درمان‌هایی که در چند سال اخیر طراحی شده است، غالبا ژن یا پروتیین CFTR را به‌طور مستقیم مورد هدف و درمان قرار می‌دهند. از این نوع درمان‌ها می‌توان به داروهای تعدیل کننده پروتیین CFTR و ژن‌تراپی برای تصحیح مستقیم CFTR اشاره کرد. حال به بررسی اصول و تازه‌های حوزه‌های مختلف درمان این بیماران می‌پردازیم.

درمان بر پایه‌ی کنترل علایم بیماری: درمان بر پایه‌ی کنترل علایم بیماری قدیمی‌ترین و رایج‌ترین روشی است که تنها به کنترل بیماری پرداخته و بیمار باید در تمام طول عمر تحت مراقبت‌های پزشک باشد. با اینکه این روش درمانی ساده‌تر از بقیه روش‌ها به نظر می‌رسد ولی توانسته به شکل کاملا موثری امید به زندگی این بیماران را از چند سالگی به میانگین ۵۰ سالگی در کشورهای پیشرفته جهان مثل کانادا برساند. این بیماری به دلیل درگیر کردن اندام‌ها و بافت‌های مختلف بدن باید تحت مراقبت یک تیم پزشکی با تخصص‌های مختلف مثل ریه، گوارش، فیزیوتراپی، تغذیه، غدد، روان‌شناس و روان‌پزشک قرار بگیرند. به‌دلیل اینکه علت اصلی مرگ‌ومیر در بیماران مشکلات ریوی می‌باشد به شکل ویژه‌ای به راه‌کارهای مراقبتی در این اندام می‌پردازیم. در این بیماران سه عامل

Downloaded from tumj.tums.ac.ir at 8:27 IRST on Sunday December 6th 2020

اصلی در تخریب ریه نقش دارند که عبارتند از: عفونت‌های مزمن، التهاب و انسداد راه‌های هوایی. این سه عامل در یک چرخه‌ی معیوب قرار گرفته و هر عامل، عامل دیگر را تشدید می‌کند. بنابراین سعی می‌شود به گونه‌ای هر یک از عوامل بیان شده را تحت کنترل در آورده و از پیشرفت بیماری جلوگیری کند. برای مبارزه با عفونت آنتی‌بیوتیک‌های متناسب با نوع عفونت براساس نتایج کشت خلط تجویز می‌شود و یا در صورت التهاب از داروهای ضدالتهاب مثل ایبوپروفن استفاده می‌شود. راه‌کار اصلی برای جلوگیری از انسداد راه‌های هوایی رقیق کردن خلط به‌وسیله استنشاق محلول نمک هایپرتونیک (۵ یا ۷٪) و خارج کردن آن به‌وسیله روش‌های فیزیوتراپی می‌باشد. همانطور که اشاره شد یکی دیگر از عوامل غلیظ شدن موکوس راه‌های هوایی تجمع DNA آزاد شده از نوتروفیل‌های مرده در مخاط می‌باشد. معمولا برای مقابله با این پدیده نیز از DNaseهای مخصوص (Dornase alfa) استفاده می‌کنند. طی این فرآیند راه‌های هوایی پاکیزه مانده و میزان تخریب ریه کاهش می‌یابد.[۲۴]

درمان‌های مولکولی: در چند سال اخیر شرکت ورتکس Vertex Pharmaceuticals, Massachusetts, United States داروهایی را با عنوان کلی تعدیل کننده CFTR (Modulator) معرفی کرده، که مورد تایید سازمان غذا و دارو آمریکا FDA قرار گرفته است. این دسته از داروها براساس ژنوتیپ و کلاس ژنوتیپ بیماران تجویز می‌شود. همانطور که از اسم این داروها مشخص است، وظیفه تصحیح (Correction) یا تقویت (Potentiation) عملکرد کانال‌های CFTR را برعهده دارند. از جمله تصحیح کننده‌ها می‌توان به Lumacaftor و از تقویت‌کننده‌ها به Ivacaftor اشاره کرد.[۲۴] به‌دلیل اینکه ژنوتیپ F508del در حداقل ۷۰٪ بیماران مبتلا به CF یافت می‌شود، مطالعات زیادی برای تصحیح فولدینگ و بهبود عملکرد آن انجام شده است. ترکیب دو دارو Lumacaftor و Ivacaftor با نام تجاری Orkambi برای تصحیح عملکرد پروتیین‌های دارای جهش F508del تحت کارآزمایی بالینی قرار گرفت که در نهایت سبب بهبود عملکرد ریه و افزایش Body mass index در بیماران شد.[۶۹و۷۰] در سال ۲۰۱۹ داروی ترکیبی دیگری با نام تجاری Trikafta معرفی شد که سبب بهبود علایم در بیماران حامل F508del شد.[۷۱] همچنین مطالعات اخیر نشان داده است که داروی Ivacaftor تا حد مطلوبی عملکرد پروتیین متعلق به کلاس III را بهبود می‌بخشد.[۷۲و۷۳] علیرغم موثر بودن این دسته از داروها در کنترل بیماری، قیمت بالای آن‌ها سبب استفاده محدود بیماران شده است.

یکی دیگر از استراتژی‌های درمانی، تقویت انواع دیگر کانال‌های کلر برای جبران نقص عملکردی CFTR می‌باشد (Bypass strategy). کانال کلر فعال شده به‌وسیله کلسیم (CaCC) و Clc2 از انواع دیگر کانال‌های کلر می‌باشند که در مطالعات مختلف به‌عنوان هدف دارویی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. این روش درمانی تاکنون نتایج چشمگیری نداشته است.[۷۴]

سلول درمانی: اخیرا استفاده از سلول‌های بنیادی در درمان و کنترل بیماری مورد توجه قرار گرفته است. سلول‌های بنیادی به خصوص سلول‌های بنیادی مزانشیمی با ترشح مولکول‌های فعال زیستی می‌توانند جمعیت‌های میکروبی و عفونی را کنترل کنند.[۷۵] در بعضی موارد به‌دلیل پیشرفت بیماری و از بین رفتن بافت‌های درگیر در بیماری، مهندسی بافت به‌عنوان راه‌کار درمانی مناسبی برای جایگزین کردن بافت آسیب دیده با بافت ساخته شده در آزمایشگاه مطرح می‌شود.[۷۶]

ژن درمانی: ژن‌درمانی از جمله روش‌هایی است که به شکل ریشه‌ای عامل اصلی ایجاد کننده این بیماری یعنی ژن CFTR را هدف گرفته و به تصحیح آن می‌پردازد. روش‌های مختلفی برای ژن‌تراپی ژن CFTR امتحان شده است که از آن جمله می‌توان به Transcription Activator Like Effector Nuclease (TALEN)، Zinc Finger Protein (ZFN) و CRISPR اشاره کرد.[۷۷-۷۹]

در تمام این روش‌ها با استفاده از سیستم‌های متنوعی، ژن CFTR مورد هدف قرار گرفته و برش می‌خورد. سپس با فرستادن نسخه صحیح CFTR به درون سلول با نسخه معیوب پیشین به روش نوترکیبی هومولوگ Homologous recombination جایگزین شده و در نهایت CFTR سالم ساخته می‌شود.

به‌تازگی در انگلیس یک کارآزمایی بالینی بر روی بیماران سیستیک فیبروزیز انجام شد که در آن با قرار دادن نسخه صحیح ژن CFTR در یک سازه پلاسمیدی و فرستادن آن با یک حامل لیپوزومی به ریه بیماران، ژن سالم با ژن معیوب به روش نوترکیبی جایگزین می شد. نتایج این کارآزمایی کاهش نسبی سرعت تخریب ریه را نشان داد.[۸۰]

Downloaded from tumj.tums.ac.ir at 8:27 IRST on Sunday December 6th 2020

بخش اول این مقاله به بررسی ژن CFTR و نحوه پردازش mRNA این ژن پرداخته شد. با توجه به پژوهش‌های فراوان در رابطه با ساختار و توالی ژن CFTR هنوز سوالات زیادی در رابطه با توالی‌های تنظیمی و نحوه پردازش این ژن در سلول‌های مختلف وجود دارد.

فنوتیپ‌های مختلف در افراد با ژنوتیپ‌های یکسان، دانشمندان را برای یافتن Modifier geneهای جدیدتر به تکاپو انداخته است. در بخش دوم، ساختار و توپولوژی پروتیین CFTR مورد بحث قرار گرفت. فهم ساختار و توپولوژی این کانال می‌تواند در طراحی داروهای جدید با هدف تداخل و تصحیح ساختار سوم معیوب پروتیین مفید باشد. پراکندگی و عملکرد سلولی این پروتیین در بافت‌های مختلف بدن متفاوت می‌باشد به‌همین دلیل بروز بیمـاری در اندام‌های مختلف بدن متفاوت می‌باشد. عملکرد ناقص پروتیین CFTR در نهایت باعث سبب درگیری وسیع اندام‌های بدن به خصوص "ریه" می‌شود که به‌طور تفصیلی به بررسی این بیماری در اندام‌های مختلف بدن پرداختیم.

تاکنون بیماری سیستیک فیبروزیز تحت پژوهش‌های فراوان محققان قرار گرفته است و براساس آن درک ما نسبت به این بیماری تا حد خوبی افزایش یافته است. اما پیچیدگی بالای این بیماری سبب شده که تا به‌حال راه‌حلی برای درمان قطعی این بیماری ارایه نشده است. بررسی سیستمیک و استفاده از تیم‌های متخصص در حوزه‌های مختلف علوم پایه و بالینی در یافتن درمان‌های قطعی بیماری الزامی است. امید است در آینده نه چندان دور و با بررسی همه‌جانبه بیماری سیستیک فیبروزیز بتوان به درمان دایمی و ارزان قیمت دست یافت.

References

1. Busch R. On the history of cystic fibrosis. *Acta Univ Carol Med (Praha)* 1990;36(1-4):13-5.
2. Andersen DH. Cystic fibrosis of the pancreas and its relation to celiac disease: a clinical and pathologic study. *Am J Dis Child* 1938;56(2):344-99.
3. Riordan JR, Rommens JM, Kerem B-s, Alon N, Rozmahel R, Grzelczak Z, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. *Science* 1989;245(4922):1066-73.
4. Kerem B-s, Rommens JM, Buchanan JA, Markiewicz D, Cox TK, Chakravarti A, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: genetic analysis. *Science* 1989;245(4922):1073-80.
5. Rommens JM, Iannuzzi MC, Kerem B-s, Drumm ML, Melmer G, Dean M, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: chromosome walking and jumping. *Science* 1989;245(4922):1059-65.
6. Yoshimura K, Nakamura H, Trapnell B, Dalemans W, Pavirani A, Lecocq J, et al. The cystic fibrosis gene has a" housekeeping"-type promoter and is expressed at low levels in cells of epithelial origin. *J Biol Chem* 1991;266(14):9140-4.
7. Martin C, Hamard C, Kanaan R, Boussaud V, Grenet D, Abély M, et al. Causes of death in French cystic fibrosis patients: the need for improvement in transplantation referral strategies! *J Cyst Fibros* 2016;15(2):204-12.
8. Aryan Z, Modaresi M. Paediatric orphan lung diseases in Asia. *Lancet Respir Med* 2016;4(3):174.
9. Aghamohammadi A, Keivanfar M, Navaei S, Shirzadi R, Masiha F, Allameh Z, et al. First cystic fibrosis patient registry annual data report-cystic fibrosis foundation of Iran. *Acta Med Iran* 2019;57(1):33-41.
10. Engelhardt JF, Yankaskas JR, Ernst SA, Yang Y, Marino CR, Boucher RC, et al. Submucosal glands are the predominant site of CFTR expression in the human bronchus. *Nat Genet* 1992;2(3):240-8.
11. Ellsworth RE, Jamison DC, Touchman JW, Chissoe SL, Maduro VVB, Bouffard GG, et al. Comparative genomic sequence analysis of the human and mouse cystic fibrosis transmembrane conductance regulator genes. *Proc Natl Acad Sci* 2000;97(3):1172-7.
12. Sonneville F, Ruffin M, Guillot L, Rousselet N, Le Rouzic P, Corvol H, et al. New insights about miRNAs in cystic fibrosis. *Am J Pathol* 2015;185(4):897-908.
13. Hefferon TW, Broackes-Carter FC, Harris A, Cutting GR. Atypical 5′ splice sites cause CFTR exon 9 to be vulnerable to skipping. *Am J Hum Genet* 2002;71(2):294-303.
14. Mak V, Jarvi KA, Zielenski J, Durie P, Tsui L-C. Higher proportion of intact exon 9 CFTR mRNA in nasal epithelium compared with vas deferens. *Hum Mol Genet* 1997;6(12):2099-107.
15. Cuppens H, Lin W, Jaspers M, Costes B, Teng H, Vankeerberghen A, et al. Polyvariant mutant cystic fibrosis transmembrane conductance regulator genes. The polymorphic (Tg) m locus explains the partial penetrance of the T5 polymorphism as a disease mutation. *J Clin Invest* 1998;101(2):487-96.
16. Buratti E, Dörk T, Zuccato E, Pagani F, Romano M, Baralle FE. Nuclear factor TDP-43 and SR proteins promote in vitro and in vivo CFTR exon 9 skipping. *EMBO J* 2001;20(7):1774-84.
17. Hefferon TW, Groman JD, Yurk CE, Cutting GR. A variable dinucleotide repeat in the CFTR gene contributes to phenotype diversity by forming RNA secondary structures that alter splicing. *Proc Natl Acad Sci* 2004;101(10):3504-9.
18. 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* 2004;74(1):176-9.
19. Yoshimura K, Chu C-S, Crystal R. Alternative splicing of intron 23 of the human cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene resulting in a novel exon and transcript coding for a shortened intracytoplasmic C terminus. *J Biol Chem* 1993;268(1):686-90.
20. Niksic M, Romano M, Buratti E, Pagani F, Baralle FE. Functional analysis of cis-acting elements regulating the alternative splicing of human CFTR exon 9. *Hum Mol Genet* 1999;8(13):2339-49.
21. Drumm ML, Weiler CA. Genetic influences on cystic fibrosis lung disease severity. *Front Pharmacol* 2013;4:40.
22. Blackman SM, Commander CW, Watson C, Arcara KM, Strug LJ, Stonebraker JR, et al. Genetic modifiers of cystic fibrosis–related diabetes. *Diabetes* 2013;62(10):3627-35.
23. Nilius B, Droogmans G. Amazing chloride channels: an overview. *Acta Physiol Scand* 2003;177(2):119-47.
24. Ratjen F, Bell SC, Rowe SM, Goss CH, Quittner AL, Bush A. Cystic fibrosis. *Nat Rev Dis Primers* 2015;1.

Downloaded from tumj.tums.ac.ir at 8:27 IRST on Sunday December 6th 2020

25. Anderson MP, Welsh MJ. Calcium and cAMP activate different chloride channels in the apical membrane of normal and cystic fibrosis epithelia. *Proc Natl Acad Sci* 1991;88(14):6003-7.
26. Cuppoletti J, Tewari KP, Sherry AM, Kupert EY, Malinowska DH. ClC-2 Cl- channels in human lung epithelia: activation by arachidonic acid, amidation, and acid-activated omeprazole. *Am J Physiol Cell Physiol* 2001;281(1):C46-C54.
27. MacDonald KD, McKenzie KR, Henderson MJ, Hawkins CE, Vij N, Zeitlin PL. Lubiprostone activates non-CFTR-dependent respiratory epithelial chloride secretion in cystic fibrosis mice. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2008;295(5):L933-L40.
28. Wilmott RW, Bush A, Deterding RR, Ratjen F, Sly P, Zar H, et al. Kendig's Disorders of the Respiratory Tract in Children E-Book: Elsevier Health Sciences; 2018.
29. Henderson MJ, Vij N, Zeitlin PL. Ubiquitin C-terminal hydrolase-L1 protects cystic fibrosis transmembrane conductance regulator from early stages of proteasomal degradation. *J Biolo Chem* 2010;285(15):11314-25.
30. Riordan JR. Assembly of functional CFTR chloride channels. *Annu Rev Physiol* 2005;67:701-18.
31. Okiyoneda T, Barrière H, Bagdány M, Rabeh WM, Du K, Höhfeld J, et al. Peripheral protein quality control removes unfolded CFTR from the plasma membrane. *Science* 2010;329(5993):805-10.
32. MacDonald KD, McKenzie KR, Zeitlin PL. Cystic fibrosis transmembrane regulator protein mutations. *Pediatr Drugs* 2007;9(1):1-10.
33. Green DM, McDougal KE, Blackman SM, Sosnay PR, Henderson LB, Naughton KM, et al. Mutations that permit residual CFTR function delay acquisition of multiple respiratory pathogens in CF patients. *Respir Res* 2010;11(1):1-9.
34. Veit G, Avramescu RG, Chiang AN, Houck SA, Cai Z, Peters KW, et al. From CFTR biology toward combinatorial pharmacotherapy: expanded classification of cystic fibrosis mutations. *Mol biol cell* 2016;27(3):424-33.
35. Frischmeyer PA, Dietz HC. Nonsense-mediated Mrna decay in health and disease. *Hum Mol Genet* 1999;8(10):1893-900.
36. Cheng SH, Gregory RJ, Marshall J, Paul S, Souza DW, White GA, et al. Defective intracellular transport and processing of CFTR is the molecular basis of most cystic fibrosis. *Cell* 1990;63(4):827-34.
37. Kartner N, Augustinas O, Jensen TJ, Naismith AL, Riordan JR. Mislocalization of ΔF508 CFTR in cystic fibrosis sweat gland. *Nat Genet* 1992;1(5):321-7.
38. Jensen TJ, Loo MA, Pind S, Williams DB, Goldberg AL, Riordan JR. Multiple proteolytic systems, including the proteasome, contribute to CFTR processing. *Cell* 1995;83(1):129-35.
39. Denning GM, Anderson MP, Amara JF, Marshall J, Smith AE, Welsh MJ. Processing of mutant cystic fibrosis transmembrane conductance regulator is temperature-sensitive. *nature* 1992;358(6389):761-4.
40. Lukacs GL, Chang X-B, Bear C, Kartner N, Mohamed A, Riordan JR, et al. The delta F508 mutation decreases the stability of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator in the plasma membrane. Determination of functional half-lives on transfected cells. *J Biol Chem* 1993;268(29):21592-8.
41. Anderson MP, Welsh MJ. Regulation by ATP and ADP of CFTR chloride channels that contain mutant nucleotide-binding domains. *Science* 1992;257(5077):1701-4.
42. Logan J, Hiestand D, Daram P, Huang Z, Muccio DD, Hartman J, et al. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator mutations that disrupt nucleotide binding. *J Clin Invest* 1994;94(1):228-36.
43. Sheppard DN, Rich DP, Ostedgaard LS, Gregory RJ, Smith AE, Welsh MJ. Mutations in CFTR associated with mild-disease-form Cl-channels with altered pore properties. *Nature* 1993;362(6416):160-4.
44. Tabcharani JA, Rommens JM, Hou Y-X, Chang X-B, Tsui L-C, Riordan JR, et al. Multi-ion pore behaviour in the CFTR chloride channel. *Nature* 1993;366(6450):79-82.
45. Highsmith Jr WE, Burch LH, Zhou Z, Olsen JC, Strong TV, Smith T, et al. Identification of a splice site mutation (2789+ 5 G> A) associated with small amounts of normal CFTRmRNA and mild cystic fibrosis. *Hum Mutat* 1997;9(4):332-8.
46. Schwiebert EM, Cid-Soto LP, Stafford D, Carter M, Blaisdell CJ, Zeitlin PL, et al. Analysis of ClC-2 channels as an alternative pathway for chloride conduction in cystic fibrosis airway cells. *Proc Natl Acad Sci* 1998;95(7):3879-84.
47. Ismailov II, Awayda MS, Jovov B, Berdiev BK, Fuller CM, Dedman JR, et al. Regulation of epithelial sodium channels by the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator. *J Biol Chem* 1996;271(9):4725-32.
48. Fu J, Ji HL, Naren AP, Kirk KL. A cluster of negative charges at the amino terminal tail of CFTR regulates ATP-dependent channel gating. *J physiology* 2001;536(2):459-70.
49. Azad AK, Rauh R, Vermeulen F, Jaspers M, Korbmacher J, Boissier B, et al. Mutations in the amiloride-sensitive epithelial sodium channel in patients with cystic fibrosis-like disease. *Hum Mutat* 2009;30(7):1093-103.
50. Bobadilla JL, Macek Jr M, Fine JP, Farrell PM. Cystic fibrosis: a worldwide analysis of CFTR mutations-correlation with incidence data and application to screening. *Hum mutat* 2002;19(6):575-606.
51. Bachhuber T, König J, Voelcker T, Mürle B, Schreiber R, Kunzelmann K. Cl-interference with the epithelial Na+ channel ENaC. *J Biol Chem* 2005;280(36):31587-94.
52. Hirsh AJ, Molino BF, Zhang J, Astakhova N, Geiss WB, Sargent BJ, et al. Design, synthesis, and structure- activity relationships of novel 2-substituted pyrazinoylguanidine epithelial sodium channel blockers: Drugs for cystic fibrosis and chronic bronchitis. *J med chem* 2006;49(14):4098-115.
53. Strong TV, Wilkinson DJ, Monsoura 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* 1993;2(3):225-30
54. Steinmeyer K, Schwappach B, Bens M, Vandewalle A, Jentsch TJ. Cloning and functional expression of rat CLC-5, a chloride channel related to kidney disease. *J Biol Chem* 1995;270(52):31172-7.
55. Boucher R. Evidence for airway surface dehydration as the initiating event in CF airway disease. *J Intern Med* 2007;261(1):5-16.
56. Zaas DW, Swan ZD, Brown BJ, Li G, Randell SH, Degan S, et al. Counteracting signaling activities in lipid rafts associated with the invasion of lung epithelial cells by Pseudomonas aeruginosa. *J Biol Chem* 2009;284(15):9955-64.
57. Döring G, Hoiby N, Group CS. Early intervention and prevention of lung disease in cystic fibrosis: a European consensus. *J Cyst Fibros* 2004;3(2):67-91.
58. Cribbs SK, Beck JM. Microbiome in the pathogenesis of cystic fibrosis and lung transplant-related disease. *Transl Res* 2017;179:84-96.
59. Vij N, Mazur S, Zeitlin PL. CFTR is a negative regulator of NFκB mediated innate immune response. *PloS one* 2009;4(2):e4664.
60. Nezamabadi K, Naseri Z, Moghaddam HA, Modarresi M, Pak N, Mahdizade M. Lung HRCT pattern classification for cystic fibrosis using convolutional neural network. *Signal Image Video Process* 2019;13(6):1225-32.
61. Naseri Z, Sherafat S, Moghaddam HA, Modaresi M, Pak N, Zamani F. Semi-automatic methods for airway and adjacent vessel measurement in bronchiectasis patterns in lung HRCT images of cystic fibrosis patients. *J Digit Imaging* 2018;31(5):727-37.
62. Cohn JA, Friedman KJ, Noone PG, Knowles MR, Silverman LM, Jowell PS. Relation between mutations of the cystic fibrosis gene and idiopathic pancreatitis. *N Engl J Med* 1998;339(10):653-8.
63. Oppenheimer EH, Esterly JR. Hepatic changes in young infants with cystic fibrosis: possible relation to focal biliary cirrhosis. *J Pediatr* 1975;86(5):683-9.
64. Kaplan E, Shwachman H, Perlmutter AD, Rule A, Khaw K-T, Holsclaw DS. Reproductive failure in males with cystic fibrosis. *N Engl J Med* 1968;279(2):65-9.

Downloaded from tumj.tums.ac.ir at 8:27 IRST on Sunday December 6th 2020

65. Gilljam M, Antoniou M, Shin J, Dupuis A, Corey M, Tullis DE. Pregnancy in cystic fibrosis: fetal and maternal outcome. *Chest* 2000;118(1):85-91.
66. di Sant'Agnese PA, Darling RC, Perera GA, Shea E. Abnormal electrolyte composition of sweat in cystic fibrosis of the pancreas: clinical significance and relationship to the disease. *Pediatrics* 1953;12(5):549-63.
67. Gibson LE, Cooke RE. A test for concentration of electrolytes in sweat in cystic fibrosis of the pancreas utilizing pilocarpine by iontophoresis. *Pediatrics* 1959;23(3):545-9.
68. Solomon GM, Konstan MW, Wilschanski M, Billings J, Sermet-Gaudelus I, Accurso F, et al. An international randomized multicenter comparison of nasal potential difference techniques. *Chest* 2010;138(4):919-28.
69. Van Goor F, Hadida S, Grootenhuis PD, Burton B, Cao D, Neuberger T, et al. Rescue of CF airway epithelial cell function in vitro by a CFTR potentiator, VX-770. *Proc Natl Acad Sci* 2009;106(44):18825-30.
70. Milla CE, Ratjen F, Marigowda G, Liu F, Waltz D, Rosenfeld M. Lumacaftor/ivacaftor in patients aged 6–11 years with cystic fibrosis and homozygous for F508del-CFTR. *Am J Respir Crit Care Med* 2017;195(7):912-20.
71. Taylor-Cousar JL, Mall MA, Ramsey BW, McKone EF, Tullis E, Marigowda G, et al. Clinical development of triple-combination CFTR modulators for cystic fibrosis patients with one or two F508del alleles. *ERJ Open Res* 2019;5(2):00082-2019.
72. Accurso FJ, Rowe SM, Clancy J, Boyle MP, Dunitz JM, Durie PR, et al. Effect of VX-770 in persons with cystic fibrosis and the G551D-CFTR mutation. *N Engl J Med* 2010;363(21):1991-2003.
73. Borowitz D, Lubarsky B, Wilschanski M, Munck A, Gelfond D, Bodewes F, et al. Nutritional status improved in cystic fibrosis patients with the G551D mutation after treatment with ivacaftor. *Dig Dis Sci* 2016;61(1):198-207.
74. Li H, Salomon JJ, Sheppard DN, Mall MA, Galietta LJ. Bypassing CFTR dysfunction in cystic fibrosis with alternative pathways for anion transport. *Curr Opin Pharmacol* 2017;34:91-7.
75. Sutton MT, Fletcher D, Ghosh SK, Weinberg A, van Heeckeren R, Kaur S, et al. Antimicrobial properties of mesenchymal stem cells: therapeutic potential for cystic fibrosis infection, and treatment. *Stem Cells Int* 2016;2016.
76. Murphy SV, Atala A. Cell therapy for cystic fibrosis. *J Tissue Eng Regen Med* 2015;9(3):210-23.
77. Xia E, Zhang Y, Cao H, Li J, Duan R, Hu J. TALEN-Mediated Gene Targeting for Cystic Fibrosis-Gene Therapy. *Genes* 2019;10(1):39.
78. Lee CM, Flynn R, Hollywood JA, Scallan MF, Harrison PT. Correction of the ΔF508 mutation in the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene by zinc-finger nuclease homology-directed repair. *Biores Open Access* 2012;1(3):99-108.
79. Schwank G, Koo B-K, Sasselli V, Dekkers JF, Heo I, Demircan T, et al. Functional repair of CFTR by CRISPR/Cas9 in intestinal stem cell organoids of cystic fibrosis patients. *Cell Stem Cell* 2013;13(6):653-8.
80. Alton EW, Armstrong DK, Ashby D, Bayfield KJ, Bilton D, Bloomfield EV, et al. Repeated nebulisation of non-viral CFTR gene therapy in patients with cystic fibrosis: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2b trial. *Lancet Respir Med* 2015;3(9):684-91.

Downloaded from tumj.tums.ac.ir at 8:27 IRST on Sunday December 6th 2020

TUMJ Tehran University Medical Journal, November 2020; Vol. 78, No. 8: 475-486 Review Article

Cystic fibrosis from genotype to phenotype: *review article*

Mohammad Sadra Modaresi B.Sc.[1]
Arta Amir Jamshidi Ph.D.[2*]
Mohammad Reza Modaresi M.D.[3]

1- Department of Biotechnology, College of Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran.
2- Advanced Systems Biology and Cancer Research Laboratory, School of Mathematics, Statistics and Computer Sciences, College of Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran.
3- Department of Lung and Children's Respiratory Diseases, Children's Medical Center, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

*Corresponding author: Advanced Systems Biology and Cancer Research Laboratory, School of Mathematics, Statistics and Computer Sciences, College of Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran.
Tel: +98-21-61112484
E-mail: arta.jamshidi@ut.ac.ir

Abstract

Received: 04 Apr. 2020 Revised: 11 Apr. 2020 Accepted: 22 Oct. 2020 Available online: 28 Oct. 2020

Cystic fibrosis (CF) is the most common autosomal recessive genetic disease, which is caused by defection in the Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR) gene. CFTR gene codes chloride channels to modulate the homeostasis of epithelial environments. Defective CFTR affects various organs such as the lungs, pancreas, intestine, liver and skin; however, lung impairment is the main reason for mortality in these patients. About 2000 mutations in this gene have been discovered, but nearly 150 mutations lead to serious symptoms. CFTR mutations are classified into six major classes based on phenotypic manifestations such as structural instability of channels, defective processing, malfunctioning chloride-ion transfers and decreased number of chloride channels in the cell membranes. These cause various symptoms such as respiratory infection, intestinal obstruction, pancreatic exocrine insufficiency and malabsorption. Significant improvements in diagnostic tools and methods such as newborn screening, chloride sweat test and gene sequencing have increased the incidence and the prevalence of CF. Enormous studies have also been done on CF recognition and treatment procedures, which have resulted in 30 years of growth in the life expectancy of the patients. Despite the recent achievements, due to the high complexity of this disease and the involvement of various organs, the available treatments are nonpermanent. In the past few years, new combinatorial drugs have been introduced which potentiate and correct CFTR and ameliorate the CF symptoms. Recently, novel genetic engineering methods like CRISPR/Cas9 and TALEN have been utilized to correct the mutated CFTR gene with high accuracy and eradicate the symptoms. Studying this disease at its distinct levels from subcellular to organs could help to find new treatments. Systematic research in finding common attributes between different states of the disease is very beneficial. Interdisciplinary research groups with various expertise in mathematics, biology and engineering could have a great impact on describing the full picture of the disease and development of new treatment strategies. The main part of this article provides a comprehensive overview of cystic fibrosis with emphasis on the key studies on genetics and their effects on cellular and physiological levels. In this work, conventional and new treatment methods have also been discussed.

Keywords: cystic fibrosis, cystic fibrosis transmembrane conductance regulator, genotype, phenotype, physiology, physiopathology, therapeutics.