

Terapii inovative în bolile genetice: Fibroza chistică

Elena-Silvia Shelby¹, Florina Mihaela Nedelea^{2,3}, Tanser Huseyinoglu², Relu Cocoș³,
Mihaela Bădina¹, Corina Sporea¹, Liliana Pădure^{1,4}, Andrada Mirea^{1,4}

¹Centrul Național Clinic de Recuperare Neuropsihomotorie pentru Copii „Dr. Nicolae Robănescu”,
București, România

²Departamentul de Genetică Medicală, Spitalul Clinic de Obstetrică și Ginecologie, „Filantropia”,
București, România”

³Catedra de Genetică, Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila”, București, România

⁴Facultatea de Moașe și Asistență Medicală, Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila”,
București, România

REZUMAT

Fibroza chistică, numită și mucoviscidoză, este cea mai frecventă boală pulmonară ereditară și este produsă de mutații în gena CFTR, ce codifică un canal anionic pentru clor și bicarbonat cu rol în reglarea metabolismului bicarbonatului și sării.

În momentul de față, aproximativ jumătate din totalul pacienților cu fibroză chistică pot beneficia de terapie personalizată cu ajutorul modulatorilor, substanțe care restaurează sau îmbunătățesc funcționalitatea și stabilitatea CFTR. Mai mult, la ora actuală se află în stadiul de studiu clinic și alte tipuri de terapii, ca de exemplu terapia genică utilizând sistemul CRISPR/CAS-9, oligonucleotide antisens modificate sau inserția genei sălbatice utilizând particule nanolipidice sau vectori virali. Acest articol își propune să treacă în revistă principalele tipuri de terapii aprobate sau aflate în stadiul de studiu clinic pentru tratamentul fibrozei chistice.

Cuvinte cheie: fibroză chistică, modulatori, terapie genică

INTRODUCERE

Fibroza chistică, numită și mucoviscidoză, este o boală genetică autozomal recesivă (1), cu o prevalență de 1 la 2.500 de nou-născuți și o frecvență a purtătorilor de 1:25 în populația caucaziană (2). Este cea mai frecventă boală pulmonară ereditară (3) și este produsă de mutații în gena CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator) sau ABCC7 (OMIM # 602421), situată în regiunea 7q31.2 (4), ce codifică un canal anionic pentru clor și bicarbonat (5) localizat la nivelul membranei apicale a celulelor epiteliale a mai multe organe exocrine (6). Rolul CFTR este reglarea metabolismului bicarbonatului și sării (6,7).

La ora actuală, sunt cunoscute peste 2.000 de mutații patogene în gena CFTR (6), aproximativ 70% dintre acestea constând în deleția unui aminoacid în poziția 508 a proteinei (mutația fiind numită F508del sau, folosind vechea denumire, ΔF508), ceea ce duce la împachetarea defectuoasă a proteinei, ulterior aceasta fiind distrusă (8).

Mutațiile patogene în gena CFTR duc la producerea de sudoare cu un conținut crescut de sare și de mucus vâscos, ce se acumulează la nivelul tractului gastrointestinal, cu afectarea funcției pancreatice (prin obstrucția ductului pancreatic ce duce la inabilitatea secreției enzimelor pancreatice și a hormonilor pancreatici, cu apariția diabetului zaharat) sau a sistemului respirator (acumularea de mucus vâscos du-

Corresponding author:

Elena-Silvia Shelby

E-mail: silviajdx@yahoo.com

Article History:

Received: 3 March 2021

Accepted: 9 March 2021

când la obstrucție și inflamație a tractului respirator, acest teren favorizând colonizarea bacteriană și degradarea pulmonară progresivă) (6,9). Feții cu fibroză chistică au retard de creștere intrauterină, iar la feții de sex masculin se constată absența congenitală bilaterală a vasului deferent (8). Vârsta medie de supraviețuire a pacienților cu fibroză chistică ce primesc îngrijiri medicale este, conform Registrului Fundației pentru Fibroză Chistică (The CF Foundation Patient Registry), de 47,7 ani (6,10). Principala cauză de mortalitate și morbiditate a acestor pacienți este afectarea pulmonară (8,11).

Purtătorii de mutații în gena CFTR au o rezistență naturală la toxina holerică și la febra tifoidă, *Salmonella typhi*, utilizând canalul CFTR pentru a intra în celulă. Acest fenomen ar putea explica frecvența crescută a purtătorilor în populația generală (8).

STRUCTURA PROTEINEI CFTR ȘI TIPURI DE MUTAȚII CE POT AFECTA GENA CFTR

Canalul CFTR este o glicoproteină din a cărei structură fac parte un motiv aminoterminal sub formă de lasou (12), mai multe unități transmembranare ce alcătuiesc două domenii MSD (membrane-spanning domains), și anume MSD1 și MSD2 (acestea formând pereții canalului, modificările lor conformaționale ducând la închiderea și deschiderea acestuia) (12,13), un domeniu R, a cărui fosforilare determină activitatea canalului CFTR (12-15), precum și două domenii NBD (nucleotide binding domain), și anume NBD1 și NBD2, ce hidrolizează ATP cu controlul închiderii și deschiderii canalului CFTR (12,13).

După ce este produsă, proteina CFTR este împachetată, glicozilată la nivelul domeniului MSD2 și transportată la suprafața celulei (6,16).

În funcție de efectul produs, mutațiile genei CFTR se împart în 6 clase (17), notate cu cifre romane de la 1 la 6. Astfel, mutațiile de clasă I, în care nu este creată nicio proteină funcțională CFTR (22% dintre cazuri), constau în mutații nonsens, anomalii ale situsurilor de matisare sau deleții. ARN mesager produs de genele cu aceste mutații este instabil și imediat degradat; un exemplu de mutații de clasă I sunt mutațiile G542X, W1282X sau R553X (6,16,17).

Transcripția genelor cu mutații de clasă II duce la sinteza unei proteine CFTR, însă apar erori de împachetare a acesteia, prin urmare, ea nu poate ajunge la suprafața celulară (88% dintre cazuri). Exemple de mutații de clasă II sunt mutațiile F508del, N1303K, I507del, R1066C (6,16,17).

Mutațiile de clasă III permit crearea unei proteine CFTR complete, iar aceasta ajunge la suprafața celulară, însă canalul nu se deschide deloc/nu se deschide

corect (6% dintre cazuri) – „gating mutations“; un exemplu de astfel de mutații sunt mutațiile G551D, G178R, G551S (6,16,17).

Și mutațiile de clasă IV permit crearea unei proteine CFTR, aceasta ajungând la suprafața celulară, însă canalul nu funcționează corect (6% dintre cazuri) iar cantitatea de clor transportat este insuficientă; un exemplu de astfel de mutații sunt mutațiile R334W, R347P, R1070W (6,17).

Mutațiile de clasă V duc, de asemenea, la crearea unei proteine CFTR complete, funcționale, ce ajunge la suprafața celulei, însă aceasta este produsă într-o cantitate insuficientă (5% dintre cazuri). Un exemplu de astfel de mutații sunt mutațiile 3849+10kbC->T, 3272-26A>G (6,16,17).

Mutațiile de clasă VI permit producția de proteină CFTR, aceasta fiind în locația corespunzătoare, însă proteina are o stabilitate redusă și este degradată rapid. Un exemplu de mutații de clasă VI sunt mutațiile 1811+1.6 kb A>G, 4326del și 4279insTC (6,17).

MODULATORII UTILIZAȚI PENTRU TRATAMENTUL FIBROZEI CHISTICE

În momentul de față, în funcție de tipul și poziția mutației în gena CFTR, aproximativ jumătate din totalul pacienților cu fibroză chistică pot beneficia de terapie personalizată (6,18) cu ajutorul modulatorilor, substanțe care restaurează sau îmbunătățesc funcționalitatea și stabilitatea CFTR (17). Pe baza efectului lor în modularea expresiei și funcției CFTR, modulatorii se împart în 5 clase, și anume: agenți read-through, potențiatori, corectori, stabilizatori și amplificatori (17). Agenții read-through promovează continuarea procesului de translație în ciuda întâlnirii unui codon-stop, cu producția unei proteine CFTR complete; potențiatorii au rolul de a restaura sau păstra conductibilitatea canalului CFTR, cu menținerea sa deschisă pentru a permite transportul clorului, în timp ce corectorii restaurează împachetarea și procesarea corectă, precum și transportul adecvat al CFTR către membrana plasmatică (17). Stabilizatorii au rol în ancorarea corespunzătoare a CFTR la nivelul plasmalemei, cu prevenirea degradării sale de către lizozomi, iar amplificatorii cresc expresia de ARN mesager pentru CFTR cu creșterea cantității de proteină produsă (17).

Astfel, în cazul mutațiilor de clasă I, ce duc la scăderea semnificativă a cantității de proteină CFTR produsă (6), pentru mutațiile nonsens ce duc la apariția de codoni stop prematuri și codificarea unei proteine trunchiate, sunt folosiți agenți read-through ce suprimă terminarea translației (împiedicând oprirea codificării odată ce este întâlnit codon-stop) împre-

ună cu inhibitori pentru calea nonsense-mediated decay (NMD), care are rolul în detectarea și degradarea ARN-mesager ce conține codoni stop prematuri (6,9). În acest sens, au fost utilizate cu succes aminoglicozidele (ca, de exemplu, gentamicina, amikacina și, în măsură mai mică, tobramicina), care, în urma legării la situsul A ribozomal, duc la încorporarea unui ARN de transfer alternativ, cu inserția consecutivă a unui aminoacid aleator în poziția codonului stop prematur și citirea de către ribozom (read-through) a codonului stop prematur și, în consecință, producția unei proteine CFTR complete și funcționale (9). Singurul dezavantaj al aminoglicozidelor constă în efectele adverse ototoxice și renale (11).

Un alt compus cu același mecanism de acțiune ca aminoglicozidele (read-through agent) este atalurenul, cu denumirea comercială Translarna (9), însă acesta nu a dovedit aceleași efecte benefice ca în distrofia musculară Duchenne, studiile asupra lui ca potențială terapie fiind din acest motiv întrerupte (11).

Pentru tratamentul mutațiilor de clasă I, s-a încercat, de asemenea, combinația ivacaftor (Kalydeco)/ataluren, însă, conform unui studiu efectuat în 2020 (19), nici aceasta nu s-a dovedit eficientă. Ivacaftor este un potențiator ce crește durata deschiderii canalului CFTR la nivelul plasmalemei (20,21), corectând astfel transportul ionilor de clor la acest nivel (24). Totuși, ivacaftor este utilizat la pacienții cu fibroză chistică ce au vârsta de peste 4 luni și prezintă una dintre cele 97 de mutații prezentate în lista din referința (22).

Pentru mutațiile de clasă II, ce constau în defecte de împachetare a proteinei, sunt folosiți corectori (medicamente ce stimulează împachetarea corectă a proteinei CFTR astfel încât aceasta să ajungă la suprafața celulei), fie singuri, fie în combinație cu alți modulatori (9,16,18,19).

Astfel, pentru cea mai comună mutație responsabilă de fibroza chistică, și anume F508del, a fost utilizată cu succes o combinație de corector cu potențiator (11). Combinația Lumacaftor/ivacaftor, cunoscută sub denumirea comercială Orkambi, a fost aprobată de FDA pentru pacienții cu vârstă de peste doi ani care au mutația F508del în stare homozigotă (aproximativ 44% dintre pacienții cu fibroză chistică) (23). Lumacaftor este un corector ce crește cantitatea de CFTR la nivelul plasmalemei (23). Orkambi crește semnificativ funcția pulmonară și scade numărul exacerbărilor pulmonare (23).

Tot pentru tratamentul mutațiilor bialelice F508del, de asemenea, la încă 154 de mutații – prezentate în lista din referința (24), este folosită, la persoanele cu vârsta de peste 6 ani, combinația tezacaftor/ivacaftor numită Symdeko. Aceasta îmbunătățește funcția pulmonară și are avantajul de a avea mai pu-

ține interacțiuni medicamentoase decât Orkambi (23,24).

Mai mult, tot pentru tratamentul pacienților cu mutație F508del, în octombrie 2019, FDA a aprobat medicamentul numit Trikafta, o triplă combinație formată din elexacaftor, ivacaftor și tezacaftor, terapia fiind produsă de Vertex Pharmaceuticals (25,26). Medicamentul se adresează persoanelor cu vârsta peste 12 ani care au mutația F508del în stare homozigotă sau heterozigotă, precum și persoanelor care au una dintre cele 117 mutații responsive la acest medicament, prezentate în lista din referința (27) (25,27).

S-a constatat că Trikafta îmbunătățește semnificativ funcția pulmonară și indicele de masă corporală, îmbunătățește nivelul clorului secretat în sudoare și scade numărul exacerbărilor pulmonare, având efecte adverse minore, ca eritem, creșterea nivelului transaminazelor și al bilirubinei, sau simptome pseudogripale – cefalee, rinoree, diaree sau rinită (25). Există, de asemenea, riscul de a dezvolta cataractă (25).

Elexacaftor este un corector de nouă generație a CFTR, în timp ce tezacaftor, aprobat de FDA în februarie 2018, este un corector de primă generație a structurii acestei proteine (21,28). Elexacaftor facilitează transportul proteinei către suprafața celulei cu creșterea expresiei proteinei la acest nivel (28), în timp ce tezacaftor îmbunătățește procesarea celulară a proteinei CFTR, modulând poziția sa la nivelul plasmalemei (29). Astfel, deși prin mecanisme de acțiune diferite (28), elexacaftor și tezacaftor acționează sinergic pentru a crește expresia CFTR la nivelul membranei celulare (20). Fiecare dintre acești corectori, luat separat, îmbunătățește funcția pulmonară, statusul nutrițional și calitatea vieții (28). S-a constatat că elexacaftor, tezacaftor și ivacaftor au efecte sinergice, combinația lor fiind mult mai puternică decât alte combinații corector-potențiator testate anterior pentru tratamentul fibrozei chistice (30).

Pentru mutațiile de clasă III (în care proteina ajunge la nivelul plasmalemei, însă există un defect de deschidere ce îi scade funcționalitatea) și IV (în care proteina ajunge la suprafața celulei, însă există un defect de conducere ce duce la o deschidere defectuasă și la scăderea funcționalității), sunt folosiți potențiatorii, medicamente ce susțin deschiderea canalului CFTR și creșterea, astfel, a transportului de clor (16,18,19).

Mai mult, se ia în considerare modularea altor canale de clor (SLC6A14, SLC6A9, ANO-1, TME-M16A) și sodiu (ENaC, SLC9A3), hidrogen și potasiu (ATP12A) ce ar putea restaura volumul lichidului de la suprafața tractului respirator, care la pacienții cu fibroză chistică este scăzut, împiedicând astfel îndepărtarea secrețiilor respiratorii (12).

BIBLIOGRAFIE

1. OMIM # 219700. Cystic fibrosis; CF. Available at: <https://www.omim.org/entry/219700>.
2. Genetics Home Reference. Cystic fibrosis. Available at: <https://ghr.nlm.nih.gov/condition/cystic-fibrosis#statistics>.
3. KD Wenstrom, ML Russo. Cystic fibrosis: carrier screening. Available at: <https://www.uptodate.com/contents/cystic-fibrosis-carrier-screening>.
4. Mall MA, Hartl D. CFTR: cystic fibrosis and beyond. *European Respiratory Journal*. 2014;44:1042-1054.
5. OMIM # 602421. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator; CFTR. Available at: <https://www.omim.org/entry/602421>.
6. Pranke I, Golec A, Hinzpeter A, Edelman A, et al. Emerging Therapeutic Approaches for Cystic Fibrosis. From to Personalized Medicine. *Front Pharmacol*. 2019;10:121.
7. Linsdell P. Functional architecture of the CFTR chloride channel. *Mol Membr Biol*. 2014 Feb;31(1):1-16.
8. The Embryo Project Encyclopedia. Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR) Gene. Available at: <https://embryo.asu.edu/pages/cystic-fibrosis-transmembrane-conductance-regulator-cftr-gene>.
9. Gambari R, Breveglieri G, Salvatori F, Finotti A, et al. Therapy for Cystic Fibrosis Caused by Nonsense Mutations. Cystic Fibrosis in the Light of New Research. 2015. Dennis Wat, IntechOpen. Available at: <https://www.intechopen.com/books/cystic-fibrosis-in-the-light-of-new-research/therapy-for-cystic-fibrosis-caused-by-nonsense-mutation>.
10. What Is the Life Expectancy for People with Cystic Fibrosis?. Available at: <https://www.healthline.com/health/cystic-fibrosis-life-expectancy#life-expectancy>.
11. Strug LJ, Stephenson AL, Panjwani N, Harris A. Recent advances in developing therapeutics for cystic fibrosis. *Hum Mol Genet*. 2018 Aug 1;27(R2):R173-R186.
12. Zhang Z, Liu F, Chen J. Molecular structure of the ATP-bound, phosphorylated human CFTR. *PNAS*. 2018;115(50):12757-12762.
13. Sheppard DN, Welsh MJ. Structure and function of the CFTR chloride channel. *Physiol Rev*. 1999;79(1 Suppl):S23-S45.
14. Morales MM, Capella MAM, Lopes AG. Structure and function of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 1999;32:1021-1028.
15. Riordan JR. CFTR function and prospects for therapy. *Annu Rev Biochem*. 2008;77:701-26.
16. Know your CFTR mutations. A CFTR Mutation Fact Sheet. Available at: <https://www.cff.org/Care/Clinician-Resources/Network-News/August-2017/Know-Your-CFTR-Mutations.pdf>.
17. Lopes-Pacheco M. CFTR Modulators: Shedding Light on Precision Medicine for Cystic Fibrosis. *Front Pharmacol*. 2016 Sep 5;7:275.
18. Ong T, Ramsey BW. New Therapeutic Approaches to Modulate and Correct Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator. *Pediatr Clin North Am*. 2016;63(4):751-764.
19. Cystic Fibrosis Foundation. CFTR Modulator Types. Available at: <https://www.cff.org/Research/Developing-New-Treatments/CFTR-Modulator-Types/>.
20. Patient Brochure - Trikafta. Available at: <https://www.trikafta.com/sites/default/files/patient-brochure.pdf>.
21. CFTR Modulator Types. Available at: <https://www.cff.org/Research/Developing-New-Treatments/CFTR-Modulator-Types/#:~:text=Drugs%20that%20target%20the%20underlying,potentiators%2C%20correctors%2C%20and%20amplifiers>.
22. Cystic Fibrosis Foundation. List of CFTR gene mutations that are responsive to Kalydeco (ivacaftor). Available at: <https://www.cff.org/Life-With-CF/Treatments-and-Therapies/Medications/Kalydeco-Approved-Mutations.pdf>.
23. Dickinson K, Paranjape S. Triple combination therapy for cystic fibrosis is here! *Contemporary PEDIATRICS Journal*. 2020;37(2):17-19.
24. List of CFTR gene mutations that are responsive to Symdeko. Available at: <https://www.cff.org/Life-With-CF/Treatments-and-Therapies/Medications/Symdeko-Approved-Mutations.pdf>.
25. FDA approves new breakthrough therapy for cystic fibrosis. U.S. Food & Drug Administration. Available at: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-new-breakthrough-therapy-cystic-fibrosis>.
26. Khamis R. Cystic fibrosis outlook. *Nature*. 2020;583:S12-S14.
27. Cystic Fibrosis Foundation. List of CFTR gene mutations that are responsive to Trikafta. Available at: <https://www.cff.org/Life-With-CF/Treatments-and-Therapies/Medications/Trikafta-Approved-Mutations.pdf>.
28. Elexacaftor. Drug Bank. Available at: <https://www.drugbank.ca/drugs/DB15444>.
29. Tezacaftor. Drug Bank. Available at: <https://www.drugbank.ca/drugs/DB11712>.
30. Condren ME, Bradshaw MD. Ivacaftor: a novel gene-based therapeutic approach for cystic fibrosis. *J Pediatr Pharmacol Ther*. 2013;18(1):8-13.
31. Cystic Fibrosis: Investigational Therapies. Available at: <https://www.uptodate.com/contents/cystic-fibrosis-investigational-therapies>.

Conflict of interest: none declared

Financial support: none declared