

## IMUNOLOŠKI ASPEKT PLUĆNE BOLESTI U CISTIČNOJ FIBROZI

Dorian Tješić-Drinković<sup>1</sup>, Duška Tješić-Drinković<sup>1</sup>, J. Vraneš<sup>2</sup>, A. Votava-Raić<sup>1</sup>, J. Kelečić<sup>1</sup>, A. Gagro<sup>1</sup>

*Cistična fibroza (CF) je autosomalno recesivna nasljedna bolest s mutacijom gena čiji je genski produkt transmembranozni regulatorni protein (CFTR). Žilav i ljepljiv sekret uz naglašenu upalnu reakciju u kojoj dominira infiltracija neutrofila, te kronična infekcija i kolonizacija s *Ps. aeruginosa* dišnih putova čine osnovne karakteristike plućne bolesti u CF. Odnos između genskog defekta, kronične infekcije i upale uz progresivno propadanja plućne funkcije nije u potpunosti razjašnjen. Navode se činjenice koje pokušavaju objasniti zbivanja u plućnoj bolesti, te složenost imunoloških poremećaja kroz međusobnu povezanosti navedenih čimbenika.*

Deskriptori: CISTIČNA FIBROZA, PLUĆA, INFLAMACIJA, *PS. AERUGINOSA*, NEUTROFILI, CITOKINI

Cistična fibroza (CF) je najčešća nasljedna smrtonosna bolest bijele rase s autosomalno recesivnim načinom nasljeđivanja (1). Uzrokovana je mutacijom gena koji je odgovoran za sintezu proteina koji predstavlja transmembranski regulator provodljivosti (izvorno "cystic fibrosis transmembrane regulator", CFTR) (2). Poremećena funkcija CFTR-a očituje se poremećajem normalne funkcije dišnog puta, gastrointestinalnog trakta, spolnih žlijezdi i kože, odnosno žlijezda znojnice. Prije suvremenog načina liječenja glavna klinička manifestacija CF očitivala se poremećajem probavnog trakta.

Opstrukcija pasaže crijeva i mala-porsorpcija bili su vodeći uzroci smrtnosti u prvoj godini života. Zadovoljavajućim terapijskim pristupom navedena problematika probavnog puta vremenom je postala kontrolirana, a glavni vodeći klinički problem postaje progresivni gubitak plućne funkcije (3, 4). Za istaknuti je da pluća praktički nisu zahvaćena bolešću prije rođenja ali da ubrzo nakon rođenja postaju mjesto kronične infekcije i upale

s ulogom glavnog prediktora preživljavanja za većinu bolesnika (5, 6).

Otkriće gena, te kloniranje CFTR-a i zatim njegova identifikacija kao kloridnog kanala pridonijelo je produbljivanju spoznaja o vezi između poremećenog ionskog transporta i bolesti organa u CF. Poimanje uloge CFTR-a ne samo kao kloridnog nego i kao regulatora drugih ionskih kanala, te mogućnosti njegovih drugih ekspresija na epitelnim stanicama dišnog puta osnova su za nove hipoteze koje povezuju poremećenu funkciju CFTR-a s plućnom bolesti (7-9). Za razumijevanje patogeneze plućne bolesti osim mutacije CFTR-a važno mjesto ima bakterijska infekcija. Dobro je poznato da je *Pseudomonas aeruginosa* (*Ps. aeruginosa*) glavni uzročnik kronične kolonizacije i infekcije dišnih putova, ali kako i kada dolazi do kolonizacije i infekcije nije sasvim jasno (10).

Oba spomenuta čimbenika, mutacija CFTR-a i posebna prilagodljivost *Ps. aeruginosa* nastalim promjenama u dišnom sustavu, modificiraju imunološki odgovor bolesnika, te sve troje dovode do kronične bronhopulmonalne bolesti (11, 12).

### Uloga CFTR-a

Unatoč velikom napretku koji je napravljen u razumijevanju molekularne i stanične povezanosti između plućne infekcije i inflamacije, te genskog defekta CFTR-a, i dalje nedostaje jasan odgovor kako mutirani CFTR dovodi do kronične infekcije i inflamacije dišnog puta. Postoji više hipoteza koje povezuju transmembransku regulacijsku funkciju sa pojavom bolesti pokušavajući objasniti patogenezu plućne bolesti u CF.

Posebno mjesto imaju hipoteze koje se temelje na promjeni volumena tekućeg površnog sloja na epitelnim stanicama dišnog puta (izvorno "*airway-surface liquid*", ASL) i/ili smanjenju tekuće sekrecije submukoznih žlijezdi, te one koje naglašavaju kvalitativne promjene u sastavu (NaCl, pH, viskoznost) samog ASL-a (9).

Ističe se hipoteza prema kojoj je poremećen osnovni mehanizam prirodene imunosti u dišnom putu, odnosno mehaničko čišćenje bakterija i drugih inhaliranih tvari (tzv. klirens). Za uklanjanje sluzi u dišnom putu važna je funkcija uskladenog gibanja cilija, sekrecija mucina i adekvatan volumen ASL. Važnost ASL je u njegovom sudjelovanju u formiranju pericilijarnog tekućeg sloja kao

<sup>1</sup>Klinika za pedijatriju

<sup>2</sup>Zavod za javno zdravstvo grada Zagreba

Adresa za dopisivanje:

Prim. dr. sc. Dorian Tješić-Drinković

Livadićeva 24, 10000 Zagreb

E-mail: duska.tjesic-drinkovic@zg.htnet.hr

i u održavanju optimalne hidriranosti mucina. U normalnim dišnim putovima adekvatan volumen ASL-a održava se mehanizmima apsorpcije natrija i sekrecije klorida aktivnošću CFTR-a.

Kod CF u epitelu dišnog puta poremećene su dvije funkcije CFTR-a. Prva je gubitak inhibitornog djelovanja na tzv. epitelne natrijeve kanale zbog čega je pojačana apsorpcija  $\text{Na}^+$ , a druga je gubitak sposobnosti sekrecije klorida što dovodi do smanjenog volumena ASL-a. Uz činjenicu da je dišni put jako propustan za vodu, kombinacija pojačane apsorpcije  $\text{Na}^+$  i nemogućnosti sekrecije  $\text{Cl}^-$  putem CFTR-a mogle bi biti odgovorne za promjenu volumena izotoničnog tekućeg sloja na površini epitelnih stanica dišnih putova. Zbog smanjenog volumena ASL smanjen je volumen pericilijarnog sloja, te volumen sluzi u dišnom putu. Na taj način dolazi do poremećaja funkcije cilija i gubitka važne sposobnosti "podmazivanja" čiji je učinak sprječavanje adherencije sluzi na površini dišnog puta. U praktičkom smislu poremećaj pericilijarnog sloja uzrokuje poremećaj u mukocilijarnom klirensu i klirensu pomoću kašlja. U prilog te tzv. hipovolumne hipoteze postoji više istraživanja u *in vitro* modelima tako i u *in vivo* mjerenjima (13-16).

Kritičari te teorije smatraju da se njome ne objašnjava specifična osjetljivost na *Ps. aeruginosa* infekciju u CF. Kao drugi nedostatak navodi se manjak podataka koji potvrđuju da djeca s CF imaju poremećen mukocilijarni klirens prije razvoja kronične plućne bolesti u odnosu na zdravu djecu. Nedostatak takvih istraživanja u dojenčadi posljedica je ograničenja etičkim načelima. Međutim, istraživanja mukocilijarnog klirensa kod mladih CF bolesnika pokazala su da je on u većine njih poremećen unatoč urednim vrijednostima plućne funkcije (17). Nadalje, u prilog te tvrdnje idu i patološki nalazi obdukcije dojenčadi kod kojih su nađeni čepovi sluzi u distalnim dijelovima dišnog puta bez znakova infekcije, što je u skladu s poremećajem klirensa kao inicijalnog poremećaja u CF plućima (18).

Druga važna hipoteza pokušava objasniti oštećenje lokalne antibakterij-

ske obrambene aktivnosti promjenama u sastavu ASL. Prema toj hipotezi povećana koncentracija soli u ASL inaktivirala bi djelovanje antimikrobnih peptida, tzv. defenzina ( $\beta$ -defenzin-1,  $\beta$ -defenzin-2). Aktivnost defenzina s drugim činiteljima prirodene imunosti, kao lisosimom i lactoferinom, u ASL sinergistički inhibira rast bakterija u dišnom putu. Ta je aktivnost u promijenjenom sastavu ASL odsutna. Promjene u ASL tumače se poremećajem u apsorpciji klorida putem CFTR-a na način koji je analogan zbivanjima u znojnim kanalima. Danas postoji skepsa oko takvog tumačenja i pitanje je da li inhibicija aktivnosti defenzina može biti podloga plućne bolesti u CF, budući da je njihova funkcija od relativno malog značenja u odnosu na veličinu i složenost antibakterijskog obrambenog sistema (19-21). Skepsa je to veća budući da se nije uspjela dokazati hipertoničnost sastava ASL u CF, naprotiv, izgleda da je on izotoničan kod zdravih ljudi i kod CF bolesnika (13, 15, 22).

CFTR je u visokom stupanju prisutan u seroznim epitelnim stanicama submukoznih žlijezda. To i činjenica da je poremećaj volumena sekretornih žlijezdi rano prisutan u dišnom putu, uzrokujući poremećenu hidraciju mucina, može navoditi na zaključak da je disfunkcija CFTR-a u submukoznim žlijezdama možda jedan od inicijalnih pokretača plućne bolesti (23, 24).

Kritika teorije poremećene žljezdane sekrecije je ta da su submukozne žlijezde smještene u hrskavičnim dijelovima dišnog puta, a ne u bronhiolama. Kako u bronhiolama najvjerojatnije započinje CF plućna bolest, tako je malo vjerojatno da je žljezdana disfunkcija prvi korak u njenoj patogenezi.

Povezivanje mutiranog CFTR-a i plućne bolesti temelji se na činjenici da je u bolesnika s CF povećan broj sijaliziranih glikolipidnih receptora za *Ps. aeruginosa* na apikalnim membranama epitelnih stanica. Povećan broj receptora trebao bi biti odgovoran za pojačano prianjanje, a time i veći broj bakterija u dišnim putovima što bi uzrokovalo pojačanu prisutnost kolonizacije i infekcije u CF (25). Veza između disfunkcije CFTR i neadekvatne glikosijalizacije je u povi-

šenoj vrijednosti staničnog pH, te nemogućnosti intracelularnih organela da ga snize, čime se blokira aktivnosti enzima sijalotransferaze (26). Sposobnost ingestije i odstranjenje *Ps. aeruginosa* putem ljuštenja epitelnih stanica dišnog puta karakteristična je za funkciju normalnog CFTR-a. Uslijed mutacije CFTR-a onemogućena je ingestija *Ps. aeruginosa*, a time i značajan prirodni obrambeni mehanizam dišnog puta (9, 27). Kako navedeni poremećaji mogu biti prisutni u različitom stupnju ekspresije i kombinacije, tako se mogu susresti i tumačiti različite kliničke manifestacije dišnog puta.

Obilježja *P. aeruginosa* koje pridonose početnoj i trajnoj infekciji

CF ima jedinstven spektar patogenih uzročnika čije je javljanje pretežno ovisno o dobi bolesnika. Među karakterističnim uzročnicima odgovornim za infekcije u CF jedino *Staphylococcus aureus* može biti patogen u imunokompetentnog pojedinca. *Ps. aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*, netipizirana *Haemophilus influenzae*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Achromobacter xylosoxidans* zapravo su oportunistički patogeni. Od drugih organizama koje općenito ne smatramo patogenim treba spomenuti *Aspergillus* i netuberkulozne mikobakterije (*Mycobacterium avium*, *Mycobacterium abscessus*). Osobitosti dišnog puta u CF koje pogoduju početnoj infekciji i kolonizaciji s *Ps. aeruginosa* navedene su ranije u tekstu (Uloga CFTR-a). U takvim okolnostima vlastita genska i fenotipska prilagodljivost *Ps. aeruginosa* koja nastaje tijekom vremena omogućuje uspostavljanje trajne infekcije u dišnom putu bolesnika s CF (9, 28).

#### Fenotipske promjene

Karakteristike *Ps. aeruginosa* koji je izoliran iz dišnog puta bolesnika s CF razlikuju se od onih koje susrećemo u drugim kliničkim okolnostima. Razlike ne nalazimo u izolatu *Ps. aeruginosa* kod početnih kolonizacija dišnog puta u CF ali izgleda da tijekom trajanja plućne bolesti dolazi do njihove sve veće selekcije. Rane izolacije *Ps. aeruginosa* u CF odgovaraju izolacijama iz okoliša dok

kasnije pokazuju sve više rezistencije na antibiotike i mukoidnu formu rasta (29, 30). Promjene koje susrećemo kod *Ps. aeruginosa* u CF mogu se sažeti u nekoliko karakteristika. Tako postoji specifična metabolička aktivnost, tj. drugačija acetilizacija, lipopolisaharidnog (LPS) dijela stanične membrane, te gubitak O-postraničnog lanca LPS dijela vanjske membrane stanice, a što onemogućuje njegovu tipizaciju i dohvatljivost za serumsku aktivnost (31, 32). Osim navedenih osobitosti *Ps. aeruginosa* kod bolesnika s kroničnom infekcijom ističe se još gubitak flagela i naglašena auxotrofičnost što odražava njegove sposobnosti adaptacije u mukopurulentnom sekretu dišnog puta (33, 34).

Iako je isticana prisutnost mikrokolonija *Ps. aeruginosa* tijekom mnogo godina, tek je relativno nedavno dokazano postojanje biofilma u dišnom putu bolesnika s CF. On predstavlja sesilnu zajednicu bakterija koja stvara agregate na površini upotrebljavajući hidolizirani polimerni matriks kao produkt vlastite sinteze. Zajedničke kliničke manifestacije rasta bakterija u biofilmu očituju se sporim rastom bakterija, povećanim stvaranjem antitijela koja su nedjelotvorna u odstranjenju bakterija, stečenom rezistencijom na antibiotike te nemogućnošću odstranjenja biofilma čak i kod bolesnika s intaktnim imunološkim sistemom (35, 36). Navedenom treba dodati još dva zapažanja koja su prisutna u dišnim putovima:

- postojanje lokalne hipoksije unutar mukoznih čepova što potiče produkciju alginata sa strane *Ps. aeruginosa* i daljnjeg stvaranja biofilma;
- prisutnost fenotipske varijante *Ps. aeruginosa* koju karakterizira rezistencija na antibiotike, a koja ima naglašenu sposobnost stvaranja biofilma (37-40).

Danas se vjeruje da je postojanje jednog genskog lokusa u *Ps. aeruginosa*, poznatog kao pvrR "*phenotype variant regulator*", odgovorno za udruženost dviju fenotipskih karakteristika: rezistencije na antibiotike i sposobnosti stvaranja biofilma. To svojstvo se ne zapaža kada isti klon bakterija raste u for-

mi planktona *in vitro*. Upravo zato kada se testira osjetljivost *Ps. aeruginosa* na antibiotike u laboratoriju (pod idealnim okolnostima) dobivena osjetljivost ne mora nužno odražavati osjetljivost organizma i *in vivo* (40, 41).

#### Genske predispozicije

Razumijevanje sposobnosti fenotipske varijabilnosti *Ps. aeruginosa* omogućeno je spoznajama genomske analize laboratorijskog soja *Ps. aeruginosa* (tzv. PAO1) (42).

Poznato je da je genom *Ps. aeruginosa* velik, te da se je njegova genska kompleksnost približila onoj kod jednostavnih eukariotskih organizama. Takav veliki genom predstavlja potencijal za moguće adaptacije na različita okruženja uključujući i dišne putove kod bolesnika s CF. Zapaženo je također da *Ps. aeruginosa* iz dišnog puta CF bolesnika ima veći genom nego što je nađen kod laboratorijskih sojeva. To sugerira da je uz postojeće prilagodbe moguće steći i nove gene koji nastaju tijekom adaptacije *Ps. aeruginosa* u okruženju sekreta dišnog puta (43). Može se kazati da je kod CF učestalost mutacija *Ps. aeruginosa* veća. Razlozi za to nalaze se u karakteristikama samog sekreta, povećanoj gustoći bakterija u dišnom putu, te tzv. kompartmentalizaciji infekcije tj. postojanju više odjeljaka infekcije unutar istog dišnog puta koji funkcioniraju sami za sebe. Navedenome treba također pridodati nedjelotvornost mehanizama obrane dišnog puta i sve veću selektivnu primjenu antibiotika tijekom trajanja bolesti (44).

#### Imunološka disregulacija

Dugo se smatralo da je infekcija nužno prvi korak u patofiziološkom lancu zbivanja u plućima CF bolesnika, tj. da predstavlja prvi korak koji prethodi upalnim zbivanjima u dišnom putu. Međutim, u ispitivanjima djece kod kojih je bolest dijagnosticirana novorođenačkim probirom "*screeningom*", te u djece kojima je bolest dijagnosticirana u prva 3 mjeseca života, zapaženo je postojanje upalne aktivnosti bez infekcije. U bronhoalveolarnom lavatu (BAL) takve djece

povišene su vrijednosti neutrofila, neutrofilne elastaze i IL-8 uz odsutnost pokazatelja infekcije. Porast markera upale također je nađen i u djece sa stabilnom plućnom funkcijom, blagog tijeka bolesti, s nalazima BAL koji su upućivali na veću prisutnost proinflammatoryh citokina (IL-8, IL-1, TNF- $\alpha$ ) u usporedbi sa nalazima BAL kod zdravih dobrovoljaca (45-47). Takva zapažanja pretpostavljaju da u CF upala može prethoditi infekciji zahvaljujući direktnom doprinosu defektnog CFTR-a (48). Alternativna tumačenja navode da prisutnost bakterija ispod detektibilne razine može također biti pokretač upalnog odgovora. Također ima mišljenja prema kojima upalni odgovor, sam ili uz pomoć terapije, dovodi do odstranjenja infekcije ali da upala perzistira i dalje u odsutnosti dokaza primarne bakterijske ili virusne infekcije (47).

Bez obzira na konačno tumačenje, sigurno je da se i upala i infekcija javljaju rano u plućnoj bolesti kod CF. Ostaje nejasno što pokreće krug zbivanja perzistentne upale i infekcije koji je odgovoran za oštećenja i propadanje dišnog puta u CF (12). Od poznatih činjenica danas se znade, što je i ranije navedeno (Uloga CFTR), da epitelne stanice s defektnim CFTR-om imaju niži prag za adheziju bakterija kao i poremećen njihov klirens iz dišnog puta. Nadalje, *in vitro* podaci ukazuju da plućne epitelne stanice sa defektnim CFTR-om pojačano stvaraju citokine koji podržavaju upalu. Zajedničko im je svojstvo da sintezu većine tih citokina podržava aktivnost transkripcijskog faktora kappaB (NF- $\kappa$ B) čija je aktivnost usklađena i s drugim transkripcijskim faktorima (AP-1, nuklearnog faktora IL-6) (49). Ima tumačenja da je za pokretanje takve povećane aktivnosti NF- $\kappa$ B dostatna samo primarna mutacija CFTR-a, iako postoje i mnogi drugi podražaji koji mogu biti odgovorni za pokretanje takve prekomjerne aktivnosti (48). Također je zapažena selektivna citokinska disregulacija u mononuklearnim stanicama, te smanjena sekrecija INF- $\gamma$ , IL-10 u imunoregulatornim stanicama što ukazuje na povezanost CFTR mutacije i citokinske disregulacije.

Istraživanja upalnih zbivanja u probavnom traktu, u kojem postoji također jaka prisutnost CFTR-a, isto sugeriraju

povećanu upalnu aktivnost (npr. IL-8, TNF- $\alpha$ ) koja se tumači kao rezultat bakterijskog staničnog defekta (50).

Takva zapažanja upućuju da u okruženju u kojem postoji abnormalna aktivnost CFTR-a postoji i poremećen upalni odgovor s manifestacijom kliničkih učinaka karakterističnih za CF.

Obilna infiltracija neutrofila predstavlja dominantno obilježje upalnih zbivanja u dišnim putovima CF. Njihov pretjerani broj s jedne je strane rezultat trajnog stvaranja kemoatraktanta, a s druge posljedica smanjenog klirensa dišnog puta. Propadanjem neutrofila oslobađa se DNA koja stvara polimerizirane lance i pridonosi stvaranju žilavog sekreta. Oslobođena DNA ima izraženu sposobnost vezivanja i tako neutraliziranja antibiotika (npr. aminoglikozida). Razgradnjom neutrofila također se oslobađaju značajne količine oksidanata (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, O<sub>2</sub><sup>-</sup>) i proteaza, naročito neutrofilne elastaze. Na taj se način potiskuje antiproteazna aktivnost, te dolazi do nekontroliranog djelovanja proteolitičkih enzima. Posljedica takvog zbivanja su cijepanja molekula imunoglobulina, komplementa, te razaranje elastina i drugih strukturnih proteina i stvaranje bronhiektazija. Djelovanje elastaza potiče novo stvaranje kemoatraktanta (IL-8, LTB<sub>4</sub>) koji se oslobađaju iz epitelnih stanica dišnog puta, makrofaga i samih neutrofila. Njihovim djelovanjem dolazi do daljnjeg privlačenja neutrofila čime se zatvara krug upalnog zbivanja koji vodi prema daljnjem destruktivnom plućnom tkivu (45-47).

#### Uloga citokina u CF

Svaki upalni odgovor predstavlja ravnotežu između pro i anti-upalnih medijatora, a citokini su važni čimbenici koji sudjeluju i pomažu u pokretanju i održavanju kako prirodne tako i stečene imunosti. Citokini su topivi proteini koji djeluju u vrlo malim koncentracijama. Potječu iz različitih izvora kao što su epitelne stanice dišnog puta i mononuklearne upalne stanice uključujući neutrofile i makrofage (47, 51). Oslobođeni prilikom aktiviranja navedenih stanica sudjeluju u modeliranju upalnog odgovora koji je usmjeren prema invaziji mikroorganizma

ma u pluća ali i sanaciji oštećenih stanica tkiva dišnog puta (52, 53).

Kako je dišni put kod CF manje-više stalno koloniziran, ne iznenađuje njihova važna uloga u patofiziološkim zbivanjima u plućnoj bolesti. Disregulacija citokinske aktivnosti zapažena je u stanicama dišnog puta ali i u ostalim upalnim stanicama. To zapažanje potvrđeno je nalazima sputuma

bolesnika s CF u odnosu na zdravu populaciju (52, 54). Može se načelno kazati da je citokinski odgovor u CF karakteriziran smanjenom anti-upalnom aktivnosti (poglavito smanjenom sekrecijom IL-10), a povećanjem sinteze pro-upalnih čimbenika (IL-1, IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ ) uz promjenu ili polarizaciju Th1 i Th2 imunološkog profila koji može imati potencijalno štetnu ulogu tijekom upalnih zbivanja.

Tablica 1.  
Glavni učinci citokina u dišnim putovima kod CF (46)

Table 1  
Major effects of cytokines in CF airways (46)

CITOKINI CYTOKINE	UČINCI EFFECTS
TNF- $\alpha$	Pro-upalni: $\uparrow$ IL-6, $\uparrow$ IL-8 Pojачana adhezivnost neutrofila i medijatora neutrofilne aktivnosti $\uparrow$ bazalni metabolizam, kaheksiju Proinflammatory: $\uparrow$ IL-6, $\uparrow$ IL-8 Enhances neutrophil adhesion and mediates neutrophil activation $\uparrow$ resting energy expenditure, cachexia
IL-1	Pro-upalni: $\uparrow$ TNF- $\alpha$ , $\uparrow$ IL-6, $\uparrow$ IL-8 Pojачana adhezivnost neutrofila i medijatora neutrofilne aktivnosti Vazodilatacija Proinflammatory: $\uparrow$ TNF- $\alpha$ , $\uparrow$ IL-6, $\uparrow$ IL-8 Enhances neutrophil adhesion and mediates neutrophil activation Vasodilation
IL-6	Pro-upalni: medijator sinteze proteina akutne faze upale Učešće u febrilitetu, septičkom šoku, kaheksiji Anti-upalni: $\downarrow$ IL-1, i TNF od strane makrofaga Proinflammatory: mediates synthesis of acute-phase proteins from the liver Role in fever, septic shock, cachexia Anti-inflammatory: $\downarrow$ IL-1, i TNF production by macrophages
IL-8	Pro-upalni: snažan kemoatraktant za neutrofile Proinflammatory: potent chemoattractant for neutrophils
IL-10	Anti-upalni: $\downarrow$ TNF- $\alpha$ , $\downarrow$ IL-1, $\downarrow$ IL-6, $\downarrow$ IL-8 Inhibicija makrofagne aktivnosti Anti-inflammatory: $\downarrow$ TNF- $\alpha$ , $\downarrow$ IL-1, $\downarrow$ IL-6, $\downarrow$ IL-8 Inhibits macrophage activation
IFN- $\gamma$	Snažni aktivator makrofaga Potiče diferenciranje prekursorskih T-stanica prema Th1 stanicama Potent macrophage activator Induces differentiation of precursor T cells toward Th1 cells
TGF- $\beta$	Anti-upalni: $\downarrow$ TNF- $\alpha$ , $\downarrow$ IL-1, $\downarrow$ IL-6 Potiče sintezu IL-1RA Inhibira T i B staničnu proliferaciju Anti-inflammatory: $\downarrow$ TNF- $\alpha$ , $\downarrow$ IL-1, $\downarrow$ IL-6 Induces synthesis of IL-1RA Inhibits T and B cell proliferation
IL-1RA	Anti-upalni: prirodni inhibitor IL-1 Anti-inflammatory: natural inhibitor of IL-1
RANTES	Kemoatraktanti za eozinofile, monocite i memorijske T limfocite Chemoattractant for eosinophils, monocytes and memory T lymphocytes

Učinci pojedinih važnih citokina u dišnom putu kod bolesnika s CF prikazani su u tablici 1 (46).

### Zaključak

Na kraju se može reći da međusobni odnosi i kombinacije opisanih abnormalnosti od raznih mogućih djelovanja CFTR-a, adaptacijskih i genomskih karakteristika *Ps. aeruginosa*, te imunoloških deregulacija sa svim kliničkim posljedicama vode u konačnici prema naglašenoj neutrofilnoj aktivnosti u dišnim putovima. Oslobođene proteaze i kisikovi radikali tako postaju krajnji izvršioци u oštećenju plućnog tkiva bolesnika s CF. Uvjetno, može se kazati da je pojačan imunološki odgovor u CF taj koji je odgovoran za oštećenje tkiva, odnosno za propadanje plućne funkcije. Takvo viđenje zbivanja je možda moguće i bez uplitanja infekcije kao jednog klinički dominantnog i trajnog problema ili problema koji ima ulogu, slikovito kazano, "dodavanja soli na ranu"! Iako je danas glavni terapijski cilj usmjeren prema bakterijskoj infekciji, spoznaje o imunološkoj deregulaciji i njegovom pojačanom neutrofilnom odgovoru upućuju na modulaciju imunoloških zbivanja kao atraktivan i alternativan terapijski pristup CF.

### LITERATURA

- Ratjen F, Doring G. Cystic fibrosis. *Lancet* 2003; 361: 681-89.
- Rommens JM, Iannuzzi MC, Kerem B, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: chromosome walking and jumping. *Science* 1989; 254: 1059-65.
- Robinson P. Cystic fibrosis, *Thorax* 2001; 56: 237-41.
- Gibson RL, Burns JL, Ramsey BW. Pathophysiology and management of pulmonary infection in cystic fibrosis, *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 168: 918-51.
- Amstrong DS, Greenwood K, Carlin JB, et al. Lower airway inflammation in infants and young children with cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156: 1197-202.
- Darkin CJ, Numa AH, Wang H, et al. Inflammation, infection and pulmonary function in infants and young children with cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165: 904-10.
- Mehta A. CFTR: More than just a chloride channel. *Pediatr Pulmonol* 2004;38: 4-10.
- Stutts MJ, Canessa CM, Olsen JC, et al. CFTR as a cAMP-dependng regulator of sodium channels. *Science* 1995; 269: 847-50.
- Donaldson SH, Boucher RC. Update on pathogenesis of cystic fibrosis lung disease. *Curr Opin Pulm Med* 2003; 9: 486-91.
- Rosenfeld M, Bonnie WR, Gibson RL. Pseudomonas acquisition in young patients with cystic fibrosis: pathophysiology, diagnosis and management. *Curr Opin Pulm Med* 2003; 9: 492-97.
- JJ Wine. The genesis of cystic fibrosis lung disease. *J Clin Invest* 1999; 103: 309-12.
- R Bals, D J Weiner, J M Wilson. The innate immune system in cystic fibrosis lung disease. *J Clin Invest* 1999; 103: 303-7.
- Matsui H, Grubb B, Tarran R, et al. Evidence for periciliary liquid layer depletion, not abnormal ion composition, in the pathogenesis of cystic fibrosis airways disease. *Cell* 1998; 1005-15.
- Jayaraman S, Song YL, Verkman AS. Airway surface liquid osmolality measurement using fluorophore-encapsulated liposomes. *J Gen Physiol* 2001; 117: 423-30.
- Jayaraman S, Song YL, Vetrivel L, et al. Non-invasive in vivo fluorescence measurement of airway-surface liquid depth, salt concentration and pH. *J Clin Invest* 2001; 107: 317-24.
- Tarran R, Grubb BR, Parsons D, et al. The CF salt controversy: in vivo observation and therapeutic approaches. *Mol Cell* 2001; 8: 149-58.
- Regnis JA, Robinson M, Bailey D, et al. Mucociliary clearance in patients with cystic fibrosis and in normal subjects. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 150: 66-71.
- Zuzler WW, Newton WA. The pathogenesis of fibrocystic disease of the pancreas. A study of 36 cases with special reference to the pulmonary lesions. *Pediatrics* 1949; 4: 53-69.
- Singh PK, Jia PH, Willes K, et al. Production of beta-defensin by human airway epithelia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 14961-66.
- Travis SM, Conway BA, Zabner J, et al. Activity of abundant antimicrobials of the human airway. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1999; 20: 872-79.
- Boyton RJ, Openshaw PJ. Pulmonary defences to acute respiratory infection. *British Medical Bulletin* 2002; 61: 1-12.
- Cadwell RA, Grubb BR, Tarran R, et al. In vivo airways surface liquid Cl<sup>-</sup> analysis with solid-state electrodes. *J Gen Physiol* 2002; 119: 3-14.
- Ballard ST, Trout L, Mehta A, et al. Liquid secretion inhibitors reduce mucociliary transport in glandular airways. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2002; 283: 329-35.
- Joo NS, Irokawa T, Wu JV, et al. Absent secretion to vasoactive intestinal peptide in cystic fibrosis airway glands. *J Bio Chem* 2002; 277: 50710-5.
- Zar H, Saiman L, Quittell L, et al. Binding of *Pseudomonas aeruginosa* to respiratory epithelial cells from patients with various mutations in the cystic fibrosis transmembrane regulator. *J Pediatr* 1995; 126: 230-33.
- Barasch J, Kiss B, Prince A, et al. Defective acidification of intracellular organelles in cystic fibrosis. *Nature* 1991; 352: 70-3.
- Biwersi J, Emans N, Verkman AS. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator activation stimulates endosome fusion in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:12484-9.
- Pier GB. Role of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator in innate immunity to *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 8822-8.
- Luzar MA, Montic TC. A virulence and altered physiological properties of cystic fibrosis strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *Infect Immun* 1985; 50: 572-6.
- Lam J, Chan R, Costerton JW, et al. Production of mucoid microcolonies by *Pseudomonas aeruginosa* within infected lungs in cystic fibrosis. *Infect Immun* 1980; 28: 546-56.
- Ernst RK, Yi EC, Guo L, et al. Specific lipopolysaccharide found in cystic fibrosis airway *Pseudomonas aeruginosa*. *Science* 1999; 286: 1561-5.
- Hancock RE, Mutharia Lm, Chabn L, et al. *Pseudomonas aeruginosa* isolates from patients with cystic fibrosis: a class of serum-sensitive, nontypable strains deficient in lipopolysaccharide O side chains. *Infect Immun* 1983; 42: 170-7.
- Wolfgang MC, Jyot J, Goodman AL, et al. *Pseudomonas aeruginosa* regulates flagellin expression as part of global response to airway fluid from cystic fibrosis patients. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 6664-8.
- Thomas SR, Ray A, Hodson M, et al. Increased sputum amino acid concentrations and auxotrophy of *Pseudomonas aeruginosa* in severe cystic fibrosis. *Thorax* 2000; 55: 795-7.
- Hoiby N. Understanding bacterial biofilms in patients with cystic fibrosis: current and innovative approaches to potential therapies, *JCF* 2002; 1: 249-54.
- Hausler S. Biofilm formation by the small colony variant phenotype of *Pseudomonas aeruginosa*. *Environmental Microbiology* 2004; 6 (6): 546-51.
- Worlitzsch D, Tarran R, Ulrich M, et al. Effects of reduced mucus oxygen concentration in airway *Pseudomonas* infection of cystic fibrosis patients. *J Clin Invest* 2002; 109: 317-25.

38. Hentzer M, Teitzel GM, Bazler GT, et al. Alginate overproduction affects *Pseudomonas aeruginosa* biofilm structure and function. *J Bacteriol* 2001; 183: 5395-401.
39. Singh PK, Schaefer AL, Parsek MR, et al. Quorum-sensing signals indicate that cystic fibrosis lung are infected with bacterial biofilms. *Nature* 2000; 407: 762-4.
40. Prince AS. Biofilms, antimicrobial resistance and airway infection. *N Eng J Med* 2002; 347: 1110-1.
41. Drenkard E, Ausubel FM. *Pseudomonas* biofilm formation and antibiotic resistance are linked to phenotypic variation. *Nature* 2002; 416: 740-3.
42. Stover CK, Pham XQ, Erwin AL, et al. Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PA01, an opportunistic pathogen. *Nature* 2000; 288: 1251-4.
43. Spencer D, Kas A, Smith E, et al. Whole-genome sequence variation among multiple isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis. *J Bacteriol* 2003; 185: 1316-25.
44. Oliver A, Canton R, Campo P, et al. High frequency of hypermutable *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis lung infection. *Science* 2000; 288: 1251-4.
45. MW Konstan, M Berger. Current understanding of the inflammatory process in cystic fibrosis. *Ped Pulmonol* 1997; 24: 137-42.
46. Chmiel JF, Berger M, Konstan MW. The role of inflammation in the pathophysiology of CF lung disease. *Clin Rev Allergy Immunol* 2002; 23: 5-28.
47. JM Courtney, M Ennis, JS Elborn. Cytokines and inflammatory mediators in cystic fibrosis. *J C F* 2004; 3: 223-31.
48. R Tirouvaniziam, I Khazaal, B Peault. Primary inflammation in human cystic fibrosis small airways. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2002; 283: 445-51.
49. A Venkatakrishnan, AA Stecenko, G King, et al. Exaggerated activation of nuclear factor- $\kappa$ B and altered I- $\kappa$ B processing in cystic fibrosis bronchial epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2000; 23: 396-403.
50. RL Smyth, NM Croft, U O' Hea et al. Intestinal inflammation in cystic fibrosis. *Arch Dis Child* 2000; 82: 394-9.
51. SD Sagel, FJ Accurso. Monitoring inflammation in CF. *Clin Rev Allergy Immunol* 2002; 23: 41-57.
52. Osika E, Cavaillon JM, Chadelat K, et al. Distinct sputum cytokine profiles in cystic fibrosis and other chronic inflammatory airway disease. *Eur Respir J* 1999; 14: 339-46.
53. H Corvol, C Fitting, K Chadelat, et al. Distinct cytokine production by lung and blood neutrophils from children with cystic fibrosis. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2003; 284: 997-1003.
54. Vranes J, Tjesic-Drinkovic D, Zulj I, Kruzic V, Turkovic B, Maric S. Adherence ability of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from patients with cystic fibrosis to two different epithelial cell lines. *Coll Antropol* 2004; 28: 675-80.

### Summary

#### IMMUNOLOGIC ASPECT OF CYSTIC FIBROSIS LUNG DISEASE

*Dorian Tješić-Drinković, Duška Tješić-Drinković, J. Vraneš, A. Votava-Raić, J. Kelečić, A. Gagro*

*Cystic fibrosis is an autosomal recessive disorder caused by mutation in the gene encoding cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR). Accumulation of dehydrated viscous respiratory mucus, excessive inflammation with influx of massive numbers of neutrophils into the airways with chronic lung infection by environmental bacterium *Ps. aeruginosa* represents a defining feature of CF lung disease. This article summarizes the current knowledge regarding the relationship between the mutation in CFTR, chronic infection and immunological deregulation. Its' actual meaning for pathogenesis of lung disease is not still today completely understood.*

Descriptors: CYSTIC FIBROSIS, LUNG, INFLAMMATION, *PS. AERUGINOSA*, NEUTROPHILS, CYTOKINES