

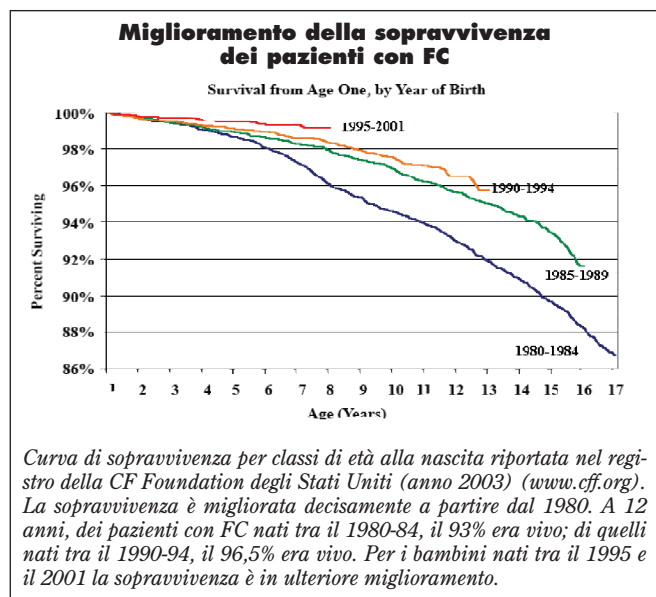
LA FIBROSI CISTICA TRA PRESENTE E FUTURO

La fibrosi cistica (FC) è la malattia a trasmissione genetica più frequente nella popolazione di razza caucasica. Si calcola che attualmente in Italia vivano circa 5000 persone affette da FC, 6000 in Inghilterra e 30.000 negli Stati Uniti. La sua incidenza è di 1:2500-3000 neonati.

Il corposo Focus che "Medico e Bambino" riporta sulla FC (accompagnato dall'editoriale di Gianni Mastella e da alcuni approfondimenti su specifici aspetti terapeutici, riportati sulle pagine elettroniche della rivista: www.medicoebambino.com) è un tentativo di aggiornamento esaustivo su quelli che sono gli aspetti clinici e assistenziali che un pediatra dovrebbe conoscere nell'anno 2006. Ma è anche qualcosa di più. La FC è forse una delle patologie più interessanti per quanto riguarda i progressi compiuti nell'ambito delle conoscenze genetiche, la validazione controversa di uno screening di popolazione su una malattia cronica, l'individuazione di programmi terapeutici convenzionali e di ricerca avanzata di base che sottende ai meccanismi molecolari della malattia. Chi si occupa di FC ha visto negli ultimi anni cambiare le prospettive di cura (anche se ancora lontane da soluzioni risolutive del difetto genetico di base), ha visto i bambini diventare adulti, ha dovuto affrontare nuove complicanze (osteoporosi, diabete, depressione) e nuove prospettive terapeutiche (il trapianto del polmone), tra successi e delusioni, tra speranze di buona qualità di vita e di buona morte. Basta guardare il grafico sulle curve di sopravvivenza nella popolazione di pazienti con FC negli Stati Uniti, qui riportato, per capire quanto sia stato fatto e quanto rimane ancora da fare.

Il "modello" FC è ancora qualcosa di più, questa volta tra luci e ombre. Le luci sono le voci dei pazienti e dei familiari che hanno un ruolo importante nei processi decisionali, nei modelli assistenziali, ma soprattutto nel-

l'intervento attivo di promozione delle ricerche che sono in corso, anche in Italia (www.fibrosicistica.it). Le ombre sono quelle riportate nell'editoriale di Mastella: la cura, inizialmente (e doverosamente?), chiusa nei Centri di cura per la FC, che ha reso spesso i pazienti "dipendenti" (non solo da un punto di vista strettamente medico) dal Centro, e i pediatri e medici di famiglia "lontani" dall'assistenza e dalla conoscenza della patologia (mettiamoci alla prova leggendo l'articolo di Castellani sulla FC atipica). La prospettiva è quella di rendere la FC un modello di buona qualità assistenziale, anche per questi aspetti doverosi di integrazione tra i Centri, gli ospedali territoriali, i servizi sociali e i pediatri e medici di famiglia. La Società Italiana Fibrosi Cistica (SIFC) si sta muovendo in questa direzione; i pediatri territoriali hanno il dovere (e il piacere) di occuparsene.



Quello che un pediatra deve sapere sulla fibrosi cistica

GIUSEPPE MAGAZZÙ, MARIANGELA LOMBARDO, MARIA CRISTINA LUCANTO, CATERINA RUGGERI, CONCETTA SFERLAZZAS

UO di Fibrosi Cistica e Gastroenterologia Pediatrica, Università di Messina

WHAT PRIMARY CARE PHYSICIANS MUST KNOW ABOUT CYSTIC FIBROSIS
(Medico e Bambino 2006;25:156-163)

Key words

Cystic fibrosis, Neonatal screening, Protocols of care, Primary care physician

Summary

The medical care of the patient with CF is ideally carried out with the joint efforts of the CF Center specialists and the patient's primary care physician (PCP). The implementation of a nation-wide neonatal screening may represent a unique opportunity for an early care by both CF Centers and PCPs and for sharing protocols of care, which are summarized in the present article. CF Centers and scientific communities should understand the importance of improving PCPs knowledge and expertise on the needs of CF patients.

Oltre 15 anni fa Stern¹ auspicava una presa in carico globale dei pazienti con fibrosi cistica (FC), dai primi mesi di vita fino all'età adolescenziale, da parte del pediatra di base (PdB). Nella pratica, il medico di famiglia raramente è stato considerato dai Centri FC un supporto assistenziale di cui avvalersi. È probabile che questo sia scaturito dalla convinzione che il progressivo miglioramento di sopravvivenza media registrata nella FC, oltre 34 anni², sia dipeso dalla centralizzazione delle cure.

Il caso della Danimarca, in cui l'esistenza di un solo Centro raggiungibile facilmente e frequentemente da tutti i pazienti veniva indicata come il fattore più importante per spiegare una maggiore sopravvivenza e un migliore stato clinico dei pazienti danesi, ha rappresentato per molto tempo il modello di cure ideale per la FC.

GENOTIPO E FENOTIPO

Quanto affermato da Stern¹ è stato pubblicato qualche mese prima dell'identificazione, sul braccio lungo del cromosoma 7, del **gene responsabile**

della malattia³. Questa scoperta ha riguardato la mutazione più frequente, denominata $\Delta F508$, consistente nella delezione di un residuo di fenilalanina nel codone 508 della proteina regolante la Conduttanza Transmembranica della Fibrosi Cistica (CFTR). La mutazione, che comporta un'alterazione della funzione del canale del cloro e dello scambio di acqua nelle cellule di rivestimento di vari apparati, in soggetti omozigoti, induce il classico quadro clinico della FC, caratterizzato da aumentata concentrazione di cloro nel sudore e, per la formazione di "tappi mucosi", infezioni respiratorie ricorrenti con bronchiectasie e insufficienza digestiva pancreatiche. L'identificazione di tale mutazione è stata seguita da quella di oltre mille mutazioni, anche se solo 22 sono state evidenziate con una frequenza di almeno lo 0,1% degli alleli conosciuti⁴. Studi di fisiologia in vitro hanno dimostrato che mutazioni del gene FC possono alterare la funzione del canale del cloro in modi differenti, da una perdita della proteina a una espressione di superficie con scarsa conduttanza del cloro. I meccanismi con i quali le mutazioni alterano la funzione del canale del cloro sono stati

raggruppati in 5 classi, con l'intento di fornire una base per lo studio della correlazione genotipo/fenotipo e un bersaglio per possibili nuove terapie farmacologiche⁵. Le ricerche rivolte a queste ultime si sono intensificate, tenuto conto che quelle sulla terapia genica, che hanno attirato le attenzioni e le speranze delle famiglie e dei pazienti subito dopo la scoperta del gene, segnano il passo per le difficoltà di reperire un vettore che entri nelle cellule bersaglio ed esprima in maniera adeguata il gene corretto. Si rimanda il lettore interessato a eccellenti review sull'argomento⁶.

Dal punto di vista pratico, che cosa ha modificato la scoperta del gene nella gestione dei pazienti?

Due aspetti meritano attenzione: la correlazione tra genotipo e fenotipo e la diagnosi.

La **correlazione tra genotipo e fenotipo** è rimasta per parecchi anni limitata alla predizione dello stato d'insufficienza digestiva dei pazienti, che, influenzando lo stato nutrizionale, comporta un decorso meno favorevole della malattia polmonare⁷. Anche se alcuni sottogruppi di mutazioni sono stati associati a un decorso più mite e a una più bassa mortalità⁸, a parità di genotipo si osserva spesso un differente decorso della malattia, per cui sono stati chiamati in causa dei geni "modificatori" l'espressività clinica. Dopo la candidatura di alcuni geni, studiati su casistiche limitate numericamente, recentemente è stato confermato, in uno studio multicentrico, che una variazione genetica del *Tumor Growth Factor* $\beta 1$ modifica il decorso della malattia⁹.

Riguardo alla **diagnosi**, l'identificazione di un sempre crescente numero di mutazioni ha notevolmente allargato lo spettro del fenotipo FC (*Tabella I*)⁵, per cui, ad esempio, metà dei pazienti con atresia bilaterale dei dotti deferenti¹⁰ hanno 2 mutazioni FC o adulti con pancreatite cronica¹¹ o rinosinusite cronica¹² hanno almeno una mutazione.

A parte i casi di screening positivo o di familiarità per FC, la diagnosi si basa sempre sulla clinica, per cui è importante che il PdB tenga presenti i sintomi o segni che rappresentino un'indicazione obbligata all'esecuzione del test del sudore (*Tabella I*). In presenza di un fenotipo compatibile con FC o di uno screening positivo o di familiarità la diagnosi

QUANDO SOSPETTARE LA FIBROSI CISTICA**Malattia sinubronchiale cronica**

Persistente colonizzazione/infezione con patogeni tipici della malattia polmonare nella FC:

Staphylococcus aureus
Pseudomonas aeruginosa (mucoide e non mucoide)
Haemophilus influenzae non tipizzabile
Burkholderia cepacia

Malattia endobronchiale che si manifesta con:

Tosse e produzione di muco
 Asma e intrappolamento d'aria
 Anormalità radiografiche
 Ostruzione rilevabile alle prove di funzionalità respiratoria
 Ippocratismo digitale

Patologia cronica dei seni:

Polipi nasali
 Modificazioni radiologiche

Anormalità gastrointestinali/nutrizionali

Anormalità gastrointestinali:

Ileo da meconio
 Insufficienza pancreatica
 Sindrome dell'ostruzione intestinale distale
 Prolasso rettale
 Pancreatite ricorrente
 Malattia epatobiliare cronica manifestata da segni clinici, di laboratorio o strumentali:
 Cirrosi biliare focale
 Cirrosi multilobulare
 Scarsa crescita (malnutrizione proteino-calorica)
 Ippoprotidemia-edema
 Deficit di vitamine liposolubili

Azoospermia ostruttiva nei maschi

Sindrome della perdita di sali:

Deplezione acuta di sali
 Alcalosi metabolica cronica

Tabella I

di FC sarà confermata dalla presenza di 2 mutazioni note causare malattia, o dalla dimostrazione dell'alterazione del canale del cloro, mediante test del sudore o, nei casi dubbi, dalla peculiarità dei potenziali elettrici misurabili sulla mucosa nasale, che si determinano come conseguenza¹³.

GLI EFFETTI DELLO SCREENING

Un evento che potrebbe modificare la gestione del paziente FC, promuovendo una maggiore interazione tra Centro e PdB, è rappresentato dallo **screening neonatale**.

Avviato sperimentalmente negli Stati Uniti per verificarne i costi/benefici¹⁴ o per selezionare pazienti da sottoporre prospetticamente a studi clinici randomizzati e controllati¹⁵, lo screening neonatale, dopo una lunga esperienza in Triveneto antecedente anche a quella nordamericana, è stato introdotto in Italia in concomitanza dell'entrata in vigore della legge *ad hoc* per la FC. Lo screening è stato basato inizialmente sulla determinazione della tripsina immunoreattiva (IRT) e sulla persistenza di un valore di questa oltre il cut-off intorno alla fine del I mese (al contrario di quanto si osserva nei bambini senza la FC), con conferma diagnostica median-

te test del sudore. Allo scopo di limitare il numero dei richiami per falsi positivi, la determinazione dell'IRT è stata associata successivamente alla ricerca della mutazione più frequente, la $\Delta F508$. Purtroppo, sia che si esegua lo screening con la sola IRT o che si esegua con IRT in associazione alla ricerca di una mutazione, bisogna valutare la possibilità dei falsi negativi: nel primo caso, per la presenza di mutazioni che possono indurre malattia con test del sudore negativo¹⁶; nel secondo caso, per la possibilità di mutazioni diverse dalla $\Delta F508$, che nel nostro Paese non ha la stessa elevata frequenza riscontrata in Nord Europa o in Nord America¹⁷. Per tale motivo i medici devono mantenere ancora una bassa soglia di sospetto clinico per la FC.

In caso di richiamo di un bambino positivo allo screening per IRT e per una mutazione FC, con diagnosi poi esclusa dal test del sudore, si pone, inoltre, il problema della comunicazione di diagnosi di portatore del bambino e della relativa consulenza genetica per tutta la famiglia. Questa dovrebbe essere offerta dallo stesso Centro FC, ma potrebbe trovare un valido supporto nel PdB per aumentarne l'efficacia, riportata non ottimale in letteratura¹⁸.

Lo screening neonatale in Italia è stato avviato prima ancora di conoscere i risultati definitivi, in termini di rapporto costi/benefici, dell'unico studio randomizzato e controllato avviato molti anni fa nel Wisconsin¹⁴. In atto i vantaggi per gli screenati sembrano esserci solo sul piano nutrizionale, soprattutto per la crescita staturale¹⁹. Dal punto di vista della malattia polmonare, che è quella che influenza prevalentemente il decorso della FC, sembrano esserci degli svantaggi per gli screenati quando si fa riferimento alle alterazioni radiologiche polmonari²⁰. Se, tuttavia, si va a stratificare i pazienti per l'infezione da *Pseudomonas aeruginosa*, si osserva che i soggetti screenati ma non ancora colonizzati dal batterio stanno significativamente meglio dei bambini non diagnosticati per screening, e che quelli che stanno peggio sono i bambini diagnosticati per screening e con infezione polmonare cronica da *Pseudomonas aeruginosa*²⁰. Questa osservazione, a parte la segregazione nei Centri dei pazienti con ceppi trasmissibili, dovrebbe suggerire dei modelli assistenziali, che prevedano lo spostamento del baricentro

Focus

delle cure sul territorio, coinvolgendo il PdB e ospedali vicino all'abitazione del paziente.

Dovrebbero essere il medico e il pediatra di base a sostenere la famiglia con una corretta informazione circa il significato di un richiamo per positività dello screening, anche in termini di possibilità di falsi positivi; dovrebbe essere il PdB a prendersi carico immediatamente del bambino in cui sia confermata la diagnosi.

CENTRI FC E PEDIATRIA DI FAMIGLIA

Lo screening, pertanto, dovrebbe indurre i Centri a sperimentare una stretta collaborazione con il PdB nella presa in carico del bambino, che, evitando il più possibile l'ospedalizzazione dei bambini diagnosticati precocemente, potrebbe comportare un significativo miglioramento del decorso.

A parte il fondamentale ruolo nella **presa in carico dei bambini diagnosticati per screening**, quali sono i momenti in cui più il PdB può essere coinvolto, condividendo con il Centro dei protocolli, nella cura del paziente con FC?

Uno dei timori del PdB è quello di "non essere specialista" per affrontare i peculiari problemi che il paziente con FC pone. In realtà, nella maggioranza dei casi, se non sempre, un medico dovrebbe comportarsi nei confronti del paziente con FC come farebbe nei confronti di un altro paziente non FC.

Dopo circa 12 anni dall'articolo di Stern, Orenstein²¹ sottolinea che *"la FC è sicuramente la malattia più importante che un PdB deve fronteggiare, in quanto è comune, a sopravvivenza ridotta e trattabile. Per tale motivo il PdB può avere un ruolo maggiore nella cura dei pazienti con FC rispetto a un decennio fa. La FC rappresenta un esempio di una condizione clinica in cui il PdB e lo specialista possono lavorare insieme, mettendo in comune ciascuno una differente visione e competenza sulla malattia"*.

Alcuni brevi promemoria, tratti dall'articolo, per possibili interventi da parte del pediatra nella routine non correlata alla FC e per problemi respiratori, digestivi e sistemici correlati alla malattia, sono riportati nelle *Tabelle II, III, IV, V*.

Il **riconoscimento della riaccensione infettiva polmonare** si basa sul-

ROUTINE E PROBLEMI NON CORRELATI ALLA FC

Ricorda che:

- Vaccinazioni – Controindicazione: prednisone a 2 mg/kg/die
– Nessuna controindicazione: steroidi a giorni alterni o per aerosol
- "Raffreddori": il rischio di broncopneumopatie è probabilmente maggiore di quello d'indurre resistenze con un breve ciclo di antibiotico
- Sinusite: antibiotico per almeno 3 settimane e a più alte dosi. No Rx
- Sintomi gastrointestinali: la diarrea non è specifica della FC, anzi, ma attenzione alle complicanze (sindrome dell'ostruzione distale, pancreatite o ascesso periappendicolare)
- Consigli per un salutare stile di vita (esercizio fisico, droga, alcol, sesso)

Tabella II

PROBLEMI RESPIRATORI CORRELATI ALLA FC

Ricorda che:

- Alte vie respiratorie: sinusite all'Rx costante, subclinica meno comune
- Basse vie respiratorie: infezioni causate da *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, *Ps. aeruginosa*. Altri microrganismi, inclusa la *B. cepacia*
- Complicanze:

Poliposi nasale fino al	25%
Pneumotorace	5-8%
Emottisi maggiore (300-500 ml nelle 24 ore)	5%
Aspergilloso broncopolmonare allergica	10%

Tabella III

PROBLEMI DIGESTIVO-NUTRIZIONALI CORRELATI ALLA FC

Ricorda che:

- Insufficienza pancreatica: in circa il 90% all'età di 12 anni ma solo in circa il 60% dei neonati
- Pochi pazienti hanno una pancreatite, ma ci sono mutazioni che danno solo pancreatite
- Il RGE è più comune e va trattato come in pazienti senza FC
- Il 10% ha una sindrome dell'ostruzione distale intestinale
- Prolasso rettale in meno dell'1% dei pazienti per anno
- Colelitiasi sintomatica in circa il 5%
- Dopo il periodo neonatale fino al 30% dei pazienti hanno elevazione asintomatica di AST e ALT o fosfatasi alcalina, ma mai avranno una malattia epatica
- Il 5% avrà una cirrosi

Tabella IV

PROBLEMI E COMPLICANZE SISTEMICI CORRELATI ALLA FC

Ricorda che:

- Il diabete mellito si presenta in oltre il 30% dei pazienti > 30 anni, con decorso migliore rispetto a quello giovanile
- La pubertà è ritardata in molti pazienti con FC a causa di fattori nutrizionali
- Il 98% dei maschi è sterili per azoospermia ostruttiva e le donne possono avere una ridotta fertilità a causa del muco denso
- Le ghiandole sudoripare producono un sudore con elevato contenuto in sodio e cloro, sia a riposo che dopo sforzo, che giustifica la supplementazione in sale dei lattanti e i non infrequenti episodi di alcalosi ipoelettrolitica in estate

Tabella V

SINTOMI E SEGNI DELLA RIACCENSIONE INFETTIVA POLMONARE

Sintomi	Segni
Incremento della tosse	Aumento della frequenza respiratoria
Incremento della broncorrea	Uso dei muscoli accessori
Cambiamento caratteri escreato	Retrazioni intercostali
Respiro corto	Variazioni ascoltazione toracica
Ridotta resistenza alla fatica	Declino funzione polmonare
Diminuzione dell'appetito	Febbre e leucocitosi
Sensazione di "congestione" toracica	Perdita di peso
	Nuove lesioni Rx

Tabella VI

la verifica dei segni e sintomi elencati in Tabella VI²².

Il **trattamento antibiotico**, che sarà

guidato dal Centro sulla base della coltura dell'escreato, può essere affrontato il più spesso a domicilio, sia con farma-

ci orali che per endovena adottando dei protocolli comuni. Anche se la lista dei farmaci non è esaustiva, le tabelle (Tabella VII e VIII) previste da una recente Review sul trattamento della malattia polmonare possono costituire un protocollo adottabile e condivisibile con il Centro⁵. È importante che il PdB familiarizzi con la gestione dell'agocannula, utilizzata con opportuni accorgimenti per tutta la durata dell'antibiotico-terapia in vena, che viene gestita dalle stesse famiglie, ma per la quale i pazienti, in caso di perdita dell'accesso venoso e assenza di un'organizzazione di terapia domiciliare, quasi sempre sono costretti a ricorrere ai Centri.

Lo **stato di nutrizione** influenza il

ANTIBIOTICI PER VIA ORALE E INALATORIA UTILIZZATI NELLA FIBROSI CISTICA

Patogeni	Antibiotico	Dose pediatrica	Dose adulti	
<i>Staphylococcus aureus</i>	I scelta			
	Dicloxacillina	6,25-12,5 mg/kg/ x 4 volte/die	250-500 mg x 4 volte/die	
	Cefalexina	12,5-25 mg/kg/ x 4 volte/die	500 mg x 4 volte/die	
	Amoxicillina/clavulanato*	12,5-22,5 mg/kg di amoxicillina x 2 volte/die	400-875 mg di amoxicillina x 2 volte/die	
	Eritromicina (base)	15 mg/kg x 3 volte/die	500 mg x 2 volte/die	
	Clarithromicina	7,5 mg/kg x 2 volte/die	500 mg x 2 volte/die	
<i>Haemophilus influenzae</i>	I scelta	Azitromicina	10 mg/kg dose iniziale seguito da 5 mg/kg ogni giorno	500 mg dose iniziale seguita da 250 mg ogni giorno
		Clindamicina**	3,5-7 mg/kg x 3 volte/die	150-450 mg x 3 o 4 volte/die
		Amoxicillina	25-50 mg/kg x 2 volte/die	500-875 mg x 2 volte/die
		Amoxicillina/clavulanato*	12,5-22,5 mg/kg di amoxicillina x 2 volte/die	400-875 mg di amoxicillina x 2 volte/die
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	I scelta	Cefalosporine di II e III generazione		
		Cefuroxime axetil	15-20 mg/kg x 2 volte/die	250-500 mg x 2 volte/die
		Cefprozil	7,5-15 mg/kg x 2 volte/die	250-500 mg x 2 volte/die
		Cefixime	4 mg/kg x 2 volte/die	200-400 mg x 2 volte/die
		Cefpodoxime proxetil	5 mg/kg x 2 volte/die	100-200 mg x 2 volte/die
		Loracarbef	7,5-15 mg/kg x 2 volte/die	400 mg x 2 volte/die
		Ciprofloxacina	10-15 mg/kg x 2 volte/die	500-750 mg/kg x 2 volte/die
<i>Burkholderia cepacia</i>	I scelta	Tobramicina per aerosol	300 mg x 2 volte/die con nebulizzatore	300 mg x 2 volte/die con nebulizzatore
		Colistina per aerosol	150 mg x 2 volte/die con nebulizzatore	150 mg x 2 volte/die con nebulizzatore
<i>Burkholderia cepacia</i>	I scelta	Trimetoprim/sulfametossazolo	4-5 mg/kg di trimetoprim x 2 volte/die	160 mg di trimetoprim x 2 volte/die
		Doxiciclina***	5 mg/kg dose iniziale seguita da 2,5 mg/kg x 2 volte/die	200 mg dose iniziale seguita da 100 mg x 2 volte/die
		Minociclina***	4 mg/kg dose iniziale seguita da 2 mg/kg x 2 volte/die	200 mg dose iniziale seguita da 100 mg x 2 volte/die

* Elevate dosi di clavulanato sono frequentemente associate a diarrea

** La clindamicina può essere utilizzata per il trattamento dei ceppi meticillino-resistenti acquisiti in comunità sulla base della sensibilità del test

*** Le tetracicline non sono raccomandate per bambini di età inferiore agli 8 anni

Tabella VII

ANTIBIOTICI PER VIA ENDOVENOSA PER IL TRATTAMENTO DI BATTERI ASSOCIATI CON INFEZIONE POLMONARE

Batteri prevalenti	Antibiotici	Dose pediatrica	Dose adulti
<i>Staphylococcus aureus</i>	Cefazolina o Nafcillina*	30 mg/kg ev ogni 8 ore 25-50 mg/kg ev ogni 6 ore	1 g ev ogni 8 ore 2 g ev ogni 6 ore
<i>Staphylococcus aureus</i> <i>meticillino-resistente</i>	Vancomicina**	15 mg/kg ev ogni 6 ore	500 mg ev ogni 6 ore o 1 g ev ogni 12 ore
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	I scelta (beta-lattamici) Ceftazidime Ticarcillina*** Piperacillina Imipenem• Meropenem• Aztreonam	50 mg/kg ev ogni 8 ore 100 mg/kg ev ogni 6 ore 100 mg/kg ev ogni 6 ore 15-25 mg ev ogni 6 ore 40 mg/kg ogni 8 ore 50 mg/kg ev ogni 8 ore	2 g ev ogni 8 ore 3 g ev ogni 6 ore 3 g ev ogni 6 ore 500 mg-1 g ev ogni 6 ore 2 g ev ogni 8 ore 2 g ev ogni 8 ore
	Associati ad aminoglicoside (I scelta) Tobramicina•• Amikacina•••	3 mg/kg ev ogni 8 ore 5-7.5 mg/kg ev ogni 8 ore	3 mg/kg ogni 8 ore 5-7,5 mg/kg ev ogni 8 ore
<i>Burkholderia cepacia</i>	Meropenem• Associati ad aminoglicoside (I scelta) Minociclina Amikacina••• Ceftazidime Cloramfenicolo ^{oo}	40 mg/kg ogni 8 ore 2 mg/kg ev o per bocca ogni 12 ore 5-7,5 mg/kg ev ogni 8 ore 50 mg/kg ev ogni 8 ore 15-20 mg/kg ev ogni 8 ore	2 g ev ogni 8 ore 100 mg ev o per bocca ogni 12 ore 5-7,5 mg/kg e.v. ogni 8 ore 2 gr ev ogni 8 ore 15-20 mg/ev ogni 8 ore
	Trimetoprim/sulfametossazolo	4-5 mg/kg di trimetoprim ev ogni 12 ore	4,5 mg/kg di trimetoprim ogni 12 ore
	NB. Il terzo antibiotico potrebbe essere aggiunto se ne è stata testata l'efficacia mediante i sinergismi		
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Ticarcillina***/clavulanato	100 mg/kg di ticarcillina ev ogni 6 ore	3 g di ticarcillina ev ogni 6 ore
	oppure	Trimetoprim/sulfametossazolo	4-5 mg/kg di trimetoprim ev ogni 12 ore
	oppure	Ticarcillina***/clavulanato	100 mg/kg di ticarcillina ev ogni 6 ore
	in associazione con Aztreonam	50 mg/kg ev ogni 8 ore	2 g ev ogni 8 ore
<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	Cloramfenicolo ^{oo} in associazione con Minociclina ^o	15-20 mg/kg ev ogni 8 ore 2 mg/kg ev o per bocca ogni 12 ore	15-20 mg/ev ogni 8 ore 100 mg ev o per bocca ogni 12 ore
	oppure	Ciprofloxacina	15 mg/kg ev o per bocca ogni 12 ore
	in associazione con (I scelta) Imipenem• Meropenem•	15-25 mg ev ogni 6 ore 40 mg/kg ogni 8 ore	500 mg-1 g ev ogni 6 ore 2 g ev ogni 8 ore

* Per ridurre gli episodi di flebite la nafcillina deve essere diluita con concentrazioni di farmaco non inferiori a 20 mg/ml

** La vancomicina va infusa lentamente per evitare il rilascio di istamina. La concentrazione plasmatica dovrebbe essere monitorata (picco di concentrazione tra 20 e 40 µg/ml e livello successivo fra 5 e 10 µg/ml)

*** La ticarcillina potrebbe associarsi con occasionale disfunzione piastrinica. Il suo utilizzo deve essere limitato per il trattamento di organismi resistenti come la *S. maltophilia* e la *B. cepacia*

• Queste molecole sono utilizzate per pazienti allergici alle cefalosporine o che presentano germi multiresistenti

•• La concentrazione plasmatica dovrebbe essere monitorata (picco di concentrazione tra 8 e 12 µg/ml e livello successivo inferiore a 2 µg/ml)

••• La concentrazione plasmatica dovrebbe essere monitorata (picco di concentrazione tra 20 e 30 µg/ml e livello successivo inferiore a 10 µg/ml)

^o Non deve essere somministrata a pazienti di età inferiore agli 8 anni

^{oo} La concentrazione plasmatica dovrebbe essere monitorata (picco di concentrazione tra 15 e 25 µg/ml e livello successivo fra 5 e 15 µg/ml)

Tabella VIII

decorso della malattia polmonare²³, per cui la sorveglianza di questo da parte del PdB rappresenta un punto fonda-

mentale nell'assistenza alla FC sia in età pediatrica che in età adulta, quando un paziente può avere bisogno di migliona-

re o mantenere un adeguato stato di nutrizione se candidato a trapianto polmonare.

DEFINIZIONE DI CRESCITA INSUFFICIENTE

Età	
< 5 anni	% peso ideale per altezza < 85% (se statura proporzionata al target genetico) o perdita di peso per più di 2 mesi o un plateau di peso da 2-3 mesi
5-18 anni	% peso ideale per altezza < 85% (se statura proporzionata al target genetico) o perdita di peso per più di 2 mesi o un plateau di peso da almeno 6 mesi
> 18 anni	% peso ideale per altezza < 85% o una perdita di peso > 5% del peso abituale per una durata di più di 2 mesi o BMI < 15° centile

Tabella IX

SINDROME DELL'OSTRUZIONE INTESTINALE DISTALE

Fecaloma	<p>Reperto occasionale di massa fecale, dura in fossa iliaca destra non avvertita dal paziente ma trovata all'esame obiettivo</p> <p><i>Terapia:</i> Flumucil 2 fl x os ogni 3 ore (non di notte) + 10-15 ml di olio di vaselina x 4 volte x 48 ore</p> <p><i>Se persiste:</i> Polietilenglicole 10-15 ml/kg x 1-2 volte al giorno</p>
Impatto fecale	<p>Massa ileocecale con dolori importanti, raramente vomito, con alvo libero, senza segni di occlusione Rx</p> <p><i>Terapia:</i> Flumucil 2 fl x os ogni 3 ore (non di notte) + 10-15 ml di olio di vaselina x 4 volte + Clisteri di 20 ml/kg di fisiologica + Olio di vaselina 4-5 cucchiari + Flumucil 4-8 fl/litro</p> <p><i>oppure in alternativa allo schema precedente</i></p> <p>Polietilenglicole 10-15 ml/kg x 1-2 volte al giorno</p> <p><i>Migliora</i> Dirada e sospendi <i>Non migliora</i> Lavaggio intestinale*</p>
Subocclusione o occlusione intestinale	<p>Da impatto fecale ileocecale, con vomito, alvo chiuso a gas e feci, distensione addominale, livelli idroaerei Rx</p> <p>Ricovero per riequilibrio idroelettrolitico e lavaggio intestinale*</p>

*Lavaggio intestinale: 4 litri di PEG/1,73 m² sc in 4 ore con sondino nasogastrico in infusione continua

Tabella X

In accordo con la classificazione della CF Foundation (Tabella IX), molta importanza viene data all'antropometria, attuabile nell'ambulatorio del PdB. Il % (percento) del peso ideale per la lunghezza/statura è facilmente calcolabile, anche se questo parametro dopo i 10 anni dovrebbe essere meglio sostituito dall'indice di massa corporea. È ancora importante ricordare che una percentuale del peso ideale per lunghezza/altezza può essere falsamente normale se il bambino presenta bassa statura come conseguenza della malnutrizione. Contrariamente ad altre condizioni cliniche, ad esempio la celiachia o la malattia di Crohn, che comportano malnutrizione e, se non riconosciute, bassa statura come espressione di mal-

nutrizione di lunga durata, la FC comporta bassa statura molto precocemente anche nel lattante di pochi mesi per il coinvolgimento spesso simultaneo di più fattori implicati nell'alterazione dello stato nutrizionale²⁴.

Vari fattori, infatti, possono contribuire a uno sbilanciamento energetico nella FC e, come conseguenza, condurre a una crescita insufficiente nel bambino o a una perdita di peso nell'adulto: le perdite caloriche aumentate, le assunzioni caloriche diminuite e un incremento della spesa energetica.

Le perdite intestinali il più spesso sono dovute a una insufficienza digestiva pancreatico non compensata, ma non bisogna dimenticare la possibile associazione con la celiachia o altre malattie

che comportano un malassorbimento, e che la malattia epato-biliare (nelle forme avanzate) o un reflusso gastroesofageo possono aggravare.

Le assunzioni caloriche ridotte sono in genere un sintomo dell'infezione respiratoria, che nel lattante può essere il solo segno anche in assenza di sintomi "respiratori". È per tale motivo che spesso il trattamento aggressivo dell'infezione respiratoria coincide con il miglioramento dell'appetito e con la ripresa ponderale. Il controllo dell'infezione polmonare, inoltre, consente di ridurre anche il terzo fattore che comporta lo sbilanciamento energetico nella FC, la spesa energetica a riposo, che prevalentemente dipende dall'infezione²⁵.

Laddove un atteggiamento più aggressivo verso l'infezione polmonare non sia sufficiente a migliorare lo stato di nutrizione, anche se mancano studi controllati²⁶ sui benefici a lungo termine nella malattia polmonare, vengono avviate delle tecniche riabilitative, anche invasive, capaci di modificare lo stato nutrizionale²⁷ anche in vista di interventi decisivi, quali il trapianto polmonare, soprattutto in età adulta. La gestione di un sondino nasogastrico per una supplementazione notturna, soprattutto nel lattante e per interventi nutrizionali di durata inferiore a 2-3 mesi, è ben tollerata anche in soggetti che teoricamente potrebbero avere difficoltà per la tosse, spesso presente o evocata dalla fisioterapia respiratoria. L'adozione di una gastrostomia²⁸, quasi sempre avviata per via endoscopica, consente una riabilitazione nutrizionale quando si preveda una maggiore durata dell'intervento riabilitativo nutrizionale. Il reinserimento del sondino nasogastrico del lattante e la sorveglianza dell'alimentazione enterale continua, comunque praticata, con l'utilizzo di protocolli ben standardizzati, possono rendere prezioso il PdB anche in queste circostanze.

A parte la **malattia epatobiliare**²⁹ che nel 5% dei casi circa induce colelitiasi o cirrosi biliare focale, che in alcuni casi richiede un trapianto epatico, il medico di base dovrebbe essere pronto a fronteggiare un'altra frequente complicanza della FC, il **diabete mellito**, che si registra già in età pediatrica e che è presente in oltre il 30% dei casi in soggetti di età superiore a 30 anni³⁰. Sebbene il meccanismo di "strozzatura meccanica" della parte endocrina del pancreas

EMOTTISI

Maggiore

- Acuta > 240 ml/24 h
- Ricorrente > 100 ml/24 h in 3-7 gg
- Tranquillizzare e invitare ad assumere posizione del capo reclinata in avanti
- Sospendere FTR e privilegiare tosse ed espettorazione spontanea respiratoria
- Sospendi aspirina e FANS e penicilline
- Pensa e correggi turbe coagulazione (vitamina K im non ev)
- Avvio antibiototerapia
- Se anemizzazione, infusione di volume expander e invio al Centro

Minore

- Striature di sangue nell'escreato o coaguli (si osserva comunemente)
- Se persistente: sospendi aspirina e FANS
- Avvio trattamento per esacerbazione respiratoria

Tabella XI

con cui si determina il diabete mellito nella FC sia differente da quello implicato nel diabete di tipo 1 e 2, una volta che si dimostri la necessità di una terapia insulinica, il medico di base dovrà gestirlo esattamente come nei casi del diabete di tipo 1 o 2 insulino-dipendente con il quale ha molta consuetudine.

Due complicanze, tra le varie che una malattia sistemica come la FC comporta, rappresentano spesso un motivo di ricovero ai Centri, laddove potrebbero essere trattate a domicilio dal medico di base: la sindrome dell'ostruzione distale e l'emottisi.

La **sindrome dell'ostruzione distale** o equivalente dell'ileo da meconio, determinata dalla formazione di "tappi" di materiale indigerito conglobati dal muco denso caratteristico della malattia, induce un quadro subocclusivo che, in tempi in cui i pazienti con FC non erano frequentemente sospettati, era oggetto di intervento di laparotomia, sempre evitabile.

I quadri che si determinano e il relativo trattamento secondo il grado di severità sono sintetizzati in *Tabella X*. Nelle condizioni più severe l'introduzione del lavaggio intestinale con polietilenglicole (PEG)³¹ ha comportato la risoluzione relativamente non invasiva (è necessario solo un sondino nasogastrico) del problema.

L'**emottisi**, come qualunque evento cruento, impressiona notevolmente le famiglie e il paziente che, nei casi di emottisi maggiore, ricorrono immediatamente ai Centri. A parte rari casi che

inducono anemizzazione, per i quali è probabile si ricorra, in caso di recidiva o intrattabilità, alla embolizzazione arteriosa, la maggior parte potrebbero essere trattati a casa con la presenza rassicurante del proprio pediatra. In *Tabella XI* sono mostrati i quadri clinici e gli interventi possibili a domicilio³².

Non sembra appropriato parlare della gestione della fase terminale o del trapianto in un articolo che vuole essere solo l'introduzione a un percorso di presa in carico della malattia genetica a decorso potenzialmente fatale della razza caucasica da parte del PdB. Perché questo avvenga, occorrono gli sforzi congiunti di Società e Associazioni scientifico-culturali e, per interventi formativi più precoci, delle Scuole di specializzazione, che disegnino un percorso formativo per ottimizzare l'assistenza nella FC.

Nello stesso tempo, però, è necessario sottolineare che quanto richiedono i pazienti con una malattia cronica è diverso da quanto spesso noi medici riteniamo di dover offrire in termini di competenze tecniche. L'importanza di un approccio empatico, che sicuramente è il mezzo più efficace di cura che noi medici abbiamo a disposizione³³ e consente di prenderci carico dei problemi di salute di una persona, prima ancora di diventare "competenti" sulla malattia, è ben sottolineato dagli stralci di un editoriale pubblicato sul numero speciale di *Lancet* dedicato alle malattie croniche³⁴:

"... sebbene nelle facoltà mediche si segni a raccogliere una storia completa,

MESSAGGI CHIAVE

- ❑ La correlazione tra genotipo e fenotipo FC è ancora imprecisamente definita. Per identici genotipi si osserva spesso un differente decorso di malattia, attribuibile a geni modificatori. Uno di questi è identificato in varianti genetiche del TNF beta 1.
- ❑ Lo spettro del fenotipo FC si è allargato (atresia dei deferenti, pancreatite cronica, sinusite cronica) in funzione del numero sempre più largo di mutazioni riconosciute.
- ❑ Lo screening neonatale comporta una quota non indifferente di falsi negativi e di falsi positivi; la diagnosi per screening comporta una migliore prognosi solo per l'aspetto nutrizionale, ma un più alto rischio di colonizzazione precoce da *Pseudomonas*, dovuta alla frequenza nei Centri. Ne deriva l'opportunità di una decentralizzazione della diagnosi e delle cure di una partecipazione degli ospedali di rete e della pediatria di base.
- ❑ Rappresentano momenti tipici di collaborazione possibile: la terapia delle riacensioni dell'infezione polmonare (guidata dal Centro sulla base della coltura dell'escreato); il controllo dello stato di nutrizione (BMI); l'intervento domiciliare sulla nutrizione artificiale (sondino naso-gastrico, agocannula); il trattamento dell'ostruzione intestinale e dell'emottisi (secondo schemi ben definiti e concordati).

gli aspetti sociali dell'anamnesi sono spesso dimenticati.

... quando i pazienti scrivono della loro malattia, essi non focalizzano sulle procedure mediche o sui dettagli della malattia, ma su come questa influenzi la loro vita e quella delle famiglie. Le persone con malattie croniche scrivono come debbano combattere per affermare la loro persona a prescindere dalla loro malattia.

... dobbiamo esaltarci per quanto la scienza e la medicina possono fare, ma dobbiamo anche comprendere le priorità di quelli che vivono con una malattia."

Virginia Barbour & Sabine Kleinert

Indirizzo per corrispondenza:

Giuseppe Magazzù

e-mail: giuseppe.magazzu@unime.it

Bibliografia

1. Stern RC. The primary care physician and the patient with cystic fibrosis. *J Pediatr* 1989;114:31-36.
2. Cystic Fibrosis Foundation Registry. 2001 Annual Data Report to the Center Directors. Bethesda, MD: Cystic Fibrosis Foundation, 2002.
3. Riordan JR, Rommens JM, Kerem B, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. *Science* 1989;245:1066-73.
4. Cystic fibrosis Mutation Database www.genet.sckkids.on.ca/cftr/
5. Gibson RL, Burns JL, Ramsey BW. State of the Art. Pathophysiology and management of pulmonary infections in cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2003;168:918-51.
6. Davies JC, Alton EW. Airway gene therapy. *Adv Genet* 2005;54:291-314.
7. Kerem E, Corey M, Kerem BS, et al. The relation between genotype and phenotype in cystic fibrosis - analysis of the most common mutation ($\Delta F508$). *N Engl J Med* 1990;323:1517-22.
8. McKone EF, Scott SS, Edwards KL, Aitken ML. Effect of genotype on phenotype and mortality in cystic fibrosis: a retrospective cohort study. *Lancet* 2003;361:1671-6.
9. Drumm ML, Konstan MW, Schluchter MD, et al. Genetic modifiers of lung disease in cystic fibrosis. *N Engl J Med* 2005;353:1443-53.
10. Chillan M, Casals T, Mercier B, et al. Mutations in the cystic fibrosis gene in patients with congenital absence of the vas deferens. *N Engl J Med* 1995;332:1475-80.
11. 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;339:653-8.
12. Wang X, Moylan B, Leopold DA, et al. Mutation in the gene responsible for cystic fibrosis and predisposition to chronic rhinosinusitis in the general population. *JAMA* 2000;284:1814-9.
13. Rosenstein BJ, Cutting GR. The diagnosis of cystic fibrosis: a consensus statement. Cystic Fibrosis Foundation Consensus Panel. *J Pediatr* 1998;132:589-95.
14. Fost N, Farrell PM. A prospective randomized trial of early diagnosis and treatment of cystic fibrosis: a unique ethical dilemma. *Clin Res* 1989;37:495-500.
15. Accurso FJ, Sokol RJ, Hammond KB, Abman SH. Early respiratory course in infants with cystic fibrosis: relevance to newborn screening. *Pediatr Pulmonol (Suppl)* 1991;7:42-5.
16. Castellani C, Tamanini A, Mastella G. Protracted neonatal hypertrypsinogenaemia, normal sweat chloride, and cystic fibrosis. *Arch Dis Child* 2000;82:481-2.
17. Padoan R, Bassotti A, Seia M, Corbetta C. Negative sweat test in hypertrypsinemic infants with cystic fibrosis carrying rare CFTR mutations. *Eur J Pediatr* 2002;161:212-5.
18. Ciske DJ, Haavisto A, Laxova A, Rock LZM, Farrell PM. Genetic Counseling and Neonatal Screening for Cystic Fibrosis: An Assessment of the Communication Process. *Pediatrics* 2001;107:699-705.
19. Farrell PM, Kosorok MR, Laxova A, et al. for The Wisconsin Cystic Fibrosis Neonatal Screening Study Group. Nutritional benefits of neonatal screening for cystic fibrosis. *N Engl J Med* 1997;337:963-9.
20. Farrell PM, Li Z, Kosorok MR, et al. Bronchopulmonary Disease in Children with Cystic Fibrosis after Early or Delayed Diagnosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2003;68:1100-8.
21. Orenstein DM, Winnie GB, Altman H. Cystic fibrosis: A 2002 update. *J Pediatr* 2002;140:156-64.
22. Ramsey BW. Drug therapy: management of pulmonary disease in patients with cystic fibrosis. *N Engl J Med* 1996;335:179-88.
23. Ramsey BW, Farrell PM, Pencharz P, and the Consensus Committee. Nutritional Assessment and

management in cystic fibrosis: a consensus report. *Am J Clin Nutr* 1992;55:108-16.

24. Tedeschi A, Conti Nibali S, Sferlazzas C, Profitti V, Magazzù G. Short stature and malnutrition in cystic fibrosis. *Lancet* 1989;1:100.
25. Pencharz PB, Durie PR. Pathogenesis of malnutrition in cystic fibrosis, and its treatment. *Clin Nutr* 2000;19:387-94.
26. Conway SP, Morton A, Wolfe S. Enteral tube feeding for cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2000.
27. Jelalian E, Stark LJ, Reynolds L, Seifer R. Nutrition intervention for weight gain in cystic fibrosis: a meta analysis. *J Pediatr* 1998;132:486-92.
28. Rosenfeld M, Casey S, Pepe M, Ramsey BW. Nutritional effects of long-term gastrostomy feedings in children with cystic fibrosis. *J Am Diet Assoc* 1999;99:191-4.

29. Colombo C, Battezzati PM. Liver involvement in cystic fibrosis: primary organ damage or innocent bystander? *J Hepatol* 2004;41:1041-4.
30. Costa M, Potvin S, Berthiaume Y, et al. Diabetes: a major co-morbidity of cystic fibrosis. *Diabetes Metab* 2005;31:221-32.
31. Koletzko S, Stringer DA, Cleghorn GJ, Durie PR. Lavage treatment of distal intestinal obstruction syndrome in children with cystic fibrosis. *Pediatrics* 1989;83:727-33.
32. Cystic Fibrosis Foundation Consensus Conference Report on pulmonary complications of cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 1993;15:187-98.
33. Cassell E. From detached concern to empathy: humanizing medical practice. *N Engl J Med* 2002;347:1628-9.
34. Barbour V, Kleinert S. Bridging the divide. *Lancet* 2001;Suppl 358.

Fibrosi cistica atipica

CARLO CASTELLANI

Centro Fibrosi Cistica, Azienda Ospedaliera, Verona

ATYPICAL CYSTIC FIBROSIS

(*Medico e Bambino* 2006;25:163-168)

Key words

Cystic fibrosis, CFTR gene, Atypical cystic fibrosis, CFTR related disease

Summary

In recent years the ability to detect cystic fibrosis (CF) mutations has greatly expanded the clinical spectrum of the disease. In a rising number of patients an atypical, usually mild phenotype is found; in others a single clinical feature predominates. A diagnosis of CF is usually formulated following a positive sweat test, or the identification of disease-causing gene mutations, or the in vivo demonstration of the typical abnormalities in ion transport across the nasal or rectal epithelium. However, these same tests, although helpful, may prove inconclusive in individuals with such an unusual clinical presentation. Very little information is available about the possible long-term evolution of these non classical forms of disease.

Talvolta la diagnosi di fibrosi cistica (FC) può risultare molto complessa e indaginoso. Ciò avviene occasionalmente nelle forme a piena espressione clinica, ma abitualmente nelle forme cosiddette "atipiche" di malattia. Limiti dei test diagnostici e scarsa chiarezza nella definizione delle forme non classiche di malattia contribuiscono al ritardo nella diagnosi, o anche all'obiettivo impossibile a formularla.

LA FIBROSI CISTICA È CAMBIATA

Nel 1989, dopo una ricerca durata anni, il gene responsabile della FC veniva identificato nel laboratorio di genetica molecolare del Sick Children Hospi-

tal di Toronto¹. Oggi, a distanza di più di 15 anni, la FC appare come una malattia almeno in parte diversa da quella che eravamo abituati a conoscere, e questo per almeno due aspetti fondamentali.

Il primo, che pur non costituendo una caratteristica esclusiva degli ultimi anni è apparso tuttavia sempre più evidente nel decennio trascorso, è l'allungamento dell'attesa di vita per i malati di FC. Non a caso la sessione plenaria di chiusura della ventottesima conferenza dell'European Cystic Fibrosis Society, nel 2005, era intitolata *Cystic fibrosis is now an adult disease*, la fibrosi cistica oggi è una malattia dell'adulto. Anche se si tratta di un'affermazione provocatoria e imprecisa, è innegabile che la centra-

lizzazione delle cure in strutture specialistiche e l'evoluzione delle terapie, inclusa la disponibilità del trapianto di polmone, hanno contribuito a un sostanziale miglioramento della prognosi della malattia². Una delle ricadute di questo fenomeno è costituita, soprattutto all'estero, ma oggi sempre più anche in Italia, da un'ulteriore frammentazione delle competenze: i Centri regionali per la FC, creati ormai da parecchi anni in adempimento alla legge 548 del 23/12/93, tendono oggi a scindersi in due strutture separate, una dedicata all'età pediatrica, l'altra agli adulti, ognuna con personale e competenze diversi.

L'altro grande cambiamento, conseguenza diretta della scoperta del gene, è stato l'individuazione di forme cliniche di FC che si discostano anche significativamente dalle manifestazioni classiche di malattia polmonare suppurativa cronica e di insufficienza pancreatica. Queste forme, chiamate con molteplici nomi, sono estremamente eterogenee e difficilmente inquadrabili nel contesto nosologico attuale.

LA FIBROSI CISTICA CLASSICA

La FC è la patologia autosomica recessiva grave più comune nella popolazione italiana. I malati censiti nel Registro italiano della malattia³ è verosimile non rappresentino il reale numero degli affetti, poiché il potenziale diagnostico della malattia è soggetto ad ampie variabilità regionali. Viceversa, pare più affidabile fare riferimento a programmi di screening neonatale che riportano un'incidenza compresa tra 1/2730 e 1/3170^{4,5}.

Da questi dati si può desumere una frequenza di portatori compresa tra 1/26 e 1/30.

Le manifestazioni cliniche della malattia fanno seguito alla presenza di secrezioni esocrine mucose dense, che portano a malattia polmonare cronica ostruttiva e ad aumento della concentrazione di sale nel sudore. Nella maggior parte di casi sono presenti insufficienza pancreatica esocrina con maldigestione e deficit di crescita, e, nella quasi totalità dei maschi affetti, azoospermia da atresia bilaterale congenita dei dotti deferenti (Tabella I).

Complicanze meno frequenti ma non eccezionali sono l'epatopatia cronica e, a partire dall'adolescenza, diabete e osteo-

MANIFESTAZIONI CLINICHE DI FIBROSI CISTICA

I. Fortemente indicative della presenza di fibrosi cistica

1. Respiratorie

- a. Infezione respiratoria cronica da *Pseudomonas aeruginosa* mucoide o *Burkholderia cepacia*
- b. Bronchiectasie bilaterali ai lobi superiori
- c. Polipi nasali in età pediatrica

2. Gastrointestinali

- a. Ileo da meconio
- b. Insufficienza pancreatica esocrina in età pediatrica

3. Altro

- a. Alcalosi ipocloremica in assenza di vomito
- b. Assenza bilaterale congenita dei dotti deferenti

II. Indicative della presenza di fibrosi cistica, ma meno specifiche

1. Respiratorie

- a. Infezione respiratoria cronica da *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter xylosoxidans* o *Haemophilus influenzae*
- b. Quadro radiologico con bronchiectasie, atelettasie, iperinflazione o addensamenti persistenti
- c. Emottisi con malattia polmonare (escluse TBC e vasculite)
- d. Tosse cronica e/o produttiva
- e. Aspergilloso broncopolmonare allergica
- f. Polipi nasali in età adulta
- g. Pansinusite cronica

2. Gastrointestinali

- a. Deficit staturò-ponderale
- b. Iipoproteinemia
- c. Deficit di vitamine liposolubili
- d. Ostruzione fecale del colon recidivante
- e. Prolasso rettale
- f. Cirrosi biliare
- g. Ipertensione portale
- h. Colelitiasi in età pediatrica in assenza di malattia emolitica
- i. Colangite sclerosante
- j. Insufficienza pancreatica esocrina in età adulta
- k. Pancreatite ricorrente

3. Altro

- a. Ippocratismo digitale
- b. Osteopenia/osteoporosi sotto i 40 anni
- c. Diabete atipico

Da: De Boeck K, Wilschanski M, Castellani C, et al. Cystic fibrosis: terminology and diagnostic algorithms. *Thorax* published online 29 Dec 2005.

Tabella I

porosi. Le modalità di comparsa, l'entità dei sintomi e il decorso sono estremamente variabili. Alcuni malati possono presentare precocemente gli aspetti polmonari della malattia (infezioni respiratorie ricorrenti) e manifestazioni gastrointestinali quali ileo da meconio alla nascita e sindrome da malassorbimento secondaria a insufficienza pancreatica; altri hanno sintomi respiratori modesti e contenuti fino all'adolescenza (tosse saltuaria, sinusite, poliposi nasale), con quadro digestivo normale⁶.

Il gene responsabile della malattia si trova sul braccio lungo del cromosoma 7, si estende per oltre 250 kilobasi, e contiene 27 esoni. La proteina codificata, composta da 1480 aminoacidi, è chiamata *Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator* (CFTR), ed è principalmente coinvolta nel trasporto transmembranario del cloro. Le mutazioni del gene CFTR sono molto numerose: ne sono state individuate fino ad oggi più di 1400⁷. La loro frequenza relativa è quanto mai variabile in relazione

all'area geografica. La più frequente, $\Delta F508$, è più concentrata nell'Europa settentrionale, meno in quella meridionale; alcune mutazioni risultano molto più rappresentate in particolari popolazioni, altre sono estremamente rare. In Italia $\Delta F508$ è comunque di gran lunga la mutazione più frequente (51%); essa e altre 11 mutazioni caratterizzano il 73% degli alleli affetti, con differenze di rilievo tra regioni limitrofe e all'interno della stessa regione^{8,9}.

La correlazione tra genotipo e fenotipo non è sufficientemente affidabile per consentire giudizi prognostici su coinvolgimento respiratorio e sopravvivenza¹⁰.

LE FORME NON CLASSICHE DI MALATTIA

Non tutte le variazioni di sequenza codificante comportano la completa perdita di funzione della proteina e quindi un quadro clinico compatibile con la malattia classica. Al contrario, alcune mutazioni consentono la produzione di proteina almeno parzialmente funzionante, o di proteina funzionante in maniera adeguata, ma in quantità ridotta. Infine, per un grande numero di varianti nucleotidiche, non esistono dati molecolari e clinici sufficienti a definirne l'eventuale ruolo patogenetico (*Box 1*).

Il progressivo ampliamento del numero di mutazioni note e ricercate, in particolare quelle associate a funzione proteica parzialmente conservata, ha consentito di identificare un numero non trascurabile di forme atipiche, allargando considerevolmente lo spettro clinico della malattia. Tali forme sono spesso caratterizzate da espressione clinica respiratoria modesta, sufficienza pancreaticata e concentrazione di elettroliti sudorali normale o comunque non francamente patologica.

Contemporaneamente e inaspettatamente, l'utilizzo sperimentale dell'analisi genetica ha permesso di individuare un significativo aumento dell'incidenza di mutazioni CFTR rispetto a quanto atteso nella popolazione generale in soggetti con manifestazioni cliniche o biochimiche isolate, che possono essere parte del quadro clinico complessivo negli affetti da FC classica. Tre situazioni emblematiche sono l'atresia congenita dei dotti deferenti, le pancreatiti croniche e acute ricorrenti idiopatiche e le

**Box 1 - COMPLESSITÀ DEL GENE CFTR:
L'ESEMPIO DELL'ALLELE 5T**

Un ruolo del tutto peculiare è rivestito da una variante polimorfica che si trova nel cosiddetto tratto poliT dell'introne 8. In questo sito sono presenti sequenze ripetute di basi, costituite alternativamente da 5, 7 o 9 molecole di timina, che condizionano con la loro lunghezza l'efficacia del processo di splicing dell'introne. In presenza di un tratto 9T viene prodotto mRNA completo nel 95% dei cromosomi; tale percentuale scende rispettivamente al 50-90% e all'8-10% per le varianti 7T e 5T. Sia 7T che 9T sono considerate varianti polimorfiche, 5T è considerata una mutazione a penetranza variabile.

A poca distanza dal tratto poliT, si trova una sequenza chiamata TG; anche in questo sito sono presenti sequenze ripetute di basi, costituite alternativamente da 11, 12 o 13 molecole di timina e guanina. Gli alleli con TG lungo (12 o 13) e T breve sono quelli che limitano maggiormente l'efficacia di splicing dell'introne 8.

Un individuo con le mutazioni $\Delta F508$ su un allele e 5T/11TG sull'altro è a basso (ma non nullo) rischio di sviluppare una forma classica di FC; viceversa un individuo con $\Delta F508$ e 5T/13TG può sviluppare una forma classica o non classica di malattia.

ipertripsinemie in neonati con test del sudore negativo.

L'azoospermia da **atresia congenita dei dotti deferenti** (CAVD) è responsabile dell'1-2% delle infertilità maschili. Pur essendo una caratteristica pressoché costante dei maschi affetti da FC, questa forma di azoospermia, in assenza di manifestazioni cliniche extragenitali, veniva in passato considerata un'entità patologica autonoma. In effetti analisi genetiche approfondite hanno mostrato che mutazioni o alterazioni di sequenza del gene CFTR sono presenti in entrambi i cromosomi nella maggioranza dei soggetti con CAVD, suggerendo un'origine genetica comune^{11,12}.

Analogamente alla CAVD, l'ipotesi che almeno alcune forme di **pancreatiti idiopatiche croniche o acute ricorrenti** siano correlate ad alterazioni del gene CFTR ha origine dalla constatazione che episodi recidivanti di pancreatite costituiscono un evento non raro in pazienti con FC che abbiano conservato un certo grado di sufficienza pancreaticata esocrina. Anche in questo ambito, lo studio del gene CFTR ha portato a risultati inattesi: in una percentuale di soggetti affetti da pancreatite cronica variabile dal 12 al 37% sono presenti una o due mutazioni^{13,14}. Al contrario di quanto avviene per l'atresia dei deferenti, la maggioranza di tali pancreatiti non può essere imputata ad alterazioni della proteina CFTR; tuttavia, per almeno una parte di questi casi mutazioni CFTR potrebbero essere coinvolte, da sole o in associazione ad altri fattori eziologici quali alcol o litiasi biliare, nella patoge-

nesi dell'infiammazione pancreatica.

CAVD e pancreatiti nella gran parte dei casi sono manifestazioni di malattia dell'età adulta, che hanno scarso rilievo clinico in pediatria, ma che qui sono stati brevemente ricordati per evidenziare il percorso seguito per giungere a individuare un collegamento tra alcune patologie monorganico e il gene della FC. Esiste tuttavia una condizione che mostra analoghe correlazioni col gene CFTR, e che è di pertinenza specificamente pediatrica: i **neonati ipertripsinemici** individuati da screening neonatale. Lo screening neonatale per FC si basa su un sistema a più livelli. Il primo consiste nel dosaggio in tutti i neonati del tripsinogeno immunoreattivo (IRT). Nei neonati con alti valori di IRT viene abitualmente eseguita l'analisi molecolare, basata su un pannello che comprende le mutazioni più rappresentate localmente. La presenza di due mutazioni consente di porre diagnosi di malattia; qualora se ne individui una sola, il neonato viene richiamato e sottoposto a test del sudore per una conferma o smentita diagnostica definitiva¹⁵. L'integrazione dell'analisi di mutazioni nei protocolli di screening neonatale permette un miglioramento della sensibilità complessiva del sistema, e tempi di diagnosi più contenuti, ma ha come effetto collaterale l'individuazione di portatori (IRT positivo, una mutazione, test del sudore negativo), che avviene con frequenza superiore rispetto all'atteso per le mutazioni testate¹⁶. Ciò può essere in parte spiegato dalla stretta correlazione tra IRT e mutazioni CFTR: i portatori hanno media-

mente concentrazioni di tripsinogeno superiori ai non portatori, in modo che la probabilità per un neonato sano di essere eterozigote aumenta proporzionalmente con il crescere della concentrazione di IRT alla nascita^{17,18}. Alcuni di questi neonati non sono però semplicemente portatori, ma eterozigoti composti: hanno cioè ereditato dai genitori anche una seconda, più rara mutazione, e, pur negativi al test del sudore, la loro ipertripsinogenemia è verosimilmente legata a tali anomalie del gene CFTR¹⁹.

CAVD, pancreatiti idiopatiche e neonati ipertripsinemici sono solo alcune delle condizioni cliniche nelle quali si è riscontrato un aumento della frequenza di mutazioni CFTR. Risultati simili, anche se numericamente meno rilevanti, sono stati ottenuti in soggetti con **bronchiectasie**²⁰, **rinosinusiti**²¹, **aspergillosi broncopulmonare allergica**²², tutte patologie spesso o occasionalmente presenti anche nel quadro più generale della FC. Pare molto improbabile che il gene CFTR, spesso in eterozigosi, possa da solo essere responsabile di tali patologie; è, al contrario, ipotizzabile che per almeno alcune di queste condizioni il gene della FC possa avere un effetto adiuvante.

IL PROBLEMA DELLA DIAGNOSI: TECNICHE, NOSOLOGIA

Come definire queste condizioni? Si tratta di FC, anche se a espressione clinica parziale, o di condizioni diverse, che, pur condividendo un meccanismo eziopatogenetico che coinvolge il gene CFTR, meritano una classificazione autonoma?

Il problema è rilevante, perché una diagnosi di FC ha importanti implicazioni genetiche, prognostiche e sociali.

Per cercare di rispondere a questi interrogativi è innanzitutto essenziale fare chiarezza sui requisiti necessari a formulare una diagnosi di FC. Questi si basano sulla presenza di manifestazioni cliniche compatibili, e sulla positività di almeno uno dei tre test diagnostici: test del sudore, analisi genetica, e misurazione della differenza di potenziale transepiteliale²³.

Il **test del sudore** è l'esame più utilizzato per la diagnosi: si basa sulla stimolazione della cute dell'avambraccio con ionoforesi pilocarpinica, raccolta

del sudore su carta da filtro o garza o con capillare, e analisi chimica della concentrazione di cloro. I valori di riferimento sono: positivo > 60 mEq/l, negativo < 40 mEq/l, dubbio nella fascia compresa tra i due valori. Nel lattante la soglia di positività risulta inferiore, ma mancano in generale chiare indicazioni sul variare dei valori di riferimento in rapporto all'età²⁴. Il test è molto valido quando usato per la diagnosi di una forma classica di FC, ma la sua sensibilità si riduce moltissimo nella forme non classiche, dove spesso i valori del cloro si trovano nella fascia dubbia o addirittura negativa²⁵.

In caso di impossibilità ad eseguire il test del sudore, o quando questo risulti di dubbia interpretazione, o anche negativo ma in presenza di un forte sospetto clinico, è indicato eseguire un'**analisi genetica per fibrosi cistica**. L'analisi genetica presenta, in relazione al grande numero di mutazioni CFTR, una sensibilità parziale, con notevoli variazioni regionali. Se ipotizziamo per l'Italia una detection rate media del 75% per un kit standard di mutazioni CFTR⁸, entrambe le mutazioni possono essere identificate, e quindi consentire la diagnosi, solo in poco più della metà degli affetti; nel 37% dei casi verrà individuato un solo allele malato, addirittura nessuno in 6 affetti su 100.

In realtà locali favorite da una distribuzione allelica più omogenea, e dove si possa giungere con un'analisi genetica di I livello a una copertura del 90%, nel 18% dei pazienti verrebbe comunque identificata una sola mutazione, nessuna in un malato su 100.

Queste considerazioni sull'uso dell'analisi genetica per la diagnosi di FC si applicano alle forme classiche di malattia. Nella forme non classiche le mutazioni sono spesso molto eterogenee, e pertanto le analisi genetiche standard risultano ancora meno sensibili, non potendo identificare mutazioni o varianti polimorfiche spesso poco note o non ancora individuate. In questo contesto può rivelarsi utile un approfondimento con sistemi di "scanning" del gene²⁶. La sensibilità di questi sistemi è migliore rispetto all'analisi standard; tuttavia non di rado il risultato ottenuto può essere di difficile interpretazione, in quanto si possono individuare non solo mutazioni causanti malattia, ma anche varianti fenotipicamente non patologiche (incapa-

cià di precisare se si tratti di una mutazione o di una variante normale).

Lo studio della **differenza di potenziale elettrico transepiteliale a livello delle mucose respiratorie o intestinali** valuta in vivo la funzione della proteina CFTR tramite la misurazione dello scambio ionico di membrana. Si tratta di tecniche poco diffuse, che richiedono lo specifico addestramento di personale in grado di interpretare la variabilità intrinseca al test.

In particolare la misurazione a livello della mucosa nasale richiede un buon livello di collaborazione da parte del paziente, ed è quindi di non semplice esecuzione nei bambini. Questo tipo di test distingue adeguatamente gli individui con fibrosi cistica classica, e può talvolta consentire di giungere a diagnosi in forme non classiche nelle quali il test del sudore e l'analisi genetica non siano stati risolutivi. Tuttavia, anche queste misurazioni superspecialistiche possono non essere in grado di risolvere il dubbio diagnostico²⁷.

Tutti e tre i test diagnostici sono quindi generalmente efficaci nell'attribuire la diagnosi corretta in un bambino con un quadro clinico classico di malattia, ma possono presentare limiti nelle forme non classiche, e rendere quindi molto difficile il loro inquadramento diagnostico. D'altro canto, anche qualora uno o più strumenti diagnostici supportino la diagnosi, è lecito chiedersi quanto, in presenza di espressione clinica molto modesta o anche limitata a un solo organo, sia appropriato etichettare un bambino con una diagnosi di FC, una malattia dalle connotazioni prognostiche gravi. Altre definizioni potrebbero essere più adeguate, e in questo senso i tentativi sono stati numerosi, e molte le proposte per nuove terminologie (fibrosi cistica non classica, fibrosi cistica atipica, patologie correlate ad alterazioni del gene CFTR, pre-fibrosi cistica, e altre ancora)^{23,28,29}. Di fatto, tuttavia, a tutt'oggi manca ancora un consenso generalizzato sulla precisa definizione nosologica di tali forme, che nell'uso corrente vengono raggruppate in una grande, aspecifica categoria, denominata "fibrosi cistica atipica" o "fibrosi cistica non classica". Naturalmente, date le difficoltà della diagnosi, è indispensabile che questa venga posta in una struttura specializzata, come un Centro regionale per la cura della FC (*Tabella II*).

QUATTRO CASI DI FIBROSI CISTICA

Storia clinica	Femmina, 8 anni, tosse da 3 anni, broncorrea da 8 mesi
Obiettività	Ippocratismo digitale, rantoli crepitanti diffusi, peso 3° centile, altezza 75° centile
Accertamenti clinici	Rx torace: bronchiectasie; spirometria: FVC 94%, FEV1 78% coltura escreato: <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ; elastasi fecale: 8 mcg
Test diagnostici	Test sudore: Cl 102 mEq/l; analisi genetica: ΔF508/ΔF508
Diagnosi	Fibrosi cistica con insufficienza pancreatica
Storia clinica	Maschio, 5 anni, infezioni alte e basse vie respiratorie ricorrenti
Obiettività	Polipi nasali
Accertamenti clinici	Rx torace: iperinflazione; spirometria: FVC 84%, FEV1 89% coltura escreato: <i>Staphylococcus aureus</i> ; elastasi fecale: 600 mcg
Test diagnostici	Test sudore: Cl 113 mEq/l; analisi genetica: G542X/R334W
Diagnosi	Fibrosi cistica con sufficienza pancreatica
Storia clinica	Maschio, 15 anni, pansinusite, tosse produttiva
Obiettività	Polipi nasali
Accertamenti clinici	Rx torace: ispessimento pareti bronchiali; spirometria: FVC 98%, FEV1 90%; coltura escreato: <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (in una sola occasione); elastasi fecale: 400 mcg
Test diagnostici	Test sudore: Cl 38 mEq/l; Analisi genetica: 3849+10 KbC>T/R117H Potenziale nasale: borderline
Diagnosi	Fibrosi cistica non classica
Storia clinica	Maschio, 2 anni, IRT elevato allo screening neonatale, infezioni respiratorie ricorrenti
Obiettività	Negativa
Accertamenti clinici	Rx torace: negativo; coltura escreato: <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Haemophilus influenzae</i>
Test diagnostici	Test sudore: Cl 40 mEq/l; analisi genetica: ΔF508del/5T
Diagnosi	Fibrosi cistica non classica

Tabella II

COSA SAPPIAMO SUL DECORSO DELLE FORME NON CLASSICHE

È molto difficile delineare un quadro clinico generale e formulare una predizione prognostica a lungo termine per le forme non classiche di FC, in parte per l'eterogeneità delle presentazioni cliniche, ma anche per la scarsità dei dati sull'evoluzione a lungo termine. La FC classica costituisce per definizione una patologia evolutiva, che tende cioè ad aggravarsi negli anni, con modalità e tempi anche molto diversi a seconda del genotipo e dell'ambiente, includendo in quest'ultimo anche la quantità e la qualità delle cure. Le forme non classiche potrebbero potenzialmente, su scala minore, manifestare una tendenza analoga, ma, poiché sono note solo da pochi an-

ni, non c'è stato finora abbastanza tempo per disegnare un quadro certo sulla loro evoluzione a lungo termine. Pur con questi limiti, appare comunque ragionevole affermare che la prognosi è verosimilmente molto migliore che nella malattia pienamente espressa.

La comunicazione ai pazienti con forme non classiche di malattia e/o alle loro famiglie risente naturalmente della poca conoscenza di questo tipo di patologia. La "Commissione sulla consulenza genetica nelle forme atipiche" del Gruppo Italiano Fibrosi Cistica ha fornito in questo senso alcune indicazioni, valide anche al di fuori del setting di consulenza. I concetti principali da comunicare sono:

- non si tratta di fibrosi cistica classica;
- la terminologia "fibrosi cistica atipi-

MESSAGGI CHIAVE

❑ Classicamente, la FC è contraddistinta da malattia polmonare cronica ostruttiva con broncorrea purulenta, insufficienza pancreatica esocrina (ma alcuni pazienti conservano una residua funzione pancreatica), e aumento della concentrazione di sale nel sudore. Le modalità di comparsa, l'entità dei sintomi e il decorso sono variabili.

❑ Negli ultimi anni si sono identificate forme non classiche, o atipiche, di FC, spesso caratterizzate da espressione clinica respiratoria modesta, sufficienza pancreatica e concentrazione di elettroliti sudorali normale o comunque non francamente patologica.

❑ La diagnosi, abitualmente semplice da porre nelle forme classiche della malattia, può essere molto complessa in quelle atipiche.

❑ Il test del sudore è il gold standard per la diagnosi di malattia. Se il test del sudore non è eseguibile o risolutivo, un'analisi di mutazioni, ed eventualmente uno studio della differenza di potenziale transepiteliale nasale possono essere indicati.

❑ L'evoluzione clinica delle forme non classiche di FC è poco nota, ma la prognosi pare più favorevole della malattia pienamente espressa.

ca" è poco corretta, e utilizzata in assenza di chiare alternative;

- l'esperienza clinica è ancora limitata, ma abitualmente le manifestazioni sono di portata medio-lieve (poliposi nasale, sinusite, azoospermia nei maschi, pancreatite) o addirittura assenti;
- la prognosi a lungo termine è poco nota; è ragionevole ipotizzare un'evoluzione modesta;
- la correlazione genotipo/fenotipo è molto imprecisa (influenza di altri fattori genetici e ambientali);
- l'impegno terapeutico è modesto o assente.

È opportuno che venga offerta disponibilità a monitorare l'andamento clinico con un programma di follow-up presso un Centro per la cura della FC.

Indirizzo per corrispondenza:

Carlo Castellani

e-mail: carlo.castellani@azosp.vr.it

Bibliografia

- Rommens JM, Iannuzzi MC, Kerem B, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: chromosome walking and jumping. *Science* 1989; 245:1059-65.
- Frederiksen B, Lang S, Kock C, Hoiby N. Improved survival in the Danish center-treated cystic fibrosis patients: results of aggressive treatment. *Pediatr Pulmonol* 1996; 21: 153-8.
- Viviani L, Padoan R, Giglio L, Bossi A. The Italian registry for cystic fibrosis: what has changed in the last decade. *Epidemiol Prev* 2003; 27: 91-6.
- Castellani C, Bonizzato A, Cabrini G, Mastella G. Newborn screening strategy for cystic fibrosis: a field study in an area with high allelic heterogeneity. *Acta Paediatr* 1997; 86: 497-502.
- Corbetta C, Seia M, Bassotti A, Ambrosioni A, Giunta A, Padoan R. Screening for cystic fibrosis in newborn infants: results of a pilot programme based on a two tier protocol (IRT/DNA/IRT) in the Italian population. *J Med Screen* 2002;9:60-63.
- Castellani C. Dieci anni dalla scoperta del gene della fibrosi cistica: implicazioni cliniche. Aggiornamenti di fisiopatologia e terapia in pediatria, 2000;10:14-21.
- Cystic Fibrosis Genetic Consortium. Cystic Fibrosis Genetic Data Base. URL: <http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr>.
- Rendine S, Calafell F, Cappello N, et al. Genetic history of cystic fibrosis mutations in Italy. I. Regional distribution. *Ann Hum Genet* 1997;61:411-24.
- Bonizzato A, Bisceglia L, Marigo M, et al. Analysis of the complete coding region of the CFTR gene in a cohort of CF patients from Northeastern Italy: identification of 90% of the mutations. *Hum Genet* 1995;95:397-402.
- The Cystic Fibrosis Genotype-Phenotype Consortium. Correlation between genotype and phenotype in patients with cystic fibrosis. *N Engl J Med* 1993;329:1308-13.
- Anguiano A, Oates RD, Amos JA, et al. Congenital absence of the vas deferens. A primarily genital form of cystic fibrosis. *JAMA* 1992; 267:1704-97.
- Chillon M, Casals T, Mercier B, et al. Mutations in the cystic fibrosis gene in patients with congenital absence of the vas deferens. *N Engl J Med* 1995;332:1475-80.
- 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;339:635-8.
- Castellani C, Gomez Lira M, Frulloni L, et al. Analysis of the entire coding region of the cystic fibrosis transmembrane regulator gene in idiopathic pancreatitis. *Hum Mutation*. 2001 Mutation in brief #436 Online.
- Ranieri E, Ryall RG, Lewis BD, et al. Neonatal screening for cystic fibrosis using immunoreactive trypsinogen and direct gene analysis. *BMJ* 1991; 302:1237-40.
- Laroche D, Travert G. Abnormal frequency of $\Delta F508$ in neonatal transitory hypertrypsinemia. *Lancet* 1991;337:55.
- Lecoq I, Brouard J, Laroche D, et al. Blood immunoreactive trypsinogen concentrations are genetically determined in healthy and cystic fibrosis newborns. *Acta Paediatr* 1999;88:338-41.
- Castellani C, Picci L, Scarpa M, et al. Cystic fibrosis carriers have higher neonatal immunoreactive trypsinogen values than non-carriers. *Am J Med Genet* 2005;135A:141-4.
- Castellani C, Benetazzo MG, Tamanini A, Benigni A, Mastella G, Pignatti PF. Analysis of the entire coding region of the cystic fibrosis transmembrane regulator gene in neonatal hypertrypsinemia with normal sweat test. *J Med Genet* 2001;38:202-5.
- Pignatti PF, Bombieri C, Marigo C, Benetazzo M, Luisetti M. Increased incidence of cystic fibrosis gene mutations in adults with disseminated bronchiectasis. *Hum Mol Genet* 1995;4:635-9.
- Wang X, Moylan B, Leopold DA, et al. Mutation in the gene responsible for cystic fibrosis and pre-

disposition to chronic rhinosinusitis in the general population. *JAMA* 2000;284:1814-9.

22. Miller PW, Hamosh A, Macek M Jr, et al. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) gene mutations in allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Am J Hum Genet* 1996;59:45-51.

23. Rosenstein BJ, Cutting GR, for the Cystic Fibrosis Foundation Consensus Panel. The diagnosis of cystic fibrosis: a consensus statement. *J Pediatr* 1998;132:589-95.

24. Farrell PM, Kosciak RE. Sweat chloride concentrations in infants homozygous or heterozygous for F508 cystic fibrosis. *Pediatrics* 1996;97:524-8.

25. Groman JD, Karczeski B, Sheridan M, Robinson TE, Fallin MD, Cutting GR. Phenotypic and genetic characterization of patients with features of "non-

classic" forms of cystic fibrosis. *J Pediatr* 2005; 146:675-80.

26. Ravnik-Glavac M, Atkinson A, Glavac D, Dean M. DHPLC screening of cystic fibrosis gene mutations. *Hum Mut* 2002;19:374-83.

27. Pradal U, Castellani C, Delmarco A, Mastella G. Nasal potential difference in congenital bilateral absence of the vas deferens. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;158:896-901.

28. Groman JD, Meyer ME, Wilmott RW, Zeitlin PL, Cutting GR. Variant cystic fibrosis phenotypes in the absence of CFTR mutations. *N Engl J Med* 2003;347:401-7.

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

Prospettive di nuove terapie della fibrosi cistica

MASSIMO CONESE¹, LUCIA PALMIERI, ELENA COPRENI

Istituto per il Trattamento Sperimentale della Fibrosi Cistica, Ospedale S. Raffaele, Milano

¹*Dipartimento di Scienze Biomediche, Università di Foggia*

NEW THERAPIES OF CYSTIC FIBROSIS (*Medico e Bambino* 2006;25:168-173)

Key words

Adenoassociate virus, Bone marrow, Cardiac glycosides, Curcumin, Nanoparticles, Pharmacogenomics, Stem cells

Summary

Although to date symptomatic therapies for cystic fibrosis (CF) - based on the eradication/control of opportunistic infections and facilitation of mucus excretion - have rapidly and significantly increased patients survival, an aetiological therapy is still far from being available. There are several ongoing studies with the aim of correcting the underlying defect of the disease ranging from gene therapy to studies on molecules which will help the mutated CFTR gene to correctly express its protein or to make it work better. Stem cell therapy is a promising technique since it does not require the use of vectors, fundamental in gene therapy. Pharmacogenomics will help developing new drugs and identifying new efficacy indicators of these drugs.

La fibrosi cistica (FC) è la malattia con ereditarietà autosomica recessiva più letale della popolazione bianca caucasica e la sua incidenza è di 1:2500-3500 neonati. La frequenza del portatore è di 1:25. Benché già nel 1949 Lowe et al.¹ postularono che la FC fosse causata da un difetto in un singolo gene (e quindi in una singola proteina) sulla base della modalità di trasmissione, è stato solo nel 1989 che Collins, Riordan e Tsui hanno identificato il gene responsabile della malattia, denominato CFTR (proteina della fibrosi cistica regolatrice

del trasporto transmembrana)². La proteina CFTR è un canale del cloro espresso sulla superficie apicale di epitelii coinvolti in attività di secrezione e/o riassorbimento di ioni e acqua a livello di molti organi, tra i quali polmoni, pancreas e ghiandole sudoripare.

La malattia polmonare rappresenta la principale causa di morbilità e mortalità dei pazienti con FC. Oggi si conoscono le fasi del processo fisiopatologico che dalle mutazioni nel gene CFTR portano alle manifestazioni polmonari (*Figura 1*). Gli interventi terapeutici possono es-

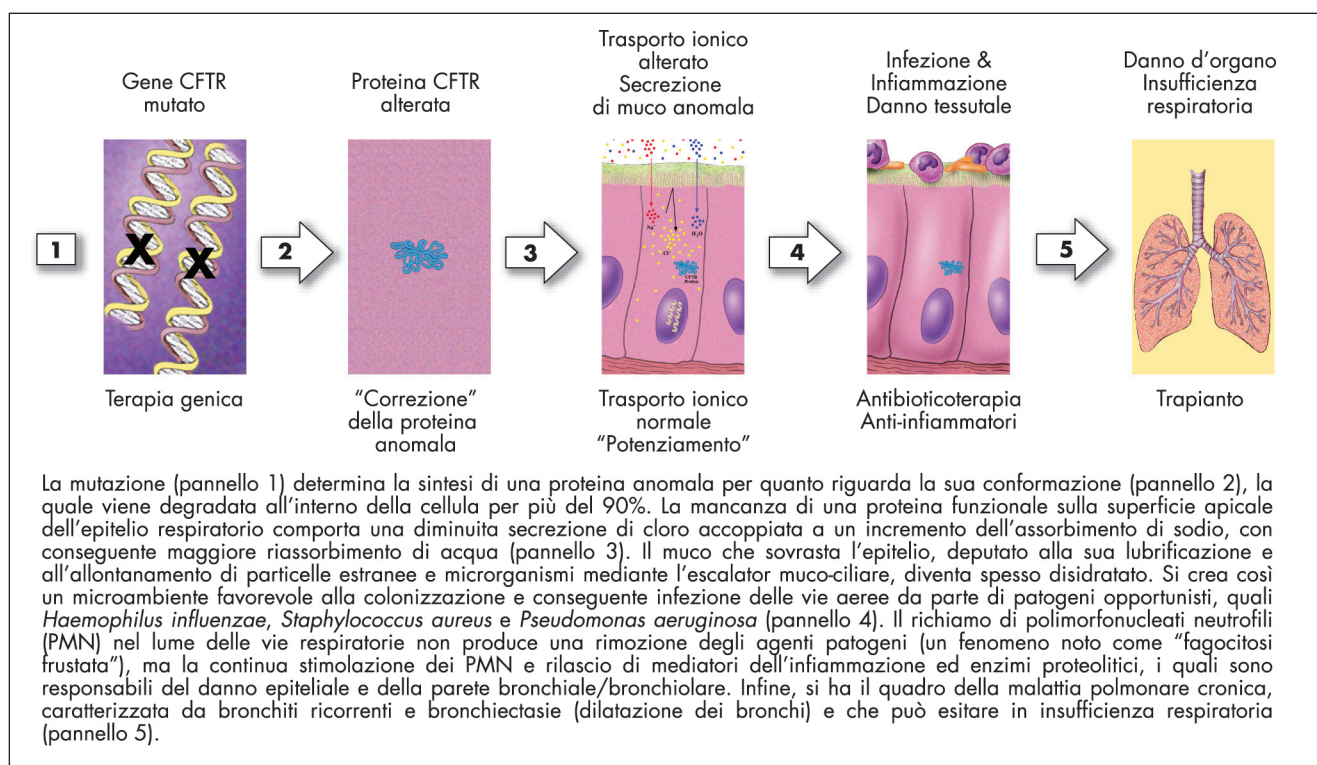


Figura 1. Fisiopatologia della malattia polmonare FC e interventi terapeutici.

sera diversificati a seconda dello stadio della malattia e, ad oggi, sono di tipo sintomatico, cioè interessano le ultime due fasi (Figura 1). In corso di infezioni, l'antibioticoterapia con diversi schemi e vie di somministrazione dei farmaci è la terapia elettiva, coadiuvata dalla fisioterapia attiva e passiva al fine di espellere dalle vie respiratorie le secrezioni mucose ispessite. Nella fase di insufficienza respiratoria, l'unico presidio terapeutico valido è il trapianto polmonare. Per quanto riguarda le prime tre fasi, sono in corso studi indirizzati a una terapia mirata al difetto di base: nella fase 1, la correzione del gene mutato mediante l'introduzione di una copia del gene "selvaggio" (terapia genica); nella fase 2, la "correzione" del difetto del ripiegamento errato della proteina conseguente alla mutazione genica; nella fase 3, il "potenziamento" della secrezione di ioni e di acqua, anormale in conseguenza dell'alterata funzionalità della CFTR.

Sono note più di 1000 mutazioni del gene, le quali sono state classificate recentemente in sei classi³ (Figura 2), mentre la terapia genica potrebbe essere usata in ogni classe di mutazione, la terapia farmacologica mirata a correggere i

difetti della proteina deve essere necessariamente specifica per ogni classe.

Non ci soffermeremo su tutti i nuovi tipi di terapia sperimentale della FC⁴, ma soltanto sui nuovi sviluppi della terapia (genica ma anche farmacologica), mirata a intervenire direttamente sul difetto di base.

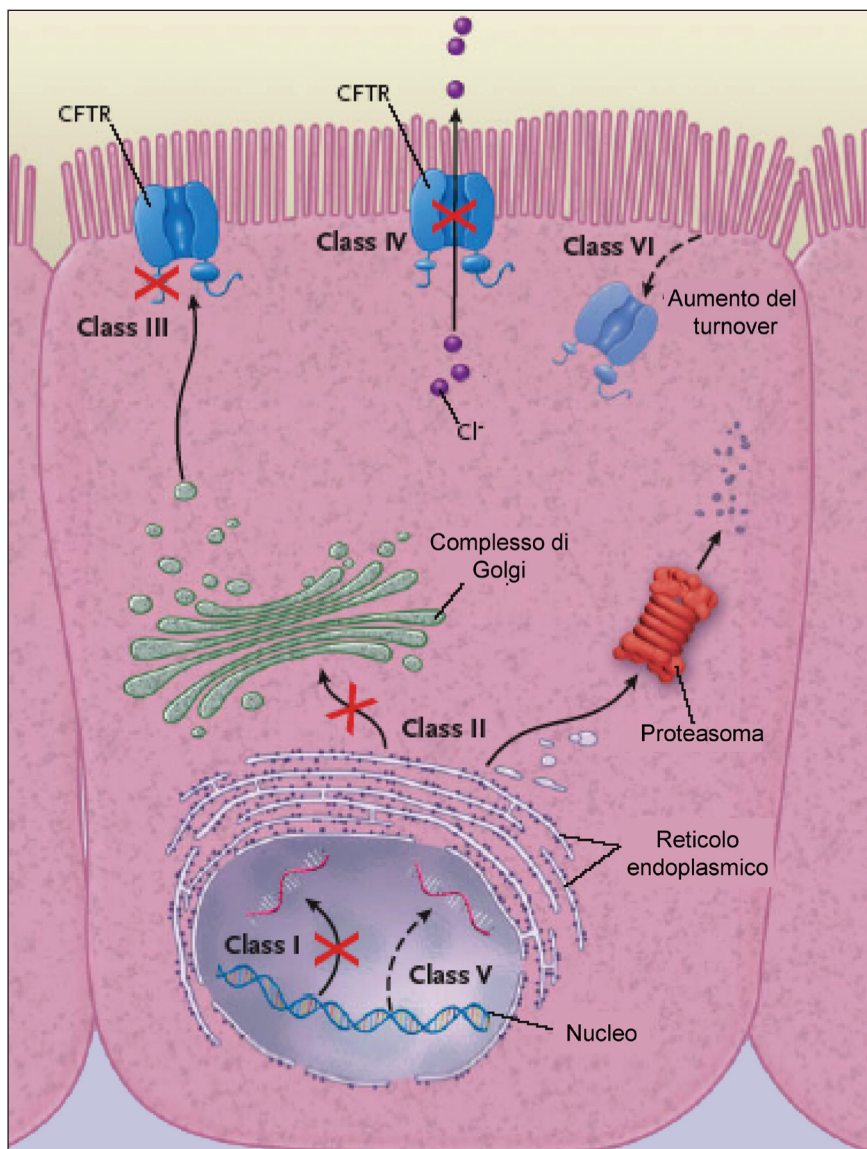
Nel presente articolo indicheremo quindi le linee di nuovi sviluppi nella terapia genica e farmacologica mirata a correggere il difetto di base (fasi 1, 2 e 3 della Figura 1). In aggiunta, discuteremo l'apporto che la farmacogenomica può dare allo sviluppo di nuovi farmaci per la FC e alla individuazione di nuovi indicatori dell'efficacia terapeutica di tali farmaci.

PROBLEMI DELLA TERAPIA GENICA E NUOVI APPROCCI

A partire dal 1990 e fino ad oggi sono stati portati a termine 33 protocolli clinici di fase I e II su pazienti con FC, mirati a valutare la sicurezza e l'efficacia di nuovi vettori di terapia genica. Tutti questi studi hanno messo in evidenza la possibilità di trasferire il gene sano CF-

TR nelle cellule respiratorie, ma con una limitata correzione del difetto di trasporto di ioni e acqua. Questi risultati sono stati ottenuti indipendentemente dall'uso di vettori virali (adenovirus) o non virali (liposomi), a causa della presenza del muco ispessito e disidratato che si oppone come una formidabile barriera all'ingresso del gene sano nelle cellule. Anche se i vettori di terapia genica avessero la capacità di superare tale barriera, ne dovrebbero fronteggiare un'altra: la mancanza di molecole che si legano avidamente ad essi e ne permettono il trasporto all'interno della cellula (chiamate "recettori") (Figura 3).

Il muco è formato da una rete di glicoproteine con pori di dimensioni più piccole dei vettori attualmente in uso. Al fine di superare la barriera "mucosa", i ricercatori dell'Università di Cleveland (USA) hanno messo a punto un nuovo sistema non virale che permette di ottenere vettori più piccoli dei pori della rete di glicoproteine (delle dimensioni di nanometri, ovvero di un milionesimo di metro). La somministrazione di tali vettori (chiamati "coniugati molecolari" o "nanoparticelle") nel naso di 12 pazienti si è dimostrata non dannosa (cioè non



All'interno del nucleo delle cellule, il gene CFTR "trascrive" l'RNA messaggero, il quale viene a sua volta "tradotto" nella proteina a livello del reticolo endoplasmico. I passaggi successivi comprendono il trasporto al complesso di Golgi (dove la proteina viene modificata con aggiunta di zuccheri) e infine alla membrana apicale, dove la CFTR serve alla secrezione di ioni cloro (Cl^-). Alla classe I appartengono le mutazioni che codificano per una proteina deleta in uno o più domini (rappresentano il 5-10% del totale). La classe II comprende quelle mutazioni che determinano tipicamente una difettosa processazione intracellulare della proteina, per cui la proteina viene degradata a livello del proteasoma. A questa classe appartiene l'anomalia genetica più comune della FC, ovvero una delezione di tre nucleotidi codificanti un aminoacido (la fenilalanina) in posizione 508 ($\Delta F508$). Alla classe III sono ascritte le mutazioni che determinano la sintesi di una proteina completa ma che non può essere attivata in maniera appropriata, come la G551D. Le proteine con mutazioni della classe IV (A455E) esibiscono solo una ridotta attività di canale del cloro, e questo spiega perché le manifestazioni polmonari sono meno gravi. Le altre mutazioni includono un ridotto numero di "trascritti" CFTR (classe V) e un difetto di stabilità della proteina CFTR sulla membrana cellulare apicale (classe VI). Modificato da voce bibliografica 3.

Figura 2. Le mutazioni del gene CFTR appartengono a sei classi.

ha indotto la comparsa di effetti collaterali apprezzabili) e ha determinato la correzione più o meno parziale del difetto di base in 8 pazienti⁵.

Gli studi futuri valuteranno la somministrazione mediante nebulizzazione nei polmoni dei pazienti. Infatti, lo studio poc'anzi descritto è stato effettuato sul naso, il quale rappresenta sì un organo "bersaglio" ma relativamente meno importante rispetto ai polmoni: è qui che il muco ispessito si forma maggiormente. Nel 2004 è stato pubblicato un altro studio clinico che ha valutato la sicurezza e l'efficacia di un vettore virale (virus adeno-associato, AAV) somministrato ai polmoni per via aerosolica. Il vettore AAV presenta una caratteristica peculiare: a differenza dei vettori non virali, può integrarsi nei geni dell'ospite e quindi non dovrebbe essere "perso" durante le varie divisioni cellulari. Nel caso però di AAV modificati ai fini della terapia genica questa proprietà viene in parte persa. In questo studio multicentrico (che ha coinvolto otto Centri FC americani) di fase II, il vettore AAV è stato somministrato per tre volte con un intervallo di 30 giorni tra le dosi. È stato osservato che la somministrazione del vettore AAV è priva di effetti collaterali e determina un miglioramento a medio termine delle funzioni polmonari e dell'infiammazione locale⁶.

In futuro si dovranno studiare meglio le risposte immunitarie scatenate dal vettore AAV e se queste impediranno un miglioramento a lungo termine delle funzioni polmonari. Nuovi studi sono comunque indirizzati a scoprire nuovi vettori virali che possano superare la barriera "mucosa" e che sfruttino altre molecole recettoriali presenti sulla superficie apicale delle cellule respiratorie⁷.

LE CELLULE STAMINALI: POSSIBILE USO NELLA FIBROSI CISTICA?

Un altro limite della terapia genica è rappresentato dalla durata dell'espressione della CFTR nelle vie aeree dei pazienti con FC non più a lungo di 1-2 settimane, a causa di promotori virali "spenti" dall'infiammazione indotta dai vettori stessi e al fatto che non esiste ad oggi un vettore specifico per le cellule staminali respiratorie. Questo problema è ulteriormente complicato dalla man-

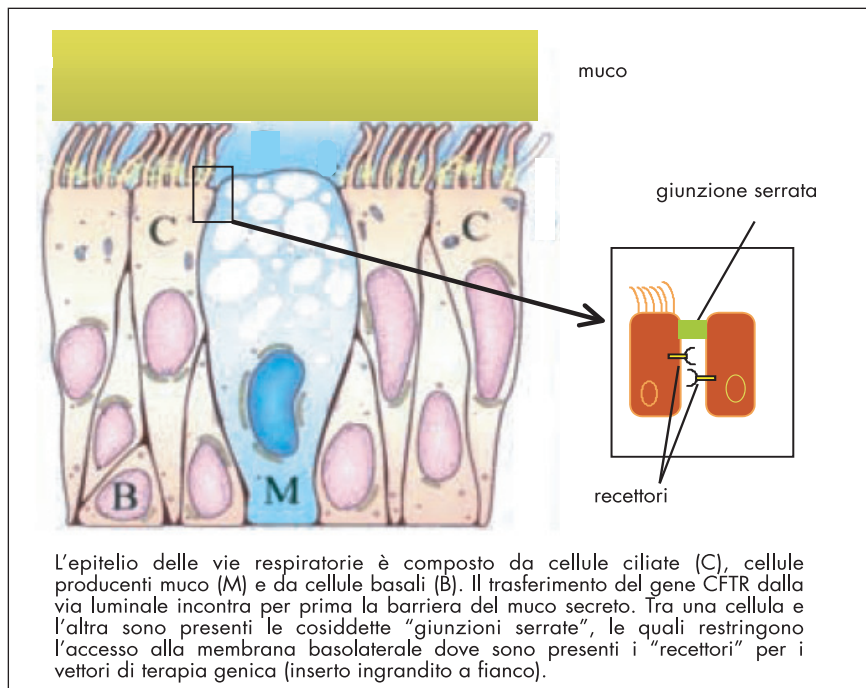


Figura 3. Tipi cellulari che compongono l'epitelio delle vie aeree e barriere alla terapia genica.

canza di conoscenza di quale sia il compartimento staminale dell'epitelio respiratorio, anche se è noto che cellule precursori multipotenti contribuiscono a ripopolare un epitelio respiratorio danneggiato in seguito ad esposizione ad agenti tossici dei vari distretti delle vie aeree⁸.

In alternativa al trasferimento genico in una popolazione staminale residente, si potrebbe indurre una cellula staminale a migrare in un epitelio rigenerante, a condizione che siano secreti fattori specifici e che tali cellule si differenzino in modo adeguato. Per definizione, una cellula staminale è capace di rinnovare se stessa a ogni divisione cellulare e di dar luogo a una progenie differenziata. Il midollo osseo è ricco di cellule staminali "pluripotenti" che si possono dividere in due categorie: cellule staminali ematopoietiche (CSE), che producono tutte le linee cellulari del sangue (globuli rossi, globuli bianchi, piastrine), e cellule mesenchimali che provvedono alla secrezione di nutrienti (fattori di crescita) e formano lo stroma dove albergano le CSE.

È stato dimostrato, in modelli murini, che CSE e cellule mesenchimali sono in grado di migrare in vari organi e trans-differenziare in cellule epiteliali. Il trapianto di midollo osseo totale o di

una popolazione arricchita in CSE in animali ospiti irradiati ha permesso di evidenziare la differenziazione di tali cellule in epitelii del fegato, intestino, cute e polmone^{9,10}. Gli esperimenti in vivo finora condotti hanno però evidenziato che la capacità di CSE di trans-differenziare in cellule epiteliali respiratorie è limitata, ovvero solo una bassa percentuale di cellule mostravano l'espressione di citocheratine tipica delle cellule epiteliali (fino allo 0,6%)¹¹, e questo potrebbe non essere sufficiente per ottenere un effetto terapeutico.

Nel 2005 sono stati pubblicati due studi che suggeriscono le possibilità dell'uso di cellule staminali ottenute da midollo osseo nella FC. In uno studio condotto in vitro è stato dimostrato che cellule mesenchimali ottenute da midollo osseo umano possiedono la capacità di differenziarsi in cellule epiteliali respiratorie quando coltivate insieme a cellule bronchiali¹². Le stesse cellule sono state ottenute da midollo osseo di pazienti con FC, corrette con un retrovirus che codifica per la proteina CFTR, e coltivate con cellule bronchiali FC, ottenendo la normalizzazione del trasporto del cloro CFTR-dipendente. In uno studio in vivo è stato invece effettuato un trapianto di midollo osseo totale o di cellule mesenchimali da topi sani in to-

pi con FC¹³. Mediante fini analisi istochimiche è stato dimostrato che alcune cellule del polmone (pari allo 0,025% del totale) esprimevano sia i marcatori delle cellule staminali che quelli delle cellule epiteliali. Una percentuale ancora più bassa (0,01%) esprimeva la proteina CFTR sana.

Tutti questi studi evidenziano che le cellule staminali di midollo osseo hanno una limitata capacità di diventare cellule epiteliali respiratorie. Per aumentare l'efficienza di questi eventi in modo che possano diventare rilevanti per un approccio di terapia cellulare della FC, sono necessari ulteriori studi al fine di comprendere meglio i meccanismi molecolari e cellulari alla base del reclutamento delle cellule staminali e la loro conversione in cellule epiteliali respiratorie. Infine, invece di cellule staminali adulte, potrebbero essere prese in considerazione cellule staminali che compaiono prima nello sviluppo.

Le cellule staminali embrionali compaiono già allo stadio di blastocisti dell'embrione e sono totipotenti, cioè danno luogo a cellule che poi formeranno tutti i tessuti. È stato recentemente pubblicato che cellule staminali embrionali murine possono differenziare in un epitelio respiratorio, completamente assimilabile a uno pseudostratificato presente in vivo¹⁴.

TERAPIA FARMACOLOGICA MIRATA A CORREGGERE IL DIFETTO DI BASE

Gli approcci utilizzabili per identificare nuovi farmaci per una malattia sono essenzialmente tre:

- 1) sfruttare le proprietà di composti già noti;
- 2) screening ad alta capacità;
- 3) strategie basate sulla conoscenza della struttura.

Seguendo il primo approccio, nel 2004 è stato pubblicato uno studio che dimostrava l'effetto di un derivato della pianta *Curcuma longa* sul difetto di base in modelli animali con la mutazione $\Delta F508$ ¹⁵. La curcumina, ingrediente del curry e quindi largamente utilizzata, è un composto non tossico, che può essere somministrato in modo sicuro all'uomo. La maturazione della proteina CFTR avviene a livello del reticolo endoplasmatico (RE) ed è "servita" da altre proteine con l'intermediazione di ioni

Box 1

Genoma: la completa sequenza genica. Le basi azotate che la compongono sono quattro (adenina, timina, citosina, guanina). Il DNA umano è disposto su 23 coppie di cromosomi e contiene circa tre miliardi di basi. Sono circa 30.000 i geni strutturali, che cioè codificano per proteine.

Trascrittoma: il set completo di RNA trascritti dal genoma in una determinata cellula o in un determinato tessuto a un dato momento.

Proteoma: il set completo di proteine codificate dal genoma in una determinata cellula o in un determinato tessuto a un dato momento.

"Microchip" o "microarray": supporto di nylon o di vetro delle dimensioni di alcuni millimetri, su cui sono depositi migliaia di geni in file ordinate. L'applicazione di RNA trascritti e opportunamente modificati, ottenuti da una cellula o tessuto sia in condizioni basali che in seguito a stimolazione con una sostanza o un farmaco, permette di identificare per sottrazione quali geni sono "spenti" o "accesi" nella cellula trattata rispetto a quella in condizioni basali.

calcio. La proteina mutata $\Delta F508$ viene bloccata nel RE da queste interazioni anomale. La curcumina è stata presa in considerazione in quanto analoga a un altro composto, la taspigargina, un inibitore della pompa del calcio del reticolo endoplasmatico e che quindi impedisce il legame tra $\Delta F508$ e le proteine del RE. In studi preliminari la somministrazione orale di curcumina a topi $\Delta F508$ in dosi confrontabili con quelle ben tollerate dall'uomo ha indotto una normalizzazione del difetto di base a livello nasale e una netta riduzione della mortalità per ostruzione intestinale.

Tuttavia studi che hanno utilizzato diversi modelli sperimentali, sia in vivo che in vitro, non hanno potuto confermare questi risultati¹⁶. Sembra che il "background" genetico influenzi molto l'attività della curcumina e che quindi altri fattori, codificati da altri geni, possano influire sul suo effetto nei topi con FC. Sono quindi necessari altri studi per dimostrare la sua reale attività biologica, con la ulteriore ricaduta di poter portare a "scoprire" molecole analoghe con maggiore potenza e specificità.

Lo screening ad alta capacità non parte da farmaci o composti già in uso nell'uomo o di cui si conoscano gli effetti ma, mediante un sistema robotizzato, identifica nuovi composti con l'attività biologica desiderata. In questo caso, migliaia di composti chimici vengono saggiati in un test cellulare che dimostra la loro attività come "correttori" o come "potenziatori".

Recentemente, il gruppo di ricerca di Alan Verkman presso la Università di San Francisco ha identificato sei classi

di "potenziatori" e quattro classi di "correttori" della proteina $\Delta F508$ mediante lo screening di 150.000 composti. Queste molecole agiscono a concentrazioni molto basse, sono molto selettive in quanto non agiscono su altre mutazioni simili alla $\Delta F508$ e sono più potenti di composti già noti per la loro attività¹⁷. Prima però che questi composti possano essere considerati farmaci da usare nei pazienti con FC devono essere saggiati in vivo per la loro efficacia, essere valutati per la loro tossicità, biodistribuzione nei vari organi, farmacodinamica e farmacocinetica (il tempo di persistenza nell'organismo e come vengono eliminati). Questo avviene di solito prima in modelli murini e in seguito in volontari umani.

Un altro approccio consiste nella identificazione molecolare della struttura della proteina CFTR nelle sue versioni normale e mutate. Tale conoscenza permetterebbe di studiare dei composti *ad hoc* che si legano in maniera specifica alle diverse regioni della proteina. È di recente pubblicazione uno studio che ha prodotto dei cristalli di una regione della CFTR, quello che può presentare la mutazione $\Delta F508$. I ricercatori hanno scoperto che la conformazione molecolare della regione con la mutazione presentava un difetto di interazione molecolare rispetto al cristallo del dominio "normale"¹⁸. Sebbene questo studio abbia bisogno di ulteriori conferme sperimentali, esso preconizza la possibilità di usare "correttori" per aumentare l'interazione tra domini come modalità farmacologica per correggere il difetto della proteina mutata $\Delta F508$.

MESSAGGI CHIAVE

□ 33 protocolli clinici di fase I e II nei pazienti con FC sono stati mirati per valutare la sicurezza e l'efficacia di nuovi vettori di terapia genica. Il gene sano CFTR può essere trasferito nelle cellule del tratto respiratorio mediante vettori virali (adenovirus) e molecolari (liposomi), ma con effetti limitati sul trasporto di ioni e acqua.

□ In base a quanto sinora sperimentato le cellule staminali ottenibili dal midollo osseo dimostrano una capacità di trasformarsi in cellule epiteliali, quantitativamente insufficienti a ottenere un vantaggio clinico rilevante.

□ È in teoria possibile utilizzare farmaci non tanto per modificare il substrato genico della malattia, quanto per modificare gli effetti sul fenotipo. Una sperimentazione effettuata con curcumina a topi $\Delta F508$ ha avuto per questa via risultati soddisfacenti che però non sono ancora stati riprodotti nell'uomo.

□ Lo screening ad alta capacità, un sistema robotizzato che permette di individuare nuovi composti in grado di legarsi a siti precisi, correggendone o potenziandone l'effetto, ha permesso di identificare sei classi di potenziatori e otto di correttori del difetto della proteina $\Delta F508$. Questa via è molto promettente, ma ha bisogno di tempi lunghi per una sperimentazione sull'uomo.

FARMACOGENOMICA DELLA FIBROSI CISTICA

La farmacogenomica descrive l'uso della genomica al servizio della scoperta di nuovi farmaci. Tra i suoi scopi vi sono quello di valutare la risposta dell'organismo al farmaco e quello di individuare i composti o i farmaci per specifiche patologie e, nell'ambito di una patologia, specifici per singole mutazioni e quindi singoli individui. Identificare i composti o i farmaci che agiscono in maniera specifica sulle proteine CFTR mutate e appartenenti alle varie classi di mutazioni identifica quindi il campo di azione della farmacogenomica applicata alla FC. A tal fine riferiamo il lettore a una revisione della letteratura pubblicata recentemente¹⁹. In questa sede vorremmo indicare che usi futuri potranno essere fatti delle tecnologie in uso correntemente nella farmacogenomica.

Come esempio discuteremo della possibilità di utilizzare queste tecnologie per identificare nuovi “bersagli” terapeutici nella malattia polmonare FC. L'uso di “microchip” o “microarray” (Box 1) permette di analizzare lo stato dei geni espressi dalla cellula (“trascrittoma”) in particolari condizioni sperimentali. L'analisi contemporanea di migliaia di geni permette di stabilire lo stato metabolico della cellula in un dato momento o dopo stimolazione con composti o farmaci in studio.

I glicosidi cardiaci sono usati in clinica per aumentare la contrattilità del cuore in determinate condizioni di insufficienza cardiaca. Essi assomigliano per struttura agli aminoglicosidi (come la gentamicina, un noto agente antibatterico) e sono stati pertanto saggiati in cellule $\Delta F508$ per dimostrare se essi possono diminuire la secrezione di interleuchina IL-8, una molecola pro-infiammatoria coinvolta nel reclutamento di granulociti neutrofilici nei polmoni dei pazienti con FC²⁰. Alcuni glicosidi cardiaci (e in particolare la digitossina) in effetti determinano una diminuzione sostanziale nella produzione di IL-8.

Inoltre, studi basati sui “microchip” hanno stabilito anche su quale meccanismo intracellulare i glicosidi agiscono per diminuire la produzione di IL-8. Questi studi hanno permesso di identificare non solo una nuova classe di farmaci potenzialmente utili per la terapia della FC ma anche di scoprire a livello molecolare un nuovo “bersaglio” per le terapie farmacologiche della FC.

Ringraziamenti

Si ringrazia l'Associazione Lombarda Fibrosi Cistica - ONLUS per il continuo supporto all'Istituto per il Trattamento Sperimentale della Fibrosi Cistica e in particolare alla dott.ssa Lucia Palmieri, titolare di una borsa di studio. Il testo di questo articolo è stato in parte presentato in due letture dal Prof. Massimo Conese, tenute in occasione del Congresso “Le molte facce della Fibrosi Cistica: confronto tra specialisti (Trieste, 9-10 settembre 2005), e del Congresso “Attualità in tema di Fibrosi Cistica” (Gualdo Tadino, 15-16 ottobre 2005).

Indirizzo per corrispondenza:

Massimo Conese
e-mail: conese.massimo@hsr.it

Bibliografia

1. Lowe CU, May CD, Reed SC. Fibrosis of the pancreas in infants and children: a statistical study of clinical and hereditary features. *Am J Dis Child* 1949; 78:349-74.
2. Riordan JR, Rommers J, Kerem B, Alon N, Rozmahel R. Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. *Science* 1989;245:1066-73.
3. Rowe SM, Miller S, Sorscher EJ. Cystic Fibrosis. *N Engl J Med* 2005;352:1992-2001.
4. Colombo C, Bannato V, Costantini D, Castellani S, Conese M. Le nuove terapie per contrastare la fibrosi cistica. *Doctor Pediatría* 2005;6:8-17.
5. Konstan MW, Davis PB, Wagener JS, et al. Compacted DNA nanoparticles administered to the nasal mucosa of cystic fibrosis subjects are safe and demonstrate partial to complete cystic fibrosis transmembrane regulator reconstitution. *Hum Gene Ther* 2004; 15:1255-69.
6. Moss RB, Rodman D, Spencer LT, et al. Repeated adeno-associated virus serotype 2 aerosol-mediated cystic fibrosis transmembrane regulator gene transfer to the lungs of patients with cystic fibrosis: a multicenter, double-blind, placebo-controlled trial. *Chest* 2004;125:509-21.
7. Pickles RJ. Physical and biological barriers to viral vector-mediated delivery of genes to the airway epithelium. *Proc Am Thorac Soc* 2004;1:302-8.
8. Otto WR. Lung epithelial stem cells. *J Pathol* 2002; 197:527-35.
9. Krause DS, Theise ND, Collector MI, et al. Multi-organ, multi-lineage engraftment by a single bone marrow-derived stem cell. *Cell* 2001;105:369-77.
10. Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature* 2002;418: 41-9.
11. Harris RG, Herzog EL, Bruscia EM, Grove JE, Van Arnam JS, Krause DS. Lack of fusion require-

ment for development of bone marrow-derived epithelia. *Science* 2004;305: 90-3.

12. Wang G, Bunnell BA, Painter RG, et al. Adult stem cells from bone marrow stroma differentiate into airway epithelial cells: potential therapy for cystic fibrosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102:186-91.
13. Loi R, Beckett T, Goncz KK, Suratt BT, Weiss DJ. Limited restoration of cystic fibrosis lung epithelium in vivo with adult marrow derived cells. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; Published on September 22, 2005 as doi:10.1164/rccm.200502-309OC.
14. Coraux C, Nawrocki-Raby B, Hinnrasky J, et al. Embryonic stem cells generate airway epithelial tissue. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2005;32:87-92.
15. Egan ME, Pearson M, Weiner SA, et al. Curcumin, a major constituent of turmeric, corrects cystic fibrosis defects. *Science* 2004; 304:600-2.
16. Song Y, Sonawane ND, Salinas D, et al. Evidence against the rescue of defective $\Delta F508$ -CFTR cellular processing by curcumin in cell culture and mouse models. *J Biol Chem* 2004;279:40629-33.
17. Pedemonte N, Lukacs GL, Du K, et al. Small-molecule correctors of defective $\Delta F508$ -CFTR cellular processing identified by high-throughput screening. *J Clin Invest* 2005;115:2564-71.
18. Lewis HA, Zhao X, Wang C, et al. Impact of the $\Delta F508$ Mutation in first nucleotide-binding domain of human cystic fibrosis transmembrane conductance regulator on domain folding and structure. *J Biol Chem* 2005;280:1346-53.
19. Sangiulio F, D'Apice MR, Gambardella S, Di Daniele N, Novelli G. Toward the pharmacogenomics of cystic fibrosis—an update. *Pharmacogenomics* 2004;5:861-78.
20. Srivastava M, Eidelman O, Zhang J, et al. Digitoxin mimics gene therapy with CFTR and suppresses hypersecretion of IL-8 from cystic fibrosis lung epithelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101: 7693-8.

Parole rubate

Niente ha valore, se la vita di un uomo non ne ha.

Una formica si arrampica su un piano verticale e liscio; fatti alcuni centimetri cade, si arrampica di nuovo, e di nuovo cade... Il bambino che la guarda si diventerà a guardarla per qualche minuto, poi non potrà più sopportarlo, metterà la formica su un filo d'erba e la solleva al di sopra di quella salita verticale.

La barbarie va considerata come un aspetto permanente e universale della natura umana, che si sviluppa secondo lo spazio che le circostanze le consentono.

Se non a prezzo di uno sforzo di generosità raro come il genio si è sempre barbari verso i deboli.

Non c'è che una scelta: o si vede nell'universo un principio in azione, accanto alla forza, ma diverso dalla forza, o bisogna riconoscere la forza come la padrona unica e sovrana, anche dei rapporti umani.

Ma la giustizia è reale, al centro del cuore umano.

E il cuore umano è una realtà in mezzo alle realtà di questo universo, né più né meno che la traiettoria di un astro.

Simone Weil, 1909-1943